

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONTRIBUIÇÕES CIRÚRGICAS PARA O TRATAMENTO DA
INSTABILIDADE ATLANTOAXIAL EM CÃES**

TESE DE DOUTORADO

Rafael Festugatto

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

**CONTRIBUIÇÕES CIRÚRGICAS PARA O TRATAMENTO DA
INSTABILIDADE ATLANTOAXIAL EM CÃES**

por

Rafael Festugatto

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia Veterinária, da
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para
obtenção do grau de
Doutor em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Mazzanti

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**CONTRIBUIÇÕES CIRÚRGICAS PARA O TRATAMENTO DA
INSTABILIDADE ATLANTOAXIAL EM CÃES**

elaborada por
Rafael Festugatto

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Medicina Veterinária

COMISSÃO AVALIADORA:

Alexandre Mazzanti, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Fabício de Vargas Arigony Braga, Dr. (UFPel)

Eduardo Santiago Ventura de Aguiar, Dr. (UFPel)

Maurício Veloso Brun, Dr. (UFSM)

Alceu Gaspar Raiser, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 29 de fevereiro de 2012

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por me possibilitar a alegria da vida e saúde para lutar por meus objetivos, cada vez mais próximos.

À minha mãe Janete e ao meu pai Roberto, agradeço todo o amor, carinho, amizade, compreensão, companheirismo e todos os outros substantivos são pouco para descrever-lhes, através dos quais me possibilitaram estar aqui e completar mais uma etapa. Vocês são exemplos de amor incondicional à família e as pessoas.

Ao Zeca, Fernanda, Simone, Fábio, meus irmãos, que são exemplos de caráter para mim, e me ajudam muito! Espero um dia poder retribuir de alguma maneira!

À minha noiva Fer, que sempre está ao meu lado, em qualquer circunstância, principalmente nas adversidades, e não foram poucas. Entre muitas coisas que aprendo com você, uma jamais esquecerei: “esteja sempre perto das pessoas que ama”. Quero sempre estar ao seu lado!

Ao Jorge, Foca, Gabi e Márcia, por fazer parte da nossa família. Ao Pedro, Marina, Vini, Rafaela, Vitor e Natália, crianças que nos fazem sonhar...

Ao professor Alexandre Mazzanti, pelos anos de ensinamentos e colaboração à minha formação profissional.

Aos professores Dr. Alceu Gaspar Raiser e Ney Luis Pippi, pela convivência.

Aos amigos Fabiano Salbego, Larissa, Tiago e João Paulo, pela ajuda à realização deste trabalho.

À Jaine e a Fernanda, estagiários e responsáveis pelos cuidados aos animais.

Aos animais desta pesquisa meu eterno respeito e gratidão.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| RESUMO..... | 6 |
| ABSTRACT..... | 8 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 10 |
| 2. ARTIGO PUBLICADO..... | 14 |
| 3 ARTIGO ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO..... | 23 |
| 4. DISCUSSÃO..... | 47 |
| 5. CONCLUSÃO..... | 50 |
| 6. BIBLIOGRAFIA..... | 51 |

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

CONTRIBUIÇÕES CIRÚRGICAS PARA O TRATAMENTO DA INSTABILIDADE ATLANTOAXIAL EM CÃES

AUTOR: RAFAEL FESTUGATTO
ORIENTADOR: DR. ALEXANDRE MAZZANTI
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 29 de fevereiro de 2012.

Esta tese foi realizada em duas etapas distintas, sendo a primeira destinada à criação de um método alternativo de acesso cirúrgico a articulação atlantoaxial. O objetivo foi apresentar uma variação na técnica de acesso ventral à articulação para tratamento da instabilidade atlantoaxial sem a secção do músculo esternotireóideo. Foram utilizados 15 cães, pesando entre 8 e 12 kg, distribuídos aleatoriamente em três grupos iguais de acordo com o período pós-operatório (PO) denominados de I (30 dias), II (60 dias) e III (90 dias). A articulação atlantoaxial foi submetida à artrodese por meio do acesso ventral utilizando pinos de Steinmann associados à resina acrílica autopolimerizável. O acesso e a exposição da articulação atlantoaxial sem a secção do músculo esternotireóideo foram realizados sem complicações ou limitações adicionais. Nenhum cão desta pesquisa apresentou complicação decorrente da intervenção. Pode-se concluir que a secção do músculo esternotireóideo é um procedimento desnecessário e que não interfere na exposição da articulação atlantoaxial e na realização da artrodese em cães por meio do acesso ventral. Na segunda etapa foi utilizado o homoenxerto de osso esponjoso conservado em glicerina a 98% em cães submetidos à artrodese atlantoaxial. O objetivo desta pesquisa foi testar e comparar o implante homogêneo com o enxerto autógeno e com a realização da remoção da cartilagem articular isoladamente. Foram utilizados 12 cães, pesando entre 8 e 12 kg, distribuídos aleatoriamente em três grupos iguais. Grupo I (GI): realizada apenas a remoção da cartilagem articular e imobilização articular com pinos e resina acrílica. Grupo II (GII): Após remoção da cartilagem articular e imobilização da articulação, foi realizada a colocação e modelagem do enxerto ósseo esponjoso homogêneo no local determinado. O volume de homoenxerto colocado na

articulação foi determinado utilizando balança de precisão e todos os animais receberam a mesma quantidade. Grupo III (GIII): Foi realizado o mesmo procedimento do GII, no entanto, foi utilizado enxerto ósseo esponjoso autógeno no local determinado. Exames radiográficos foram realizados em todos os animais aos 30, 60 e 90 dias de PO. Aos 90 dias de PO foi realizada a eutanásia dos animais para realização de testes de palpação manual, avaliação tomográfica e histológica. Para análise estatística da associação entre o grau de fusão articular, avaliado por palpação manual, das imagens radiográficas digitalizadas e tomográficas e os grupos de tratamento, aplicou-se o Teste Qui-quadrado de independência. Os resultados dos testes foram avaliados pela significância exata, e considerados estatisticamente significantes a 5% ($p < 0,05$). Pelo teste de palpação manual e pelas imagens tomográficas pode-se perceber que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos aos 90 dias de PO. A análise radiográfica da articulação atlantoaxial mostrou que o grau de fusão foi semelhante entre os tratamentos, sem diferença estatística, aos 30, 60 e 90 dias de PO. Com relação ao estudo histopatológico aos 90 dias de PO foi verificado que a neoformação óssea no grupo I apresentou níveis de intensidade proporcional (ausente, leve, moderada, acentuada), no grupo II, 75% leve e 25% acentuada e no grupo III, 25% moderada e 75% acentuada. Pode-se concluir que a utilização de enxerto homogêneo conservado em glicerina a 98% em cães submetidos à artrodese atlantoaxial é um método alternativo viável para tratamento de instabilidade atlantoaxial. Pode-se concluir também que não existe diferença quanto ao grau de fusão articular quando foi realizada apenas a remoção da cartilagem articular, sugerindo que essa possa ser mais uma alternativa ao tratamento da instabilidade atlantoaxial.

Palavras-chave: artrodese atlantoaxial, osso homogêneo, neurologia, cão.

ABSTRACT

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

CONTRIBUTIONS TO SURGICAL TREATMENT OF ATLANTOAXIAL INSTABILITY IN DOGS

AUTHOR: RAFAEL FESTUGATTO
ADVISOR: DR. ALEXANDRE MAZZANTI
Date and place of defense: Santa Maria, February 29nd, 2012.

The aim of the first study was create an alternative method of surgical access to the atlantoaxial joint by ventral access without sternothyroid muscle section. A total of 15 dogs, weighing between eight and 12 kg were randomly divided in three groups according to postoperative period (PO), GI (30days), G II (60) and G III (90 days). The atlantoaxial joint was submitted to arthrodesis through the ventral access using Steinmann pins associated to acrylic resin. The access and exposure of the atlantoaxial joint without sternothyroid muscle section were completed without complications or additional limitations. None dog in this study had cough, dyspnea, regurgitation, laryngeal paralysis or Horner's syndrome. It can be concluded that the section of the sternothyroid muscle is an unnecessary procedure and does not interfere in the exposure of the atlantoaxial joint and in the arthrodesis of dogs through ventral access. The aim of the second study was test and compare the homogenous cancellous bone preserved in 98% glycerin in dogs submitted to atlantoaxial arthrodesis. Twelve dogs, weighing between 8 and 12 kg were randomly divided into three groups. Group I (GI): performed only the removal of joint cartilage and joint immobilization with acrylic resin and pins. Group II (GII): after removal of joint cartilage and immobilization, was performed the modeling and the placement of the homogenous cancellous bone at the determined location. The volume of homograft placed in the joint was measured using a precision balance and all animals received the same quantity. Group III (GIII): was performed the same procedure of the GI, however, was used autogenous cancellous bone graft at the determined location. Radiographic examinations were performed on all animals at 30, 60 and 90 days postoperatively. At 90 days of PO was carried out the

euthanasia of the animals to perform manual palpation test and CT and histological evaluation. For statistical analysis of the association between the degree of joint fusion, assessed by manual palpation, digitized radiographic images and CT scans and treatment groups, we applied the Chi-square test of independence. The test results were evaluated by the exact significance and considered statistically significant at 5% significance ($p < 0.05$). By manual palpation test and by the CT images can be seen that there was no statistically significant difference between groups at 90 days postoperatively. Radiographic analysis of the atlantoaxial joint showed that the degree of fusion was similar among treatments, without statistical difference at 30, 60 and 90 days postoperatively. In relation to histopathology study at 90 days postoperatively, was found that bone formation in group I had 25% of each intensity (absent, mild, moderate, severe), in group II 75% mild and 25% severe, and in group III, 25% moderate and 75% severe. It can be concluded that the use of graft homogenous preserved in 98% glycerin in dogs undergoing atlantoaxial fusion method is a viable alternative for treatment of atlantoaxial instability. It can be also conclude that there is no difference in the degree of fusion was performed only removal of joint cartilage, suggesting this may be an alternative treatment of atlantoaxial instability.

Key words: atlantoaxial instability, cancellous bone, neurology, dog.

1. INTRODUÇÃO

A instabilidade atlantoaxial (IAA) foi descrita pela primeira vez na literatura veterinária por Geary et al. (1967), desde então vários casos tem sido relatados em cães (LeCOUTEUR et al., 1980; DENNY et al., 1988; THOMAS et al., 1991; McCARTHY et al., 1995; SCHULZ et al., 1997; BEAVER et al., 2000; LORIGRADOS et al., 2004; PLATT et al., 2004; SANDERS et al., 2004; PUJOL et al., 2010). Poodles, Yorkshires Terriers, Dachshunds e Chihuahuas com menos de um ano de idade são frequentemente acometidos pela IAA (BEAVER et al., 2000). Também é relatada a ocorrência em humanos (MUMMANENI & HAID, 2005) e cavalos (NIXON & STASHAK, 1988).

O eixo possui sete centros de ossificação, três dos quais afetam o tamanho, forma e as inserções do processo odontóide ao corpo do eixo (OLIVER & LEWIS, 1973). A fusão precoce, parcial ou a não fusão das placas de crescimento do processo odontóide podem levar a má formação desta estrutura (SHIRES, 1998). Alterações congênitas como aplasia, hipoplasia e angulação dorsal do processo odontóide do eixo, perda do suporte ligamentar (DENNY et al., 1988) e traumatismos, ou a combinação destas causas podem causar a IAA (LeCOUTEUR & CHILD, 1997; MOREAU, 2000), acarretando deficiências neurológicas (THACHER, 1996) devido a compressão da medula espinhal (McCARTHY et al., 1995).

Os casos clínicos de IAA geralmente resultam de uma combinação de fatores congênitos e traumáticos. Um cão com ausência congênita de suporte para o processo odontóide sofre um enfraquecimento progressivo do ligamento atlantoaxial dorsal. Um traumatismo pequeno romperá o ligamento e precipitará a instabilidade (SHIRES, 1996; STAINKI et al., 1999). Em alguns casos, um cão com uma anormalidade congênita pode ser normal até a idade adulta e ocorrer a instabilidade logo após a um trauma que seria rotineiro para um animal normal (MOREAU, 2000).

A compressão aguda ou crônica da medula pode resultar em sinais neurológicos que variam desde dor cervical leve, deficiências proprioceptivas e ataxia até tetraparesia, comprometimento respiratório e morte (McCARTHY et al., 1995). Graus variáveis de deficiências motoras nos membros pélvicos e/ou torácicos podem ser observados (SHIRES, 1998). Nos pacientes que possuem hiperestesia cervical, a flexão ventral da cabeça frequentemente exacerbará este sinal e poderá piorar a condição neurológica (SEIM, 2002).

