

CAMILA CRISTINA ISHIKAWA

**Efeitos da contração do músculo cricotireoideo na
vibração cordal: estudo experimental com
videolaringoscopia de alta velocidade**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Otorrinolaringologia

Orientador: Prof. Dr. Domingos Hiroshi
Tsuji

Versão corrigida. A versão original
encontra-se disponível tanto na
Biblioteca da Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo quanto
na Biblioteca Digital de Teses e
Dissertações da USP (BDTD)

**São Paulo
2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ishikawa, Camila Cristina

Efeitos da contração do músculo cricotireoideo na vibração cordal: estudo experimental com videolaringoscopia de alta velocidade / Camila Cristina Ishikawa. -- São Paulo, 2016.

Tese(doutorado)—Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Otorrinolaringologia.

Orientador: Domingos Hiroshi Tsuji.

Descritores: 1.Prega vocal 2.Laringe 3.Músculos laríngeos 4.Voz
5.Cadáver 6.Epidemiologia experimental 7.Laringoscopia

USP/FM/DBD-200/16

Aos meus pais, Tisako e Wilson, meus maiores exemplos e incentivadores. Obrigada por todo amor, dedicação e apoio incondicionais, que foram essenciais na minha formação e na concretização dos meus sonhos.

Ao meu marido Celso, sempre ao meu lado, paciente, compreensivo e me apoiando. Obrigada pela felicidade de conviver com você diariamente!

Ao meu irmão Marcelo, pela amizade, pelo companheirismo e pela presença em todos os momentos importantes da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

Ao **Prof. Dr. Domingos Hiroshi Tsuji**, Professor Associado da Disciplina de Otorrinolaringologia da FMUSP, meu mestre e orientador, por quem tenho enorme admiração e sou eternamente grata pela amizade, pela confiança e pelas oportunidades proporcionadas. Seus ensinamentos e conselhos foram essenciais no meu desenvolvimento profissional.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Ferreira Bento**, Professor Titular da Disciplina de Otorrinolaringologia da FMUSP, pela admirável capacidade de liderança, possibilitando a formação acadêmica de seus alunos neste centro de excelência.

Ao **Prof. Dr. Luiz Ubirajara Sennes**, Professor Associado e Coordenador do Programa de Pós-Graduação da Disciplina de Otorrinolaringologia da FMUSP, exemplo de pessoa ética e de cirurgião, obrigada pela amizade e pelos ensinamentos, que muito contribuíram para o meu crescimento.

Ao **Dr. Rui Imamura**, **Prof. Dr. Richard Voegels** e **Dr. Luiz Prata Figueiredo**, pelas observações pertinentes e valiosas durante meu exame de qualificação.

Á amiga **Dra. Adriana Hachiya**, pelas críticas e sugestões desde o início do trabalho, quando ainda era apenas um projeto. Obrigada pela amizade dentro e fora da Otorrinolaringologia, pela disponibilidade e pelos incentivos constantes.

Aos médicos assistentes do Grupo de Laringologia do Hospital das Clínicas da FMUSP, **Dr. Ronaldo Frizzarini**, **Dra. Patricia Paula Santoro** e **Dr. Henry Ugadin Koishi**, pelos ensinamentos.

À amiga **Thaís Gonçalves Pinheiro**, minha parceira de pesquisa, disciplinas e experimentos. Obrigada pela amizade e por tornar esses últimos anos mais prazerosos.

Aos amigos **Alexandre Akio Nakasato**, **Ali Mahmoud**, **Alex Itar Ogawa**, **Bárbara Elvina Ulisses Parente Queiroz**, **Henrique Faria Ramos**, **Marystella Tomoe Takahashi Ramos** e **Tatiana Alves Monteiro**, pela convivência prazerosa e pelas boas recordações da época da residência.

Às secretárias da Clínica de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da FMUSP **Maria Márcia Alves**, **Maria Marilede Alves**, **Lucivânia Lima da Silva** e **Katia Teresa Kayano Cota**, que sempre com muita gentileza me auxiliaram desde os tempos da residência.

Ao **Prof. Dr. Carlos Augusto Pasqualucci**, diretor do Serviço de Verificação de Óbitos da Capital da Universidade de São Paulo (SVOC-USP), por permitir o acesso às laringes utilizadas nesse trabalho, e a todos seus funcionários, em especial ao **Sr. Nilton Fontes Neuman**, que tornou possível a obtenção do material de estudo.

À **Adriana**, técnica do Laboratório de Investigação Médica da Otorrinolaringologia da FMUSP, pela colaboração com os experimentos realizados nesse local.

Ao **Prof. Dr. Arlindo Neto Montagnoli**, pela contribuição no trabalho através do fornecimento do programa X-CAD e pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei.

Aos imprescindíveis cadáveres que, anonimamente, possibilitaram a realização dos experimentos.

Aos familiares dos cadáveres que, num momento de imensa dor, foram fortes para contribuir para a pesquisa científica.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela contribuição financeira por meio da bolsa de estudos.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver). Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	2
2 OBJETIVOS	6
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	8
3.1 Estudos experimentais com laringes excisadas.....	8
3.2 O músculo cricotireoideo e o nervo laríngeo superior.....	12
3.3 Paralisia do músculo cricotireoideo	17
3.4 Avaliação da vibração cordal.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.1 Aspectos éticos	34
4.2 Material	34
4.3 Métodos	35
4.3.1 Preparo das laringes.....	35
4.3.2 Obtenção da vibração.....	36
4.3.3 Técnica para simulação da contração do CT.....	39
4.3.4 Registro da Vibração Cordal.....	40
4.3.5 Obtenção das medidas de vibração das pregas vocais por videoendoscopia de alta velocidade	41
4.3.6 Análise estatística dos dados.....	44
5 RESULTADOS	46
5.1 Frequência fundamental.....	46
5.2 Periodicidade da vibração.....	48
5.3 Amplitude de vibração das pregas vocais.....	49
5.4 Simetria de fase entre as pregas vocais	50

6 DISCUSSÃO.....	52
6.1 Laringologia experimental	52
6.2 Avaliação da vibração cordal.....	55
6.3 Impacto da contração do CT na vibração cordal	57
7 CONCLUSÕES.....	66
8 ANEXOS.....	68
8.1 Anexo A - Tamanho das pregas vocais, frequência fundamental em hertz e em diferença em semitons das laringes estudadas.....	68
8.2 Anexo B - Amplitude de vibração das pregas vocais das laringes estudadas	69
8.3 Anexo C - Simetria de fase entre as pregas vocais das laringes estudadas	70
9 REFERÊNCIAS	72
10 APÊNDICE	
10.1 APÊNDICE A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CAPES	Coordenação de Pesquisa de Pessoal de Nível Superior
CEP	Comissão de Ética e Pesquisa
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CT	cricotireoideo
DKG	videoquimografia digital (<i>digital kymography</i>)
DP	desvio padrão
Dr.	Doutor
Dra.	Doutora
ed.	edição
EEG	Equações de Estimação Generalizadas
<i>et al.</i>	e outros
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GPEM	Grupo de Pesquisa em Engenharia Médica
IC	intervalo de confiança
JCT	junção cricotireoidea
LEMG	eletromiografia laríngea
máx.	máximo
mín.	mínimo
NLR	nervo laríngeo recorrente
NLS	nervo laríngeo superior
OQ	quociente de abertura (<i>open quotient</i>)
p.	página
Prof.	Professor
PVD	prega vocal direita
PVE	prega vocal esquerda
SQ	quociente de velocidade (<i>speed quotient</i>)

Sr.	Senhor
st	diferença em semitons
SVOC	Serviço de Verificação de Óbito da Capital
TA	tireoaritenoideo
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
USP	Universidade de São Paulo
v.	volume
VKG	videoquimografia (<i>videokymography</i>)
X-CAD	<i>Larynx-Computer Aided Diagnosis</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

%	por cento
±	mais ou menos
≥	maior ou igual
°	graus
°C	graus Celsius
Ag ₀	área glótica inicial
cm	centímetros
F ₀	frequência fundamental
g	gramas
Hz	hertz
L/min	litros por minuto
log	logaritmo
mm	milímetros
ms	milissegundos
N	tamanho da amostra
p	significância estatística

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Aparato para experimentos com laringes excisadas utilizado por van den Berg e Tan (1959).....	10
Figura 2	Topografia das três porções do CT	12
Figura 3	Desenho da visão lateral de laringe, mostrando os possíveis deslocamentos na junção cricotireoidea.....	14
Figura 4	Nervo laríngeo superior e seus ramos.....	16
Figura 5	Laringe de voluntário antes e após injeção de anestésico no trajeto do NLS.....	20
Figura 6	Desvio do pequíolo da epiglote na paresia do ramo externo do nervo laríngeo superior direito	24
Figura 7	Apresentação esquemática da vibração das pregas vocais durante fonação.....	26
Figura 8	Formação da imagem na videoestrobolarigoscopia	28
Figura 9	Visão anterior de laringe excisada após retirada de estruturas anexas, com preservação dos músculos intrínsecos laríngeos.....	36
Figura 10	Visão superior de laringe excisada após remoção da epiglote e bandas ventriculares para melhor exposição das pregas vocais.....	36
Figura 11	Visão superior de laringe, mostrando fio de nylon passando pelos processos vocais e envolvendo as aritenoides para promover a adução das pregas vocais.....	37
Figura 12	Visão da região posterior da laringe, mostrando fio de nylon envolvendo as cartilagens aritenoides, antes da confecção do ponto para promover a adução das pregas vocais.....	37
Figura 13	Visão superior da laringe no suporte, após adução das pregas vocais, com o fio 5 mm para referência das medidas.	38
Figura 14	Esquema do sistema experimental usado para obtenção da vibração das pregas vocais e gravação das imagens.	39

Figura 15	Visão lateral e anterior de laringe excisada, mostrando suturas realizadas para simulação da contração do músculo cricótireoideo.	40
Figura 16	Cálculo da frequência fundamental utilizando a Transformada Rápida de Fourier no programa HRES Endocam 5562.....	42
Figura 17	Utilização do programa X-CAD, mostrando a medida da amplitude de cada prega vocal a partir da linha média.....	43
Figura 18	Videoquimografia digital obtida pelo programa HRES Endocam 5562 no terço médio da glote mostrando vibração regular.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Descrição das medidas resumo da frequência fundamental (F_0) em hertz segundo cada situação estudada e resultado da comparação por EEG.....	46
Tabela 2	Resultado do teste Comparações Múltiplas de Bonferroni para a variável frequência fundamental (F_0) em hertz entre as três situações estudadas.	47
Tabela 3	Descrição das medidas resumo da diferença da frequência fundamental (F_0) em semitons segundo cada situação estudada e resultado da comparação por EEG.....	47
Tabela 4	Resultado do teste Comparações Múltiplas de Bonferroni para a variável diferença da frequência fundamental (F_0) em semitons entre as três situações estudadas.	48
Tabela 5	Descrição das medidas resumo da amplitude para prega vocal direita e esquerda segundo situação estudada e lado, e resultado da comparação por EEG.....	49
Tabela 6	Resultado do teste Comparações Múltiplas de Bonferroni para a variável amplitude entre as três situações estudadas	49
Tabela 7	Descrição da porcentagem de simetria de fase entre as pregas vocais encontrada em cada situação estudada e resultado da comparação por EEG.....	50

RESUMO

Ishikawa CC. *Efeitos da contração do músculo cricótireoideo na vibração cordal: estudo experimental com videolaringoscopia de alta velocidade* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

INTRODUÇÃO: O grande desafio para o laringologista perante o quadro de paralisia unilateral do músculo cricótireoideo é fazer o diagnóstico do comprometimento desse músculo por meio da laringoscopia. Não existe consenso na literatura em relação aos achados vibratórios que possam servir como comprovação dessa condição. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da contração do músculo cricótireoideo sobre a vibração das pregas vocais usando a videolaringoscopia de alta velocidade e tentar encontrar um ou mais achados que pudessem ser utilizados como um sinal indicativo de paralisia unilateral do músculo cricótireoideo. **MÉTODOS:** Realizou-se um estudo experimental com 20 laringes excisadas de cadáveres humanos adultos masculinos. A vibração cordal foi produzida artificialmente com a passagem de ar comprimido através das pregas vocais. Cada laringe foi avaliada em três situações: contração bilateral do músculo cricótireoideo, contração unilateral do músculo cricótireoideo e ausência de contração de ambos os músculos cricótireoideos. Os seguintes parâmetros foram avaliados pela videolaringoscopia de alta velocidade: frequência fundamental, periodicidade da vibração, amplitude de vibração das pregas vocais e simetria de fase entre as pregas vocais. **RESULTADOS:** A diminuição da tensão longitudinal das pregas vocais decorrente da ausência de contração do músculo cricótireoideo unilateral e bilateral mostrou não alterar a periodicidade da vibração e a presença de assimetria de fase entre as pregas vocais, mas houve uma diminuição significativa da frequência fundamental ($p < 0,001$). Observou-se, também, um aumento da amplitude de vibração das pregas vocais direita e esquerda ($p < 0,05$), que apresentaram comportamento semelhante para esse parâmetro nas diferentes situações estudadas. **CONCLUSÕES:** A diminuição da tensão nas pregas vocais, causada pela ausência da contração do músculo cricótireoideo unilateral e bilateral, resultou em uma diminuição da frequência fundamental e em um aumento da amplitude de vibração. A presença de periodicidade em todas as laringes sugere que a videoestroboscopia, método usado mais frequentemente na prática clínica, possa ser um método adequado para

avaliar pacientes com paralisia unilateral do músculo cricotireoideo. E, finalmente, os resultados sugerem que a paralisia unilateral do músculo cricotireoideo parece não ser capaz de produzir uma assimetria de tensão suficiente para induzir diferença de amplitude de vibração e de fase entre as pregas vocais e, desta forma, esses parâmetros não podem ser utilizados para fazer uma diferenciação segura dessa condição.

Descritores: pregas vocais; laringe; músculos laríngeos; voz; cadáver; epidemiologia experimental; laringoscopia.

ABSTRACT

Ishikawa CC. *Effects of cricothyroid muscle contraction on vocal fold vibration: experimental study with laryngeal high-speed videoendoscopy* [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2016.

INTRODUCTION: The great challenge for laryngologists dealing with cricothyroid muscle paralysis is to diagnose impaired cricothyroid muscle function using laryngoscopy. There is no consensus in the literature on the vibratory findings that can be used as a proof of this condition. The aim of this study was to evaluate the effects that cricothyroid muscle contraction has on vocal fold vibration as evaluated with high-speed videoendoscopy, and to identify one or more aspects of the vocal fold vibration that could be used as an indicator of unilateral cricothyroid muscle paralysis. **METHODS:** We conducted an experimental study on 20 larynges excised from adult male human cadavers. Laryngeal vibration was artificially produced by compressed air passing through the vocal folds. Each larynx was assessed in three situations: bilateral cricothyroid muscle contraction, unilateral cricothyroid muscle contraction and no contraction of either cricothyroid muscle. The following parameters were evaluated by high-speed videoendoscopy: fundamental frequency, periodicity, amplitude of vocal fold vibration, and phase symmetry between the vocal folds. **RESULTS:** Although neither unilateral nor bilateral cricothyroid muscle contraction altered periodicity of vibration or the occurrence of phase asymmetry, there was a significant decrease in fundamental frequency in parallel with the decreasing longitudinal tension ($p < 0,001$). We also found an increase in vibration amplitude of right and left vocal folds ($p < 0,05$), which were similar in terms of their behavior for this parameter in the various situations studied. **CONCLUSION:** Decreased vocal fold tension caused by the absence of unilateral or bilateral contraction of cricothyroid muscle resulted in a decrease in fundamental frequency and an increase in vibration amplitude. The presence of regular periodicity in all studied larynges suggests that videostroboscopy, method most frequently used in clinical practice, may be a suitable method for the evaluation of patients with unilateral cricothyroid muscle paralysis. We also believe that unilateral cricothyroid muscle paralysis is not capable of causing a sufficient degree of tension asymmetry to induce phase asymmetry or a difference in vibration amplitude between

the vocal folds and, hence, these parameters can't be used as reliable indicators of this condition.

Descriptors: vocal folds; larynx; laryngeal muscles; voice; cadaver; experimental epidemiology; laryngoscopy.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A voz é a principal ferramenta de comunicação humana e é única para cada indivíduo. A voz reflete nosso estado emocional, físico e nível sociocultural. Uma alteração na qualidade vocal pode causar isolamento social, depressão e redução da qualidade de vida geral e específica do indivíduo.

A voz é resultado da interação entre a vibração da mucosa vocal causada pela passagem de fluxo de ar e um sistema neuromuscular sofisticado que controla a posição, a tensão e o formato das pregas vocais (Döllinger *et al.*, 2011). É característica da voz humana a capacidade de controle extremamente fino da emissão vocal, com a produção de sons que variam em intensidade e frequência. A frequência fundamental da voz (F_0) pode ser definida pelo número de ciclos que as pregas vocais vibram em um segundo e é medida em ciclos por segundo ou Hertz (Hz). Na fala em português brasileiro, os valores médios da F_0 variam de 113 a 142 Hz para os homens e de 206 a 226 Hz para as mulheres (Behlau *et al.*, 1985; Pegoraro-Krook e Castro, 1994; Araújo *et al.*, 2002; Naufel de Felipe *et al.*, 2006). Diferentemente da frequência fundamental, que é uma medida objetiva, o termo *pitch* vocal é usado para determinar a sensação auditiva de uma pessoa ao estímulo sonoro, sendo o correspondente perceptivo da F_0 . Quando a frequência fundamental é maior, o som é mais agudo e o *pitch* é mais alto. Quando a frequência fundamental é menor, o som é mais grave e o *pitch* é mais baixo (Isshiki, 1989). Quando nos referimos ao *pitch*, dentre as várias escalas existentes, uma bastante utilizada é a escala musical em notas ou semitons. De maneira geral, a extensão vocal de um indivíduo equivale a pelo menos duas oitavas, sendo que cada oitava corresponde a doze semitons. Entretanto, existe grande variabilidade individual em função do sexo e educação vocal (Vargas *et al.*, 2005).

A F_0 é regulada principalmente por três fatores: comprimento, tensão e massa das pregas vocais (Isshiki, 1989). Pregas vocais mais tensas, mais curtas e mais finas vibram em uma frequência mais elevada. O principal responsável pela modulação da F_0 é o músculo cricotireoideo (CT), cuja contração resulta no encurtamento do espaço cricotireoideo, mediante o deslocamento da cartilagem tireoidea para baixo e da cartilagem cricoidea para cima. Este movimento alonga, afila e tensiona as pregas vocais (Sulica, 2004), resultando em um aumento do *pitch* e da frequência fundamental (Isshiki, 1959).

Do ponto de vista clínico, é relativamente fácil suspeitar de paralisia do músculo CT a partir da história clínica do paciente que, invariavelmente, se queixa de dificuldade em emitir sons agudos, seja de forma repentina, seja após um episódio de trauma cirúrgico ou não na região cervical. Além disso, pode se apresentar com fadiga vocal, rouquidão e distúrbio no volume (Dursun *et al.*, 1996; Eckley *et al.*, 1998). Dependendo da intensidade dos sintomas, pode causar um impacto significativo na performance vocal.