O diagnóstico da IAA é geralmente baseado nos sinais clínicos, raça, idade, anamnese, avaliação neurológica e exames radiográficos (SHIRES, 1998), sendo que o animal deve estar sob anestesia geral para obtenção de um posicionamento adequado (LORIGRADOS et al., 2004). Os achados radiográficos sugestivos de instabilidade atlantoaxial incluem ausência, agenesia ou angulação do processo odontóide do eixo (McCARTHY et al., 1995). O aumento da distância entre a primeira e segunda vértebras cervicais, de 4 a 5 mm entre a lâmina do atlas e a espinha dorsal do eixo é diagnóstico de instabilidade atlantoaxial (SEIM, 2002). A tomografia computadorizada (CT) e a ressonância magnética (RM) podem ser usadas como modalidade primária, ou após radiografias simples, no auxílio ao diagnóstico por proporcionar informações adicionais. A CT proporciona boa visualização do processo odontóide enquanto que a RM pode revelar a presença de mielomalácia (SHARP & WHEELER, 2005).

A IAA traumática ou congênita pode ser tratada por meios conservadores ou cirúrgicos sendo que o tratamento conservador tem sido proposto para animais com sinais clínicos leves (SHIRES, 1998) e baseia-se na utilização de antiinflamatórios, colar cervical e repouso absoluto por 4 a 6 semanas (SHARP & WHEELER, 2005). A principal função da imobilização com colar é limitar a movimentação da coluna cervical, permitindo a formação de tecido fibroso para estabilizar a articulação atlantoaxial (GILMORE, 1984).

O tratamento cirúrgico da IAA está indicado para animais que apresentem deficiências neurológicas moderadas a graves (LeCOUTEUR & CHILD, 1997) e em animais com episódios recidivantes de dor cervical que não respondem ao tratamento conservador (MOREAU, 2000). Para Sharp & Wheeler (2005), a intervenção cirúrgica está indicada para a maior parte dos animais que apresentam lesões congênitas, sendo que mesmo aqueles que apresentem deficiências neurológicas graves podem ser beneficiados com o tratamento cirúrgico.

A técnica cirúrgica pelo acesso ventral, para artrodese atlantoaxial, inclui a incisão de pele e tecido subcutâneo seguida pela exposição dos músculos esternoiódeos, que são afastados para visualização da traquéia. O músculo esternotireóideo é mobilizado e seccionado próximo à sua inserção na laringe. Após o procedimento de imobilização da articulação, é necessária a síntese do músculo esternotireóideo, além dos outros planos teciduais (SHARP & WHEELER, 2005).

Os enxertos ósseos são utilizados como adjuvantes no tratamento de fraturas, perdas e defeitos ósseos e na indução de artrodeses. O uso de osso esponjoso autógeno está consagrado e

tem seu efeito comprovado na indução de artrodese (PLATT et al., 2004; OLBY, 2004; DEWEY, 2006; LORENZ & KORNEGAY, 2006; SHORES & TEPPEL, 2007)

O enxerto esponjoso pode ser colhido da metáfise de qualquer osso longo, mas, pela facilidade técnica, tem sido removido, em cães, na porção craniodorsal da asa ilíaca (PALMISANO & SCHRADER, 1999), úmero e tibia proximal e fêmur distal (TREVOR, 1992). O local da colheita deve ser determinado pelo volume necessário e proximidade do leito receptor (FOX, 1984). Em geral, apenas um local de colheita é suficiente para cães de tamanho grande ou médio, no entanto, em cães pequenos podem ser necessários diversos locais (SCHENA, 1983).

Porém, a sua retirada do leito doador pode trazer sequelas ao paciente como dor local, infecção (FRANCO et al., 2001; SILVA et al., 2010), aumento no tempo cirúrgico e, às vezes, oferecer insuficiente quantidade de enxerto (PIERMATTEI & FLO, 1999).

A glicerina é um meio conhecido para conservação de diferentes tecidos, incluindo ossos (GIOSO et al., 2002) pois atua sobre a antigenicidade do implante biológico (PIGOSSI et al., 1971), o que torna o material conservado menos antigênico, preservando a elasticidade do mesmo e mantendo íntegras as características histológicas do tecido. É um eficiente meio de preservação de ossos à temperatura ambiente, pois mantém o material livre de contaminação (GIOSO et al., 2002) por meio da desidratação celular (PIGOSSI, 1971).

Considerados os inconvenientes da utilização do enxerto autógeno e que na bibliografia consultada são escassos os estudos que avaliam a conservação de osso esponjoso em glicerina para utilização em fusão articular, este trabalho teve por objetivos avaliar em cães:

- a viabilidade da realização da artrodese atlantoaxial em cães pela abordagem sem secção do músculo esternotireoideo;

- a resposta à implantação de osso esponjoso homogêneo conservado em glicerina a 98% na articulação atlantoaxial para induzir artrodese;

- a eficiência da remoção da cartilagem articular atlantoaxial isoladamente, na indução da artrodese atlantoaxial.

Esses objetivos foram determinados para testar as seguintes hipóteses:

- o acesso à articulação atlantoaxial para realização de artrodese é possível sem seccionar o músculo esternotireoideo;

- o enxerto homogêneo de osso esponjoso proporciona fusão óssea suficiente para promover a artrodese atlantoaxial;

a remoção da cartilagem articular, sem utilização de enxertos é suficiente para promover fusão óssea e induzir artrodese atlantoaxial;

Este trabalho foi redigido em forma de artigos, seguindo-se as normas para a confecção de tese da UFSM (MDT, PRPGP/UFSM, 2010).

2. ARTIGO PUBLICADO

Ciência Rural, Santa Maria, v.39, n.4, p.1239-1242, jul, 2009.

MODIFICAÇÃO DA TÉCNICA DE ABORDAGEM VENTRAL À ARTICULAÇÃO ATLANTOAXIAL SEM A SECÇÃO DO MÚSCULO ESTERNOTIREÓIDEO

MODIFICATION OF THE TECHNIQUE OF VENTRAL APPROACH TO THE ARTICULATION ATLANTOAXIAL WITH NO SECTION OF THE MUSCLE STERNOTHYREOID

Rafael Festugatto* Alexandre Mazzanti^{II} Alceu Gaspar Raiser^{II} Charles Pelizzari^I Diego
Vilibaldo Beckmann^I Fernanda Souza Barbosa da Silva^I Rogério Rodrigues dos Santos^I Dakir
Polidoro^{III}

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi apresentar uma variação na técnica de acesso ventral à articulação atlantoaxial para tratamento da instabilidade atlantoaxial sem a secção do músculo esternotireóideo. Foram utilizados 15 cães, pesando entre 8 e 12 kg, sem raça definida, independente do sexo, distribuídos aleatoriamente em três grupos iguais de acordo com o período pós-operatório (PO) denominados de I (30 dias), II (60 dias) e III (90 dias) para avaliações clínicas diárias. A articulação atlantoaxial foi submetida à artrodese por meio do acesso ventral utilizando pinos de Steinmann associados à resina acrílica autopolimerizável. O acesso e a exposição da articulação atlantoaxial sem a secção do músculo esternotireóideo foram realizados sem complicações ou limitações adicionais. Nenhum cão desta pesquisa apresentou tosse, dispnéia, regurgitação, paralisia laríngea ou Síndrome de Horner. Pode-se concluir que a secção do músculo esternotireóideo é um procedimento desnecessário e que não interfere na exposição da articulação atlantoaxial e na realização da artrodese em cães por meio do acesso ventral.

Palavras-chave: artrodese atlantoaxial, neurologia, cão.

^I Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Avenida Roraima, n.1000, Bairro Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: rfestuga@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

^{II} Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

^{III} Curso de Medicina Veterinária, CCR, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

ABSTRACT

The aim of this research was to present a variation in the technique of ventral access to the atlantoaxial joint for treatment of the instability atlantoaxial with no section of the sternothyroid muscle. Fifteen dogs, weighing between 8 and 12kg, were randomly distributed in three groups denominated one (30 days), two (60 days) and three (90 days) for daily clinical evaluations. The atlantoaxial joint was submitted to the arthrodesis through the ventral access using pins of Steinmann associated to the acrylic resin. The access and exhibition of the atlantoaxial joint with no section of the sternothyroid muscle were possible without complications or additional limitations. No dog of this research presented coughing, dyspnea, regurgitation, laryngeal paralysis or Horner's syndrome. It can be concluded that the section of the sternothyroid muscle is an unnecessary procedure and that it doesn't interfere in the exhibition of atlantoaxial joint and in the accomplishment of the arthrodesis in dogs through the ventral access.

Key words: atlantoaxial arthrodesis, sternothyroid, neurology, dog.

INTRODUÇÃO

A instabilidade atlantoaxial (IAA) é uma afecção que pode resultar na compressão da medula espinhal (MOREAU, 2000) e conseqüentemente no surgimento de deficiências neurológicas. As causas podem ser traumáticas ou congênitas, sendo a ausência e a hipoplasia do processo odontóide do eixo as mais encontradas em cães (THACHER, 1996). Os casos clínicos de instabilidade atlanto-axial geralmente resultam de uma combinação de fatores congênitos e traumáticos. Um animal com ausência congênita de suporte para o processo odontóide sofre um enfraquecimento progressivo do ligamento atlantoaxial dorsal. Finalmente, um traumatismo pequeno romperá o ligamento e precipitará a instabilidade (SHIRES, 1996; STAINKI et al., 1999). As raças toy, especialmente Poodles, Yorkshire Terriers, Teckel Miniatura, Chihuahuas e Spitz Alemão Anão, com menos de um ano de idade são frequentemente as mais acometidas (BEAVER et al., 2000). Conforme SHARP & WHEELER (2005), os sinais neurológicos refletem a compressão da medula espinhal e são variáveis. Os pacientes geralmente possuem dor cervical e a flexão ventral da cabeça frequentemente exacerbará a dor e poderá piorar a condição neurológica (WAGNER, 1998; SEIM, 2002). A IAA em cães pode ser tratada por meios conservadores ou cirúrgicos. O tratamento conservador é proposto para animais com sinais

clínicos mínimos, já o tratamento cirúrgico é indicado para aqueles que apresentam deficiências neurológicas moderadas a graves (BAGLEY, 1999). O tratamento cirúrgico inclui técnicas de estabilização dorsal e ventral da articulação atlantoaxial (SCHULZ et al., 1997). Os objetivos dessas cirurgias são a redução da instabilidade articular e a descompressão da medula espinhal e das raízes nervosas (SEIM, 2002). Dentre as técnicas empregadas, a artrodese atlantoaxial mediante aplicação ventral de dois pinos de Steinmann associados à resina acrílica autopolimerizável demonstrou melhores resultados (KNIPE et al., 2002). A técnica cirúrgica pelo acesso ventral inclui a incisão de pele e tecido subcutâneo seguida pela exposição dos músculos esternoiódeos, que são afastados para visualização da traquéia. O músculo esternotireóideo (MET) é mobilizado e seccionado próximo à sua inserção na laringe. Após o procedimento de imobilização da AA, é necessária a síntese do MET, além dos outros planos teciduais (SHARP & WHEELER, 2005).

O MET dobra lateralmente na parte cranial do pescoço para inserir-se na superfície lateral da lâmina tireóide da laringe, logo caudal à origem do músculo tireoióideo. Ele possui uma intersecção fibrosa transversa onde se separa do músculo esternoióideo. Esses músculos afastam a laringe, o aparelho hióide e a língua caudalmente (GETTY, 1986).

A literatura consultada apenas descreve a técnica cirúrgica por acesso ventral à articulação atlantoaxial (AA), mas não cita a importância e a necessidade da secção do músculo esternotireóideo durante o procedimento cirúrgico. O objetivo deste trabalho é apresentar uma variação na técnica de acesso ventral à AA sem a secção do MET.

O intuito dessa modificação é evitar um trauma desnecessário provocado pela miotomia e suas possíveis consequências indesejáveis no período trans e pós-operatório e, em alguns casos, pela dificuldade na realização da miorrafia desse músculo.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 15 cães, independente do sexo, sem raça definida, pesando entre oito e 12 kg, obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria. Os 15 cães foram distribuídos, aleatoriamente, em três grupos de igual número de acordo com o período pós-operatório (PO) denominados de grupos I, em que foram avaliados por 30 dias, II, 60 dias e III, 90 dias de PO. Todos os cães foram submetidos à artrodese atlantoaxial mediante o uso de pinos de Steinmann associados à resina acrílica autopolimerizável. Após jejum hídrico e alimentar de 12

horas, os animais foram tranquilizados com $0,1\text{mg kg}^{-1}$ de acepromazina^a IV, submetidos à anestesia geral com 4mg kg^{-1} de propofol^b IV, intubados com sonda endotraqueal de diâmetro adequado e mantidos sob anestesia inalatória com halotano^c diluído em 100% de O₂, em circuito circular valvular. Foi administrado antibiótico profilático com ampicilina sódica^d (30mg kg^{-1}) intravenosa 30 minutos antes do início da cirurgia. Depois de realizada a antisepsia do campo operatório com álcool-iodo-álcool e com o animal posicionado em decúbito dorsal com um anteparo de apoio sob o pescoço, foi realizada a artrodese atlantoaxial empregando dois pinos de Steimann associados à resina acrílica autopolimerizável, conforme técnica descrita por (SHARP & WHEELER, 2005), mas sem realizar a secção do MET. Para isso, foi realizada uma incisão longitudinal mediana de pele e tecido subcutâneo que se estendeu cranialmente à laringe. Em seguida, incizou-se a fáscia superficial expondo-se os músculos esternoióideos, que foram afastados para exposição da traquéia por meio de dissecação romba. O músculo esternotireóideo, a traquéia, a artéria carótida, a veia jugular e o tronco vagossimpático foram deslocados lateralmente (Figura 1), protegidos por compressas umedecidas em solução fisiológica estéril e mantidos com afastador auto-estático de Gosset. A fáscia profunda foi seccionada para exposição dos músculos longos do pescoço. Utilizando-se um elevador de periósteo, foram rebatidos os tendões desses músculos inseridos no processo ventral de C1. Os ventres musculares foram elevados caudolateralmente desde o corpo de C2.