O grande desafio para o laringologista perante esse quadro é fazer o diagnóstico do comprometimento do músculo CT por meio da laringoscopia. Vários estudos na literatura procuraram identificar achados que pudessem ser utilizados como uma comprovação cabal da paralisia do CT. Infelizmente, não há consenso entre os autores. Dentre as alterações de configuração glótica, foi observada prega vocal encurtada do lado paralisado em modelo canino (Tanabe *et al.*, 1972) e em pacientes durante fonação (Adour *et al.*, 1980; Abelson e Tucker, 1981; Hanson *et al.*, 1988 e Tsai *et al.*, 2007). Outros autores, entretanto, não observaram essas alterações (Woodson *et al.*, 1998; Roy *et al.*, 2009b e Chhetri *et al.*, 2013). Alguns estudos mostraram rotação da comissura posterior para o lado paralisado durante estimulação elétrica em cães (Abelson e Tucker, 1981; Moore *et al.*, 1987 e Tanaka *et al.*, 1994) e durante fonação em pacientes (Adour *et al.*, 1980; Abelson e Tucker, 1981; Hanson *et al.*, 1988; Bevan *et al.*, 1989 e Tanaka *et al.*, 1994). Essas alterações, entretanto, não foram confirmadas por outros autores (Dedo, 1970; Sercarz *et al.*, 1992; Dursun *et al.*, 1996;

Eckley *et al.*, 1998; Woodson *et al.*, 1998; Tsai *et al.*, 2007 e Roy *et al.*, 2009b). Diferença na altura vertical das pregas vocais foi observada em cães (Moore *et al.*, 1987) e em pacientes com paralisia unilateral do CT (Dursun *et al.*, 1996; Eckley *et al.*, 1998 e Tsai *et al.*, 2007); o que, por outro lado, não foi visto em outros estudos (Dedo, 1970; Woodson *et al.*, 1998 e Roy *et al.*, 2009b). Roy *et al.* (2009b, 2011) observaram desvio do peçólo da epiglote para o lado da paralisia durante fonação. Também foi descrito, durante a fonação, uma lentidão da prega vocal (*vocal fold lag*) do lado paralisado em pacientes (Dursun *et al.*, 1996 e Eckley *et al.*, 1998). Algumas alterações na vibração foram observadas na paralisia unilateral do CT, como a assimetria de fase em cães (Tanabe *et al.*, 1972; Isshiki *et al.*, 1977 e Mendelsohn *et al.*, 2007), em porcos (Maunsell *et al.*, 2006) e em humanos (Isshiki *et al.*, 1977; Dursun *et al.*, 1996 e Mendelsohn *et al.*, 2007). Diminuição da amplitude de vibração no lado paralisado foi vista em cães (Tanabe *et al.*, 1972) e em pacientes (Sercarz *et al.*, 1992; Dursun *et al.*, 1996). Já Isshiki *et al.* (1977) descreveram que a prega vocal com menor amplitude era a mais tensa. Também foi constatada aperiodicidade vibratória em algumas laringes caninas (Isshiki *et al.*, 1977; Chhetri *et al.*, 2013) e humanas (Isshiki *et al.*, 1977).

Pressupomos que o efeito mecânico da paralisia unilateral do CT produziria um desequilíbrio na tensão longitudinal entre as pregas vocais e, conseqüentemente, uma assimetria no padrão vibratório durante a ativação deste músculo. Pressupomos, também, que a videolaringoscopia de alta velocidade, por ser uma ferramenta que permite uma melhor acurácia na avaliação dos parâmetros vibratórios, possa nos fornecer melhores esclarecimentos sobre as alterações funcionais da laringe na vigência dessa complexa causa de disfonia e, assim, permitir uma melhor acurácia diagnóstica para que os pacientes que sofram dessa condição sejam adequadamente tratados.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da contração dos músculos cricotireoideos sobre a vibração das pregas vocais e tentar encontrar um ou mais achados que pudessem ser utilizados como um sinal indicativo de paralisia unilateral do CT. Para isso, foram utilizadas laringes humanas excisadas frescas submetidas à simulação tanto da contração unilateral e bilateral do CT, quanto da ausência de contração bilateral do CT, colocando-as em vibração cordal artificial e avaliando-as segundo os seguintes parâmetros pela videolaringoscopia de alta velocidade:

- Frequência de vibração das pregas vocais;
- Periodicidade;
- Amplitude de vibração das pregas vocais;
- Simetria de fase.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Estudos experimentais com laringes excisadas

A laringe é um órgão que está situado anatomicamente em uma região de difícil mensuração e visualização. Além disso, em estudos humanos *in vivo*, é extremamente difícil separar os efeitos causados na laringe por variáveis independentes, que interagem simultaneamente. Dessa forma, muitos investigadores optaram pelo uso de modelos para o estudo da fisiologia laríngea. Esses modelos incluem modelos matemáticos teóricos que utilizam simulações computadorizadas, modelos *in vivo* em animais e modelos com laringes excisadas humanas ou de outras espécies animais (Berke *et al.*, 1987).

Segundo Cooper (1993), os primeiros experimentos sobre a produção da voz usando laringes excisadas parecem ser os de Leonardo da Vinci (1452-1519). Ele ainda não utilizava o termo “laringe”, mas notou a relação entre o fluxo aéreo por meio da compressão pulmonar e a produção da voz.

Antoine Ferrein (1741)¹ apud Cooper (1993) conduziu diversos estudos em laringes excisadas humanas e animais, e descreveu que, além do fluxo de ar, uma região de estreitamento na laringe era necessária para produção da voz. Descobriu que a frequência fundamental era controlada, primariamente, pela tensão da prega vocal.

Em 1839, Johannes Müller² apud Cooper (1993) publicou seu estudo quantitativo em laringes humanas excisadas, em que avaliou a relação entre tensão da prega vocal e pressão subglótica no controle da frequência fundamental. Müller e subsequentes pesquisadores descobriram ser possível a simulação da contração dos músculos intrínsecos laríngeos por

¹ Ferrein A. *De la formation de la voix de l'homme*. Histoire de l'Académie Royale des Sciences de Paris. 1741, 51:409.

² Müller J. *Über die Compensation der physischen Kräfte am menschlichen Stimmorgan*. Berlin, 1839.

meio de pesos fixados nas origens e inserções dos músculos, com exceção do músculo vocal (Cooper, 1993).

Réthi (1896)³ apud Cooper (1993) usou o microscópio para observar a movimentação de partículas de bronze nas pregas vocais de laringes excisadas sob iluminação estroboscópica, descrevendo o movimento vertical das pregas vocais.

van den Berg e Tan (1959) estudaram laringes humanas excisadas, com a introdução de um tubo na traqueia adaptado a uma fonte regulável de ar comprimido e conectado a um recipiente contendo água a 37°C para evitar o ressecamento da superfície mucosa (Figura 1). A vibração das pregas vocais e os fenômenos aerodinâmicos foram avaliadas pela estroboscopia sob a influência de diversos parâmetros. Descreveram como vantagens dos estudos com laringes excisadas a facilidade de visualização da vibração, a manutenção de condições constantes durante um tempo prolongado e a possibilidade de efetuar alterações controladas.

Isshiki *et al.* (1977) utilizaram o aparato de van den Berg e Tan (1959) para estudar a vibração cordal em laringes caninas e humanas excisadas, avaliando o efeito de diferentes tensões entre as pregas vocais.

³ Réthi L. *Experimentelle Untersuchungen über den Schwingungstypus und den Mechanismus der Stimmbänder bei der Falsettstimme*. Sitzungsberichte der mathematisch-naturwissenschaftlichen Classe der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Vienna, 1896, CV Band, Abtheilung III.

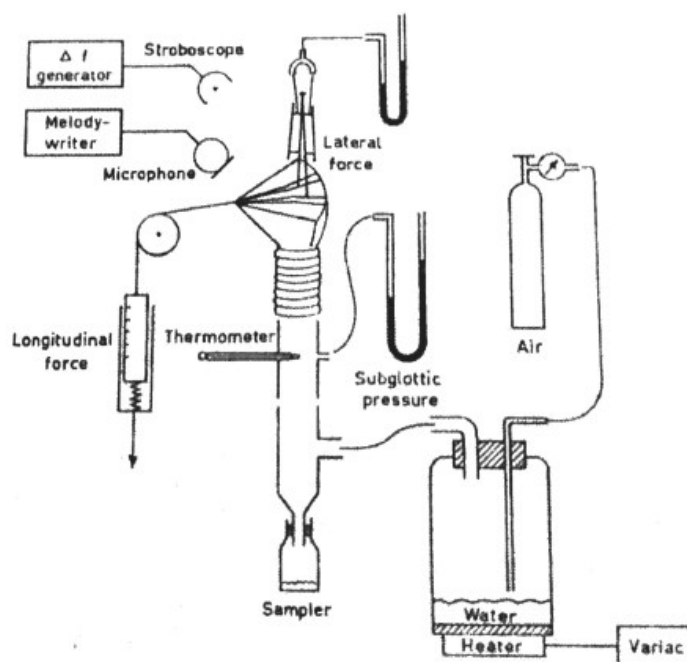


Figura 1 - Aparato para experimentos com laringes excisadas utilizado por van den Berg e Tan (1959).

Vilkman *et al.* (1987) avaliaram a ocorrência do movimento de deslizamento ventrodorsal na junção cricotireoidea em laringes humanas frescas excisadas. Observaram que, apesar da limitação ocasionada pela configuração da face articular na cartilagem cricoide, esse movimento geralmente é possível quando a junção não está rodada ao seu extremo.

Tsuji (1997) analisou a vibração das pregas vocais em laringes excisadas humanas por meio da estroboscopia antes e após procedimento de tireoplastia de medialização da prega vocal (tipo I).

Alipour *et al.* (1997) realizaram experimento com cinco laringes caninas excisadas para avaliar a relação pressão-fluxo em diferentes situações de adução das pregas vocais. Verificaram que, em uma condição de pressão subglótica constante, ocorria diminuição do fluxo conforme a adução aumentava. Mantendo o fluxo constante, contudo, um aumento da adução resultava em aumento da pressão subglótica. Quando avaliaram a F_0 , verificaram que, sob um fluxo constante, ocorria aumento da F_0 com aumento da adução. E que a F_0 aumenta com o aumento do fluxo, possivelmente devido ao aumento da pressão subglótica.

Jiang *et al.* (1999) estudaram laringes excisadas caninas e demonstraram que a reidratação das camadas superficiais da prega vocal com solução salina aumenta a eficiência e diminui significativamente o fluxo de ar mínimo necessário para iniciar a vibração das pregas vocais. Tais resultados foram corroborados por estudos de Witt *et al.* (2009) e Witt *et al.* (2011), que também mostraram uma diminuição da amplitude da onda mucosa e da frequência de vibração causadas pela desidratação de superfícies das pregas vocais.

Garrett *et al.* (2000) compararam a histologia e a vibração das pregas vocais em cães, macacos e porcos com laringes humanas *ex vivo*. Verificaram que a distribuição de fibras colágenas e de elastina são diferentes entre as espécies. Observaram, também, que a anatomia do cão é mais adequada para laringoscopia de suspensão e para avaliação por estroboscopia, vibrando de maneira semelhante à prega vocal humana, o que não ocorreu com a laringe suína.

Bohadana (2002) pesquisou os efeitos da aproximação cricotireoidea em laringes humanas excisadas por meio de videoquimografia.

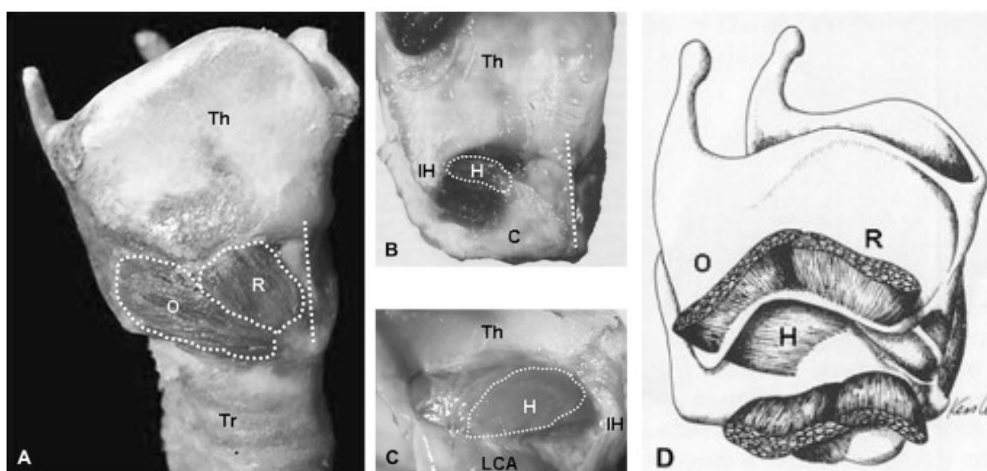
Maunsell *et al.* (2006) estudaram os efeitos da assimetria de tensão entre as pregas vocais de seis laringes excisadas de porcos usando os métodos de eletroglotografia e optorelectometria.

Chung *et al.* (2007) compararam dois procedimentos cirúrgicos em laringes humanas excisadas para aumento do *pitch*: o deslocamento superior da comissura anterior e a aproximação cricotireoidea.

Regner *et al.* (2010) fizeram a comparação da vibração das pregas vocais de laringes bovinas, caninas, ovinas e suínas com a de laringes humanas. Concluíram que as laringes caninas e suínas são os modelos mais apropriados para estudos de características vibratórias e cinéticas da fonação.

3.2 O músculo cricotireoideo e o nervo laríngeo superior

O CT é um músculo par constituído por três porções, denominadas reta, oblíqua e horizontal (Figura 2). As porções reta e oblíqua originam-se da parte inferior e lateral do arco da cricoide, respectivamente. A reta dirige-se superiormente e insere-se na margem inferior da lâmina tireoidea. A oblíqua, lateral à reta, dirige-se obliquamente para cima e insere-se na junção da lâmina tireoidea com o corno inferior da cartilagem tireoidea. A porção horizontal, mais recentemente descrita, é uma estrutura em faixa encontrada profundamente à parte superior da porção oblíqua do CT. Origina-se da superfície superior do arco posterior da cricoide, imediatamente anterior à origem do músculo cricoaritenóideo lateral, cursando póstero-superiormente para se inserir na superfície medial da margem inferior da lâmina tireoidea e do corno inferior da tireoide (Mu e Sanders, 2009). Atribuições da inserção e origem são opostas às descritas por alguns autores, de acordo com o entendimento sobre qual cartilagem se move durante a contração do músculo CT (Arnold, 1961; Sulica, 2004).



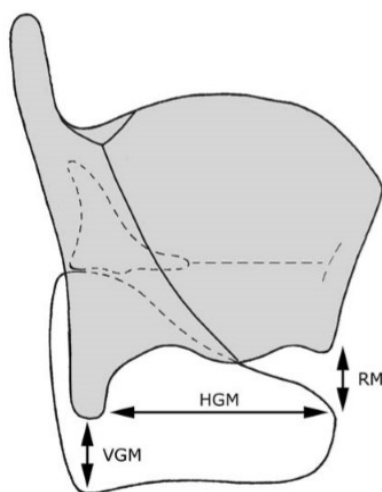
Fonte: Mu e Sanders, 2009

Figura 2 - Topografia das três porções do CT. **A)** Vista lateral de laringe humana, mostrando as porções reta (R) e oblíqua (O) do CT. **B e C)** Após remoção das porções reta e oblíqua, a porção horizontal (H) é visualizada. C, cartilagem cricoide; IH, corno inferior da tireoide; Th, cartilagem tireoidea. **D)** Desenho esquemático das três porções do CT.

A contração do CT resulta em um movimento de rotação na junção cricotireoidea (JCT), aproximando a porção anterior das cartilagens cricoidea e tireoidea. Esse movimento, ao mesmo tempo que eleva a porção anterior da cricoide, roda para trás e para baixo sua porção posterior, carregando consigo as aritenoides, resultando em um aumento na distância entre a inserção anterior da prega vocal na cartilagem tireoidea e sua inserção posterior no processo vocal da aritenóide (Arnold, 1961, Sulica, 2004). Assim, as pregas vocais são alongadas, afiladas e tensionadas, sendo esse movimento o principal responsável pelo aumento do *pitch* e modulação da frequência fundamental (F_0) durante a fonação (Sulica, 2004). Apesar de ocorrer um alongamento das pregas vocais que, como fenômeno isolado, levaria a uma diminuição da F_0 , os efeitos do estiramento (aumento de tensão) e do afilamento das pregas vocais suplantam o efeito contrário do alongamento, resultando em aumento da F_0 (Isshiki, 1989).

Além do movimento de rotação tipicamente descrito, a JCT e ligamentos cricotireoideos também permitem movimentos de deslizamento horizontal (ventrodorsal) e vertical (crânio-caudal) da cartilagem tireoidea sobre a cricoidea (Arnold, 1961; Windisch *et al.*, 2010) (Figura 3). Foi descrito que os movimentos de deslizamento horizontal e vertical são passíveis de ocorrer quando a JCT está em posição neutra. Quando a distância cricotireoidea está distendida ou contraída, os movimentos de deslizamentos são impedidos pelo estado de tensão dos ligamentos articulares (Arnold, 1961). Vilkmán *et al.* (1987) também observaram que o deslizamento ventrodorsal na JCT, responsável por 30-40% da variação total no comprimento da prega vocal em humanos, é dificultado quando a articulação está em posição de rotação extrema. A JCT foi classificada por Windisch *et al.* (2010) em três tipos, de acordo com a configuração das faces articulares: Tipo 1 (faces articulares bem definidas, com cápsula e ligamentos tensos), Tipo 2 (faces articulares não definidas, unidas por tecido conjuntivo frouxo) e Tipo 3 (superfície articular plana ou com pequena protuberância, com ligamentos não tão tensos quanto a do tipo 1 e cápsula com tecido conjuntivo frouxo). Verificaram que o tipo 1 é o mais comum,

presente em 61% dos casos, seguida pelo tipo 2, em 22%, e pelo tipo 3, em 17%. Observaram, também, que a mobilidade e estabilidade da articulação está relacionada com a configuração das faces articulares e da cápsula, sendo que as do tipo 1, por terem uma face bem definida, além de cápsula e ligamentos tensos, são mais estáveis, apresentando menor mobilidade e havendo uma diferença marcante entre deslizamento horizontal (mais proeminente) e vertical (menos proeminente). Apesar de apresentarem maior mobilidade, a mesma diferença entre deslizamento horizontal e vertical foi encontrada nas do tipo 3. E as do tipo 2, devido à face articular não definida e aos tecidos conjuntivos frouxos, apresentaram-se como o tipo mais móvel.



Fonte: Windisch *et al.*, 2010.

Figura 3 - Desenho da visão lateral de laringe, mostrando os possíveis deslocamentos na junção cricótireoidea. HGM: movimento de deslizamento horizontal; VGM: movimento de deslizamento vertical; RM: movimento de rotação.

Hong *et al.* (1998) mostraram diferenças funcionais nas porções reta e oblíqua do CT em modelo canino. Segundo os autores, a estimulação da porção reta resulta em maior aumento na F_0 comparada com a estimulação da oblíqua. Observaram, ainda, que a estimulação simultânea delas é importante no ajuste do comprimento vocal. Em estudo posterior, comparando perfil acústico à atividade elétrica dos ventres reto e oblíquo

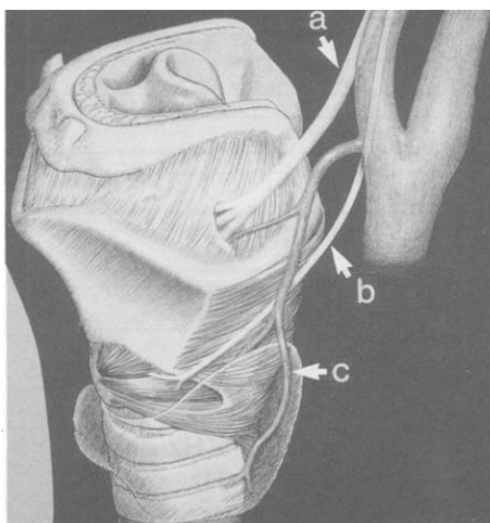
dos músculos CT, Hong *et al.* (2001) concluíram que a porção oblíqua é mais funcionante no início das sentenças e a porção reta é mais ativa nas elevações pontuais do *pitch*, como no final de frases interrogativas.

Além dessa função, classicamente é descrita uma função adutora do CT sobre as pregas vocais. De acordo com a hipótese de Wagner-Grossman, a posição da prega vocal paralisada refletiria o local de lesão neural: a paralisia isolada do nervo laríngeo recorrente (NLR) levaria a uma posição paramediana da prega vocal, diferentemente de uma lesão combinada do NLR e do nervo laríngeo superior (NLS), que posicionaria a prega vocal mais lateralmente, em posição intermediária (Dedo, 1970). Não está totalmente claro, porém, se o CT tem um efeito apreciável na abertura glótica independente da integridade do NLR. Woodson (1993a e 1993b) concluiu que a posição da prega vocal na paralisia unilateral no NLR não é determinada pela integridade do NLS ou do músculo CT.

Os músculos laríngeos são inervados por dois nervos: NLR e o NLS. O NLR é responsável pela inervação motora dos músculos tireoaritenoideo, cricoaritenoideo lateral e cricoaritenoideo posterior ipsilaterais, e o músculo interaritenoideo bilateral. O ramo externo do NLS proporciona toda a inervação motora para o músculo CT ipsilateral (Dedo, 1970).