Dissecou-se a fáscia, e incizou-se a cápsula articular para exposição da cartilagem com auxílio de um extrator de Hohmann. Em seguida, foi realizada a remoção da cartilagem articular por meio de uma broca sulcada de 4mm acoplada a uma perfuratriz elétrica de baixa rotação. Para fixação da articulação atlantoaxial, foi utilizado pino de Steinmann de 1,0mm acoplado a uma parafusadeira de baixa rotação. O implante foi introduzido na extremidade cranial de C2 a 1,5cm da borda e numa angulação aproximada de 30° em relação ao eixo longitudinal da vértebra em direção à C1. O mesmo procedimento de fixação foi realizado com um segundo pino. Os animais foram submetidos à terapia antiinflamatória de cetoprofeno 10%^e ($2,0\text{mg kg}^{-1}$ de peso corporal, IM, por três dias) e sulfato de morfina ($0,3\text{mg kg}^{-1}$, via subcutânea, 6/6 horas, por 24 horas). Todos os animais foram submetidos a avaliações clínicas diárias para detecção de possíveis complicações, tais como presença de tosse, dispnéia, regurgitação, paralisia laríngea, alteração na marcha, edema na região ventral do pescoço e Síndrome de Horner. Os resultados foram anotados em protocolos específicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O acesso e a exposição da articulação atlantoaxial (AA) sem a secção do músculo esternotireóideo foram realizados sem complicações ou limitações adicionais. Depois de exposta, a AA pôde ser manipulada de maneira satisfatória, possibilitando a realização dos procedimentos que envolvem a sua imobilização, discordando de SHARP & WHEELER (2005), os quais afirmam que a secção desse músculo é útil.

A não realização da secção do MET elimina o risco de ruptura do feixe vascular que se localiza próximo ao local previsto para a miotomia. Esse vaso supre a glândula tireóide e deve ser preservado (SHARP & WHEELER, 2005). No entanto, essa preservação nem sempre é possível. Além de manter sua estrutura anatômica fisiológica normal, ao preservar o MET, evita-se a hemorragia inerente ao rompimento das fibras musculares e as possíveis aderências aos tecidos adjacentes proporcionadas pela colocação de fios de sutura necessários à miorrafia.

SHORES & TEPPER (2007) revisaram os registros médicos de cinco cães submetidos à estabilização da articulação atlantoaxial. Foi utilizado nesses animais um acesso ventral parasagital que separa os músculos esternocéfálico e esternotireóideo direito. Ao contrário, neste trabalho foi realizada a separação dos músculos esternoióideos pareados e foi mantida a ligação entre os músculos separados por aqueles autores. A boa exposição da articulação atlantoaxial proporcionada pelo acesso parasagital, destacada pelos autores, também foi alcançada com o procedimento cirúrgico empregado nos animais do presente estudo.

Nenhum cão desta pesquisa apresentou tosse, dispnéia, regurgitação, paralisia laríngea ou Síndrome de Horner, embora BEAVER et al. (2000) tenha citado que a traquéia e os tecidos moles adjacentes podem ser traumatizados durante a retração lateral.

SANDERS et al. (2004) relataram a ocorrência de um caso de paralisia laríngea e outros dois de dispnéia, um destes com Síndrome de Horner concomitante em 12 cães nos quais foi utilizada a técnica ventral de acesso à articulação atlantoaxial. Dificuldade respiratória e Síndrome de Horner foram também citadas por SCHULZ et al. (1997) como complicações pós-operatórias em dois de nove cães que receberam a aplicação ventral de pinos e resina acrílica para tratamento da instabilidade atlantoaxial.

PLATT et al.(2004) realizaram um estudo retrospectivo de 19 cães com instabilidade atlantoaxial tratados cirurgicamente por um método modificado de estabilização ventral com

utilização de fio ortopédico e parafusos corticais associados à resina acrílica. O acesso à articulação foi realizado por meio da técnica descrita por SHARP & WHEELER (2005). Embora não tenham encontrado nenhuma complicação intra-operatória, os autores descreveram o aparecimento de dois casos de pneumonia por aspiração, documentados dentro de 24 horas após a cirurgia.

Em cinco cães deste experimento, foi encontrado edema na face ventral do pescoço ao redor da incisão cirúrgica, mas que regrediu até o sétimo dia de PO. Isso provavelmente tenha ocorrido pela manipulação dos tecidos e pela localização cirúrgica que favorecem o acúmulo de líquidos no espaço intersticial.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente experimento, pode-se concluir que a secção do músculo esternotireóideo é um procedimento desnecessário e que não interfere na exposição da AA e na realização da artrodese em cães por meio do acesso ventral.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê em Ética em Pesquisa com animais da Universidade Federal de Santa Maria, sob o nº 23081.010367/2007-69 e seguiu os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

FONTES DE AQUISIÇÃO

- a-Acepran 0,2%, Univet S.A., São Paulo – SP.
- b-Propofol-Lipuro 1% - infarmed.cnf@infarmed.pt
- c-Tanohalo, Cristália Prod. Farm. Ltda, Itapira – SP.
- d-Ampicilina Sódica – Ampicillin/União Química – SP.
- e-Cetoprofeno 10% - Ketofen/Merial – SP.

REFERÊNCIAS

- BAGLEY, R.S. Medula espinhal e vértebras. In: HARARI, J. **Cirurgia de pequenos animais**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1999. Cap.22, p.347-358.

BEAVER, P. et al. Risk factors affecting the outcome of surgery for atlantoaxial subluxation in dogs: 46 cases (1978-1998). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.216, n.7, p.1104-1109, 2000.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos-Sisson/Grossman**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. V.2, p.1421-1423

KNIPE, M.F., et al. Atlantoaxial instability in 17 dogs. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v.16, p.368-370, 2002.

MOREAU, P. Inestabilidade vertebral. In: PELLEGRINO, F. Et al. **Síndromes neurológicas em perros y gatos**. Buenos Aires: Panamericana, 2000. Cap.7, p.161-171.

PLATT, R.S. et al. A modified ventral fixation for surgical management of atlantoaxial subluxation in 19 dogs. **Veterinary Surgery**, v.33, p.349-354, 2004.

SANDERS, G. et al. Outcomes and complications associated with ventral screws, pins, and polymethylmethacrylate for atlantoaxial instability in 12 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.43, p.204-210, 2004.

SCHULZ, K.S. et al. Application of ventral pins and polymethylmethacrylate for the management of atlantoaxial instability: results in nine dogs. **Veterinary Surgery**, v.26, n.4, p.317-325, 1997.

SEIM, H.S. Cirurgia da espinha cervical. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2002. Cap.34, p.1157-1215.

SHARP, N.J.H.; WHEELER, S.J. **Small animal spinal disorders**. Diagnosis and surgery. 2.ed. Philadelphia: Elsevier Mosby, 2005. 380p.

SHIRES, P.K. Instabilidade atlantoaxial. In: BOJRAB, M.J. Et al. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, 1996. Cap. 42, p.545-564.

SHORES, A.; TEPPER, L.C. A modified ventral approach to the atlantoaxial junction in the dog. **Veterinary Surgery**, v.36, p.765-770, 2007.

STAINKI, D.R. et al. Instabilidade atlanto-axial em canino: breve revisão e relato de caso. **Revista Faculdade Zootecnia Veterinária Agronomia**, v.5/6, n.1, p.77-81, 1998/99.

THACHER, C. Biomecânica das fraturas cranianas, espinhais e luxações. In: BOJRAB, M.J. **Mecanismos da moléstia na cirurgia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1996. Cap.135, p.1150-1160.

WAGNER, S.D. Fratura e deslocamento espinhais. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders – Clínica de pequenos animais**. 4.ed. São Paulo: Roca, 1998. Cap.5, p.1081-1090.

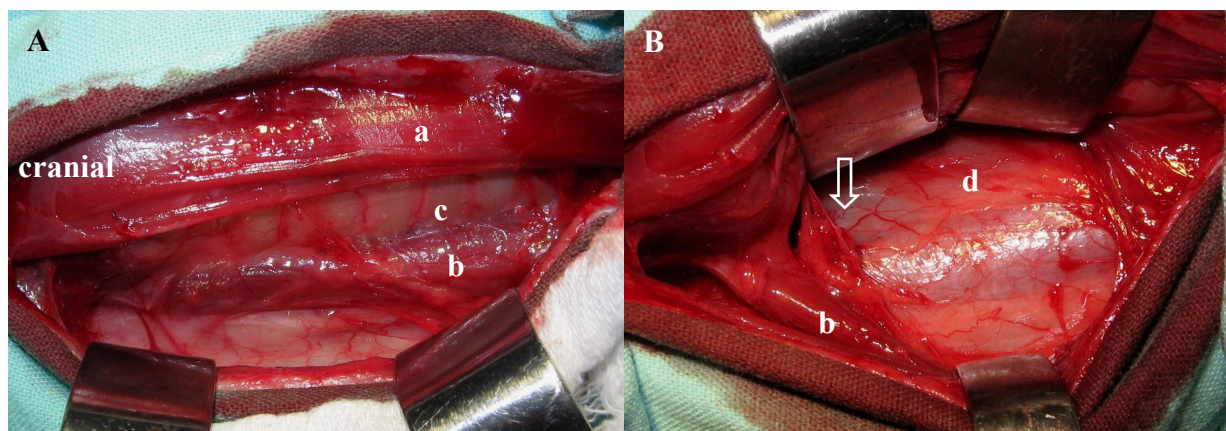


Figura 1 - Modificação da técnica de abordagem ventral à articulação atlantoaxial sem a secção do músculo esternotireóideo. Incisão longitudinal mediana de pele e tecido subcutâneo cranial à laringe. A - Músculo esternoióideo (a), esternotireóideo direito (metd) (b) e traquéia (c) expostos. B - Metd retraído lateralmente permitindo visualização dos músculos longos do pescoço (d) para exposição da articulação atlantoaxial (↓).

3. ARTIGO A SER ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO

CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade
Federal de Santa Maria, RS

REMOÇÃO DA CARTILAGEM ARTICULAR ASSOCIADA OU NÃO A IMPLANTE HOMÓGENO OU ENXERTO AUTÓGENO DE OSSO ESPONJOSO EM CÃES SUBMETIDOS À ARTRODESE ATLANTOAXIAL

JOINT CARTILAGE REMOVAL ASSOCIATED OR NOT TO HOMOLOGOUS IMPLANT OR AUTOLOGOUS CANCELLOUS BONE GRAFT IN DOGS SUBMITTED TO ATLANTOAXIAL ARTHRODESIS

Rafael Festugatto^{I*} Alexandre Mazzanti^{II}

RESUMO

Nessa pesquisa foi utilizado o homoenxerto de osso esponjoso conservado em glicerina a 98% em cães submetidos à artrodese atlantoaxial. O objetivo foi testar e comparar o implante homogêneo com o enxerto autógeno e com a realização da remoção da cartilagem articular isoladamente. Foram utilizados 12 cães, com peso médio de 10kg, distribuídos aleatoriamente em três grupos iguais. Grupo I (GI): realizada apenas a remoção da cartilagem articular e imobilização articular com pinos e resina acrílica. Grupo II (GII): após a remoção da cartilagem articular e imobilização da articulação, foi realizada a colocação e modelagem do implante ósseo esponjoso homogêneo entre as superfícies articulares. Grupo III (GIII): foi realizado o mesmo procedimento do GII, no entanto, foi utilizado enxerto ósseo esponjoso autógeno no local determinado. Exames radiográficos foram realizados em todos os animais aos 30, 60 e 90 dias de PO. Aos 90 dias de PO foi realizada a eutanásia dos animais para realização de testes de palpação

^I Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Avenida Roraima, n.1000, Bairro Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: rfestuga@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

^{II} Professor do Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.

manual, avaliação tomográfica e histológica. Para análise estatística da associação entre o grau de fusão articular, aplicou-se o Teste Qui-quadrado de independência. Os resultados dos testes foram avaliados pela significância exata, e considerados estatisticamente significantes a 5% ($p < 0,05$). Pelo teste de palpação manual e pelas imagens tomográficas não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos aos 90 dias de PO. A análise radiográfica da articulação atlantoaxial mostrou que o grau de fusão foi semelhante entre os tratamentos, sem diferença estatística, entre os tempos de evolução. Com relação ao estudo histopatológico da articulação atlantoaxial dos cães decorridos 90 dias de PO foi verificado que a neoformação óssea no grupo I apresentou grau de intensidade proporcional, no grupo II, 75% leve e 25% acentuada e no grupo III, 25% moderada e 75% acentuada. Pode-se concluir que a utilização de implante homogêneo conservado em glicerina a 98% ou apenas a remoção da cartilagem articular são alternativas para o tratamento de cães submetidos à artrodese atlantoaxial.