Longet descreveu pela primeira vez a inervação do músculo CT pelo NLS em 1841 (Arnold, 1961; Bevan *et al.*, 1989). O NLS surge do gânglio inferior do nervo vago (nodoso) e, em direção inferior, passa medialmente às artérias carótidas interna e externa, terminando em dois ramos distais, o externo e o interno (Figura 4). O ramo interno do NLS penetra através da membrana tireoidea, juntamente com a artéria tireoidea superior. Divide-se, então, em diversos ramos, sendo responsável pela inervação sensitiva da mucosa da hemilaringe ipsilateral. O ramo externo do NLS, geralmente, passa posteriormente à artéria tireoidea superior, na altura do corno maior do osso hioide. No seu curso, inerva o músculo constritor inferior da faringe e, lateralmente à cartilagem tireoidea, pode ser encoberto pelas fibras do constritor inferior para, então, terminar no CT ipsilateral (Monfared *et al.*, 2002). O ramo externo do NLS penetra na porção súpero-lateral do músculo

CT, entre suas porções oblíqua e reta, através de um tronco único (37,5%) ou de ramos múltiplos (62,5%) (Mu e Sanders, 2009). Tendo em vista que o ramo externo do NLS está intimamente relacionado com o pedículo vascular do polo superior da glândula tireoide, local em que podem existir algumas variações no curso do nervo, é considerado uma região suscetível a lesões em cirurgias cervicais (Cernea *et al.*, 1992; Kierner *et al.*, 1998).



Fonte: Bevan *et al.*, 1989.

Figura 4 - Nervo laríngeo superior. Ramos (a) interno e (b) externo, descendo medialmente à artéria carótida; (c) ramo posterior da artéria tireoidea superior.

Estudos *in vivo* em cães (Berke *et al.*, 1989; Slavik *et al.*, 1991; Chhetri *et al.*, 2013) mostraram a relação direta entre o estímulo do NLS e a F_0 , assim como outros mostraram o aumento da F_0 com o aumento da atividade do músculo CT na eletromiografia laríngea (LEMG) (Arnold, 1961; Gay *et al.*, 1972; Baer *et al.*, 1976).

Embora o entendimento clássico da anatomia seja de que o ramo externo do NLS inerva o músculo CT, enquanto o NLR inerva todos os outros músculos intrínsecos laríngeos, foi demonstrado que o ramo externo do NLS também pode inervar outras estruturas. Estudos em laringes de cadáveres humanos revelaram ramos terminais do ramo externo do NLS comunicando-se com o músculo tireoaritenoideo (TA) ipsilateral em 44,4% a 46% das hemilaringes dissecadas (Wu *et al.*, 1994; Mu e Sanders, 2009), e

com ramos do NLR em 25% a 68% delas (Sañudo *et al.*, 1999; Maranillo *et al.*, 2003; Mu e Sanders, 2009). Esses ramos são chamados de *human communicating nerves*. Masuoka *et al.* (2015) encontraram inervação funcional do NLR para o músculo CT, em pelo menos 39% dos músculos CT's testados com a estimulação elétrica do NLR ou do nervo vago, em estudo de eletromiografia intraoperatória. Além dessas comunicações, ramos para a mucosa subglótica (67%) também foram identificados (Mu e Sanders, 2009).

3.3 Paralisia do músculo cricotireoideo

A paralisia do CT ocorre em decorrência da lesão ou disfunção do ramo externo do NLS. A prevalência dessa condição não é conhecida, uma vez que muitos casos não são diagnosticados (Roy, 2011; Orestes, 2014).

A causa historicamente mais aceita da disfunção do CT é o trauma cirúrgico ao NLS ou seu ramo externo (Bevan *et al.*, 1989). Jansson *et al.* (1988) diagnosticaram, por meio da LEMG, 58% de lesões parciais ao NLS em sua casuística de vinte pacientes submetidos à tireoidectomia. Dursun *et al.* (1996) encontraram, em sua casuística de cento e vinte e seis casos de paresia ou paralisia do NLS documentados por LEMG, 93,6% deles causados por neurite, 3,2% por trauma externo e 3,2% por trauma iatrogênico durante cirurgia. Eckley *et al.* (1998), em sua casuística de cinquenta e seis pacientes, também encontraram como principal causa a neurite (69,7%).

A manifestação clínica da paresia ou paralisia do NLS é variável, pois está relacionada com os diferentes graus de acometimento do nervo, outras patologias associadas e necessidade vocal de cada paciente. Adour *et al.* (1980) relataram, em sua casuística de setenta e oito pacientes com diagnóstico de paralisia do NLS, que esse quadro fazia parte de uma polineurite craniana e que nenhum dos pacientes se queixava de rouquidão, sendo que apenas cinco relatavam voz mais fraca após fala prolongada. Os

principais sintomas descritos da paralisia seletiva do CT são fadiga vocal, rouquidão, distúrbio no volume e diminuição na extensão vocal. Distúrbios sensoriais podem estar presentes em 29% dos casos (Dursun *et al.*, 1996). Dedo (1970) observou voz mais grave e dificuldade para atingir o limite superior dos agudos no canto. Eckley *et al.* (1998) encontraram como principais sintomas a rouquidão (53,6%), perda dos agudos (46,2%), fadiga vocal (39,2%) e soprosidade (30,3%) em pacientes cantores, e fadiga vocal (39,3%), rouquidão (28,8%) e alteração no volume (28,8%) em pacientes não cantores. Roy *et al.* (2009a) descreveram como principais queixas, apesar de leves, voz mais fraca e maior esforço fonatório na paralisia unilateral aguda do CT, e encontraram uma diminuição da extensão vocal tanto às custas das frequências mais agudas quanto das mais graves. Alguns pacientes desenvolvem disфония por tensão muscular para produzir uma voz mais forte. Dursun *et al.* (1996) encontraram, em seu estudo, 23,8% de pacientes com disфония por tensão muscular que pareceu ser por mecanismos compensatórios. Eckley *et al.* (1998) encontraram um número ainda maior (69,9%) em seu estudo.

Diversos estudos foram realizados em animais e humanos na tentativa de elucidar as alterações de configuração glótica e funcionais decorrentes da paralisia unilateral do CT e de identificar achados que pudessem ser utilizados como uma comprovação cabal dessa condição. Infelizmente, não encontramos um consenso entre os autores.

Dedo (1970) não observou nenhum achado consistente ou óbvio o suficiente para o diagnóstico clínico em quatro pacientes com paralisia unilateral do NLS comprovada por LEMG, incluindo rotação posterior da glote e diferença na altura vertical entre as pregas vocais.

Tanabe *et al.* (1972) utilizaram câmera normal e de alta velocidade em modelo canino vivo, observando alongamento em ambas as pregas vocais, mas menos evidente do lado da paralisia do CT. Notaram que a frequência de vibração das duas pregas vocais era igual, mas vibravam em assimetria de fase, com a prega vocal do lado não paralisado sempre precedendo a

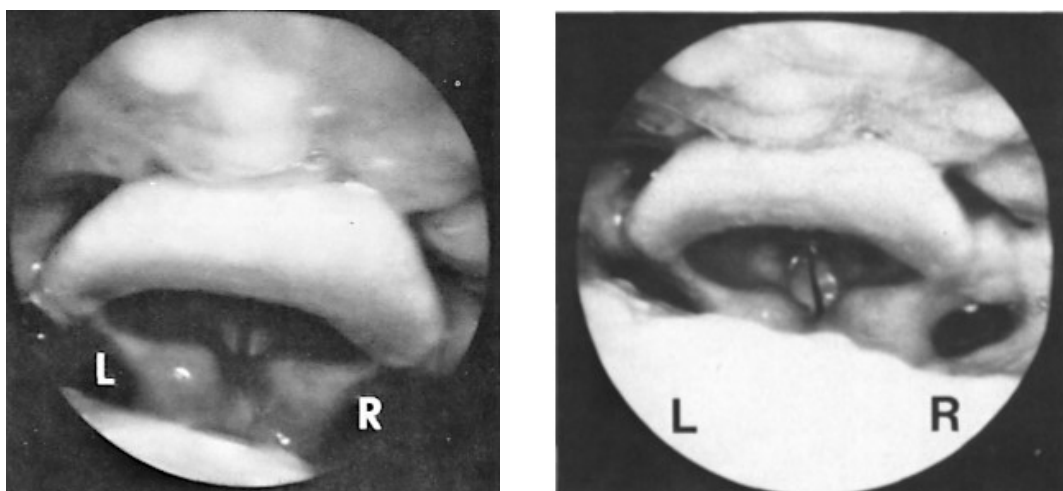
outra. Além disso, observaram que a prega vocal do lado normal geralmente apresentava uma maior excursão que a prega vocal do lado paralisado.

Isshiki *et al.* (1977) estudaram laringes excisadas caninas e humanas em diferentes situações de assimetria de tensão entre as pregas vocais, produzidas pelo uso de diferentes pesos (20 a 150g), simulando a ação do músculo CT. Avaliação feita por meio da câmara de alta velocidade mostrou que o padrão vibratório na assimetria de tensão entre as pregas vocais depende do grau de fechamento glótico ao repouso. Em situações com fechamento glótico completo ao repouso ou com *gap* muito pequeno ($A_{g0} < 0,015 \text{ cm}^2$), as pregas vocais vibravam na mesma frequência, mas em assimetria de fase, com a prega mais tensa sempre precedendo a menos tensa. Quando um dos lados era extremamente tensionado, havia uma grande diminuição da amplitude desse mesmo lado. Um aumento da tensão resultava em aumento do *pitch*. Em situações em que o $A_{g0} > 0,015 \text{ cm}^2$, uma pressão subglótica maior era necessária para iniciar a vibração, que era caracterizada como aperiódica, com alternância de amplitudes menores e maiores. Uma terceira situação pode ocorrer, quando há uma vibração periódica, sem fechamento completo da glote. Nessa situação, a assimetria de fase é menos evidente.

Adour *et al.* (1980) descreveram rotação da glote posterior para o lado paralisado, prega vocal ipsilateral encurtada e localizada em um nível vertical diferente durante fonação.

Abelson e Tucker (1981) estudaram quatro cães vivos anestesiados e observaram que, durante contração do músculo CT, a borda anterior da cricoide se movimentava para cima em direção à cartilagem tireoidea. Quando apenas um NLS era estimulado ou seccionado, a porção anterior da cricoide se movimentava para cima e para o lado do nervo estimulado ou intacto durante fonação. Esse movimento consistia de rotação nos planos horizontal e longitudinal, observado na laringoscopia como um deslocamento da comissura posterior para trás e para o lado paralisado. Os autores também simularam os efeitos da paralisia do NLS com a injeção de anestésico em 4 voluntários humanos, observando que, em 3 deles, ocorreu

desvio da comissura posterior para o lado paralisado, com encurtamento da prega ariepiglótica ipsilateral e prega vocal aparentemente mais curta, mas de difícil apreciação clínica (Figura 5). Ao repouso, todas as laringes apresentavam-se simétricas.



Fonte: Abelson e Tucker, 1981.

Figura 5 - Laringe de voluntário. Foto da esquerda: antes da injeção. Foto da direita: Após injeção de anestésico no trajeto do NLS - Note o deslocamento da glote posterior para a direita (R) e o aspecto ondulado da prega vocal direita.

Moore *et al.* (1987) simularam paralisia do NLS utilizando estímulo elétrico em sete cães anestesiados. Por meio da estroboscopia, observaram que, no momento logo antes da abertura da margem superior das pregas vocais, a do lado paralisado se sobrepunha em relação à normal. Além disso, ocorria uma movimentação vertical aumentada da prega vocal ipsilateral à paralisia. Observaram uma mudança horizontal da glote, com desvio da comissura posterior para o lado paralisado.

Hanson *et al.* (1988) estudaram quatro pacientes com suposta paralisia do NLS (não comprovados por LEMG) e observaram na laringoscopia que, durante a fonação, havia um encurtamento da prega vocal do lado paralisado em relação à outra e rotação da comissura posterior para o lado da paralisia. Observaram, por meio da fotoglotografia, que os pacientes com paralisia do NLS apresentaram um aumento no quociente de abertura (OQ)

quando comparados com controles normais. Já o quociente de velocidade (SQ) tinha valores estatisticamente iguais nos dois grupos.

Bevan *et al.* (1989), em relato de três casos de paralisia do CT, observaram pela videofibrolaringoscopia alterações como afilamento, encurtamento e arqueamento da prega vocal do lado paralisado na posição de semiadução e glote oblíqua. Porém, não descreveram para qual direção ocorreu o desvio.

Sercarz *et al.* (1992) estudaram três adultos em que induziram paralisia laríngea por meio de infiltração de lidocaína a 2%, e dois pacientes com diagnóstico de paralisia do NLS. Avaliando o padrão vibratório, descreveram que, na paralisia do NLS, as pregas vocais vibravam na mesma frequência. Notaram uma assimetria de amplitude da onda mucosa, sendo mais precoce, mais veloz e mais ampla do lado não paralisado. A adução e abdução estavam normais e não observaram rotação da glote posterior.

Tanaka *et al.* (1994) seccionaram o NLS unilateral em três cães vivos e mostraram que a rotação da comissura posterior para o lado paralisado não ocorreu durante fonação espontânea, mas ocorreu durante aplicação de estímulo elétrico em todos os três. Também observaram elevação do *pitch* durante estimulação elétrica do NLS. Além disso, avaliaram dezessete pacientes com paralisia do NLS confirmadas por LEMG e observaram que a rotação da glote posterior ocorreu em nove deles, durante manobra em que fonação com *pitch* baixo foi seguida por fonação com *pitch* elevado.

Dursun *et al.* (1996), em um estudo retrospectivo com cento e vinte e seis pacientes com paresia ou paralisia do NLS, observaram que as alterações estrobolaringscópicas mais proeminentes foram a presença de uma lentidão da prega vocal do lado afetado e a diferença na altura entre as pregas vocais. Assimetria de amplitude, com diminuição da amplitude da onda mucosa do lado parético ou paralisado, e assimetria de fase também foram registrados. O fechamento glótico era completo somente em 27,7% dos pacientes. Não observaram rotação horizontal da laringe e arqueamento da prega vocal ipsilateral à paralisia. Entretanto, reforçam que essas

alterações não estão presentes em todos os casos, e a falta desses sinais não descartam paresia ou paralisia do NLS.

Eckley *et al.* (1998) estudaram cinquenta e seis adultos com paresia ou paralisia do NLS. Dentre as alterações na estroboscopia que sugeriam paresia e paralisia do NLS, encontraram uma maior lentidão na movimentação da prega vocal afetada durante tarefas repetidas de abdução e adução, e diferença na altura das pregas vocais. Constataram que apenas um caso de paralisia severa apresentou a rotação horizontal da laringe durante fonação intensa.

Woodson *et al.* (1998) simularam a contração do CT em dez laringes excisadas de cadáveres humanos e, mediante colocação de marcadores radiopacos e exame de tomografia computadorizada, realizaram medidas para avaliar a configuração glótica (comprimento das pregas vocais, rotação horizontal da glote posterior e nível vertical do processo vocal). Concluíram que seus achados não sustentam a ideia de que a paralisia do CT possa ser diagnosticada com base na assimetria ou outra mudança na configuração glótica.

Rubin *et al.* (2005) concluíram que manobras repetitivas para avaliar diadococinesia (alternância de /i/-/hi/, /i/-sniff e /pa/-/ta/-/ka/) são úteis para identificar paresia do NLS, mas alertaram que o atraso da movimentação da prega vocal do lado da paresia pode ser erroneamente interpretado como paresia do NLR. Já Heman-Ackah e Barr (2006), em estudo posterior, concluíram que casos leves de hipomobilidade das pregas vocais, descrita como leve lentidão na adução, abdução e/ou tensão longitudinal, não podem ser identificadas com acurácia por meio dessas manobras repetitivas. Observaram que, apesar da suspeita clínica de hipomobilidade estar associada a achados de neuropatia na LEMG com frequência, a dinâmica de assimetria observada não permite a identificação nem do nervo (NLR e/ou NLS), nem do lado acometido com acurácia. Levantaram a hipótese de que assimetrias observadas nessas laringes possam ser secundárias a mecanismos de compensação, ao invés de efeitos puros da desordem primária.

Maunsell *et al.* (2006) estudaram os efeitos da assimetria de tensão entre as pregas vocais de seis laringes excisadas de porcos, usando os métodos de eletroglotografia e optorelectometria. Notaram vibração periódica e assimetria de fase em todas as laringes.

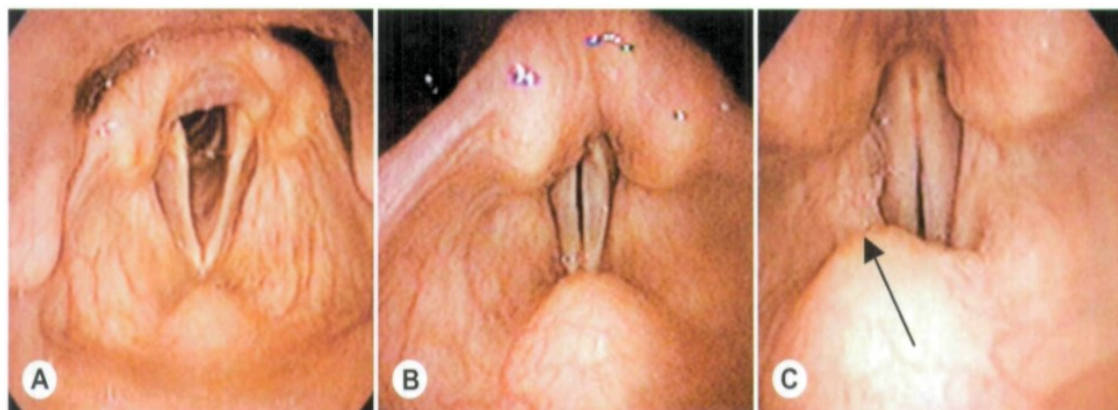
Mendelsohn *et al.* (2007) relataram, em um caso clínico comprovado por LEMG e em um modelo canino de paralisia do NLS unilateral, um fenômeno chamado *dashing against each other*, em que é observado um movimento como se a prega vocal normal estivesse seguindo a paralisada. Os autores acreditam que essa vibração fora de fase pode ser patognomônica de paralisia unilateral do NLS, embora não seja encontrada em todos os casos. Ressaltam que, para a ocorrência deste movimento estroboscópico, uma vibração periódica é necessária, o que não está presente em todos os casos.

Pouco depois, esse mesmo grupo avaliou, por meio da estroboscopia, uma pequena série de três casos de paralisia ou paresia do NLS (Tsai *et al.*, 2007). Observaram que, durante o repouso, não houve achados anormais. Entretanto, durante a fonação, principalmente nos momentos logo antes e no início da fonação, encontraram prega vocal ipsilateral encurtada e arqueada, altura do processo vocal mais elevada do lado ipsilateral e hiperadução da banda ventricular ipsilateral ao CT acometido em todos os casos. Esse mesmo estudo não encontrou rotação da comissura posterior e não avaliou presença de assimetria de fase nesses pacientes.

Com o intuito de descartar os efeitos compensatórios decorrentes da denervação prolongada do CT, Roy *et al.* (2009b) estudaram os efeitos da paralisia aguda do ramo externo do NLS em dez homens sem alterações vocais, realizando o bloqueio desse nervo com lidocaína, confirmados por LEMG. Concluíram que a hipomobilidade/lentidão da prega vocal ipsilateral à paralisia não parece ser um marcador confiável de paralisia aguda do ramo externo do NLS, e que a rotação axial laríngea não apresentou um padrão consistente. Além disso, não encontraram evidência que reforce a existência de insuficiência glótica, diminuição da tensão longitudinal, assimetria da prega ariepiglótica ou de bandas ventriculares, assimetria de fase ou

diferença nos planos das pregas vocais como diagnóstico da disfunção unilateral do CT aguda. Entretanto, observaram um desvio do pecíolo da epiglote para o lado da paralisia em 60% dos pacientes, quando submetidos à manobra de glissando, fazendo a ressalva que esse achado poderia ocorrer caso houvesse difusão do anestésico para outros músculos extrínsecos laríngeos ou nervos. Observaram, também, uma melhora no fechamento glótico durante o bloqueio, que consideraram ser secundário a um mecanismo compensatório decorrente da fraqueza do CT.

Em 2011, Roy *et al.* descreveram o desvio do pecíolo da epiglote (Figura 6), principalmente na fonação com *pitch* elevado, em alguns casos clínicos que apresentavam denervação parcial ou completa do NLS ou denervação do NLS em combinação com outros ramos do nervo vago. Descreveram, também, um caso de paralisia completa do NLR e NLS em que o pecíolo da epiglote retornou à linha média seis meses após procedimento de reinervação.



Fonte: Roy *et al.*, 2011.

Figura 6 - Paresia do ramo externo do nervo laríngeo superior direito. **A)** Durante abdução das pregas vocais, o pecíolo da epiglote está na linha média. **B)** Durante fonação em *pitch* e intensidade normais, o pecíolo se mantém na linha média. **C)** Durante fonação no *pitch* mais elevado na manobra de glissando, o pecíolo da epiglote desvia para o lado direito (seta).

Simpson *et al.* (2011) avaliaram pacientes com queixas de fadiga vocal e diminuição de projeção vocal que possuíam mobilidade laríngea preservada, mas com assimetria de vibração (amplitude e/ou onda mucosa) na videoestroboscopia. Dos 23 pacientes avaliados, 82,6%

apresentaram alteração da LEMG, mas apenas um teve o acometimento isolado do NLS. Além disso, verificaram que a habilidade em acertar corretamente o lado da paresia pela videoestrobolaringoscopia foi de apenas 33,3%, mostrando a necessidade da LEMG para um diagnóstico correto das paresias laríngeas.

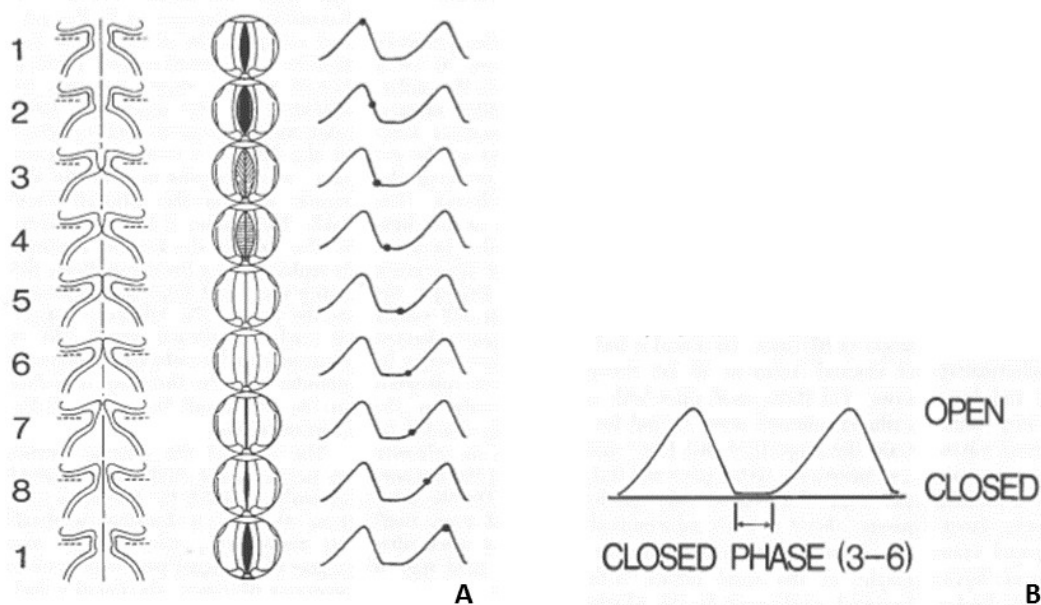
Chhetri *et al.* (2013) avaliaram os efeitos de uma estimulação elétrica assimétrica do NLS em modelo canino anestesiado, simulando paresia de graus variados e paralisia do NLS. Observaram, com a câmera de alta velocidade, a presença de assimetria de fase (com a prega vocal mais tensa precedendo a outra), amplitude da onda mucosa maior do lado mais tenso e aperiodicidade. Notaram também que, na paralisia unilateral do NLS, a F_0 mais elevada era menor que a metade daquela alcançada quando os dois NLS eram estimulados ao máximo. Já a tensão se mostrou igual nas duas pregas vocais, independentemente do nível de assimetria no estímulo dos NLS.

3.4 Avaliação da vibração cordal

O conhecimento da fisiologia da vibração é essencial para a correta interpretação de exames normais e alterados. A prega vocal consiste em uma cobertura mucosa e um corpo muscular. Segundo a teoria do complexo corpo-cobertura proposta por Hirano (1974), a cobertura se move sobre um corpo relativamente estacionário, constituído por ligamento e músculo vocal. Esta observação foi possível por meio de estudo histológico da prega vocal humana, que apresenta uma estrutura em camadas com distribuição diferenciada de componentes celulares e extracelulares. A prega vocal vibra nos planos transversal e vertical. Funcionalmente, há uma margem superior e uma margem inferior. Durante a fonação, o ar subglótico passa através da glote, fazendo com que as margens inferiores se afastem inicialmente e, antes de as margens superiores se separarem, um volume elíptico de ar é formado nesse espaço subglótico localizado entre as margens. As margens

superiores se movem lateralmente e o *puff* de ar é liberado. As margens inferiores retornam, então, à linha média, seguido do retorno das margens superiores e, assim, um novo ciclo recomeça (Figura 7). Visto pela videoendoscopia de alta velocidade ou pela videoestrobolaringoscopia, esse movimento de vibração das pregas vocais foi chamado de onda mucosa (Kitzing, 1985).

Foi em 1895 que Oertel⁴ (apud Alberti, 1996) publicou a primeira descrição do uso da estroboscopia para a observação da vibração das pregas vocais. O estroboscópio original de Oertel, que era um dispositivo mecânico complexo e de difícil manipulação, foi substituído pelo estroboscópio eletrônico na década de 60.



Fonte: Kitzing, 1985.

Figura 7 - Apresentação esquemática da vibração das pregas vocais durante fonação. A) Coluna da esquerda: visão frontal; coluna central: visão superior, como visto durante exame laríngeo; coluna da direita: momento da vibração na curva de área glótica. B) Curva de área glótica mostrando fase aberta e fase fechada.

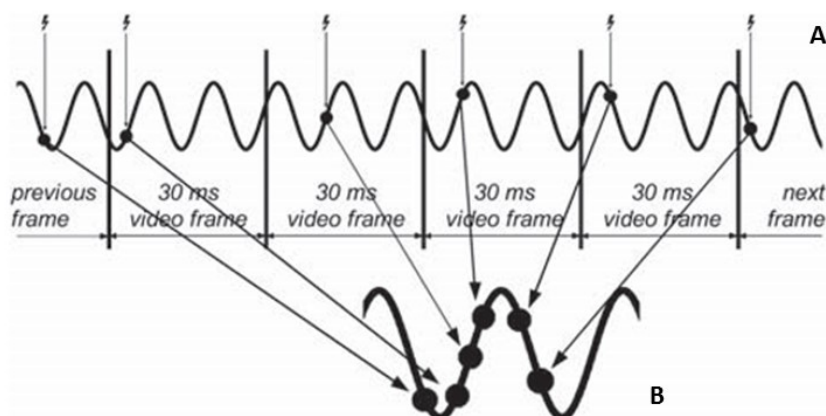
⁴ Oertel M. *Das laryngo-stroboskop und die laryngo-stroboskopische untersuchung*. Arch Laryngol Rhinol 1895; 3:1-16.

Kallen (1932) descreveu as propriedades da luz estroboscópica na avaliação do movimento das pregas vocais, resultando em um efeito de ilusão de óptica de uma vibração em câmera lenta. Também ressaltou a importância de uma vibração periódica para sincronização da luz estroboscópica.

Hoje, a videoestrobolaringoscopia é o método mais importante para a avaliação da vibração cordal do ponto de vista clínico, e tal fato se deve à facilidade de sua aplicação, ao custo-benefício, à possibilidade de sincronizar informações audiovisuais e à capacidade de documentar em detalhes os fenômenos da vibração (Mehta e Hillman, 2012).

Estudos relatam que a avaliação da vibração cordal pela videoestrobolaringoscopia melhora o diagnóstico das desordens vocais quando comparada à luz comum, adicionando informações clínicas importantes em 27,2 a 43% dos casos (Sataloff *et al.*, 1988; Woo *et al.*, 1991; Casiano *et al.*, 1992), e mudando a decisão terapêutica em 10 a 11% dos casos (Woo *et al.*, 1991; Casiano *et al.*, 1992).

A videoestrobolaringoscopia utiliza a luz estroboscópica sincronizada com a frequência de vibração das pregas vocais, extraída por um microfone de contato. A imagem obtida representa uma subamostragem da movimentação real das pregas vocais, uma vez que o que é observado é uma imagem ilusória em câmera lenta de uma sequência de diferentes fases do ciclo glótico obtida ao longo de vários ciclos (Figura 8). Assim, não corresponde a uma vibração em tempo real, não sendo possível acessar as variações entre os ciclos glóticos através deste método. Além disso, seu uso clínico se torna limitado, devido ao fato de depender de uma frequência de fonação estável para ativar a luz estroboscópica (Kitzing, 1985; Deliyiski *et al.*, 2008). Dessa forma, pacientes com vibração aperiódica e tempo de fonação encurtado não conseguem se submeter a uma avaliação segura e confiável pela videoestrobolaringoscopia (Woo *et al.*, 1991; Casiano *et al.*, 1992; Patel *et al.*, 2008).



Fonte: Deliyiski *et al.*, 2008.

Figura 8 - Formação da imagem na videoestroboscopia: A) Cada *flash* de luz estroboscópico capta momentos subsequentes do ciclo vibratório de diferentes ciclos. B) As imagens captadas criam um ciclo artificial.

Ao associar a avaliação da vibração cordal com a videoquimografia (VKG), foi possível a visualização das características da vibração real das pregas vocais. A VKG é uma câmera que está disponível no mercado com relativo baixo custo e opera em dois modos diferentes. No modo padrão, funciona como uma videocâmera comercial normal; e no modo alta velocidade, permite a construção do quimograma, que mostra o movimento das pregas vocais de uma única linha horizontal (transversa ao eixo glótico) ao longo do tempo em uma única imagem. Entretanto, o aumento substancial da taxa de registro das imagens é feito à custa de informação espacial, uma vez que não é possível a visualização de toda a laringe (Deliyski *et al.*, 2008).

Essas limitações relacionadas à videoestroboscopia e à VKG puderam ser superadas com o uso da videoendoscopia de alta velocidade.

As técnicas de imagens de alta velocidade para visualizar a vibração das pregas vocais são utilizadas desde a década de 40, mas, por dificuldades técnicas (problemas de iluminação, tempo excessivamente longo para revelação do filme e análise do procedimento), eram usadas somente para pesquisas. As técnicas de gravação vêm sendo melhoradas desde 1995, em relação à qualidade das imagens, capacidade e velocidade para o armazenamento das imagens (Larsson *et al.*, 2000). Em 2006, foram

lançados no mercado os primeiros sistemas coloridos, importante fator que melhorou a identificação de lesões, alterações vasculares e teciduais (Deliyski *et al.*, 2008).

Essas técnicas consistem na gravação de imagens a uma velocidade muitas vezes maior que a frequência de vibração cordal, a uma taxa de 2.000 a 10.000 quadros por segundo (Deliyski *et al.*, 2008), permitindo a captura de imagens dos ciclos glóticos reais, com a visualização de movimentos sequenciais de cada ciclo, sem a perda de informação entre os quadros, de modo que possibilita uma avaliação mais confiável e precisa da vibração das pregas vocais. Além disso, não dependem do comportamento periódico ou aperiódico dos movimentos, sendo indicadas em pacientes com disfonia moderada a severa, situações em que a aperiodicidade vibratória é mais frequentemente encontrada (Patel *et al.*, 2008). Ainda, permite a visualização de fenômenos transitórios em que a aperiodicidade significativa ocorre como um evento normal, como o início e o fim da fonação, nas quebras vocais e nos espasmos laríngeos (Kendall, 2009).

A videolaringoscopia de alta velocidade já mostrou melhora na acurácia para o diagnóstico de algumas condições vocais, como paralisia de prega vocal (Inwald *et al.*, 2011), disfonia por tensão muscular, disfonia espasmódica (Patel *et al.*, 2011) e presbifonia (Mendelsohn *et al.*, 2013).

As características da vibração geralmente acessadas pela videoestroboscopia (amplitude, periodicidade, configuração glótica, simetria, onda mucosa) podem também ser avaliadas pela videoendoscopia de alta velocidade. Dessa forma, tais parâmetros também são usados na interpretação desse segundo método (Patel *et al.*, 2008; Kendall, 2009; Yamauchi *et al.*, 2012). Uma vez que o uso da videolaringoscopia de alta velocidade pode, potencialmente, permitir uma maior quantidade de achados anormais na vibração das pregas vocais, é importante um melhor entendimento da vibração em indivíduos normais. Sem o conhecimento das variações da normalidade, a diferenciação com comportamentos vibratórios secundários a uma patologia não é clinicamente possível (Bonilha *et al.*, 2008).

Bonilha *et al.* (2008) avaliaram cinquenta e dois indivíduos normofônicos e concluíram que a videolaringoscopia de alta velocidade aumentou a porcentagem de diagnóstico de assimetria de fase quando comparada com a videoestrobolaringoscopia, diagnosticando essa condição, em sua maioria de leve intensidade, em 79% dos indivíduos estudados. Esse achado realmente se mostrou elevado em relação a estudos anteriores que avaliaram indivíduos sem patologias laríngeas pela videoestrobolaringoscopia e encontraram presença de 6 a 36,5% de assimetria de fase (Elias *et al.*, 1997; Haben *et al.*, 2003).

Kendall (2009) avaliou cinquenta indivíduos normais pela videoestrobolaringoscopia e pela videolaringoscopia de alta velocidade. Somente a avaliação da periodicidade diferiu significativamente entre os métodos, sendo mais fácil de identificar vibração aperiódica pela videoestrobolaringoscopia, uma vez que não é possível a sincronização da luz estroboscópica nesse tipo de vibração. A aperiodicidade estava presente em 30% dos voluntários quando avaliados pela videoestrobolaringoscopia, mas apenas em 4% quando avaliados pela videolaringoscopia de alta velocidade. Concluiu, também, que uma assimetria de vibração pode estar presente em 25% da população normal; o fechamento completo da glote foi o mais visto, mas uma fenda posterior pode ser vista em 31% dos indivíduos; a média de fase aberta foi ao redor de 60%; e diminuição de amplitude e de onda mucosa é mais provável de representar anormalidade, uma vez que a curva de distribuição da população normal se encontrou desviada para direita.

Kunduk *et al.* (2010) observaram que, apesar de ocorrer uma leve variação nas características vibratórias na população normofônica durante diferentes gravações de videolaringoscopia de alta velocidade, não há alterações significativas, de maneira que uma única gravação em indivíduos normais é representativa das características vibratórias ao longo do tempo.

Yamauchi *et al.* (2012) avaliaram subjetivamente indivíduos sem queixas vocais pela videolaringoscopia de alta velocidade, não encontrando diferença estatística nos parâmetros de periodicidade, amplitude e diferença

de amplitude, fase fechada, onda mucosa e diferença de fase lateral, quando compararam homens e mulheres jovens e idosos.

O modo de reprodução das imagens da videolaringoscopia de alta velocidade tem suas desvantagens. Acessar as características da vibração das pregas vocais com acurácia, observando as mudanças na vibração ao longo do tempo, pode ser difícil quando essa comparação é feita baseada na memória do examinador, a partir de um número considerável de ciclos (Bonilha *et al.*, 2008). A análise quadro a quadro consome muito tempo do examinador, uma vez que fornece uma grande quantidade de dados para um pequeno período de vibração cordal (Patel *et al.*, 2014). Por exemplo, um exame de 2 segundos gravado a uma taxa de 4000 quadros por segundo vai demandar, aproximadamente, 13 minutos para a avaliação da gravação total a 10 quadros por segundo. A análise dessa grande quantidade de dados se torna mais fácil com uso de métodos de processamento de imagens que permitem a segmentação automática das imagens, confecção de videoquimografia digital (DKG) e possibilidade de correlação dos dados de parâmetros vibratórios com dados acústicos (Mehta e Hillman, 2008; Kendall 2012). A DKG, apesar de compartilhar muitas características com a VKG, possui algumas desvantagens, como uma piora da resolução espacial e temporal, além de um custo mais elevado. Entretanto, a DKG possibilita a construção de quimogramas em qualquer nível do plano glótico, a correção do eixo glótico antes do quimograma ser construído e o uso de outros métodos de análises utilizando os mesmos dados da videolaringoscopia de alta velocidade (Yamauchi *et al.*, 2015). A análise de dados normativos, utilizando esses métodos de processamento de imagem, também foi realizada por alguns estudos.

Lohscheller *et al.* (2013) avaliaram imagens quimográficas obtidas com o uso da videolaringoscopia de alta velocidade em sessenta indivíduos, em fonação em *pitch* confortável, sem queixas vocais e sem doenças laringeas. Observaram que o local de maior abertura glótica se localiza, em geral, ligeiramente posterior ao ponto médio do comprimento das pregas vocais, diminuindo em direção anterior e posterior.

Patel *et al.* (2014) quantificaram as fases do ciclo vibratório por meio do estudo de curvas de área glótica e enfatizaram a diferença funcional entre crianças, adultos femininos e adultos masculinos.

Yamauchi *et al.* (2015) usaram a DKG por meio de imagens obtidas pela videolaringoscopia de alta velocidade em quarenta e seis indivíduos saudáveis do ponto de vista vocal. Observaram que o aumento da média da F_0 apresentava uma correlação positiva com a média do comprimento da prega vocal e com a média do OQ, bem como uma correlação negativa com a média da amplitude de vibração. A média do SQ não apresentou mudança significativa com a alteração da F_0 . Em relação à diferença entre sexo e idade, notaram que a média da amplitude foi maior nos homens quando comparados com as mulheres; que a média do SQ foi menor nos idosos (≥ 65 anos); e que houve uma maior assimetria de fase e de amplitude em idosos quando comparados com o grupo dos jovens (21 a 35 anos).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi aprovado sob Protocolo número 296/11 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-FMUSP), em 10 de agosto de 2011 (Apêndice A).

Foi dispensada a coleta do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) específico para esse estudo, por se tratarem de laringes excisadas obtidas no Serviço de Verificação de Óbito da Capital (SVOC), que já colhe um TCLE dos familiares dos cadáveres, esclarecendo a possibilidade da remoção de órgãos para pesquisas.

4.2 Material

Este estudo experimental foi conduzido em vinte laringes frescas excisadas de cadáveres humanos adultos do sexo masculino, obtidas no SVOC, em São Paulo.

Foram incluídas no estudo somente laringes retiradas em até doze horas após o óbito, de cadáveres cuja morte não foi violenta, que apresentaram integridade macroscópica e simetria morfológica entre as pregas vocais. Foram excluídas todas aquelas com lesão inflamatória, traumática ou tumoral, sinais de escarificação, ulceração ou cicatriz em qualquer de suas regiões; e incluídas somente aquelas capazes de produzir uma vibração cordal adequada.

4.3 Métodos

4.3.1 Preparo das laringes

As laringes foram retiradas dos cadáveres por um técnico do SVOC e levadas para o Laboratório de Habilidades Cirúrgicas em Otorrinolaringologia da FMUSP.

As estruturas anexas da laringe, como músculos extrínsecos, mucosa faríngea, esôfago proximal e língua, foram removidas, mantendo-se a traqueia proximal (Figura 9). As estruturas da região supraglótica, como pregas vestibulares, epiglote, gordura pré-epiglótica, ligamentos ariepiglóticos, membrana tireo-hioidea e osso hioideo, também foram retiradas mediante incisão da mucosa no limite látero-superior do ventrículo laríngeo, estendendo-se superior e posteriormente até a altura das cartilagens aritenoideas (Figura 10). As cartilagens aritenoideas foram preservadas integralmente, bem como as lâminas da cartilagem tireoidea, as estruturas glóticas e infraglóticas, e a musculatura intrínseca laríngea. Dessa maneira, as pregas vocais puderam ser observadas em toda a sua extensão.