Palavras-chave: artrodese atlantoaxial, osso homogêneo, neurologia, cão.

ABSTRACT

This study used homogenous cancellous bone graft preserved in 98% glycerin in dogs undergoing atlantoaxial arthrodesis. The aim was to test and compare the homogenous implant with autogenous graft and the removal of joint cartilage alone. Twelve dogs, weighing between 8 and 12 kg were randomly divided into three groups. Group I (GI) performed only the removal of joint cartilage and joint immobilization with acrylic resin and pins. Group II (GII): After removal of joint cartilage and articular immobilization was performed modeling and placement of homogenous cancellous bone at the given location. The volume of homograft placed in the joint was measured using a precision balance and all animals received the same amount. Group III (GIII): This was the same procedure as GI, however, was used autogenous cancellous bone graft

at the given location. Radiographic examinations were performed on all animals at 30, 60 and 90 days postoperatively. At 90 days of PO was carried out euthanasia of animals for testing of manual palpation and CT evaluation and histological. Samples were kept in solution in 10% buffered formaldehyde for fixation for a minimum of 72 hours and after, decalcified in formic acid and sodium citrate for subsequent processing and included in paraffin. Sections were stained with hematoxylin-eosin for light microscopy evaluation. Statistical analysis of the association between the degree of joint fusion assessed by manual palpation, the digitized radiographic images and CT scans and treatment groups, we applied the Chi-square test of independence. The test results were evaluated by the exact significance and considered statistically significant at 5% significance ($p < 0.05$). By manual palpation test and by the CT images can be seen that there was no statistically significant difference between groups at 90 days postoperatively. Radiographic analysis of the atlantoaxial joint showed that the degree of fusion was similar among treatments, no statistical difference at 30, 60 and 90 days postoperatively. Regarding the histopathological study of atlantoaxial joint of dogs after 90 days postoperatively was found that bone formation in group I had 25% of each intensity (absent, mild, moderate, severe) in group II, 75% lighter and 25% sharp and in group III, 25% moderate and 75% severe. It can be concluded that the use of graft homogenous preserved in 98% glycerin in dogs undergoing atlantoaxial fusion method is a viable alternative for treatment of atlantoaxial instability. One can also conclude that there is no difference in the degree of fusion was performed only removal of joint cartilage, suggesting that this may be an alternative treatment of atlantoaxial instability

Key words: atlantoaxial instability, cancellous bone, neurology, dog.

INTRODUÇÃO

Em cães, o tratamento cirúrgico para a instabilidade atlantoaxial (IAA) inclui diferentes técnicas de estabilização dorsal ou ventral. As complicações na fixação ventral são menos comuns do que no acesso dorsal (SHARP & WHEELER, 2005) e os resultados de diversos trabalhos sugerem que a estabilização da articulação atlantoaxial pela abordagem ventral possa ser mais segura do que a dorsal (THOMAS et al., 1991), pois possibilita a remoção da superfície articular entre o atlas e o eixo, o que poderia acelerar o processo de fusão (SCHULZ et al., 1997).

Durante os procedimentos de fusão articular se utiliza o enxerto autógeno (EA) esponjoso (THOMAS et al., 1991; SCHULZ et al., 1997; SHIRES, 1998; PLATT et al., 2004; DEWEY, 2006; LORENZ & KORNEGAY, 2006; SHORES & TEPPER, 2007) para estimular a consolidação (HERBERT et al., 1998) e que, conforme DRESPE et al. (2005), é crucial para o sucesso do procedimento.

Porém, muitas vezes, a retirada do enxerto autógeno pode produzir efeitos indesejados no animal como dor e infecção no sítio doador (SANADA et al., 2003, SILVA et al., 2010), aumento do tempo de intervenção e a quantidade de enxerto obtida pode não ser suficiente (PIERMATTEI & FLO, 1999). Por essas razões, há muito interesse em desenvolver materiais alternativos para o enxerto ósseo autógeno (DRESPE et al., 2005), além da necessidade do desenvolvimento de técnicas de estocagem e preservação de osso esponjoso, constituindo bancos, facilmente criados com o uso de osso proveniente de doadores cadáveres (VOLPON & DA COSTA, 2000).

A glicerina é uma solução geralmente empregada para a fixação e conservação de materiais biológicos. Ela requer um período mínimo de 30 dias de conservação para que ocorra redução do potencial antigênico (DALECK et al., 1992). Diversos tecidos já foram preservados

nesse meio, no entanto não foi encontrada na literatura consultada referência sobre a conservação de osso esponjoso homogêneo.

Várias características são atribuídas a este conservante, o que o torna um conservante de eleição. A glicerina atua sobre a antigenicidade do implante biológico (PIGOSSI et al., 1971), o que torna o material conservado menos antigênico, preservando a elasticidade do mesmo e mantendo íntegras as características histológicas do tecido.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a remoção da cartilagem articular isoladamente ou associada ao enxerto autógeno de osso esponjoso ou implante homogêneo de osso esponjoso conservado em glicerina a 98% em cães submetidos à artrodese atlantoaxial.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 12 cães adultos, independente do sexo, sem raça definida, com idade média de quatro anos e peso médio de 10 kg. Eles foram alojados em baias individuais por um período mínimo de 15 dias, para adaptação ao local, onde receberam ração e água “*ad libitum*”. Foram vermifugados com pamoato de pirantel/praziquantel (25mg kg⁻¹), repetida após 15 dias.

Os cães foram distribuídos aleatoriamente em três grupos de igual número: Grupo I (GI) - realizada apenas a remoção da cartilagem articular (RCA) e imobilização articular com pinos e resina acrílica; Grupo II (GII)- após a remoção da cartilagem articular e imobilização da articulação, foi colocado e modelado implante ósseo esponjoso homogêneo no espaço articular (200mg no espaço e 300mg ao redor – determinado por balança de precisão); Grupo III (GIII) - realizado procedimento idêntico ao GII, no entanto, foi utilizado enxerto ósseo esponjoso autógeno.

O osso esponjoso foi coletado da região do tubérculo maior do úmero de cadáveres caninos sob método higiênico, mas não asséptico. Foram realizadas incisões crânio-lateral de pele e tecido subcutâneo sobre o tubérculo maior do úmero. A porção acromial do músculo deltóide foi afastada caudalmente expondo a metáfise proximal e o osso cortical removido com osteótomo e martelo ortopédico para colheita do osso esponjoso com auxílio de uma cureta. Após a coleta, o osso esponjoso homogêneo foi colocado em uma cuba (Figura 1A), higienizado com solução salina isotônica estéril (Figura 1B) e conservado em frascos estéreis previamente identificados contendo glicerina a 98% PA (Figura 1C) em temperatura ambiente, por um período mínimo de 30 dias, sendo a glicerina trocada decorridos dois dias de conservação.

Após jejum hídrico de 12 horas, os animais foram tranquilizados com sulfato de morfina ($0,7 \text{ mg kg}^{-1}$) associada na mesma seringa a acepromazina ($0,05 \text{ mg kg}^{-1}$) intramuscular, seguida de indução anestésica com propofol ($5,0 \text{ mg kg}^{-1}$, IV) e mantidos sob anestesia inalatória com isoflurano. A analgesia trans-operatória foi assegurada com o uso de fentanil ($0,002 \text{ mg kg}^{-1}$, IV) e realizado antibiótico profilático com cefalotina sódica (30 mg kg^{-1} , IV), 30 minutos antes do início da cirurgia.

A contensão, abordagem cirúrgica e imobilização em cada animal foi a mesma descrita em FESTUGATO et al. (2009). Exposta a articulação, foi realizada a remoção da cartilagem articular com auxílio de uma broca sulcada de 4mm acoplada a uma perfuratriz elétrica de baixa rotação, até a visualização do osso subcondral. Para estabilização da articulação atlantoaxial, foram utilizados dois pinos de Steimann associados à resina acrílica autopolimerizável, conforme técnica descrita por (SHARP & WHEELER, 2005).

Nos animais do grupo II, o implante foi removido do frasco de conservação e lavado com solução de cloreto de sódio 0,9% (SS) com auxílio de uma seringa acoplada a uma agulha hipodérmica 25x8. O osso esponjoso foi então colocado em uma cuba rim estéril contendo SS, na

qual permaneceu imerso por 10 minutos. Após, foi removido desse frasco e colocado em uma gaze embebida em sangue do campo operatório do receptor, realizada a pesagem do mesmo e colocação no local determinado.

Nos animais do grupo III, a colheita do osso esponjoso autógeno foi feita de forma semelhante ao acesso descrito para obtenção e conservação do enxerto, porém após a preparação da articulação atlantoaxial, seguida da pesagem e aplicação no local determinado.

A síntese do músculo longo do pescoço foi realizada com fio poliglactina 910 número 3-0 em um padrão de sutura contínua simples. Os músculos esternohioideos e o tecido subcutâneo foram aproximados utilizando-se fio poliglactina 910 em padrão contínuo simples. A sutura de pele foi realizada com fio mononáilon número 4-0 em pontos de Wolff.

Os animais foram submetidos à terapia antiinflamatória de meloxicam ($0,2 \text{ mg kg}^{-1}$, IM, por três dias) e sulfato de morfina ($0,3 \text{ mg kg}^{-1}$, via subcutânea, 6/6 horas, por 48 horas).

Os animais foram avaliados por teste de palpação manual (TPM), radiografia simples (RS), tomografia computadorizada (TC) e pela histologia. O TPM no segmento cervical submetido à artrodese foi realizado imediatamente após a eutanásia (realizada com administração de tiopental sódico [IV], e após a ausência do reflexo corneal, aplicação de cloreto de potássio [IV]). Cada segmento, desprovido dos pinos e de tecidos moles, foi manipulado por dois avaliadores que não sabiam qual tratamento o animal recebeu. A articulação foi avaliada como grau 2 - rígida, ausência de movimentação, grau 1 - reduzida mobilidade articular rotacional, grau 0 - movimento articular rotacional típico, conforme LIPPMAN et al. (2004). Após realização do TPM, as amostras foram mantidas em solução de formaldeído tamponado a 10%.

Os exames radiográficos simples foram realizados em todos os animais aos 30, 60 e 90 dias após o procedimento cirúrgico, nas incidências ventro-dorsal e látero-lateral. As radiografias foram submetidas a um processo de digitalização através de câmera digital e armazenadas no

formato JPEG representando as imagens originais. As imagens digitalizadas foram interpretadas por dois radiologistas que não tinham conhecimento a qual grupo o animal pertencia. Para a quantificação radiográfica do grau de fusão atlantoaxial os observadores utilizaram uma graduação de zero a três, modificados de COOK et al. (2004): grau 0 - nenhuma formação óssea; grau 1 - formação óssea mínima; grau 2 - formação óssea com fusão parcial; grau 3 - formação óssea com fusão completa. Foram avaliados separadamente os dois lados da articulação, sendo que o processo odontóide do áxis foi eleito como ponto central.

A tomografia computadorizada (TC) do segmento cervical foi realizada para detecção de fusão da articulação atlantoaxial. O aparelho utilizando foi modelo helicoidal GE Healthcare, seguindo os seguintes parâmetros: 16,2 cm DFOV, 130 Kv, 80mA, 1mm *gap*, 1mm *slice*, plano coronal e filtro para osso. Utilizou-se uma escala de graduação de fusão adaptada de GUPTA et al. (2007) que varia de 0 a 4: 0 = sem formação óssea; 1 = formação óssea unilateral, mas sem fusão; 2 = formação óssea bilateral, mas sem fusão; 3 = fusão unilateral; 4 = fusão bilateral.

Para histologia, as amostras foram descalcificadas em ácido fórmico e citrato de sódio para posterior processamento e inclusão em parafina. Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina-eosina, para avaliação em microscopia ótica. Na análise microscópica avaliou-se quantitativamente ([-] ausente, [+] leve, [+ +] moderada, [+ + +] acentuada) a ocorrência de neoformação óssea.