Todas as laringes foram submersas em solução salina a 0,9% para promover hidratação das pregas vocais e permitir uma melhor vibração, segundo descrição de Jiang *et al.* (1999).



Figura 9 - Visão anterior de laringe excisada após retirada de estruturas anexas, com preservação dos músculos intrínsecos laríngeos.

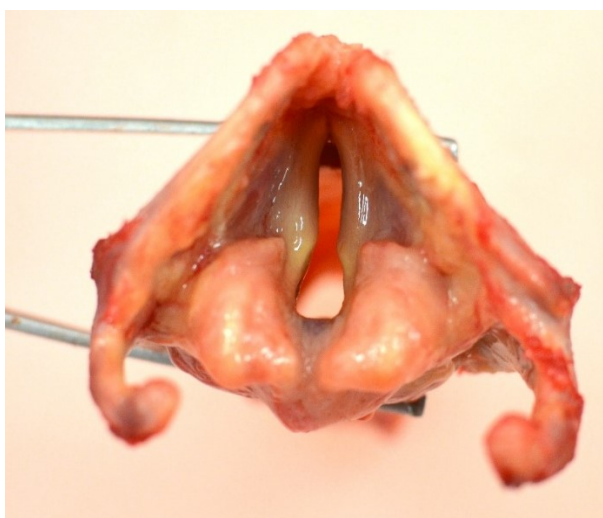


Figura 10 - Visão superior de laringe excisada após remoção da epiglote e bandas ventriculares para melhor exposição das pregas vocais.

4.3.2 Obtenção da vibração

Para a adução das pregas vocais e obtenção do fechamento da glote posterior, foi realizado um ponto entre os processos vocais com fio mononylon 3-0 Ethilon, agulha 3/8 de 45 mm (Ethicon®, EUA), ponto este que envolveu também as aritenoides (Figuras 11 e 12).

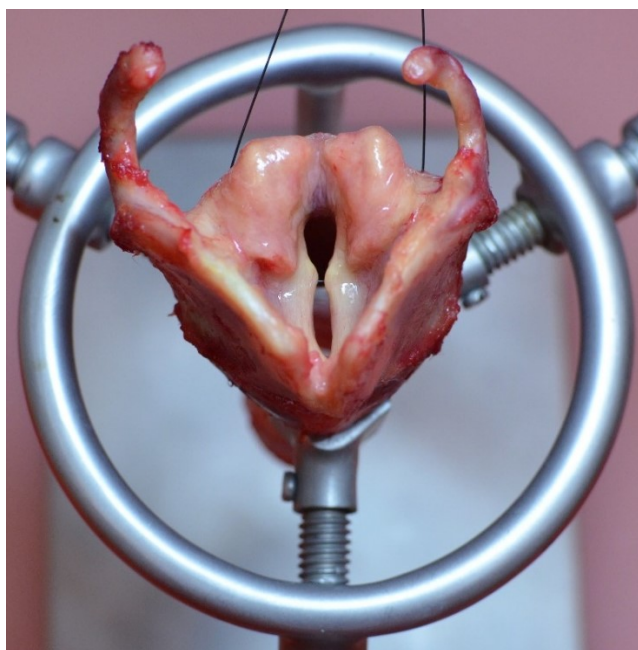


Figura 11 - Visão superior de laringe, mostrando fio de nylon passando pelos processos vocais e envolvendo as aritenoides para promover a adução das pregas vocais.

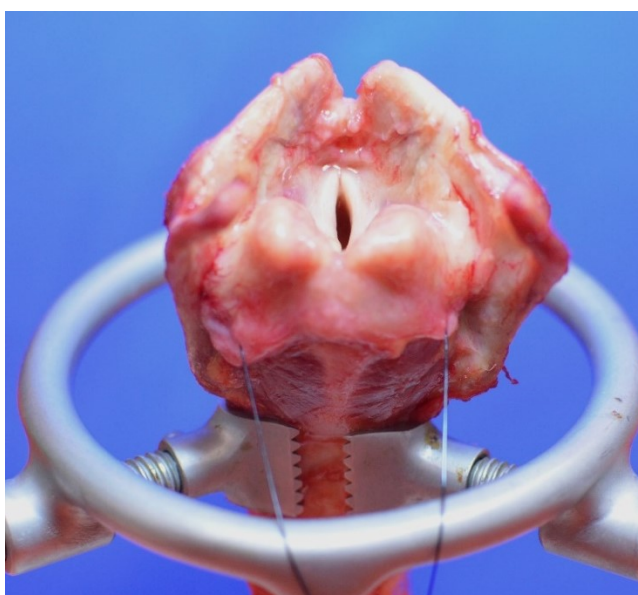


Figura 12 - Visão da região posterior da laringe, mostrando fio de nylon envolvendo as cartilagens aritenoides, antes da confecção do ponto para promover a adução das pregas vocais.

Cada laringe foi colocada em um suporte com três garras e fixada na altura da cartilagem cricoide. Um pedaço de fio de nylon 2-0 com tamanho de 5 mm foi posicionado lateralmente à prega vocal, de modo que não interferisse com a vibração da prega vocal, para que, posteriormente, fosse

usado como referência para as medidas realizadas no estudo (Figura 13). Foi utilizado o mesmo fio para todos os experimentos de uma mesma laringe.

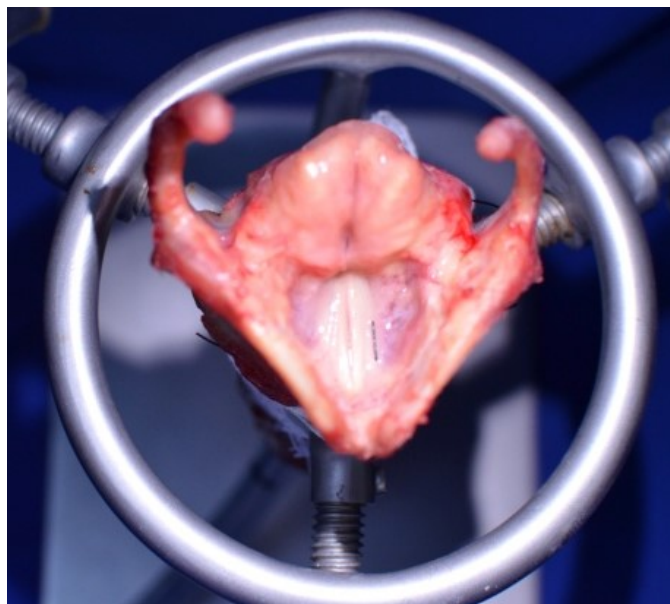


Figura 13 - Visão superior da laringe no suporte, após adução das pregas vocais, com o fio 5 mm para referência das medidas.

A vibração experimental foi obtida por meio da introdução de uma cânula de intubação orotraqueal com balão insuflado para vedação completa da traqueia, com orifício distal locado na transição cricotraqueal e conectado a um sistema de ar comprimido. Tal sistema passava por um recipiente de água aquecida a uma temperatura entre 36 e 37°C (temperatura corporal), com o intuito de aquecer e umidificar o ar. Foi mantido um fluxo de ar contínuo entre 5 e 10 L/min, controlado por meio de um fluxômetro calibrado (Figura 14). O volume do fluxo determinado para cada laringe correspondeu àquele de menor valor suficiente para iniciar uma vibração cordal adequada. Durante todos os experimentos com a mesma laringe, o volume foi mantido constante. Esse modelo experimental seguiu modelo de Tsuji (1997), utilizado posteriormente por Bohadana (2002) e Chung *et al.* (2007).

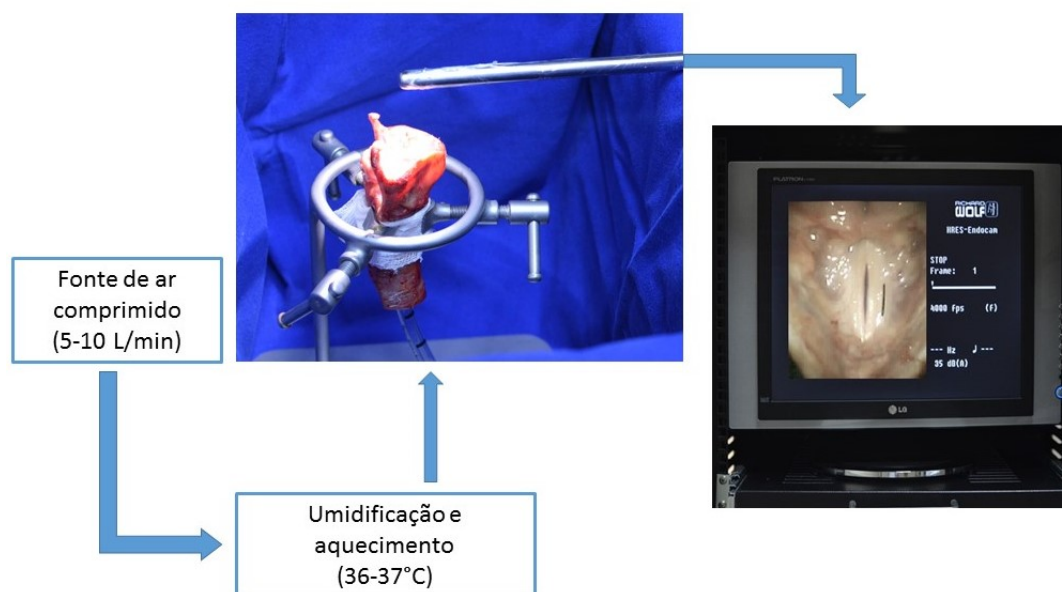


Figura 14 - Esquema do sistema experimental usado para obtenção da vibração das pregas vocais e gravação das imagens.

4.3.3 Técnica para simulação da contração do CT

Para simular a contração do CT, foram realizadas suturas (uma de cada lado) com fio mononylon 2-0 Ethilon, agulha 3/8 de 26 mm (Ethicon®, EUA), com orientação paralela à divisão entre as porções oblíqua e reta do CT, introduzindo a agulha na região média da inserção do CT na cartilagem tireoidea em direção à região média da inserção na cartilagem cricoide, também transfixada pelo ponto. A tensão aplicada na sutura foi aquela suficiente para alcançar o encurtamento máximo do espaço cricotireoideo, sem romper nenhuma relação anatômica (Figura 15). Essa técnica foi descrita por Woodson *et al.* (1998).

Dessa forma, três condições puderam ser avaliadas: contração bilateral do CT (em que as duas suturas estavam íntegras e simulavam o comportamento fisiológico normal), contração unilateral do CT (quando uma das suturas era cortada, simulando uma paralisia unilateral do CT) e ausência de contração bilateral do CT (com a remoção das duas suturas, simulando ausência de tensão longitudinal decorrente da contração do CT). Na situação de paralisia unilateral do CT, foi padronizada a remoção da

sutura do lado esquerdo em todas as laringes, simulando, dessa forma, a paralisia do CT esquerdo.

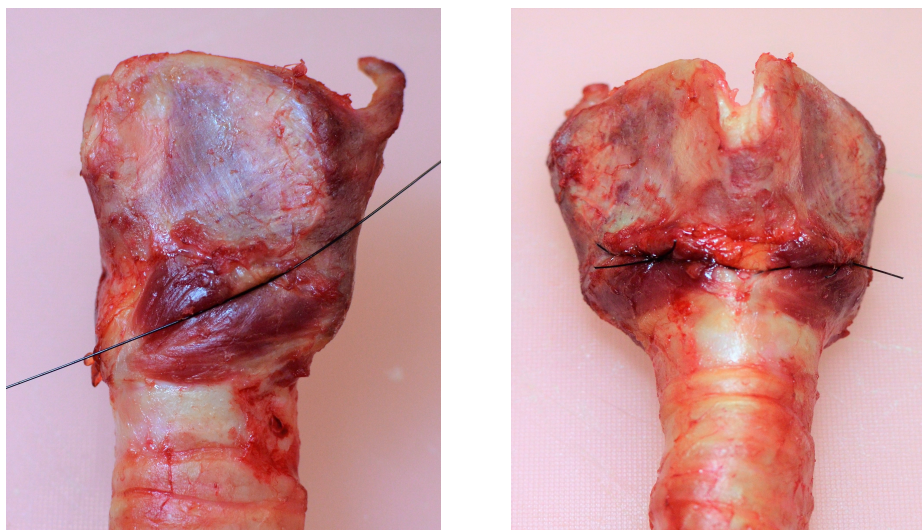


Figura 15 - Visão lateral e anterior de laringe excisada, mostrando suturas realizadas para simulação da contração do músculo cricotireoideo.

4.3.4 Registro da Vibração Cordal

As imagens da vibração das pregas vocais foram obtidas com laringoscópio rígido (Richard Wolf, Knittlingen, Alemanha, HReS 90° modelo 8454.002), conectado à câmera (Richard Wolf, Knittlingen, Alemanha, HRES ENDOCAM 5562) e a uma fonte de luz de xenônio de 300W (Richard Wolf, Knittlingen, Alemanha, AUTO LP 5132). As imagens eram obtidas a uma taxa de 4000 quadros por segundo, com resolução espacial de 256 x 256 *pixels*, e gravadas em um computador integrado com o sistema da câmera de alta velocidade.

Durante as gravações, o laringoscópio rígido foi mantido em posição paralela às pregas vocais a uma distância de 10 cm da glote, imóvel pela fixação a um tripé para prevenir a alteração do ângulo ou da distância de gravação durante a documentação.

4.3.5 Obtenção das medidas de vibração das pregas vocais por videoendoscopia de alta velocidade

Os parâmetros avaliados por esse estudo foram definidos como:

- Frequência fundamental (F_0): número de ciclos com que as pregas vocais vibram em um segundo.
- Periodicidade: refere-se à regularidade na duração dos ciclos vibratórios sucessivos.
- Amplitude de vibração: definida como excursão horizontal da borda livre de cada prega vocal, é medida como a distância entre o máximo afastamento lateral da borda livre em relação à linha mediana em cada ciclo vibratório.
- Simetria de fase: é a comparação entre as pregas vocais direita e esquerda em relação às suas propriedades mecânicas. A vibração de uma prega vocal deve ser uma imagem em espelho da prega vocal contralateral.

A análise das imagens capturadas pela videolaringoscopia de alta velocidade permitiu a mensuração dos parâmetros vibratórios das pregas vocais.

A medida da F_0 foi obtida com o programa HRES Endocam 5562 (Richard Wolf Corp., versão 1.10, Knittlingen, Alemanha). Após segmentação da imagem, tal ferramenta fornece a F_0 de cada prega vocal em Hertz (Hz = ciclos/seg) por meio de um algoritmo chamado Transformada Rápida de Fourier (Figura 16). A Transformada de Fourier é uma ferramenta matemática capaz de transformar um sinal que está no domínio do tempo em uma representação desse sinal no domínio das frequências.

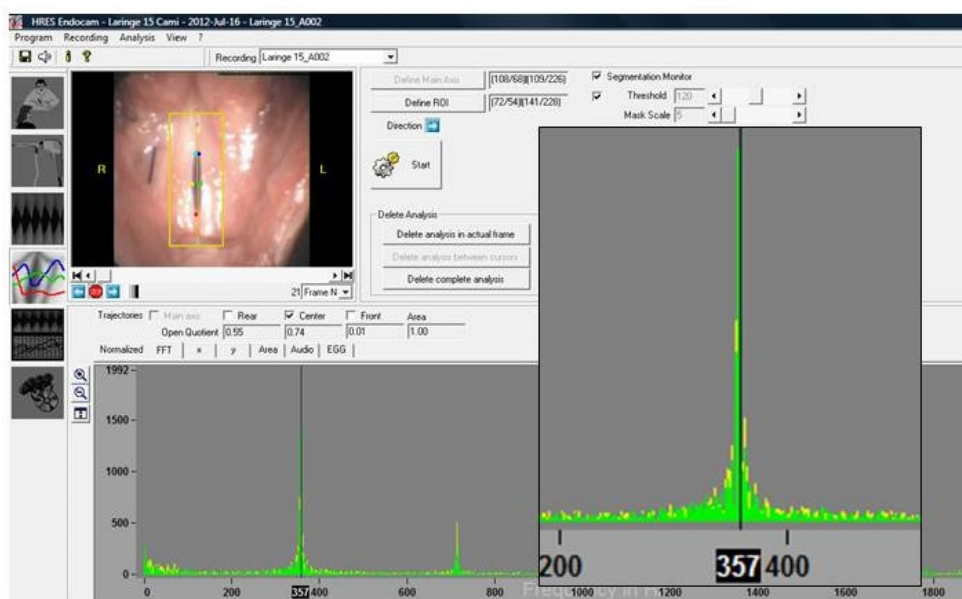


Figura 16 - Cálculo da frequência fundamental utilizando a Transformada Rápida de Fourier no programa HRES Endocam 5562. No gráfico localizado na parte inferior da figura, observamos o primeiro pico, que corresponde à F_0 (357 Hz). Podemos verificar também que a F_0 da prega vocal direita em amarelo coincide com a da prega vocal esquerda em verde.

A partir dos valores da F_0 obtidos em Hz, foi realizado o cálculo da diferença em semitons entre duas frequências (f_1 e f_2) de duas condições distintas em planilha do programa Microsoft® Excel® 2016. Matematicamente, a diferença em semitons (st) é dada pela fórmula: $st = (12 \times [\log_{10}(f_2) - \log_{10}(f_1)]) / \log_{10}(2)$ (Isshiki *et al.*, 1999).

A medida da amplitude de vibração de cada prega vocal foi realizada com a reprodução das gravações no algoritmo X-CAD (Laryn**X**-Computer Aided Diagnosis), versão 1.0.0.0, desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa em Engenharia Médica (GPEM/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq). Esse programa permite a utilização da medida de referência (f_{io} de 5 mm), possibilitando uma medida mais fidedigna e, também, a comparação das diferentes imagens das diversas situações de uma mesma laringe (Figura 17). Foi calculada a média aritmética dos valores de cinco imagens consecutivas mostrando a máxima excursão lateral de cada prega vocal. As medidas foram realizadas em milímetros (mm).

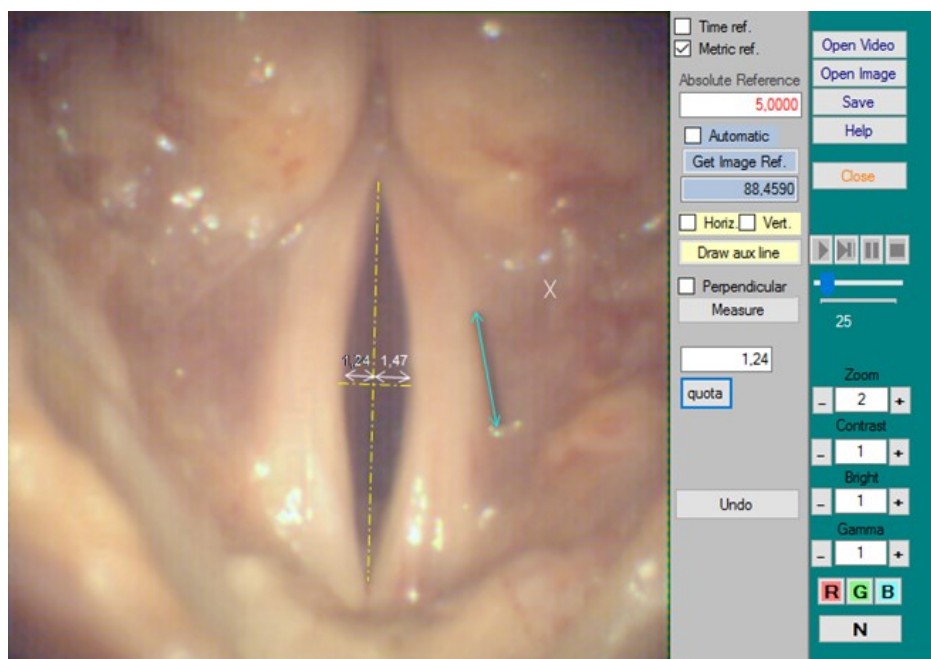


Figura 17 - Utilização do programa X-CAD, mostrando a medida da amplitude de cada prega vocal a partir da linha média.

A simetria de fase foi considerada presente quando ambas as pregas vocais alcançavam a máxima abertura glótica na mesma fase do ciclo glótico (Bonilha *et al.*, 2008). Para esse estudo, adotamos a avaliação quadro a quadro da reprodução das imagens capturadas pela laringoscopia de alta velocidade. Considerando que, na reprodução da imagem, cada quadro tem a duração de 0,25 ms, somente foram consideradas assimetrias acima desse intervalo de tempo.

A periodicidade da onda mucosa foi classificada em presente/regular (vibração quasiperiódica) ou irregular (vibração aperiódica). Sabe-se que as pregas vocais não oscilam em um padrão perfeitamente periódico. Assim, a vibração normal é dita quasiperiódica, quando a diferença de um ciclo para o próximo é suficientemente regular e similar. Para essa avaliação, foram utilizadas imagens de DKG obtidas pelo programa HRES Endocam 5562. Para a obtenção da DKG foi usado o vídeo completo de cada experimento, e a linha para sua obtenção foi posicionada no terço médio das pregas vocais, em posição perpendicular ao eixo ântero-posterior da glote (Figura 18).

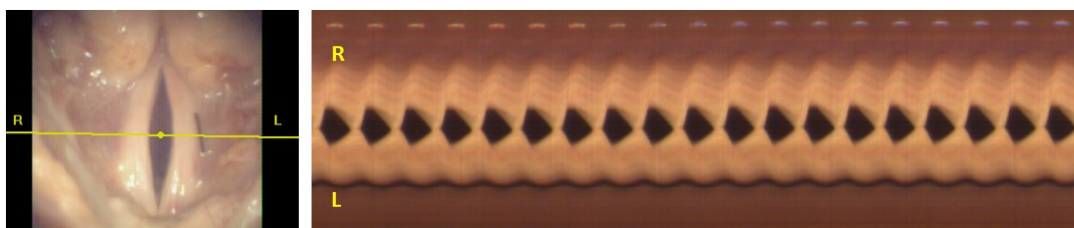


Figura 18 - Videoquimografia digital obtida pelo programa HRES Endocam 5562 no terço médio da glote mostrando vibração regular. R: lado direito; L: lado esquerdo.

4.3.6 Análise estatística dos dados

Foram analisados estatisticamente os dados obtidos de vinte laringes nas seguintes situações: contração bilateral do CT, contração unilateral do CT e ausência de contração bilateral do CT. Para análise estatística, foram usados os programas SPSS versão 20.0 e Excel 2003.

Os parâmetros avaliados foram descritos de acordo com a situação, com o uso de medidas resumo (média, desvio padrão, mediana, mínimo, máximo). As diferentes situações foram comparadas usando Equações de Estimativa Generalizadas (EEG) com matriz de correlações permutável entre elas, com distribuição marginal normal e função de ligação identidade. Apenas para avaliação da simetria de fase, as situações foram comparadas usando EEG com distribuição marginal binomial, com função de ligação logito e matriz de correlações entre as situações permutável. Quando o parâmetro tinha medidas bilaterais (direita e esquerda), foram empregadas EEG com distribuição marginal normal e função de ligação identidade supondo matriz de correlações permutável entre as situações e os lados.

Quando os modelos apresentaram significância estatística, foram realizadas Comparações Múltiplas de Bonferroni para identificar entre quais situações ou lados ocorreram as diferenças nos parâmetros.

Os testes foram realizados com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Foram usadas vinte laringes excisadas de cadáver para o estudo, todas de adultos do sexo masculino. As idades variaram de 49 a 84 anos, com média de 67,86 anos. O comprimento das pregas vocais variou de 15 e 22,2 mm, com média de 17,7 mm. Os dados referentes aos tamanhos das pregas vocais e às frequências fundamentais de cada laringe estudada estão no Anexo A.

5.1 Frequência fundamental

As pregas vocais direita e esquerda vibraram em igual frequência em todas as laringes estudadas. Os dados referentes à frequência fundamental em valores absolutos em Hertz estão representados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Descrição das medidas resumo da frequência fundamental (F_0) em hertz segundo cada situação estudada e resultado da comparação por EEG.

F_0 (Hz)	Situação			p
	Contração bilateral (N = 20)	Contração unilateral (N = 20)	Sem contração (N = 20)	
média (DP)	453,9 (128,4)	362,9 (119,4)	200,9 (32,7)	<0,001
mediana (mín.; máx.)	418 (273; 728)	348 (200; 670)	208 (131; 269)	

DP: desvio padrão; mín: mínimo; máx: máximo; N: tamanho da amostra; p: significância estatística segundo EEG com distribuição normal e função de ligação identidade

Tabela 2 - Resultado do teste Comparações Múltiplas de Bonferroni para a variável frequência fundamental (F_0) em hertz entre as três situações estudadas.

	Comparação		Diferença média	Erro padrão	gl	p	IC (95%)	
							Inferior	Superior
F_0 (Hz)	Contração bilateral	Contração unilateral	91,00	20,70	1	<0,001	41,44	140,56
	Contração bilateral	Sem contração	253,05	20,70	1	<0,001	203,49	302,61
	Contração Unilateral	Sem contração	162,05	20,70	1	<0,001	112,49	211,61

gl: grau de liberdade; IC (95%): intervalos com 95% de confiança; p: significância estatística segundo Comparações Múltiplas de Bonferroni

A frequência fundamental média em hertz apresentou diferença estatisticamente significativa entre as três situações estudadas: contração bilateral do CT, contração unilateral do CT e ausência de contração bilateral do CT ($p < 0,001$). Observa-se que, na contração unilateral do CT, a média da F_0 é menor que no grupo com contração bilateral, e que, na ausência de contração bilateral do CT, a média da F_0 é menor do que nos outros dois grupos (Tabela 1). A diferença média em Hz é estatisticamente significativa entre todas as situações ($p < 0,001$) – Tabela 2.

Os dados referentes à frequência fundamental em valores relativos em semitons nas três situações estudadas estão representados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 - Descrição das medidas resumo da diferença da frequência fundamental (F_0) em semitons segundo cada situação estudada e resultado da comparação por EEG.

Diferença da F_0 (semitons)	Situação			p
	Contração Unilateral x Contração Bilateral (N = 20)	Sem contração x Contração bilateral (N = 20)	Contração Unilateral x Sem contração (N = 20)	
média (DP)	4,07 (2,29)	13,74 (3,82)	9,67 (4,48)	<0,001
mediana (mín;máx)	4,03 (0,63; 11,45)	14,41 (8,72; 21,93)	10,48 (2,61; 19,02)	

DP: desvio padrão; mín: mínimo; máx: máximo; N: tamanho da amostra; p: significância estatística segundo EEG com distribuição normal e função de ligação identidade.

Tabela 4 - Resultado do teste Comparações Múltiplas de Bonferroni para a variável diferença da frequência fundamental (F_0) em semitons entre as três situações estudadas.

	Comparação		Diferença média	Erro padrão	gl	p	IC (95%)	
							Inferior	Superior
Diferença da F_0 (semitons)	Contração Unilateral	Sem contração	-9,67	1,01	1	<0,001	-12,09	-7,25
	x bilateral	x bilateral						
	Contração Unilateral	Unilateral	-5,60	1,01	1	<0,001	-8,02	-3,18
	x bilateral	x Sem contração						
	Sem contração	Unilateral	4,07	1,01	1	<0,001	1,65	6,49
	x bilateral	x Sem contração						

gl: grau de liberdade; IC (95%): intervalos com 95% de confiança; p: significância estatística segundo Comparações Múltiplas de Bonferroni

A avaliação da diferença da F_0 em semitons mostrou diferença estatisticamente significativa entre as relações de situações estudadas ($p < 0,001$). Observa-se que, quando comparadas com a situação contração bilateral, houve diminuição média de 4,07 semitons na contração unilateral do CT e de 13,74 na ausência de contração bilateral (Tabela 3). A diferença média em semitons é estatisticamente significativa entre todas as situações ($p < 0,001$) – Tabela 4.

5.2 Periodicidade da vibração

Todas as situações estudadas em todas as laringes tiveram a periodicidade vibratória classificada como regular.

5.3 Amplitude de vibração das pregas vocais

Os dados referentes à amplitude de vibração das pregas vocais direita e esquerda nas três condições estudadas estão representadas nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Descrição das medidas resumo da amplitude para prega vocal direita e esquerda segundo situação estudada e lado, e resultado da comparação por EEG

Amplitude (mm)	Situação			p Situação	p Lado	p Interação
	Contração bilateral (N = 20)	Contração Unilateral (N = 20)	Sem contração (N = 20)			
PVD						
média (DP)	0,49 (0,16)	0,63 (0,23)	0,97 (0,27)			
Mediana (mín; máx)	0,49 (0,21; 0,73)	0,62 (0,23; 1,16)	0,99 (0,49; 1,48)			
				<0,001	0,16	0,641
PVE						
média (DP)	0,46 (0,18)	0,54 (0,23)	0,96 (0,28)			
Mediana (mín; máx)	0,42 (0,23; 0,81)	0,5 (0,2; 1)	0,99 (0,54; 1,67)			

PVD: prega vocal direita; PVE: prega vocal esquerda; DP: desvio padrão; mín: mínimo; máx: máximo; N: tamanho da amostra; p: significância estatística segundo EEG com distribuição normal e função de ligação identidade.

Tabela 6 - Resultado do teste Comparações Múltiplas de Bonferroni para a variável amplitude entre as três situações estudadas

Amplitude (mm)	Comparação		Diferença média	Erro padrão	gl	p	IC (95%)	
							Inferior	Superior
	Contração bilateral	Contração unilateral	-0,114	0,038	1	0,008	-0,204	-0,024
	Contração bilateral	Sem contração	-0,493	0,038	1	<0,001	-0,583	-0,403
	Contração Unilateral	Sem contração	-0,379	0,038	1	<0,001	-0,469	-0,289

gl: grau de liberdade; IC (95%): intervalos com 95% de confiança; p: significância estatística segundo Comparações Múltiplas de Bonferroni

Nas situações estudadas notamos que a média da amplitude apresentou comportamento estatisticamente igual entre os lados nas diferentes situações ($p_{\text{Interação}}=0,641$), não havendo diferença estatisticamente significativa das médias entre os lados ($p_{\text{lado}}=0,160$), independente da situação; mas houve diferença entre as situações ($p_{\text{situação}}<0,001$) independente do lado (Tabela 5). Observamos que a média da amplitude aumenta em número absoluto na contração unilateral do CT e aumenta ainda mais na ausência de contração bilateral do CT, quando comparados com a situação de contração bilateral do CT, apresentando diferença estatística significativa entre todas as situações ($p<0,05$) – Tabela 6.

5.4 Simetria de fase entre as pregas vocais

Os dados referentes à simetria de fase entre as pregas vocais nas três situações estudadas estão representados na Tabela 7.

Tabela 7 - Descrição da porcentagem de simetria de fase entre as pregas vocais encontrada em cada situação estudada e resultado da comparação por EEG.

Simetria de fase (entre as PPVV)	Situação			p
	Contração bilateral (N = 20)	Contração Unilateral (N = 20)	Sem contração (N = 20)	
n (%)	10 (50)	8 (40)	13 (65)	0,23

PPVV: pregas vocais; N: tamanho da amostra; p: significância estatística segundo EEG com distribuição binomial e função de ligação logito.

Na avaliação da presença ou não de simetria de fase entre as pregas vocais, observamos que a distribuição de simetria/assimetria nas três situações estudadas não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,230$).

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

6.1 Laringologia experimental

Os primeiros relatos de estudos com laringes excisadas parecem datar do século XV, com experimentos de Leonardo da Vinci. Estudos posteriores de Ferrein (1741), Müller (1839) e Réthi (1896) trouxeram novos conceitos e estabeleceram a base da fisiologia vocal. Em 1959, van den Berg e Tan padronizaram um modelo experimental utilizando fluxo aéreo controlado, devidamente umidificado e aquecido, para estudar a vibração das pregas vocais e os fenômenos aerodinâmicos sob a influência de diversos parâmetros. A partir de então, diversos outros autores utilizaram modelos semelhantes. Neste trabalho, utilizamos o método desenvolvido por Tsuji (1997). De acordo com o modelo, as laringes são avaliadas em uma simulação de sua função fonatória mantendo sob controle as variáveis de fluxo aéreo e hidratação sob ar comprimido.

O aparato da laringe excisada é uma medida valiosa para o estudo da fisiologia e fisiopatologia laríngeas. Experimentos com a sua utilização oferecem grandes vantagens: as condições podem ser escolhidas para encontrar requisitos específicos, sem necessidade de incomodar o paciente por um longo período, já que o experimento poderia provocar náuseas; a vibração cordal pode ser avaliada diretamente em várias direções; e as condições podem ser mantidas constantes por um longo período, permitindo assim o estudo da vibração em todos os detalhes (van den Berg e Tan, 1959). Experimentos com laringes excisadas fornecem uma base para explorar novos diagnósticos e técnicas para tratamento, que podem ser desenvolvidos de modo repetitivo em um ambiente sem riscos, antes de serem aplicados em pacientes na prática clínica.

A impossibilidade de realizar esse tipo de estudo apresentado em pacientes torna muito vantajoso o uso desse método experimental. Alguns estudos induziram paralisia unilateral do NLS aguda *in vivo* por meio de injeção de anestésico local no trajeto do nervo (Abelson e Tucker, 1981; Sercarz *et al.*, 1992, Roy *et al.*, 2009b). Entretanto, esse procedimento, além de ser invasivo e não isento de riscos para um indivíduo que não apresenta qualquer condição patológica, não garante que apenas o NLS sofra ação do anestésico injetado, pois este pode se difundir para outras estruturas vizinhas, como os próprios autores ressaltaram. Além disso, diversas variáveis podem contribuir para o padrão vibratório observado nas paralisias laríngeas, como diferentes graus de inervação residual, reinervação e mecanismos compensatórios funcionais de outros músculos intrínsecos e extrínsecos laríngeos (Woodson, 1993a, 1993b). Foi comprovada, também, a presença de anastomoses entre o ramo externo do NLS com o músculo TA e/ou com o NLR (Wu *et al.*, 1994; Sañudo *et al.*, 1999; Maranillo *et al.*, 2003; Mu e Sanders, 2009; Masuoka *et al.*, 2015). Dessa forma, a observação clínica em pacientes não é suficiente para determinar o impacto isolado da paralisia do músculo CT na vibração das pregas vocais. Estudos experimentais com laringes excisadas permitem uma ativação seletiva dos músculos que controlam a posição da aritenoide (adução/abdução) e a tensão/alongamento das pregas vocais (Döllinger *et al.*, 2011), permitindo afastar outros fatores que podem funcionar como vieses e que estão quase sempre presentes em indivíduos vivos.

Apesar de a laringe canina ser um modelo comumente usado em estudos descritos na literatura (Tanabe *et al.*, 1972; Isshiki *et al.*, 1977; Abelson e Tucker, 1981; Moore *et al.*, 1987; Tanaka *et al.*, 1994; Mendelsohn *et al.*, 2007; Chhetri *et al.*, 2013) e ser considerada o modelo animal mais apropriado para estudos laríngeos que avaliam as características vibratórias da fonação (Garrett *et al.*, 2000; Regner *et al.*, 2010), a laringe humana fresca *ex vivo* foi escolhida para nosso estudo experimental. Diferenças descritas entre a laringe humana e canina, como a espessura da lâmina própria das pregas vocais, distribuição de fibras

colágenas e de elastina na camada superficial da lâmina própria das pregas vocais, dimensão vertical das pregas vocais e configuração das cartilagens cricoidea e tireoidea (Berke *et al.*, 1987; Garrett *et al.*, 2000), poderiam determinar diferenças vibratórias, podendo comprometer o entendimento da vibração da prega vocal humana e sua alteração clínica.

Uma limitação-chave da utilização de laringes excisadas de cadáver ao invés de laringes *in vivo* é a falta de inervação, impossibilitando a contração intrínseca dos músculos laríngeos. Mesmo sem os comandos neurais, todavia, os efeitos da paralisia podem ser simulados, exceto pela contração do músculo TA (van den Berg e Tan, 1959). Uma vez que o estímulo do NLS causa a contração do músculo CT, com conseqüente aumento da tensão longitudinal das pregas vocais, podemos simular a paralisia do NLS com a eliminação do efeito da contração do CT.

Foi optado pelo estudo somente com laringes masculinas para melhor uniformização do grupo. Sabe-se que as dimensões da laringe, particularmente das pregas vocais, determinam a extensão vocal de cada indivíduo. Em geral, a laringe masculina apresenta maiores dimensões, com pregas vocais mais longas e mais largas, que produzem uma gama de tons mais graves, enquanto que a laringe feminina, menor, com pregas vocais mais curtas e mais finas, produzem uma gama de tons mais agudos. Como exemplo dos seis tipos de voz humana (baixo, barítono e tenor nos homens e contralto, mezzo-soprano e soprano em mulheres), os três tipos de voz masculinos estão uma oitava abaixo do que de seus correspondentes femininos (Arnold, 1961). Além disso, estudos mostram que os valores de normalidade dos parâmetros vibratórios das pregas vocais podem variar de acordo com o sexo (Vargas *et al.*, 2005; Patel *et al.*, 2014; Yamauchi *et al.*, 2015).

Desde os estudos de van den Berg e Tan (1959), observou-se que um valor crítico de fluxo de ar e pressão subglótica é necessário para vibrar as pregas vocais. Por outro lado, um fluxo de ar elevado pode dificultar a obtenção de *pitch* vocal mais baixo. Assim, neste estudo, o fluxo de ar usado foi aquele suficiente para desencadear a vibração das pregas vocais, o que

ocorreu com valores na faixa de 5 a 10 L/min. O volume fluxo de ar do sistema não foi mantido idêntico para todas as laringes, pois foi verificado em estudo-piloto que diferentes laringes vibravam idealmente com diferentes fluxos. Ao aumentarmos o fluxo, a vibração das pregas vocais não ocorria de forma adequada em várias laringes.

Outro motivo para optarmos por não usar o fluxo de 15 L/min como em outros trabalhos com laringes excisadas humanas (Bohadana, 2002 e Chung *et al.*, 2007) foi a possibilidade desse fluxo mais alto tornar a F_0 de todas as laringes mais alta, dificultando a análise dos outros fatores capazes de alterar a F_0 .

Embora esses estudos possam ser realizados com laringes conservadas sob refrigeração (Tsuji, 1997), optamos pelo uso de laringes frescas, mantidas hidratadas em solução fisiológica. Desse modo, objetivamos garantir vibração adequada das pregas vocais durante o experimento, o que também foi observado por Jiang *et al.* (1999) e Witt *et al.* (2009, 2011).

6.2 Avaliação da vibração cordal

A avaliação da vibração das pregas vocais é essencial para a compreensão da voz normal e da voz disfônica, para o tratamento dos distúrbios da voz e para o treinamento de profissionais da voz. A sua avaliação por meio da observação laringoscópica é o método mais eficiente para investigar o comportamento das pregas vocais. Enquanto a taxa de gravação de videocâmeras comuns é realizada em 25 quadros por segundo, as pregas vocais oscilam entre 100 a 300 ciclos por segundo durante uma fonação normal. Dessa forma, os movimentos de abertura e fechamento das pregas vocais ocorrem de forma muito rápida, impossibilitando a avaliação desse fenômeno sem a utilização de ferramentas diagnósticas auxiliares (Kitzing, 1985).

A estroboscopia, método descrito pela primeira vez por Oertel, em 1895 (Alberti, 1996), é atualmente considerado o método diagnóstico mais importante para a avaliação da vibração cordal do ponto de vista clínico (Mehta e Hillman, 2012). Possibilita a documentação em detalhes dos fenômenos vibratórios cordais e seu benefício já foi clinicamente demonstrado em diversos estudos (Sataloff *et al.*, 1988; Woo *et al.*, 1991; Casiano *et al.*, 1992). A interpretação das imagens pela videoestrobolaringscopia, entretanto, apresenta algumas limitações. O aparente movimento de vibração das pregas vocais observável sob luz estroboscópica representa uma composição ou uma média de muitos ciclos vibratórios, não correspondendo aos ciclos vibratórios reais (Kallen, 1932; Kitzing, 1985; Deliyisky *et al.*, 2008). Assim, a variação ciclo a ciclo, caso esteja presente, não pode ser observada por esse método. Além disso, não possibilita uma avaliação eficiente e confiável em vibrações aperiódicas, presentes com mais frequência em disfonias moderadas a severas (Patel *et al.*, 2008).