Para análise estatística da associação entre o grau de fusão articular, avaliado por palpção manual, das imagens radiográficas digitalizadas e tomográficas e os grupos de tratamento, aplicou-se o Teste Qui-quadrado de independência. Para análise estatística da associação entre o grau de fusão articular, avaliado pela histologia aplicou-se o teste Kruskal-Wallis. Os resultados dos testes foram avaliados com nível de significância de 5%.

Foi realizado o teste Kappa (FLEISS, 1973) para avaliar o grau de concordância entre os avaliadores. Os valores obtidos foram classificados de acordo com a escala modificada de LANDIS & KOCH (1977): **(0-0,20)** pobre; **(0,21-0,40)** regular; **(0,41-0,60)** moderado; **(0,61-0,80)** bom; **(0,81-0,99)** excelente e **1,00** = perfeito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os animais toleraram o procedimento e deambularam imediatamente após a recuperação anestésica. Nenhuma complicação ou infecção relacionada à ferida cirúrgica foi observada. Em cinco cães foi verificado edema na face ventral do pescoço, mas que regrediu no sétimo dia de PO. Isto provavelmente ocorreu pela manipulação dos tecidos e da localização cirúrgica ventral que favorecem o acúmulo de líquidos no espaço intersticial. Todos os cães do grupo III, ou seja, que receberam enxerto de osso esponjoso autógeno apresentaram claudicação do membro torácico direito no pós-operatório (PO) imediato devido ser o local de colheita, mas que regrediu entre o segundo e terceiro dia de PO.

No teste de palpação manual, aos 90 dias de PO, duas das quatro amostras dos grupos I e II foram classificadas como grau 2 (rígida, ausência de movimentação) e as outras duas apresentaram reduzida mobilidade articular rotacional (grau 1). No grupo III, três amostras receberam grau 2 e a outra recebeu grau 1 de um avaliador e grau 2 do outro. Não houve diferença significativa entre os tratamentos e o valor do coeficiente Kappa observado foi de 0,824, estatisticamente significativa ($P < 0,05$), indicando um nível excelente de concordância entre os examinadores.

Pode-se perceber pela análise radiográfica da articulação atlantoaxial que o grau de fusão foi semelhante entre os grupos, não havendo diferença estatística entre os tratamentos nos

diferentes tempos de PO ($P < 0,05$). Aos 90 dias de PO, no LE, um animal do GI apresentou formação óssea com fusão completa, outros dois, formação óssea com fusão parcial e um com formação óssea mínima. No GII, três animais apresentaram formação óssea com fusão parcial e o outro, nenhuma formação óssea. Três animais do grupo GIII apresentaram formação óssea com fusão parcial e um apresentou formação óssea mínima (avaliador 1) ou formação óssea com fusão parcial (avaliador 2). No LD, um animal do GI apresentou formação óssea com fusão completa, um apresentou formação óssea com fusão parcial, um com formação óssea mínima e o outro demonstrou formação óssea mínima (avaliador 1) ou formação óssea com fusão parcial (avaliador 2). No GII, três animais demonstraram formação óssea com fusão parcial e um, formação óssea mínima. Dois animais do GIII com formação óssea com fusão parcial e outros dois formação óssea mínima (Figura 2). O coeficiente Kappa observado aos 30 e 60 dias de PO foi 1,000, estatisticamente significativo ($P < 0,05$) indicando um nível perfeito de concordância. Aos 90 dias de PO, o nível de concordância foi excelente (0,824) e estatisticamente significativo ($P < 0,05$).

Os graus de fusão detectados pela tomografia computadorizada foram semelhantes aos da avaliação radiográfica, sem diferença significativa entre os grupos. No GI, um animal apresentou fusão no lado esquerdo e formação óssea, mas sem fusão no lado direito, os outros três animais apresentaram formação óssea bilateral sem fusão. No GII, um animal apresentou formação óssea unilateral, mas sem fusão no lado esquerdo e o lado direito sem formação óssea, os demais apresentaram formação óssea bilateral, mas sem fusão. No GIII, um animal apresentou formação óssea, mas sem fusão no lado esquerdo e o lado direito sem formação óssea, dois animais apresentaram formação óssea bilateral, mas sem fusão e o outro mostrou fusão no lado esquerdo e formação óssea, mas sem fusão no lado direito (Figura 2). Os resultados em graus das avaliações para detecção de fusão intervertebral são mostrados para cada grupo na tabela 1.

Conforme STEVENSON (1990) o enxerto autógeno de osso esponjoso promove fusão óssea superior a qualquer outro tipo de aloimplante. Diversos autores propõem a sua utilização durante o procedimento de fusão da articulação atlantoaxial LORENZ & KORNEGAY, 2006; SHORES & TEPPER, 2007) para estimular a consolidação (HERBERT et al., 1998) e conforme DRESPE et al., (2005) é crucial para o sucesso do procedimento, pois contribui ativamente na osteogênese através das células que sobrevivem ao transplante (ALEXANDER, 1987), é rapidamente incorporado pelo receptor e não possui diferença quanto à histocompatibilidade (MARTINEZ & WALKER, 1999). No entanto, os achados desse experimento mostram que o osso esponjoso homogêneo apresenta resultados semelhantes ao enxerto autógeno quanto ao grau de fusão articular.

Os animais do grupo I apresentaram resultados semelhantes aos demais grupos e não tiveram complicações no PO como as ocorridas no estudo de JESEREVICS et al. (2008). Esses autores utilizaram o acesso ventral para estabilização da articulação atlantoaxial com parafusos corticais em dez cães sem utilizar enxerto autógeno e sem remoção da cartilagem articular e seis deles tiveram migração dos implantes por instabilidade articular. Conforme SCHULZ et al. (1997) remoção da superfície articular entre o atlas e o eixo pode acelerar o processo de fusão e conseqüente a estabilização articular, o que provavelmente possa ter colaborado para a não ocorrência de migração dos implantes nos 12 animais do presente estudo, juntamente com a resina acrílica autopolimerizável.

Das 12 amostras, duas foram consideradas completamente fusionadas (GI) pela radiografia simples, e duas pela tomografia computadorizada (uma do GI e outra do GIII), no entanto, o teste de palpação manual revelou sete amostras com fusão. Considera-se o TPM como o mais importante para detecção de fusão intervertebral atualmente, corroborando com DRESPE

et al. (2005) e utilizado por WHEELER et al. (2007), BRANSFORD et al. (2007), MINAMIDE et al. (2007) e O'LOUGHLIN et al. (2009).

SORJONEM & SHIRES (1981) estudaram 18 animais submetidos à artrodese atlantoaxial pelo acesso ventral com remoção da cartilagem articular e utilização de enxerto autógeno e que sofreram eutanásia na sexta semana de PO. Os autores citam que nesse período, na avaliação radiográfica, três animais apresentaram evidência de fusão da articulação, confinada as bordas mediais e laterais. No entanto, no TPM, dez amostras foram consideradas fusionadas, classificadas como rígidas ou firmes.

Conforme MING YEE et al. (2004) vários métodos de avaliação de fusão estão em desenvolvimento e usados atualmente e alguns estudos têm questionado a validade das radiografias simples em determinar a fusão intervertebral (CHRISTENSEN et al., 2001; COOK et al., 2004). BLUMENTHAL & GILL (1993) compararam a avaliação radiográfica simples com o teste de palpação manual e concluíram que a radiografia simples pode subestimar o grau de fusão em um osteóide pré-mineralizado, que pode estar funcionalmente fusionado, mas ainda não apresenta radioluscência, o que provavelmente ocorreu nas cinco outras amostras da presente pesquisa. SCHULZ et al. (1997) citam que a presença da resina acrílica autopolimerizável dificulta a avaliação radiográfica da progressão da artrodese.

Conforme BARAMKI et al. (2000) a TC é mais sensível e específica que a radiografia simples e, tem sido usada por diversos autores (GUPTA et al., 2007; CANAVESE et al., 2007; LEE et al., 2008; CARTER et al., 2009) para detecção de fusão intervertebral. Porém, COOK et al. (2004) ao comparar as avaliações radiográfica e tomográfica com a histológica, concluíram que a TC é superior a radiografia simples para detectar a fusão intervertebral, no entanto, foi ineficaz em determinar a extensão da fusão óssea presente e confirmada na histologia, destacando também a superioridade do TPM sobre os demais exames.

Com relação ao estudo histopatológico da articulação atlantoaxial dos cães decorridos 90 dias de PO foi verificado que a proliferação óssea no grupo I apresentou 25% de cada intensidade (ausente, leve, moderada, acentuada), no grupo II, 75% leve e 25% acentuada e no grupo III, 25% moderada e 75% acentuada, não havendo diferença estatística entre os tratamentos ($P < 0,05$). Como era esperado e corroborando com WHEELER et al. (2007) a incorporação do enxerto autógeno foi superior, com excelente integração óssea. No entanto, com exceção de um animal, todos os demais dos grupos I e II apresentaram características histopatológicas semelhantes, com proliferação óssea (Figura 3). COOK et al. (2001) utilizaram enxerto de osso esponjoso na fusão espinhal em cães e observaram evidências de fusão histológica definida como nova formação óssea e remodelação do enxerto, semelhante ao encontrado na atual pesquisa. De forma geral, as características histológicas encontradas nos animais do grupo I, não diferem das encontradas nos demais grupos.

CONCLUSÃO

Por meio da análise radiográfica, tomográfica, histopatológica e pelo teste de palpação manual verificou-se que não existe diferença quanto ao grau de fusão articular e formação óssea quando a técnica de artrodese atlantoaxial for associada ao enxerto de osso esponjoso autógeno ou implante homogêneo. A remoção da cartilagem articular isoladamente é uma alternativa eficiente e apresenta resultados semelhantes ao uso de enxerto autógeno ou implante homogêneo.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê em Ética em Pesquisa com animais da Universidade Federal de Santa Maria, sob o nº 014/2011 e seguiu os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, J.W. Bone grafting. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.17, n.4, p.811-819, 1987.

BARAMKI, H.G. et al. The efficacy of interconnected porous hydroxyapatite in achieving posterolateral lumbar fusion in sheep. **Spine**, v.25, p.1053-1060, 2000.

BLUMENTHAL, S.L.; GILL, K. Can lumbar spine radiographs accurately determine fusion in postoperative patients? Correlation of routine radiographs with a second surgical look at lumbar fusions. **Spine**, v.18, p.1186-1189, 1993.

BODEN, S.D. et al. Laparoscopic anterior spinal arthrodesis with rhBMP-2 in a titanium interbody threaded cage. **Journal of Spinal Disorders**, v.11, p.95-101, 1998.

BRANSFORD, R. Effect of zoledronic acid in an L6–L7 rabbit spine fusion model. **Europe Spine Journal**, v.16, p.557-562, 2007.

BRODSKY, A.E. et al. Correlation of radiologic assessment of lumbar spine fusions with surgical exploration. **Spine**, v.16, p.261-265, 1991.

CANAVESE, F. et al. Dorsal arthrodesis of thoracic spine and effects on thorax growth in prepubertal New Zealand white rabbits. **Spine**, v.32, n.16, p.443-450, 2007.

CARTER, J.D. et al. Clinical and radiographic assessment of transforaminal lumbar interbody fusion using HEALOS collagen-hydroxyapatite sponge with autologous bone marrow aspirate. **The Spine Journal**, v. 9, p. 434 - 438, 2009.

CHRISTENSEN, F.B. et al. Interobserver and intraobserver agreement of radiograph interpretation with and without pedicle screw implants: the need for a detailed classification system in posterolateral spinal fusion. **Spine**, v. 26 p. 538 - 544, 2001.

COOK, S.D. et al. Low-intensity pulsed ultrasound improves spinal fusion. **The Spine Journal**, v.1, p. 246 - 254, 2001.

COOK, S.D. et al. Comparison of methods for determining the presence and extent of anterior lumbar interbody fusion. **Spine**, v. 29, n 10, p. 1118 - 1123, 2004.

CORONADO, G.S. et al. Effects of a 98% solution of glycerol or sterilization with ethylene oxide on FeLV in bone allografts and effects on bone incorporation of allografts in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 6, n. 61, p. 665 - 671, 1998.

COSTA NETO, J. M. et al. Tenoplastia experimental de calcâneo em cães com peritônio bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, v.29, n.4, p.697 - 703, 1999.

CURYLO, L.J. et al. Augmentation of spinal arthrodesis with autologous bone marrow in a rabbit posterolateral spine fusion model. **Spine**, v. 24, p. 434 - 439, 1999.

DALECK, C.R. et al. Reparação de hérnia perineal em cães com peritônio de bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, v. 22, n. 2, p. 179 - 183, 1992.

DEL CARLO, R.J. et al. Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados. **Revista Brasileira de Cirurgia Veterinária**, v. 6, n. 3, p. 121 - 126, 1999.

DENNY, H.R. et al. Atlantoaxial subluxation in the dog: a review of 30 cases and an evaluation of treatment by lag screw fixation. **Journal of Small Animal Practice**, v. 29, p. 37 - 41, 1988.

DEWEY, C. W. **Neurologia de Cães de Gatos – Guia Prático**. 1.ed. São Paulo, Roca, 2006, 353p.

DRESPE, I.H. et al. Animal models for spinal fusion. **The Spine Journal**, v. 5, p. 209 - 216, 2005.

- FESTUGATTO, R. et al. Modificação da técnica de abordagem ventral à articulação atlantoaxial sem a secção do músculo esternotireóideo. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p.1239 - 1242, 2009.
- FLEISS, J.L. **Statistical methods for rates and proportions**. New York, John Wiley & Sons, 1973.
- GUPTA M.C. et al. Efficacy of mesenchymal stem cell enriched grafts in an ovine posterolateral lumbar spine model. **Spine**, v. 32, n. 7, p. 720 - 726, 2007.
- HAMILL, C.L.; SIMMONS, E.D. Interobserver variability in grading lumbar fusions. **Journal of Spinal Disorders**, v. 10, p. 387 - 390, 1997.
- HERBERT, S. et al. **Ortopedia e Traumatologia: Princípios e Prática**. 2.ed. Porto Alegre: Art. Méd., 1998.
- HOLLIGER, E.H. et al. Morphology of the lumbar intertransverse process fusion mass in the rabbit model: a comparison between two bone graft materials—rhBMP-2 and autograft. **Journal of Spinal Disorders**, v. 9, p. 125 - 128, 1996.
- JEFFERY, N.D. Dorsal cross pinning of the atlantoaxial joint: New surgical technique for atlantoaxial subluxation. **Journal of Small Animal Practice**, v. 37, p. 26 - 29, 1996.
- JESEREVICS et al. Stabilisation of atlantoaxial subluxation in the dog through ventral arthrodesis. **Schweiz Arch Tierheilk**, v. 150, p. 69 - 76, 2008.
- JOHNSON, S.G.; HULSE, D.A. Odontoid dysplasia with atlantoaxial instability in a dog. [Journal of the American Animal Hospital Association](#), v. 25, p. 400 - 404, 1989.
- KANT, A.P. et al. Evaluation of lumbar spine fusion: plain radiographs versus direct surgical exploration and observation. **Spine**, v. 20, p. 2313–2317, 1995.
- LAASONEN, E. M.; SOINI, J. Low-back pain after lumbar fusion. Surgical and computed tomographic analysis. **Spine**, v. 14, p. 210 - 213, 1989.

LANDIS, J.R. & KOCH, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v.33, n.1, p. 159 - 174, 1977.

LeCOUTEUR, R.A. et al. Stabilization of atlantoaxial subluxation in the dog using the nuchal ligament. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 177, n. 10, p. 1011 - 1017, 1980.

LEE, T.C. et al. Application of extracorporeal shock wave treatment to enhance spinal fusion: a rabbit experiment. **Surgical Neurology**, v. 70, p. 129 - 134, 2008.

LIPPMAN C.R. et al. Cervical spine fusion with bioabsorbable cages. **Neurosurgery Focus**, v. 16, n. 3, p. 1 - 10, 2004.

LORENZ, M.D.; KORNEGAY, J.N. **Neurologia Veterinária**. 4.ed. Manole, São Paulo. 2006, 467p.

MARTINEZ, S.A.; WALKER, T. Bone grafts. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.29, n.5, p.1207 - 1219, 1999.

MAZZANTI, A. et al. Restauração do diafragma de cão com centro tendinoso de ovino conservado em glicerina a 98%. **Revista Brasileira de Cirurgia Veterinária**, v. 8, n. 2, p. 117-120, 2001.

MAZZANTI, A. et al. Homoimplante ortotópico conservado, associado à terapia “soft laser” na reparação tenopatelar em cão. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 429 - 437, 2004.

MINAMIDE, D. et al. The effects of bone morphogenetic protein and basic fibroblast growth factor on cultured mesenchymal stem cells for spine fusion. **Spine**, v. 32, n. 10, p. 1067 - 1071, 2007.

MING YEE, A.J. et al. Accuracy and interobserver agreement for determinations of rabbit posterolateral spinal fusion. **Spine**, v. 29, n. 12, p. 1308 - 1313, 2004.

OLBY, N.; PLATT, S. **Canine and Feline Neurology**, 3.ed. Inglaterra, 2004, 350 p.

OLIVER, J.E.; LEWIS, R.E. Lesions of the atlas and axis in dogs. [Journal of the American Animal Hospital Association](#), v. 9, p. 304 - 313, 1973.

O'LOUGHLIN, P.F. et al. Parathyroid hormone (1-34) augments spinal fusion, fusion mass volume, and fusion mass quality in a rabbit spinal fusion model. **Spine**, v. 34, n. 2, p. 121 - 130, 2009.

PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L. **Manual de Ortopedia e Tratamento das Fraturas dos Pequenos Animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1999, p. 139 - 145.

PIGOSSI, N. et al. Estudo experimental e clínico sobre o emprego, como implante, de dura-máter homóloga conservada em glicerina a temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 17, p. 263 - 278, 1971.

PINTO JÚNIOR, H.S. et al. Enxertos ósseos homólogos preservados em glicerina a 98%. Técnica de enxertia e avaliação clínico-cirúrgica. **A Hora Veterinária**, n. 92, p. 72 - 76, 1996.

PLATT, S.R. et al. A modified ventral fixation for surgical management of atlantoaxial subluxation in 19 dogs. **Veterinary Surgery**, v. 33, p. 349 - 354, 2004.

PUJOL, E. et al. Use of the Kishigami atlantoaxial tension band in eight toy breed dogs with atlantoaxial subluxation. **Veterinary Surgery**, v. 39, p. 35 - 42, 2010.

RAISER, A.G. et al. Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo em cães. Conservação, assepsia e implantação. **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, p.89 - 94, 2001.

RANZANI, J.J. et al. Implante de pericárdio de equino preservado em glicerina em solução de continuidade do diafragma de cão. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.27, n.1, p.65 - 73, 1990.

RENEGAR, W.R.; STOLL, S.G. The use of methylmethacrylate bone cement in the repair of atlantoaxial subluxation stabilization failures - case report and discussion. [Journal of the American Animal Hospital Association](#), v.15, p. 313 - 318, 1979.

SANADA, J.T. et al. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. **Journal of Applied Oral Science**, v. 11, p. 209 - 215, 2003.

SANDERS, G. et al. Outcomes and complications associated with ventral screws, pins, and polymethylmethacrylate for atlantoaxial instability in 12 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 43, p. 204 - 210, 2004.

SCHULZ, K.S. et al. Application of ventral pins and polymethylmethacrylate for the management of atlantoaxial instability: Results in nine dogs. **Veterinary Surgery**, v. 26, n. 4, p. 317 - 325, 1997.

SHARP, N.J.H.; WHEELER, S.J. **Small animal spinal disorders. Diagnosis and surgery**. 2.ed. Philadelphia: Elsevier Mosby. 2005. 380p.

SHIRES, K. Instabilidade atlantoaxial. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. v. 1, 2.ed. São Paulo: Manole, 1998, cap. 73, p. 1261 - 1269.

SHORES, A.; TEPPER, L.C. A modified ventral approach to the atlantoaxial junction in the dog. **Veterinary Surgery**, v.36, p. 765 - 770, 2007.

SILVA et al. Avaliação da dor e morbidade local da retirada do enxerto ósseo da crista ilíaca para artrodese cervical anterior. **Coluna**, v. 9, n. 4, out./dez., 2010.

SORJONEN, D.C.; SHIRES, P.K. Atlantoaxial instability: A ventral surgical technique for decompression, fixation, and fusion. **Veterinary Surgery**, v. 10, p. 22 - 29, 1981.

STEVENSON, S. Bone grafting. In: BOJRAB, M.J.; BIRCHARD, S.J.; TOMLINSON, J.L. **Current techniques in small animal surgery**, 3.ed. Philadelphia : Lea & Febiger, 1990. Cap.3, p.836-844.

THOMAS, W.B. et al. Surgical management of atlantoaxial subluxation in 23 dogs. **Veterinary Surgery**, v. 20, n. 6, p.409 - 412, 1991.

VOLPON, J.B.; DA COSTA, R.M. Ensaio mecânico e uso clínico do enxerto homogêneo processado. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 35, n. 6, p. 219 - 224, 2000.

WHEELER, D.L. et al. Efficacy of silicated calcium phosphate graft in posterolateral lumbar fusion in sheep. **The Spine Journal**, v. 7, p. 308 - 317, 2007.

ZILIOTTO, L. et al. Utilização de implante ósseo cortical alógeno conservado em glicerina para preservação de membro torácico: estudo experimental em cães. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 18, n. 2, p. 107 - 115, 2003.

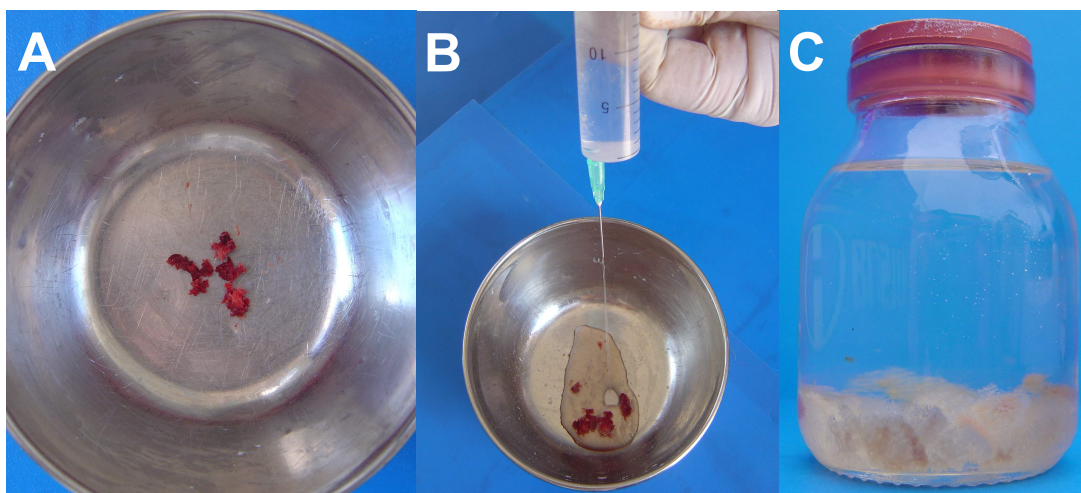


Figura 1 – Remoção da cartilagem articular associada ou não a implante homogêneo ou enxerto autógeno de osso esponjoso em cães submetidos à artrodese atlantoaxial. **A.** Osso esponjoso em uma cuba previamente coletado do tubérculo maior do osso úmero. **B.** Higienização com solução salina isotônica estéril. **C.** Osso esponjoso homogêneo conservado em frascos com glicerina a 98% em temperatura ambiente por um período mínimo de 30 dias.

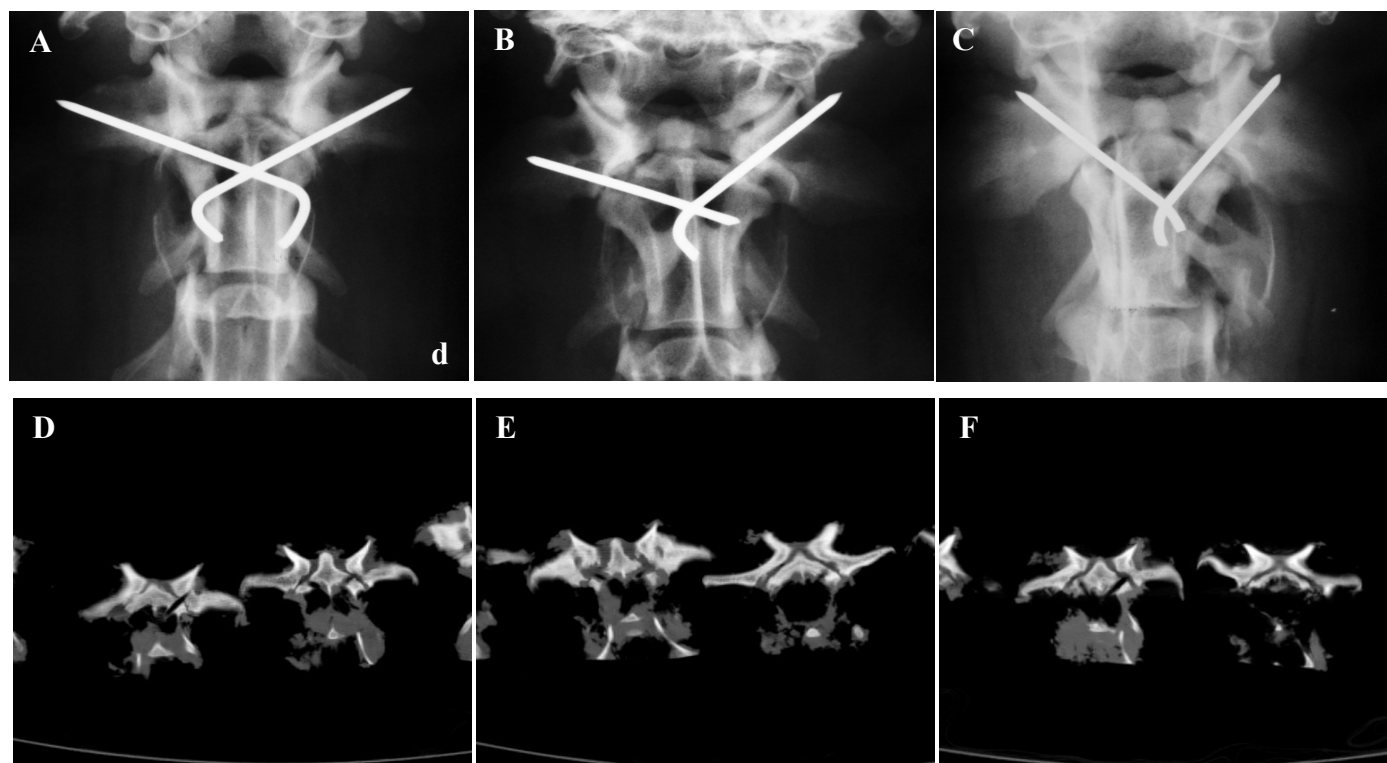


Figura 2- Remoção da cartilagem articular associada ou não a implante homogêneo ou enxerto autólogo de osso esponjoso em cães submetidos à artrodese atlantoaxial. Imagens radiográficas simples (A, B e C) e tomográficas (D, E, e F) aos 90 dias de PO. **A.** Verifica-se formação óssea com fusão completa no lado esquerdo e formação óssea com fusão parcial no lado direito. Em **B,** verifica-se, formação óssea com fusão parcial bilateral. **C.** formação óssea intervertebral mínima bilateral. **D.** fusão no lado esquerdo e formação óssea, mas sem fusão no lado direito **E.** formação óssea bilateral sem fusão. **F.** formação óssea unilateral, mas sem fusão no lado esquerdo e o lado direito sem formação óssea. **d.** lado direito do animal para todas as imagens.

Tabela 1- Remoção da cartilagem articular associada ou não a implante homogêneo ou enxerto autógeno de osso esponjoso em cães submetidos à artrodese atlantoaxial. Graduação das amostras realizada pelos observadores através das imagens radiográficas simples (RS) (30, 60 e 90 dias de PO), tomográficas (TC), teste de palpação manual (PM) e avaliação quantitativa dos achados microscópicos na área dos implantes ósseos aos 90 dias de PO.

| Grupo | Avaliação Cão | TC | | RS | | | | | | PM | | HISTOLOGIA | |
|-------|------------------|----|----|--------------|-----|-----|-------------|-----|-----|----------|---------|-------------------|-----|
| | | LE | LD | Avaliador 1/ | | | Avaliador 2 | | | Aval. 1/ | Aval. 2 | Neoformação óssea | |
| | | | | LE | LD | 30 | 60 | 90 | 30 | | | | 60 |
| GI | 1 | 3 | 1 | 1/1 | 2/2 | 3/3 | 2/2 | 2/2 | 2/2 | 2 | / | 2 | +++ |
| | 2 | 2 | 2 | 1/1 | 0/0 | 2/2 | 1/1 | 2/2 | 3/3 | 1 | / | 1 | ++ |
| | 3 | 2 | 2 | 0/0 | 0/0 | 1/1 | 1/2 | 1/1 | 1/2 | 2 | / | 2 | - |
| | 4 | 2 | 2 | 0/0 | 1/1 | 2/2 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1 | / | 1 | + |
| GII | 1 | 1 | 0 | 0/0 | 0/0 | 0/0 | 1/1 | 1/1 | 2/2 | 2 | / | 2 | +++ |
| | 2 | 2 | 2 | 1/1 | 1/1 | 2/2 | 1/1 | 2/2 | 2/2 | 1 | / | 1 | + |
| | 3 | 2 | 2 | 1/1 | 1/1 | 2/2 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 1 | / | 1 | + |
| | 4 | 2 | 2 | 1/1 | 1/1 | 2/2 | 0/0 | 1/1 | 2/2 | 2 | / | 2 | + |
| GIII | 1 | 1 | 0 | 1/1 | 1/1 | 2/1 | 1/1 | 1/1 | 2/2 | 2 | / | 1 | ++ |
| | 2 | 2 | 2 | 0/0 | 1/1 | 2/2 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 2 | / | 2 | +++ |
| | 3 | 2 | 2 | 0/0 | 1/1 | 2/2 | 1/1 | 2/2 | 2/2 | 2 | / | 2 | +++ |
| | 4 | 3 | 1 | 1/1 | 1/1 | 2/2 | 1/1 | 1/1 | 1/1 | 2 | / | 2 | +++ |

(-) ausente, (+) leve, (++) moderada, (+++) acentuada

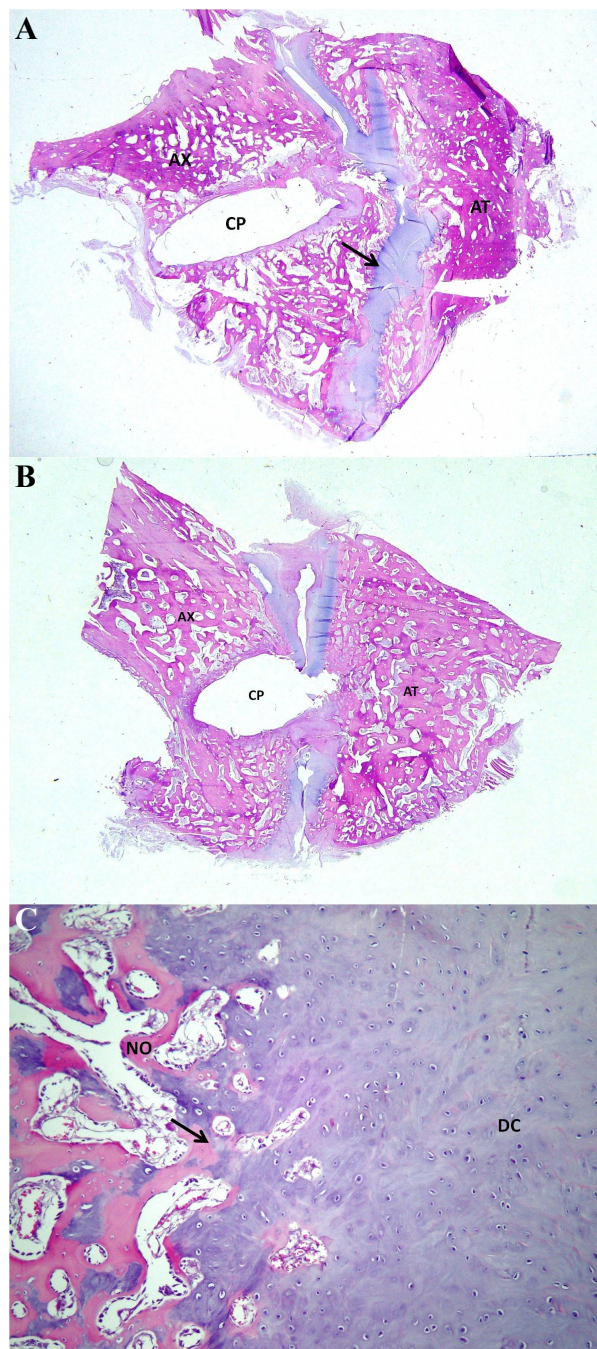


Figura 3 – Remoção da cartilagem articular associada ou não a implante homogêneo ou enxerto autólogo de osso esponjoso em cães submetidos à artrodese atlantoaxial. Avaliação histológica aos 90 dias de PO. **A.** Imagem sub-macroscópica de um corte longitudinal da articulação atlanto-axial de um animal do grupo I. (AT) Porção do atlas. (AX) Porção do eixo. (CP) Cavidade do pino. A seta mostra a fusão das cartilagens articulares do eixo e do atlas. HE. **B.** Imagem sub-macroscópica de um corte longitudinal da articulação atlanto-axial de um animal do grupo II. (AT) Porção do atlas. (AX) Porção do eixo. (CP) Cavidade do pino. HE. **C.** - Observa-se neoformação óssea (NO) e extensa área de diferenciação condroide (DC). Nota-se área com transição da matriz condroide em matriz osteoide (seta) em um animal do grupo III. HE. 40x.

4. DISCUSSÃO

Após a descrição do primeiro caso de instabilidade atlantoaxial (IAA) na literatura veterinária (GEARY et al. 1967), vários casos tem sido relatados, e o seu tratamento é ainda motivo de controvérsia. Em cães, o tratamento cirúrgico para a IAA inclui técnicas de estabilização dorsal e ventral (SHARP & WHEELER, 2005).

Os trabalhos recentes mostram uma tendência à utilização das técnicas de estabilização pelo acesso ventral (JESEREVICS et al., 2008) demonstrada por sua aplicação por diversos autores (SORJONEN & SHIRES, 1981; JOHNSON & HULSE, 1989; DENNY et al., 1988; THOMAS et al., 1991; SCHULZ et al., 1997; SANDERS et al., 2004; PLATT et al., 2004; SHORES & TEPPER, 2007; JESEREVICS et al., 2008; DICKOMEIT et al., 2011), provavelmente devido ao baixo risco cirúrgico e a fusão permanente entre o atlas e o eixo (JESEREVICS et al., 2008) auxiliada pela utilização de enxerto autógeno (LORENZ & KORNEGAY, 2006).

Todos os autores citados anteriormente, com exceção de Shores & Tepper (2007) realizam a secção do músculo esternotireóideo durante o acesso ventral a articulação atlantoaxial, no entanto, de acordo com resultados sua secção é um procedimento desnecessário e que não interfere na exposição da AA e na realização da artrodese em pelo acesso ventral (FESTUGATTO, 2009).

O osso autógeno é o enxerto mais utilizado na prática cirúrgica (SORJONEN & SHIRES, 1981; JOHNSON & HULSE, 1989; THOMAS et al., 1991; SCHULZ et al., 1997; SHIRES, 1998; PLATT et al., 2004; OLBY, 2004; DEWEY, 2006; LORENZ & KORNEGAY, 2006; SHORES & TEPPER, 2007). Porém, apresenta uma série de inconvenientes como dor, maior período de convalescença e susceptibilidade às infecções no sítio doador (DAWSON et al., 1981; GOSAIN, 1997, SANADA et al., 2003), edema HARRISS et al. (2004) e fratura do local de coleta (FERGUSON, 1996). VASSEUR (1998) cita que a coleta de osso de cadáveres permite a obtenção de maior quantidade de tecido, além de diminuir o tempo cirúrgico, vantagens que foram observadas durante a realização desta pesquisa.

O implante homogêneo foi conservado em glicerina a 98% por um período mínimo de 30 dias, conforme recomendado por Daleck et al. (1992). Devido ao efeito desidratante da glicerina sobre o implante, levando a liquefação do meio e conseqüentemente torna a solução menos

concentrada (PINTO JÚNIOR et al.1996), a mesma foi substituída nos dois primeiros dias de conservação.

O implante permaneceu por um período de 10 minutos em solução salina isotônica para a reidratação e remoção do excesso do conservante. Esta duração também foi utilizada por Cavassani et al. (2001), ao contrário, dos estudos realizados por Mazzanti et al. (2004) e Salbego (2006) que necessitaram de 24 horas para reidratação com intuito de resgatar a maleabilidade e facilitar a implantação no leito receptor.

Embora os trabalhos de Pigossi et al. (1971) e de Coronado et al. (1998) demonstraram que a glicerina não atuava sobre esporos e vírus, a reidratação do implante foi somente com solução salina, ao contrário do protocolo utilizado por Raiser (2001) e Mazzanti et al., (2004) que adicionaram iodo-povidine a 10% a esta solução. A pressão durante a lavagem copiosa do implante por solução salina com auxílio de uma seringa acoplada a uma agulha hipodérmica 25x8, provavelmente contribuiu para a não ocorrência de infecção no leito receptor. Por outro lado, Del Carlo et al. (1999) testaram seis diferentes métodos de preservação de aloimplante cortical e notaram que a glicerina a 98% não foi efetiva na esterilização do osso e alterou suas propriedades biomecânicas. Neste estudo, no entanto, a conformação estrutural trabeculada e menos densa do osso esponjoso provavelmente tenha contribuído para uma atuação efetiva da glicerina. Além disto, não foram notados sinais clínicos de rejeição do implante, corroborando com os achados de Salbego (2006).

A padronização do peso do enxerto em 500mg foi importante para o estudo comparativo, sendo esta quantidade definida após o preenchimento do espaço articular e ao seu redor. DeVries et al. (1996) afirmaram que um preenchimento excessivo não aumenta o potencial osteogênico e, se o preenchimento for parcial, pode ocorrer retardo na fusão óssea. Desta forma, concluíram que se deve empregar um volume suficiente para preencher o defeito e, assim, obter o máximo efeito osteogênico do osso transplantado.

A classificação quanto ao grau de fusão articular realizada pelos observadores foi mediante análise das imagens radiográficas digitalizadas e sua projeção em um monitor. A opção em utilizar este método foi com base no estudo feito Attaelmanan et al. (2000) que afirmaram inúmeras vantagens da radiografia digital sobre o filme convencional. A capacidade de melhorar a qualidade da imagem, através de tratamentos gráficos, aumentar áreas específicas ("zoom") e

facilitar o armazenamento em disquetes ou CDs são citadas, embora nesse estudo tenha-se aproveitado apenas a facilidade de armazenagem e distribuição aos avaliadores.

5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nas duas pesquisas realizadas pode-se concluir que a preservação do músculo esternotireoideo e a utilização de enxerto homogêneo conservado em glicerina a 98% em cães submetidos à artrodese atlantoaxial com pinos e resina acrílica autopolimerizável, são procedimentos viáveis para o tratamento de instabilidade atlantoaxial. Pode-se concluir também que não existe diferença quanto ao grau de fusão articular quando foi realizada apenas a remoção da cartilagem articular, sugerindo que essa técnica possa ser usada como alternativa.

6. BIBLIOGRAFIA

ATTAELMANAN, A. et al. Digitization and display of intra-oral films. **Dentomaxillofacial Radiology**, v.29, p.97 - 102, 2000.

BEAVER, P. et al. Risk factors affecting the outcome of surgery for atlantoaxial subluxation in dogs: 46 cases (1978-1998). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 216, n 7, p. 1104 - 1109, 2000.

CAVASSANI, M.M. Função osteoindutora de fragmentos ósseos conservados em glicerina a 98%. Estudo experimental em ratos. **Ciência Rural**, v. 31, n. 3, p.445 - 448, 2001.

CORONADO, G.S. et al. Effects of a 98% solution of glycerol or sterilization with ethylene oxide on FeLV in bone allografts and effects on bone incorporation of allografts in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 6, n. 61, p. 665 - 71, 1998.

DALECK, C.R. et al. Reparação de hérnia perineal em cães com peritônio de bovino conservado em glicerina. **Ciência Rural**, v.22, n.2, p.179-183, 1992.

DEL CARLO, R.J. et al. Aloenxertos ósseos caninos diferentemente preservados. **Revista Brasileira de Cirurgia Veterinária**, v. 6, n. 3, p. 121-26, 1999

DAWSON E.G. et al. Intertransverse process lumbar arthrodesis with autogenous bone graft. **Clinical Orthopedics**, v. 15, p. 90 - 113, 1981.

DENNY, H.R. et al. Atlantoaxial subluxation in the dog: a review of 30 cases and an evaluation of treatment by lag screw fixation. **Journal of Small Animal Practice**, v. 29, p. 37 - 41, 1988.

DeVRIES, W.J. et al. Effect of volume variations on osteogenic capabilities of autogenous cancellous bone graft in dog. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 10, p.1501 - 1505, 1996.

DEWEY, C. W. **Neurologia de Cães de Gatos – Guia Prático**. 1.ed. São Paulo, Roca, 2006, 353p.

DICKOMEIT, M. et al. Use of 1,5 mm butterfly locking plate for stabilization of atlantoaxial pathology in three toy breeds dogs. **Veterinary compendium of orthopedics and traumatology**, v. 24, p. 246 - 251, 2011.

FERGUSON, J.F. Fracture of the humerus after cancellous bone graft harvesting in a dog. **The Journal of Small Animal Practice**, v. 37, p. 232 - 234, 1996.

FESTUGATTO, R. et al. Modificação da técnica de abordagem ventral à articulação atlantoaxial sem a secção do músculo esternotireóideo. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p.1239 - 1242, 2009.

FOX, S.M. Cancellous bone grafting in the dog: An overview. [Journal of the American Animal Hospital Association](#), v. 20, p. 840 - 848, 1984.

FRANCO, K.L. et al. Pure synthetic hydroxyapatite: transmitted light microscopy osteointegration aspects. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, p. 1-7, 2001.

GEARY, J. C. Atlantoaxial luxation in the canine. **Journal of Small Animal Practice**, v. 8, p. 577 - 580, 1967.

GILMORE, D. R. Nonsurgical management of four cases of atlantoaxial subluxation in the dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 20, p. 93 - 96, 1984.

GIOSO, M. A. et al. Análise microbiológica de ossos de cães conservados por longo período de tempo na glicerina a 98% à temperatura ambiente, objetivando a extertia óssea. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 17, n. 4, p. 242 - 246, 2002.

GOSAIN, A.K. Hydroxyapatite cement paste cranioplasty for the treatment of temporal hollowing after cranial vault remodeling in a growing child. **Journal of Craniomaxillofacial Surgery**, v. 8, p.506-511, 1997.

HARRISS, F. K. et al. Evaluation of a technique for collection of cancellous bone graft from the proximal humerus in horses. **Veterinary Surgery**, v. 33, p. 293 - 300, 2004.

JESEREVICS et al. Stabilisation of atlantoaxial subluxation in the dog through ventral arthrodesis. **Schweiz Arch Tierheilk**, v. 150, p. 69 - 76, 2008.

JOHNSON, S.G.; HULSE, D.A. Odontoid dysplasia with atlantoaxial instability in a dog. [Journal of the American Animal Hospital Association](#), v. 25, p. 400 - 404, 1989.

LeCOUTEUR, A. et al. Stabilization of atlantoaxial subluxation in the dog using the nuchal ligament. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 177, n. 10, p. 1011 - 1017, 1980.

LeCOUTEUR, A.; CHILD, G. Afecções da medula espinal. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. v. 1, 4.ed. São Paulo: Manole, 1997, cap. 83, p. 892 - 977.

LORENZ, M.D.; KORNEGAY, J.N. **Neurologia Veterinária**. 4ª ed. Manole, São Paulo. 2006. 467p.

LORIGRADOS, C.A. et al. Estudo clínico-radiográfico da subluxação atlantoaxial congênita em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 368 - 374, 2004.

MARTINEZ, S.A.; WALKER, T. Bone grafts. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 29, n. 5, p. 1207 - 1219, 1999

MCCARTHY, R.J. et al. Atlantoaxial subluxation in dogs. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinaria**, v. 17, p. 215 - 226, 1995.

MAZZANTI, A. et al. Homoimplante ortotópico conservado, associado a terapia “soft laser” na reparação tenopatelar em cão. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 429 - 437, 2004.

MOREAU, P. Inestabilidad vertebral. In: PELLEGRINO, F.; SURANITI, A.; GARIBALDI, L. **Síndromes neurológicas em perros y gatos**. Buenos Aires: Panamericana, 2000, cap. 7, p. 161 - 171.

MUMMANENI, P.V.; HAID, R.W. Atlantoaxial fixation: Overview of all techniques. **Neurology India**, v. 53, n. 4, p. 408 - 415, 2005.

NIXON, A. J.; STASHAK, T. S. Laminectomy for relief of atlantoaxial subluxation in four horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, n. 6, p. 677 - 682, 1988.

OLBY, N.; PLATT, S. **Canine and Feline Neurology**, 3.edição. Inglaterra, 2004, 350 p.

OLIVER, J.E.; LEWIS, R.E. Lesions of the atlas and axis in dogs. [Journal of the American Animal Hospital Association](#), v. 9, p. 304 - 313, 1973.

PALMISANO, M.P.; SCHRADER, S.C. Premature closure of the proximal physis of the humerus in a dog as a result of harvesting a cancellous bone graft. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 10, p. 1460 - 1462, 1999.

PIERMATTEI, D. L.; FLO, G. L. **Manual de Ortopedia e Tratamento das Fraturas dos Pequenos Animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1999, p. 139 - 145.

PIGOSSI, N. et al. Estudo experimental e clínico sobre o emprego, como implante, de dura-máter homóloga conservada em glicerina a temperatura ambiente. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 17, p. 263 - 78, 1971.

PINTO JÚNIOR, H.S. et al. Enxertos ósseos homólogos preservados em glicerina a 98%. Técnica de enxertia e avaliação clínico-cirúrgica. **A Hora Veterinária**, n. 92, p. 72 - 76, 1996.

PLATT, S.R. et al. A modified ventral fixation for surgical management of atlantoaxial subluxation in 19 dogs. **Veterinary Surgery**, v. 33, p. 349 - 354, 2004.

PUJOL, E. et al. Use of the Kishigami atlantoaxial tension band in eight toy breed dogs with atlantoaxial subluxation. **Veterinary Surgery**, v. 39, p. 35 - 42, 2010.

RAISER, A.G. et al. Homoimplante ortotópico de tendão calcâneo em cães. Conservação, assepsia e implantação. **Ciência Rural**, v. 31, n. 1, p.89 - 94, 2001.

SALBEGO, F.Z. **Substituição do ligamento cruzado cranial em cães, por segmento teno-ósseo homólogo conservado em glicerina a 98%, submetidos a diferentes protocolos de reabilitação** 2006. 124f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

SANADA, J.T. et al. Análise histológica, radiográfica e do perfil de imunoglobulinas após implantação de enxerto de osso esponjoso bovino desmineralizado em bloco em músculo de ratos. **Journal of Applied Oral Science**, v. 11, p. 209 - 215, 2003.

SANDERS, G. et al. Outcomes and complications associated with ventral screws, pins, and polymethylmethacrylate for atlantoaxial instability in 12 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 43, p. 204 - 210, 2004.

SCHENA III, C.J. The procurement of cancellous bone for grafting in small animal orthopedic surgery: a review of instrumentation, technique, and pathophysiology. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 19, p. 695 - 701, 1983.

SCHULZ, K.S. et al. Application of ventral pins and polymethylmethacrylate for the management of atlantoaxial instability: Results in nine dogs. **Veterinary Surgery**, v. 26, n. 4, p. 317 - 325, 1997.

SEIM, H.S. Cirurgia da espinha cervical. In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 1.ed. São Paulo: Roca, 2002, cap.34, p.1157 - 1215.

SHARP, N.J.H., WHEELER, S.J. **Small animal spinal disorders. Diagnosis and surgery**. 2.ed. Philadelphia: Elsevier Mosby. 2005. 380p.

SHIRES, K. Instabilidade atlantoaxial. In: BOJRAB, M.J.; BIRCHARD, S.J.; TOMLINSON, J.L. **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, 1996, cap.42, p. 545 - 564.

SHIRES, K. Instabilidade atlantoaxial. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. v. 1, 2.ed. São Paulo: Manole, 1998, cap. 73, p. 1261 - 1269.

SHORES, A.; TEPPER, L.C. A modified ventral approach to the atlantoaxial junction in the dog. **Veterinary Surgery**, v.36, p. 765 - 770, 2007.

SILVA et al. Avaliação da dor e morbidade local da retirada do enxerto ósseo da crista ilíaca para artrodese cervical anterior. **Coluna**, v. 9, n. 4, out./dez., 2010.

SORJONEN, D.C.; SHIRES, P.K. Atlantoaxial instability: A ventral surgical technique for decompression, fixation, and fusion. **Veterinary Surgery**, v. 10, p. 22 - 29, 1981.

STAINKI, D.R. et al. Instabilidade atlanto-axial em canino: breve revisão e relato de caso. **Revista Faculdade Zootecnia Veterinária Agronomia**, v. 5/6, n. 1, p. 77 - 81, 1998/99.

THACHER, C. Biomecânica das fraturas cranianas, espinais e luxações. In: BOJRAB, M.J. **Mecanismos da moléstia na cirurgia de pequenos animais**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1996, cap 135, p. 1150 - 1160.

THOMAS, W.B.et al. Surgical management of atlantoaxial subluxation in 23 dogs. **Veterinary Surgery**, v. 20, n. 6, p.409 - 412, 1991.

TREVOR, P.B. et al. Evaluation of the proximal portion of the femur as an autogenous cancellous bone donor site in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 9, p. 1599 - 1603, 1992.

VASSEUR, F. B. Articulação do joelho. Ruptura do ligamento cruzado cranial. In: Slatter, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. Cap. 137, p. 2156-2160.

WEIGEL, J.P. Bone grafting. In: BOJRAB, M.J.; SMEAK, D.D.; BLOOMBERG, M.S. **Disease mechanisms in small animal surgery**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap. 98, p. 678 - 684.