A introdução das técnicas de imagens de alta velocidade permitiu a superação dessas limitações inerentes à técnica de videoestrobolaringscopia, possibilitando uma avaliação precisa e detalhada dos fenômenos que ocorrem em cada ciclo vibratório, bem como da variação que pode ocorrer entre os diferentes ciclos, além de não dependerem do comportamento periódico ou aperiódico dos movimentos para uma avaliação adequada (Patel *et al.*, 2008). São utilizadas em pesquisa desde a década de 40 e, a partir de 1995, diversas melhorias técnicas têm sido implementadas para viabilizar seu uso (Larsson *et al.*, 2000), mas os sistemas comerciais disponíveis ainda não são usados rotineiramente na prática clínica. Tal fato se deve a algumas limitações técnicas e práticas, e à falta de informação sobre sua validade e relevância clínica (Deliyski *et al.*, 2008). A análise da grande quantidade de imagens gerada pela videlaringoscopia de alta velocidade se torna mais fácil com o uso de métodos que permitem a segmentação automática das imagens, confecção de DKG e possibilidade de correlação dos dados vibratórios com dados

acústicos (Mehta e Hillman, 2008; Kendall, 2012), tornando todo o processo de análise mais rápido e objetivo. Nos últimos anos, diversos autores se propuseram a estudar o padrão vibratório cordal em indivíduos considerados vocalmente normais (Bonilha *et al.*, 2008; Kendall, 2009; Kunduk *et al.*, 2010; Yamauchi *et al.*, 2012, 2015; Lohscheller *et al.*, 2013; Patel *et al.*, 2014). Outros estudos mostraram melhora na acurácia diagnóstica em determinadas patologias laríngeas (Inwald *et al.*; Patel *et al.*, 2011; Mendelsohn *et al.*, 2013).

Nesse estudo, optamos pelo uso da videolaringoscopia de alta velocidade por considerá-lo como o método mais completo, na medida em que possibilita a avaliação de todos os tipos de vibração glótica, com imagens reais de vários ciclos glóticos inteiros e sucessivos, permitindo assim a avaliação com precisão de todas as fases de cada um dos ciclos vibratórios.

6.3 Impacto da contração do CT na vibração cordal

A estimulação do músculo CT resulta em alongamento, afinamento e aumento de tensão longitudinal das pregas vocais (Sulica, 2004) e, conseqüentemente, em aumento do *pitch* e da F_0 . Apesar de existirem diferenças funcionais entre as porções reta e oblíqua do CT (Hong *et al.*, 1998, 2001), foi mostrado que a estimulação simultânea delas é importante para o ajuste do comprimento vocal (Hong *et al.*, 1998).

Estudos *in vivo* em cães mostram a relação da ação do músculo CT e do estímulo do NLS com o aumento da F_0 (Berke *et al.*, 1989; Slavik *et al.*, 1991), assim como da disfunção unilateral do CT com a diminuição da F_0 (Chhetri *et al.*, 2013). Nosso estudo corrobora esses dados, mostrando uma relação direta entre a F_0 e a contração do músculo CT. As médias dos grupos contração bilateral do CT, contração unilateral do CT e ausência de contração bilateral do CT foram, em valores absolutos, 453,9 Hz, 362,9 Hz e 200,9 Hz, respectivamente, mostrando uma diminuição da F_0 em 20%

quando comparamos a situação de contração bilateral do CT com a situação de contração unilateral do CT, e em 55,7% quando comparamos as situações de contração bilateral do CT com a de ausência de contração bilateral do CT. Resultado semelhante foi observado em estudo de Roy *et al.*, (2009a) com dez voluntários submetidos à indução de paralisia unilateral do NLS por meio da injeção de anestésico no trajeto do nervo. Os autores observaram que, após a indução, ocorreu uma diminuição de 17,4% na F_0 em hertz ao testarem a fala em *pitch* elevado em volume confortável.

A avaliação da F_0 em semitons também mostrou uma diferença significativa na comparação de todas situações estudadas, com diminuição média de 4,07 semitons da situação de contração bilateral para a de contração unilateral do CT, e de 13,74 semitons da situação de contração bilateral do CT para a de ausência de contração bilateral do CT.

Verificamos também que, proporcionalmente, houve um impacto maior quando comparamos a situação contração unilateral do CT x ausência de contração do CT bilateral (diminuição da 44,6% da F_0 em Hz) com a situação contração bilateral x contração unilateral do CT (diminuição de 20%). Essa diferença pode ser explicada pelo modo de funcionamento da JCT. Considerando sua anatomia, é improvável que a contração unilateral do CT afete somente a prega vocal ipsilateral. As cartilagens cricoide e tireoidea se articulam em duas articulações que funcionam, essencialmente, como uma dobradiça. Assim, a contração em apenas um dos músculos resulta em uma movimentação da comissura anterior, que é a inserção para ambas as pregas vocais e, assim, age tensionando ambas (Woodson *et al.*, 1998). Do ponto de vista prático, esse estudo nos permite supor que uma avaliação minuciosa da extensão vocal para emissão de agudos poderia ser de grande valor para um paciente com diagnóstico de paralisia unilateral do CT. Hipoteticamente, uma pessoa que antes conseguia elevar a frequência vocal em 13,74 semitons, só conseguiria elevá-la em 9,67 semitons na vigência de uma paralisia unilateral, ou seja, seu limite máximo para elevação do *pitch* vocal ficaria reduzido em quase 30%. Caso esta hipótese esteja correta, em um cantor com paralisia unilateral do CT, uma orientação fonoterápica

adequada poderia ajustar um novo repertório musical para esse novo limite vocal, evitando a ocorrência de tensões musculares compensatórias tão frequentemente observadas em pacientes nessas condições.

Essas alterações na F_0 em hertz e semitons encontradas em laringes excisadas não necessariamente refletem o real impacto *in vivo*, uma vez que, apesar de o músculo CT ser considerado o principal responsável pelo aumento da F_0 , há diversos outros fatores que estão relacionados com esse controle.

O músculo tireoaritenoideo (TA), juntamente com o CT, é considerado um dos responsáveis primários pelo controle do pitch e da F_0 . A regulação da F_0 durante a fala rotineira e o canto ocorre em decorrência da atividade coordenada dos músculos CT e TA, dependendo da integridade dos dois nervos laríngeos (Sulica, 2004). São esses os dois principais músculos que determinam a relação entre o corpo e a cobertura da prega vocal (Hirano, 1974). Estudos com estimulação elétrica no NLR (Isshiki, 1959) e com LEMG (Gay *et al.*, 1972; Baer *et al.*, 1976) mostram a relação direta da atividade do TA com a elevação da F_0 . Além dos músculos TA e CT, os outros músculos laríngeos intrínsecos e extrínsecos podem ter um papel no controle da F_0 . Baer *et al.* (1976) observaram que os músculos tireo-hioideo e esterno-hioideo contribuem para o controle da F_0 em extremos graves, e que os músculos constritor inferior e tireo-hioideo contribuem nos extremos agudos.

O aumento da pressão subglótica também está relacionado com um aumento da F_0 (Isshiki, 1959; Alipour *et al.*, 1997). Entretanto, estudos avaliando a pressão subglótica durante estimulação do NLS mostraram pouca (Berke *et al.*, 1989) ou nenhuma mudança (Slavit *et al.*, 1991) da pressão subglótica em cães vivos, indicando que a estimulação do NLS tem pouco efeito na resistência glótica. Já o papel do aumento de fluxo de ar na elevação do *pitch* é de menor consenso. Alipour *et al.* (1997) relatam que a elevação seria um reflexo do aumento da pressão subglótica.

Neste estudo, os valores de F_0 observados no grupo com ausência de contração bilateral do CT foram maiores que o esperado para a população

masculina, com média de 200,9 Hz. Estudos mostram que, na fala em português brasileiro, os valores da F_0 na amostra masculina estudada variam de 113 a 142 Hz para os homens (Behlau *et al.*, 1985; Pegoraro-Krook e Castro, 1994; Araújo *et al.*, 2002; Naufel de Felipe *et al.*, 2006). Comparando com resultados de estudos metodologicamente semelhantes (Bohadana, 2002; Chung *et al.*, 2007), que utilizaram laringes excisadas de cadáver, a média da F_0 observada em nossa amostra também foi maior. Uma possível explicação para essa diferença pode ser o tamanho das pregas vocais. Bohadana (2002), em seu estudo, encontrou uma média de F_0 de 161,50 Hz e 21,38 mm de comprimento para laringes masculinas, e de 231,29 Hz e 14,07 mm para as femininas. A média para o grupo todo de trinta laringes foi de 194,07 Hz e 17,97 mm. No presente estudo, com vinte laringes excisadas masculinas, encontramos uma F_0 média de 200,9 Hz para as laringes sem ação do músculo CT e uma média de 17,7 mm para o comprimento das pregas vocais ao repouso. A média de comprimento encontrada em nosso estudo é menor que a média da população masculina no estudo de Bohadana (2002), se aproximando dos valores encontrados na média do grupo todo, o que também ocorreu para o valor médio da F_0 . Uma vez que pregas vocais mais curtas produzem *pitch* mais alto (Isshiki, 1989), espera-se que a F_0 média para nossa amostra também seja maior. Além disso, um fator relevante - talvez mais importante que o comprimento da prega vocal - pode ser a falta de ação do músculo TA que, como já dito anteriormente, é fundamental para o controle da F_0 juntamente com o CT.

Apesar de não se conhecer a prevalência da paralisia do músculo CT (Roy, 2011; Orestes, 2014), estudos com pacientes submetidos à tireoidectomia relatam até 58% de lesões parciais ao NLS (Jansson *et al.*, 1988). Daí a importância do conhecimento detalhado do trajeto do nervo laríngeo superior e de suas variações anatômicas por parte dos profissionais envolvidos em cirurgias cervicais para prevenir a lesão desse nervo (Cernea *et al.*, 1992; Kierner *et al.*, 1998; Monfared *et al.*, 2002).

Do ponto de vista clínico, é relativamente fácil suspeitar de paralisia do músculo CT a partir da história clínica do paciente que se queixa de

dificuldade em emitir sons agudos, acompanhado ou não de outros sintomas (Dedo, 1970; Dursun *et al.*, 1996; Eckley *et al.*, 1988; Roy *et al.*, 2009a). O grande desafio para o laringologista está na confirmação diagnóstica do comprometimento desse músculo com o uso da laringoscopia. Estudos mostram que as alterações vibratórias encontradas na paralisia unilateral do CT não se apresentam de forma uniforme (Tanabe *et al.*, 1972; Isshiki *et al.*, 1977; Sercarz *et al.*, 1992; Dursun *et al.*, 1996; Maunsell *et al.*, 2006; Mendelsohn *et al.*, 2007; Chhetri *et al.*, 2013), assim como as alterações de configuração glótica (Dedo, 1970; Tanabe *et al.*, 1972; Adour *et al.*, 1980; Abelson e Tucker, 1981; Moore *et al.*, 1987; Hanson *et al.*, 1988; Bevan *et al.*, 1989; Sercarz *et al.*, 1992; Tanaka *et al.*, 1994; Dursun *et al.*, 1996; Eckley *et al.*; Woodson *et al.*, 1998; Tsai *et al.*, 2007; Roy *et al.*, 2009b, 2011; Chhetri *et al.*, 2013). Autores também discordam do papel de manobras de diadocinesia laríngea para ajudar na identificação da hipomobilidade da prega vocal acometida (Rubin *et al.*, 2005; Heman-Ackah e Barr, 2006).

A aperiodicidade foi um achado pouco descrito nos estudos sobre paralisia unilateral do SLN ou sobre assimetria de tensão. Isshiki *et al.* (1977) descreveram presença de vibração aperiódica em alguns casos em que o A_{g_0} era maior que $0,015 \text{ cm}^2$, situação em que era necessária uma maior pressão subglótica para iniciar a vibração. Chhetri *et al.* (2013) também observaram aperiodicidade, relacionada com um aumento na assimetria de tensão longitudinal entre as pregas vocais. Já Maunsell *et al.* (2007) encontraram periodicidade na vibração de todas as seis laringes porcinas, estudando paralisia unilateral do NLS. Nosso estudo, assim como o de Sercarz *et al.* (1992) e o de Maunsell *et al.* (2007), não mostrou aperiodicidade relevante em nenhuma das laringes estudadas e, por isso, acreditamos que os achados a partir da videolaringoscopia de alta velocidade podem, até certo ponto, ser transpostos para a videoestroboscopia, método utilizado mais frequentemente na prática clínica. De acordo com Kendall (2012), estudos baseados em imagens de videolaringoscopia de alta velocidade em indivíduos normais sugerem que a regularidade da vibração é consistente com a produção de uma voz limpa.

Isso nos leva a acreditar que a voz tão alterada em alguns pacientes com paralisia unilateral do CT possa ser decorrente da tensão muscular que o paciente faz para atingir uma frequência que jamais conseguirá.

Yamauchi *et al.* (2015) observaram uma relação inversa da F_0 com a amplitude de vibração das pregas vocais em indivíduos saudáveis. Outros estudos também mostram que ocorre uma diminuição da amplitude de vibração da prega vocal com o aumento da ação do músculo CT ou com o alongamento da prega vocal (Hsiao *et al.*, 2001; Bohadana, 2002 e Chung *et al.*, 2007). Em situações de assimetria de tensão longitudinal entre as pregas vocais, Isshiki *et al.* (1977) descreveram que a prega vocal mais tensa vibrava com menor amplitude que a menos tensa. Outros estudos, entretanto, obtiveram resultado oposto (Tanabe *et al.*, 1972; Sercarz *et al.*, 1992; Dursun *et al.*, 1996; Chhetri *et al.*, 2013). Apesar do pensamento convencional sugerir que a prega vocal denervada terá uma maior amplitude devido à diminuição da tensão e uma maior frouxidão, alguns estudos mostram que, muitas vezes, os examinadores apresentam dificuldade em diagnosticar o lado acometido, principalmente quando não existe uma alteração na mobilidade das pregas vocais (Simpson *et al.*, 2011), o que pode justificar a variabilidade dos resultados referentes à paralisia unilateral do NLS. Como esperado, em nosso estudo, a avaliação das médias das amplitudes de vibração das pregas vocais mostrou uma relação inversa da amplitude de vibração com a F_0 ou com o grau de tensão longitudinal nas pregas vocais. Esse estudo também mostrou que as pregas vocais direita e esquerda se comportaram de forma semelhante; porém, inesperadamente, tal comportamento ocorreu em todas as situações estudadas, inclusive na situação de contração unilateral do CT.

Tanabe *et al.* (1972) e Isshiki *et al.* (1977) observaram presença de assimetria de fase entre as pregas vocais na presença de assimetria de tensão longitudinal entre elas. De acordo com Isshiki *et al.* (1977), a assimetria de fase é o sinal mais importante da assimetria de tensão. Essa alteração foi confirmada em estudos posteriores que estudaram paralisia unilateral do CT (Dursun *et al.*, 1996; Maunsell *et al.*, 2006; Mendelsohn *et*

al., 2007). Em nosso estudo, apesar de a assimetria de fase estar presente em 60% das laringes na situação de contração unilateral do CT, não encontramos diferença estatística na frequência dessa alteração em relação aos outros grupos.

O comportamento inesperado encontrado em nosso estudo - a constatação de que a contração unilateral do CT não resultou em um aumento na assimetria de fase nem em uma diferença entre as amplitudes das pregas vocais direita e esquerda - provavelmente se deve ao mecanismo de ação na JCT. Apesar desse estudo não avaliar a anatomia dessa estrutura, a literatura aponta que, além da rotação, pode ocorrer um movimento de deslizamento horizontal e vertical na JCT. Mostra, também, que essa mobilidade depende da relação de suas estruturas anatômicas. A presença de faces articulares bem definidas, com cápsulas e ligamentos tensos, é a mais comum, presente em 61% das laringes (Windisch *et al.*, 2010). Esse tipo de articulação, por ser mais estável, permite um menor movimento de deslizamento entre as cartilagens tireoidea e cricoide. Além disso, a posição de rotação extrema adotada em nosso estudo, decorrente da aplicação do encurtamento máximo possível do espaço cricotireoideo, prejudicaria os movimentos de deslizamento entre as cartilagens (Arnold, 1961; Vilkmán *et al.*, 1987), permitindo somente o movimento de rotação, de modo que a assimetria esperada entre as pregas vocais seria menor ou, como encontrado nesse estudo, inexistente. Abelson e Tucker (1981) concluíram que seriam esses movimentos de deslocamento vertical e horizontal entre as cartilagens os responsáveis pelo deslocamento da comissura posterior para o lado paralisado, achado visto em diversos estudos, como citado anteriormente. Parece-nos que seriam esses movimentos também os responsáveis por causar uma assimetria de tensão entre as pregas vocais. Dessa forma, a contração unilateral do CT pareceu não ser suficiente para causar uma assimetria de tensão entre as pregas vocais nesse estudo, a ponto de evidenciar uma assimetria de fase ou uma diferença de amplitude de vibração entre elas. Assim, pensamos que a

presença dessas alterações não é capaz de fazer um diagnóstico seguro da paralisia unilateral do CT.

Ainda em relação à assimetria de fase, a presença em nosso estudo dessa alteração em grande quantidade, nas situações de contração bilateral e de ausência de contração bilateral, foi inesperada. Entretanto, a presença de estudos mostrando a presença de assimetria de fase em indivíduos sem queixas vocais e com pregas vocais normais (Elias *et al.*, 1997; Haben *et al.*, 2003; Bonilha *et al.*, 2008) dificulta a interpretação desse achado, que não necessariamente indica alguma anormalidade, pois pode corresponder a uma variação da normalidade, levantando dúvida em relação à relevância clínica da assimetria de fase. Ainda que não possamos garantir que a tensão aplicada em cada sutura na situação de contração bilateral tenha sido realizada de forma totalmente simétrica, parece-nos que sua influência não foi significativa, uma vez que não mostrou diferença em relação à laringe sem intervenção alguma (situação de ausência de contração bilateral do CT).

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Observamos, como esperado, uma diminuição da F_0 e um aumento da amplitude de vibração das pregas vocais com o grau de contração dos músculos CT (de contração bilateral para unilateral para ausência de contração). Encontramos peridiocidade em todas as laringes estudadas, o que nos faz pensar que a videoestrobolaringscopia possa ser um método adequado para avaliar pacientes com paralisia unilateral do CT. E, ainda, que a contração unilateral do CT parece não ser suficiente para causar uma assimetria de tensão entre as pregas vocais a ponto de evidenciar uma assimetria de fase ou uma diferença de amplitude de vibração entre elas, não sendo capaz, dessa forma, de fazer uma diferenciação segura nos quadros de paralisia unilateral do músculo cricótireoideo.

As observações encontradas nesse trabalho permitiram-nos entender um pouco melhor as complexas questões relacionadas ao impacto da paralisia unilateral do CT na vibração cordal. Porém, não provam nem descartam a validade de estudos prévios sobre paralisia unilateral do CT, pois as considerações acima foram baseadas em estudo com laringes de cadáveres, sendo apenas teóricas. Dessa forma, há uma necessidade de um estudo clínico bem elaborado para melhor comprovação e elucidação dessas alterações.

8 ANEXOS

8.1 Anexo A - Tamanho das pregas vocais, frequência fundamental em hertz e em diferença em semitons das laringes estudadas.

Laringe	Tamanho PV (mm)	F ₀ (Hz)			Diferença em semitons (em relação à contração bilateral)	
		Contração bilateral	Contração unilateral	Ausência de contração	Contração unilateral	Ausência de contração
1	15	395	301	226	4,71	9,67
2	16	423	372	185	2,22	14,32
3	15,7	640	507	236	4,03	17,27
4	16,1	457	380	180	3,19	16,13
5	22,2	273	211	165	4,46	8,72
6	17,5	367	286	210	4,32	9,66
7	16,5	516	406	210	4,15	15,56
8	19,6	477	378	210	4,03	14,2
9	15,8	384	346	219	1,8	9,72
10	19,8	357	273	206	4,64	9,52
11	19,5	492	254	211	11,45	14,66
12	16,3	363	350	202	0,63	10,15
13	16,4	423	341	183	3,73	14,51
14	16,4	297	200	172	6,85	9,46
15	18,2	728	670	269	1,44	17,24
16	20,8	376	279	131	5,17	18,25
17	19	413	352	228	2,77	10,29
18	18	717	606	202	2,91	21,93
19	19,3	378	316	142	3,1	16,95
20	16,3	602	430	230	5,83	16,66

PV: Pregas vocais; mm: milímetro; F₀: frequência fundamental; Hz: hertz.

8.2 Anexo B - Amplitude de vibração das pregas vocais das laringes estudadas.

Laringe	Amplitude (mm)					
	Contração bilateral		Contração unilateral		Ausência de contração	
	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE
1	0,558	0,724	0,69	0,8	0,804	0,956
2	0,472	0,424	0,73	0,508	0,91	0,922
3	0,354	0,232	0,42	0,332	0,83	0,656
4	0,214	0,25	0,232	0,324	0,522	0,54
5	0,642	0,716	0,782	0,618	1,004	1,03
6	0,67	0,806	0,74	0,972	0,794	0,998
7	0,632	0,386	0,628	0,378	0,744	0,644
8	0,452	0,474	0,66	0,43	1,27	1,036
9	0,73	0,41	0,73	0,658	0,966	0,994
10	0,7	0,7	1,164	0,632	1,206	0,638
11	0,32	0,31	0,274	0,516	0,492	0,98
12	0,46	0,29	0,612	0,45	1,212	1,02
13	0,584	0,43	0,588	0,334	1,482	1,118
14	0,498	0,508	0,838	0,91	1,056	1,03
15	0,3	0,3	0,37	0,328	1,246	0,91
16	0,678	0,666	1,044	0,964	1,264	1,504
17	0,242	0,27	0,392	0,29	0,662	0,548
18	0,31	0,28	0,456	0,242	1,01	0,932
19	0,52	0,61	0,59	0,698	1,15	1,666
20	0,392	0,37	0,61	0,494	0,852	1,008

mm: milímetros; PVD: prega vocal direita; PVE: prega vocal esquerda.

8.3 Anexo C - Simetria de fase entre as pregas vocais das laringes estudadas.

Laringe	Simetria de fase (entre as pregas vocais)		
	Contração bilateral	Contração unilateral	Ausência de contração
1	Sim	Sim	Sim
2	Sim	Não	Sim
3	Não	Não	Sim
4	Não	Não	Sim
5	Não	Não	Sim
6	Sim	Sim	Não
7	Sim	Sim	Sim
8	Sim	Sim	Sim
9	Não	Sim	Sim
10	Sim	Sim	Não
11	Não	Não	Não
12	Não	Não	Não
13	Sim	Não	Sim
14	Sim	Não	Não
15	Não	Não	Sim
16	Sim	Não	Sim
17	Não	Não	Sim
18	Não	Não	Não
19	Não	Sim	Não
20	Sim	Sim	Sim

Sim: simetria de fase; Não: assimetria de fase.

9 REFERÊNCIAS

9 REFERÊNCIAS

Abelson TI, Tucker HM. Laryngeal findings in superior laryngeal nerve paralysis: a controversy. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1981;89(3 Pt 1):463-70.

Adour KK, Schneider GD, Hilsinger RL Jr. Acute superior laryngeal nerve palsy: Analysis of 78 cases. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1980;88(4):418-24.

Alberti PW. The history of laryngology: A centennial celebration. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996;114(3):345-54.

Alipour F, Scherer RC, Finnegan E. Pressure-flow relationships during phonation as a function of adduction. *J Voice.* 1997;11(2):187-94.

Araújo SA, Grellet M, Pereira JC, Rosa MO. Standardization of acoustic measures of the normal voice. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2002;68(4):540-4.

Arnold GE. Physiology and pathology of the cricothyroid muscle. *Laryngoscope.* 1961;71(7):687-753.

Baer T, Gay T, Niimi S. Control of fundamental frequency, intensity, and register of phonation. Haskins Laboratories: Status Report on Speech Research SR. 1976; p.45-6.

Behlau MS, Tosi O, Pontes PAL. Determinação da frequência fundamental e suas variações em altura ("jitter") e intensidade ("shimmer"), para falantes do português brasileiro. *ACTA AWHO.* 1985;4(1):5-9.

Berke GS, Moore DM, Gerratt BR, Hanson DG, Natividad M. Effect of superior laryngeal nerve stimulation on phonation in an in vivo canine model. *Am J Otolaryngol.* 1989;10(3):181-7.

Berke GS, Moore DM, Hantke DR, Hanson DG, Gerratt BR, Burstein F. Laryngeal modeling: Theoretical, in vitro, in vivo. *Laryngoscope.* 1987;97(7 Pt 1): 871-81.

Bevan K, Griffiths FRCS, Morgan MH. Cricothyroid muscle paralysis: its recognition and diagnosis. *J Laryngol Otol.* 1989;103(2):191-5.

Bohadana SC. *Vibração das pregas vocais pré e pós aproximação cricótireóidea: estudo experimental em laringes humanas por videoquimografia* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2002.

Bonilha HS, Deliyiski DD, Gerlach TT. Phase asymmetries in normophonic speakers: visual judgements and objective findings. *Am J Speech Lang Pathol*. 2008;17(4):367-76.

Casiano RR, Zaveri V, Lundy DS. Efficacy of videostroboscopy in the diagnosis of voice disorders. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1992;107(1):95-100.

Cernea CR, Ferraz AR, Nishio S, Dutra AJ, Hojaij FC, Dos Santos LR. Surgical anatomy of the external branch of the superior laryngeal nerve. *Head Neck*. 1992;14(5):380-3.

Chhetri DK, Neubauer J, Bergeron JL, Sofer E, Peng KA, Jamal N. Effects of asymmetric superior laryngeal nerve stimulation on glottis posture, acoustics, vibration. *Laryngoscope*. 2013;123(12):3110-6.

Chung D, Tsuji DH, Sennes LU, Imamura R. Upper displacement of the anterior commissure: experimental study of a new phonosurgical approach to raising vocal fold pitch. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2007;116(6):462-70.

Cooper DS. Research in laryngeal physiology with excised larynges. In: Cummings CW. *Otolaryngology: head and neck surgery*. 2ª edição. St Louis, Mosby-Year Book, Inc., 1993. v.3, p. 1728-37.

Dedo HH. The paralyzed larynx: An electromyographic study in dogs and humans. *Laryngoscope*. 1970;80(10):1455-517.

Deliyiski DD, Petrushev PP, Bonilha HS, Gerlach TT, Martin-Harris B, Hillman RE. Clinical implementation of laryngeal high-speed videoendoscopy: Challenges and evolution. *Folia Phoniatr Logop*. 2008, 60(1):33-44.

Döllinger M, Kobler J, Berry DA, Mehta DD, Luegmair G, Bohr C. Experiments on analyzing voice production: Excised (human, animal) and *in vivo* (animal) approaches. *Curr Bioinform*. 2011;6(3):286-304.

Dursun G, Sataloff RT, Spiegel JR, Mandel S, Heuer RJ, Rosen DC. Superior laryngeal nerve paresis and paralysis. *J Voice*. 1996;10(2):206-11.

Eckley CA, Sataloff RT, Hawkshaw M, Spiegel JR, Mandel S. Voice range in superior laryngeal nerve paresis and paralysis. *J Voice*. 1998;12(3):340-48.

Elias ME, Sataloff RT, Rosen DC, Heuer RJ, Spiegel JR. Normal stroboscoped laryngoscopy: Variability in healthy singers. *J Voice*. 1997;11(1):104-7.

Garrett CG, Coleman JR, Reinisch L. Vocal Folds: Implications for experimental studies in microlaryngeal surgery. *Laryngoscope*. 2000;110(5 Pt 1):814-24.

Gay T, Hirose H, Strome M, Sawashima M. Electromyography of the intrinsic laryngeal muscles during phonation. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1972;81(3):401-9.

Haben CM, Kost K, Papagiannis G. Lateral phase mucosal wave asymmetries in the clinical voice laboratory. *J Voice*. 2003;17(1):3-11.

Hanson DG, Gerratt BR, Karin RR, Berke GS. Glottographic measures of vocal fold vibration: an examination of laryngeal paralysis. *Laryngoscope*. 1988;98(5):541-9.

Heman-Ackah YD, Barr A. Mild vocal fold paresis: Understanding clinical presentation and electromyographic findings. *J Voice*. 2006;20(2):269-81.

Hirano M. Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variations. *Folia Phoniatr (Basel)*. 1974;26(2):89-94.

Hong KH, Kim HK, Kim YH. The role of the pars recta and pars oblique of cricothyroid muscle in speech production. *J Voice*. 2001;15(4):512-18.

Hong KH, Ye M, Kim YM, Kevorkian KF, Kreiman J, Berke GS. Functional differences between the two bellies of the cricothyroid muscle. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;118(5):714-22.

Inwald EC, Döllinger M, Schuster M, Eysholdt U, Bohr C. Multiparametric analysis of vocal fold vibrations in healthy and disordered voices in high-speed imaging. *J Voice*. 2011;25(5):576-90.

Isshiki N. *Phonosurgery: Theory and practice*. Tokyo: Springer-Verlag, 1989.

Isshiki N. Regulatory mechanism of the pitch and volume of voice. *Practica Oto-Rhino-Laryngologica*. 1959;52(10):1065-94.

Isshiki N, Tanabe M, Ishizaka K, Broad D. Clinical significance of asymmetrical vocal cord tension. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1977;86(1Pt 1):58-66.

Isshiki N, Tsuji DH, Sennes LU. *Tireoplastias*. Fundação Otorrinolaringologia, São Paulo, 1999.

Jansson S, Tisell LE, Hagne I, Sanner E, Stenborg R, Svensson P. Partial superior laryngeal nerve (SLN) lesions before and after thyroid surgery. *World J Surg*. 1988;12(4):522-7.

Jiang J, Ng J, Hanson D. The effects of rehydration on phonation in excised canine larynges. *J Voice*. 1999;13(1):51-9.

Jiang JJ, Regner MF, Tao C, Pauls S. Phonation threshold flow in elongated excised larynges. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2008;117(7):548-53.

Kallen, LA. Laryngostroboscopy in the practice of otolaryngology. *Arch Otolaryngol*. 1932;16(6):791-807.

Kendall KA. High-speed digital imaging of the larynx: recent advances. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012;20(6):466-71.

Kendall KA. High-speed laryngeal imaging compared with videostroboscopy in healthy subjects. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2009;135(3):274-81.

Kierner AC, Aigner M, Burian M. The external branch of the superior laryngeal nerve: Its topographical anatomy as related to surgery of the neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;124(3):301-3.

Kitzing P. Stroboscopy - a pertinent laryngological examination. *J Otolaryngol*. 1985;14(3):151-7.

Kunduk M, Doellinger M, McWhorter AJ, Loscheller J. Assessment of the variability of the vocal fold dynamics within and between recordings with high-speed imaging and by phonovibrogram. *Laryngoscope*. 2010;120(5):981-7.

Larsson H, Hertegård S, Lindestad P, Hammarberg B. Vocal fold vibrations: High-speed imaging, kymography, and acoustic analysis: A preliminary report. *Laryngoscope*. 2000;110(12):2117-22.

Lohscheller J, Švec JG, Döllinger M. Vocal fold vibration amplitude, open quotient, speed quotient and their variability along glottal length: kymographic data from normal subjects. *Logoped Phoniatr Vocol*. 2013;38(4):182-92.

Maranillo E, León X, Quer M, Orús C, Sañudo JR. Is the external laryngeal nerve an exclusively motor nerve? The cricothyroid connection branch. *Laryngoscope*. 2003;113(3):525-9.

Masuoka H, Miyauchi A, Yabuta T, Fukushima M, Miya A. Innervation of the cricothyroid muscle by the recurrent laryngeal nerve. *Head Neck*. 2016;38(1):E441-5.

Maunsell R, Ouaknine M, Giovanni A, Crespo A. Vibratory pattern of vocal folds under tension asymmetry. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006;135(3):438-44.

Mehta DD, Hillman RE. Current role of stroboscopy in laryngeal imaging. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012;20(6):429-36.

Mehta DD, Hillman RE. Voice assessment: updates on perceptual, acoustic, aerodynamic, and endoscopic imaging methods. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2008;16(3):211-5.

Mendelsohn AH, Sung MW, Berke GS, Chhetri DK. Strobokymographic and videostroboscopic analysis of vocal fold motion in unilateral superior laryngeal nerve paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2007;116(2):85-91.

Mendelsohn AH, Remacle M, Courey MS, Gerhard F, Postma GN. The diagnostic role of high-speed vocal fold vibratory imaging. *J Voice*. 2013;27(5):627-31.

Monfared A, Gorti G, Kim D. Microsurgical anatomy of the laryngeal nerves as related to thyroid surgery. *Laryngoscope*. 2002;112(2):386-92.

Moore DM, Berke GS, Hanson DG, Ward PH. Videostroboscopy of the canine larynx: the effects of asymmetric laryngeal tension. *Laryngoscope*. 1987;97(5):543-53.

Mu L, Sanders I. The human cricothyroid muscle: three muscle bellies and their innervations patterns. *J Voice*. 2009;23(1):21-8.

Naufel de Felipe AC, Grillo MH, Grechi TH. Standardization of acoustic measures for normal voice patterns. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2006;72(5):659-64.

Orestes MI, Chhetri DK. Superior laryngeal nerve injury: effects, clinical findings, prognosis, and management options. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014;22(6):439-43.

Patel R, Dailey S, Bless D. Comparison of high-speed digital imaging with stroboscopy for laryngeal imaging of glottal disorders. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2008;117(6):413-24.

Patel RR, Dubrovskiy D, Döllinger M. Measurements of glottal cycle characteristics between children and adults: physiological variations. *J Voice*. 2014;28(4):476-86.

Patel RR, Liu L, Galatsanos N, Bless DM. Differential vibratory characteristics of adductor spasmodic dysphonia and muscle tension dysphonia on high-speed digital imaging. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2011;120(1):21-32.

Pegoraro-Krook MI, Castro VC. Fundamental frequency (SFF) characteristics of Brazilian male subjects. *Braz J Med Biol Res*. 1994;27(7):1659-61.

Regner MF, Robitaille MJ, Jiang JJ. Interspecies comparison of mucosal wave properties using high-speed digital imaging. *Laryngoscope*. 2010;120(6):1188-94.

Roy N. Denervation of the external branch of the superior laryngeal nerve: laryngeal and phonatory features. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011;19(3):182-7.

Roy N, Barton ME, Smith ME, Dromey C, Merrill RM, Sauder C. An in vivo model of external superior laryngeal nerve paralysis: Laryngoscopic findings. *Laryngoscope*. 2009b;119(5):1017-32.

Roy N, Smith ME, Dromey C, Redd J, Neff S, Grennan D. Exploring phonatory effects of external superior laryngeal nerve paralysis: An in vivo model. *Laryngoscope*. 2009a;119(4):816-26.

Roy N, Smith ME, Houtz DR. Laryngeal features of external laryngeal nerve denervation: revisiting a century-old controversy. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2011;120(1):1-8.

Rubin AD, Praneetvatakul V, Heman-Ackah Y, Moyer CA, Mandel S, Sataloff RT. Repetitive phonatory tasks for identifying vocal fold paresis. *J Voice*. 2005;19(4):679-86.

Sañudo JR, Marañillo E, León X, Mirapeix RM, Orús C, Quer M. An anatomical study of anastomoses between the laryngeal nerves. *Laryngoscope*. 1999;109(6):983-87.

Sataloff RT, Spiegel JR, Carroll LM, Schiebel BR, Darby KS, Rulnick R. Stroboscoped laryngoscopy in professional voice users: Results and clinical value. *J Voice*. 1988; 1(4):359-64.

Sercarz JA, Berke GS, Ming Y, Gerratt BR, Natividad M. Videoendoscopy of human vocal fold paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1992;101(7):567-77.

Simpson CB, May LS, Green JK, Eller RL, Jackson CE. Vibratory asymmetry in mobile vocal folds: is it predictive of vocal fold paresis? *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2011;120(4):239-42.

Slavit DH, McCaffrey TV, Yanagi E. Effect of superior laryngeal nerve on vocal fold function: an in vivo canine model. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1991;105(6):857-63.

Sulica L. The superior laryngeal nerve: function and dysfunction. *Otolaryngol Clin N Am*. 2004;37(1):183-201.

Tanabe M, Isshiki N, Kitajima K. Vibratory pattern of the vocal cord in unilateral paralysis of the cricothyroid muscle: an experimental study. *Acta Otolaryngol*. 1972;74(5):339-45.

Tanaka S, Hirano M, Umeno H. Laryngeal behavior in unilateral superior laryngeal nerve paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1994;103(2):93-7.

Titze IR, Luschei ES, Hirano M. Role of the thyroarytenoid muscle in regulation of fundamental frequency. *J Voice*. 1989;3(3):213-24.

Tsai V, Celmer A, Berke GS, Chhetri DK. Videostroboscopic findings in unilateral superior laryngeal nerve paralysis and paresis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007;136(4):660-2.

Tsuji DH. *Tireoplastia tipo I. Estudo experimental da vibração de pregas vocais com videoestroboscopia* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1997.

van den Berg J, Tan TS. Results of experiments with human larynxes. *Pract Otorhinolaryngol.* 1959;21(6):425-50.

Vargas AC, Costa AG, Hanayama EM. Perfil de extensão vocal em indivíduos falantes normais do português brasileiro. *Rev CEFAC.* 2005;7(1):108-16.

Vilkman EA, Pitkänen R, Suominen H. Observations on the structure and the biomechanics of the cricothyroid articulation. *Acta Otolaryngol.* 1987;103(1-2):117-26.

Windisch G, Hammer GP, Prodinger PM, Friedrich G, Anderhuber F. The functional anatomy of the cricothyroid joint. *Surg Radiol Ant.* 2010;32(2):135-9.

Witt RE, Regner MF, Tao C, Rieves A, Zhuang P, Jiang JJ. The effect of dehydration on phonation threshold flow in canine larynges. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2009;118(2):154-9.

Witt RE, Taylor LN, Regner MF, Jiang JJ. Effects of surface dehydration on mucosal wave amplitude and frequency in excised canine larynges. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2011;144(1):108-13.

Woo P, Colton R, Casper J, Brewer D. Diagnostic value of stroboscopic examination in hoarse patients. *J Voice.* 1991;5(3):231-8.

Woodson GE. Configuration of the glottis in laryngeal paralysis I: clinical study. *Laryngoscope.* 1993a;103(11 Pt 1):1227-34.

Woodson GE. Configuration of the glottis in laryngeal paralysis II: animal experiments. *Laryngoscope.* 1993b;103(11 Pt 1):1235-41.

Woodson GE, Murry MP, Schweizer V, Hengesteg A, Chen N, Yeung D. Unilateral cricothyroid contraction and glottic configuration. *J Voice.* 1998;12(3):335-9.

Wu BL, Sanders I, Mu L, Biller HF. The human communicating nerve. An extension of the external superior laryngeal nerve that innervates the vocal cord. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1994;120(12):1321-8.

Yamauchi A, Imagawa H, Yokonishi H, Nito T, Yamasoba T, Goto T, Takano S, Sakakibara K, Tayama N. Evaluation of vocal fold vibration with an

assessment form for high-speed digital imaging: Comparative study between healthy young and elderly subjects. *J Voice*. 2012;26(6):742-50.

Yamauchi A, Yokonishi H, Imagawa H, Sakakibara K, Nito T, Tayama N, Yamasoba T. Quantitative analysis of digital videokymography: a preliminary study on age- and gender-related difference of vocal fold vibration in normal speakers. *J Voice*. 2015;29(1):109-19.

10 APÊNDICE

10 APÊNDICE

10.1 APÊNDICE A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



APROVAÇÃO

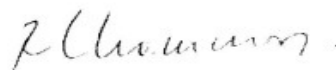
O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de **10/08/2011**, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **296/11** intitulado: **“IMAGENS DE ALTA VELOCIDADE NA AVALIAÇÃO DA VIBRAÇÃO DAS PREGAS VOCAIS DURANTE CONTRAÇÃO DO MÚSCULO CRICOTIREÓIDEO. ESTUDO EXPERIMENTAL EM LARINGES HUMANAS EXCISADAS.”** apresentado pelo Departamento de OFTALMOLOGIA E OTORRINOLARINGOLOGIA

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: Prof. Dr. Domingos Hiroshi Tsuji

Pesquisador (a) Executante: Camila Cristina Ishikawa

CEP-FMUSP, 16 de Agosto de 2011.



Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa