THAÍS GONÇALVES PINHEIRO

**Avaliação da frequência fundamental em laringes
humanas excisadas com diferentes extensões de
sinéquia glótica anterior**

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

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

Pinheiro, Thaís Gonçalves

Avaliação da frequência fundamental em laringes humanas excisadas com diferentes extensões de sinéquia glótica anterior / Thaís Gonçalves Pinheiro. -- São Paulo, 2016.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Otorrinolaringologia.

Orientador: Domingos Hiroshi Tsuji.

Descritores: 1.Laringe 2.Voz 3.Qualidade da voz 4.Cadáver 5.Epidemiologia experimental 6.Laringoscopia 7.Percepção da fala 8.Medida da produção da fala 9.Acústica da fala

USP/FM/DBD-087/16

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Edward e Lygia, ao Volney, ao Bruno e ao Arthur, que me fazem querer ser uma pessoa melhor a cada dia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

A Deus, pelas infinitas bênçãos e por me iluminar durante esta trajetória, possibilitando a realização deste sonho.

Ao Prof. Dr. Domingos Hiroshi Tsuji, Professor Associado da Disciplina de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), meu orientador nesta tese, por quem sinto enorme admiração, por me aceitar como aluna, pelos ensinamentos e conselhos, não só referentes à Laringologia, mas também à vida. Obrigada pela confiança e pelo incentivo!

Ao Prof. Dr. Ricardo Ferreira Bento, Professor Titular da Disciplina de Otorrinolaringologia da FMUSP, pela admirável capacidade de liderar o Departamento de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da FMUSP, possibilitando a formação de tantas pessoas.

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, pelos conselhos durante meu exame de qualificação e durante o *fellowship*.

Ao Dr. Rui Imamura, pelas valiosas orientações durante minha trajetória na Laringologia e em todo o período do doutorado. Obrigada pela paciência, pela disponibilidade, pelos ensinamentos, pelo tempo dedicado e pela imprescindível ajuda, especialmente com a parte metodológica e estatística deste trabalho.

Ao Dr. Ronaldo Frizzarini, pelo exemplo de profissional e pessoal, por todo o apoio durante o *fellowship*, pelo carinho com que leu o texto de minha qualificação, pelas correções e sugestões em todo esse processo, que possibilitaram o aperfeiçoamento do trabalho.

À Dra. Luciana Miwa Nita Watanabe, pelo meu primeiro contato com a Laringologia durante a Residência Médica no Hospital Universitário de Brasília, pelo apoio para eu seguir esse caminho, pelo acolhimento, pela amizade e pelos conselhos.

Ao Dr. Márcio Nakanishi, pelos ensinamentos e pelo estímulo ao constante aprimoramento durante todos esses anos, desde a minha Residência Médica.

A todos os outros professores, médicos e amigos otorrinolaringologistas do Hospital Universitário de Brasília, liderados pelo Prof. Dr. Carlos Augusto Costa Pires de Oliveira, tão importantes para minha formação.

Aos médicos assistentes do grupo de Laringologia do Hospital das Clínicas da FMUSP, Dra. Adriana Hachiya, Dra. Patrícia Paula Santoro, Dr. Henry Ugadin Koishi, Dr. Luiz Prata Figueiredo, Dr. Rogério Borghi Buhler, e ao “F2” Dr. Alex Itar Ogawa, pelos ensinamentos, pelas oportunidades proporcionadas e pelas boas recordações da época do *fellowship*.

À amiga Camila Cristina Ishikawa, minha grande parceira de pesquisa e companheira de disciplinas e experimentos, pelas trocas de ideias e experiências, pela amizade e pela convivência prazerosa durante estes últimos anos.

Às amigas doutoras Marystella Tomoe Takahashi Ramos, Maria Dantas Costa Lima Godoy e Anna Carolina de Oliveira Fonseca, pelas valiosas dicas.

A todos médicos assistentes, residentes, pós-graduandos, *fellows* e fonoaudiólogos do Departamento de Otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da FMUSP, pela receptividade e pelos bons momentos desde meu primeiro dia em São Paulo.

Às secretárias Maria Márcia Alves, Maria Marileide Alves, Lucivânia Lima da Silva, Katia Tereza Kayano Cota, pelas preciosas orientações e por me auxiliarem sempre que precisei.

Ao Diretor do Serviço de Verificação de Óbitos da Capital da Universidade de São Paulo (SVOC-USP), Prof. Dr. Carlos Augusto Pasqualucci, por permitir esse trabalho.

Aos técnicos do SVOC e ao Sr. Nilton Fontes Neuman, pela captação das laringes.

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

À Márcia Nogueira, pelas explicações, pela dedicação e pela correção ortográfica deste texto.

À minha amada e grande família, pela compreensão e pelo incentivo, e, especialmente, ao Eider, que me auxiliou na elaboração de figuras.

Aos meus pais, Edward e Lygia, meus maiores exemplos e incentivadores, pelo suporte, pelas orientações, pela dedicação na minha educação e formação e pelo amor incondicional.

Ao meu marido Volney, sempre ao meu lado, paciente, compreensivo, que tanto me apoiou. Obrigada pela felicidade de conviver com você diariamente!

Ao meu irmão Bruno, pela preciosa ajuda, pelo carinho e pela amizade sempre presentes.

E ao Arthur, que, mesmo pequenininho, contribuiu enormemente me dando ânimo e dedicação para desenvolver o que faltava na elaboração deste texto e se comportou muito bem dentro e fora da minha barriga, proporcionando-me a disposição e o incentivo de que eu precisava.

Esta tese está de acordo com as normas seguintes, em vigor no momento de sua publicação.

Referências: adaptado de *International Comittee 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 abreviaturas

Lista de siglas

Lista de símbolos

Lista de figuras

Lista de gráficos

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
3 REVISÃO DE LITERATURA	7
3.1 Estudos experimentais sobre a produção da voz em laringes excisadas....	8
3.2 Fisiologia da produção da voz.....	11
3.3 Frequência fundamental e “pitch” vocal.....	13
3.4 Fisiologia da variação do “pitch”.....	17
3.5 Cirurgias que aumentam o “pitch” vocal.....	19
3.6 Estudo da vibração das pregas vocais.....	27
4 MÉTODOS	31
4.1 Aspectos éticos.....	32
4.2 Tipo, local e população de estudo.....	32
4.3 Critérios de inclusão.....	32
4.4 Critérios de exclusão.....	33
4.5 Procedimentos do estudo.....	33
4.5.1 Preparo das laringes.....	33
4.5.2 Obtenção da vibração.....	35
4.5.3 Registro da vibração vocal.....	39
4.5.4 Técnica cirúrgica de glotoplastia com formação de sinéquia glótica anterior	40
4.5.5 Obtenção dos dados.....	43
4.6 Análise estatística dos dados	45
5 RESULTADOS	47
5.1 Frequência fundamental em hertz.....	48
5.2 Diferença de frequência fundamental em semitons.....	50

5.3	Correlação entre as frequências fundamentais anterior e posteriores aos procedimentos.....	51
5.4	Dados qualitativos.....	54
6	DISCUSSÃO.....	72
7	CONCLUSÕES.....	89
8	ANEXO.....	91
9	REFERÊNCIAS.....	93
APÊNDICES		
Apêndice 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa		
Apêndice 2 – Carta do Serviço de Verificação de Óbitos da Capital		
Apêndice 3 – Aprovação na Plataforma Brasil		

LISTAS

LISTA DE ABREVIATURAS

Cap.	capítulo
DP	desvio-padrão
Dr.	doutor
et al.	e outros
ed.	edição
IC	intervalo de confiança
p.	página
Prof.	Professor
st	diferença de semitons
v.	volume

LISTA DE SIGLAS

ANOVA	análise de variância
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CCD	dispositivo de carga acoplada (<i>charge-coupled device</i>)
EUA	Estados Unidos da América
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
LAVA	ajuste vocal assistido a laser (<i>laser-assisted voice adjustment</i>)
LRG	glotoplastia com redução a laser (<i>laser reduction glottoplasty</i>)
SVOC	Serviço de Verificação de Óbitos da Capital
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

Ag0	área glótica inicial
cm	centímetro
CO ₂	gás carbônico (dióxido de carbono)
F ₀	frequência fundamental
Hz	hertz (ciclos/segundo)
L/min	litros por minuto
Log	logaritmo
ms	milissegundo
mm	milímetros
r ²	coeficiente de determinação
r	coeficiente de correlação linear
®	marca registrada
s	segundo
W	watt
°	grau(s)
°C	grau(s) Celsius
<	menor que
%	por cento
+	mais (soma)
±	mais ou menos
=	igual a
x	vezes (multiplicado por)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Modelo de experimentos com laringes excisadas usado por van den Berg e Tan.....	9
Figura 2	As forças de Bernoulli e mioelástica revezam-se com a força gerada pela pressão subglótica para promover a vibração das pregas vocais	12
Figura 3	Estrutura histológica da prega vocal.....	13
Figura 4	Em uma oitava, a frequência em hertz dobra o valor, e existem doze semitons nesse intervalo	15
Figura 5	Relação entre a frequência e o "pitch" medido em unidade mels.....	16
Figura 6	Aproximação cricotireóidea (tireoplastia tipo IV, descrita por Isshiki)	20
Figura 7	Aproximação cricotireóidea com a modificação de Lee, que contempla a secção do músculo cricotireóideo (setas) e uma sutura longa (A e B) para aproximar as cartilagens	21
Figura 8	Técnica de expansão anteroposterior da lâmina tireoideia com implante de silicone	22
Figura 9	Vaporização das pregas vocais com uso de laser	23
Figura 10	Técnica de LeJeune, com avanço da comissura anterior com retalho com base inferior	24
Figura 11	Técnica de Tucker, com avanço da comissura anterior com retalho com base superior.....	24
Figura 12	Foto durante ato cirúrgico de glotoplastia de Wendler, após desepitelização do terço anterior das pregas vocais, sutura da região e colocação de cola de fibrina.....	25
Figura 13	Esquema sobre a estroboscopia: a breve luz incide somente em uma parte do ciclo vibratório das pregas vocais, e as rápidas imagens mostradas são processadas na retina como movimento contínuo em câmera lenta	28
Figura 14	Videoquimografia digital obtida neste estudo, mostrando o movimento em uma linha do eixo da glote, e a prega vocal esquerda está representada na parte inferior da figura, e a direita, na superior.....	29
Figura 15	Preparo das laringes, com retirada de estruturas anexas.....	34
Figura 16	Preparo das laringes, com remoção da epiglote e das bandas ventriculares	34

Figura 17	Laringe após o preparo, com preservação de anéis traqueais e musculatura intrínseca.....	35
Figura 18	Suporte para fixação da laringe.....	36
Figura 19	Fio envolvendo as cartilagens aritenoides, passando pelos processos vocais (visão superior da laringe)	37
Figura 20	Visão da região posterior da laringe após a passagem do fio pelas cartilagens aritenoides, antes da confecção do ponto para promover a adução das pregas vocais.....	38
Figura 21	Visão superior da laringe no suporte, após a adução das pregas vocais, com o fio de 5mm para referência das medidas	38
Figura 22	Esquema do sistema experimental para obtenção da vibração das pregas vocais	39
Figura 23	Local de referência para a medida do comprimento da prega vocal, da comissura anterior ao processo vocal.....	41
Figura 24	As linhas tracejadas representam os locais determinados neste estudo para confecção dos pontos para reproduzir as diferentes extensões de sinéquia anterior na glote, com 25%, 33% e 50% do comprimento das pregas vocais	42
Figura 25	Medida com compasso linear de precisão para confecção dos pontos nas pregas vocais	43
Figura 26	Interface do programa HRES Endocam 5562 - Richard Wolf, utilizado para análise das imagens obtidas com videolaringoscopia com câmera de alta velocidade. A linha amarela seleciona o local do eixo glótico que será avaliado por videoquimografia digital.....	44
Figura 27	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 1	56
Figura 28	Videoquimografia digital da laringe 1 com sinéquia de 25%.....	56
Figura 29	Videoquimografia digital da laringe 1 com sinéquia de 33%.....	56
Figura 30	Videoquimografia digital da laringe 1 com sinéquia de 50%.....	56
Figura 31	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 4.....	57
Figura 32	Videoquimografia digital da laringe 4 com sinéquia de 25%.....	57
Figura 33	Videoquimografia digital da laringe 4 com sinéquia de 33%.....	57
Figura 34	Videoquimografia digital da laringe 4 com sinéquia de 50%.....	57
Figura 35	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 6.....	58

Figura 36	Videoquimografia digital da laringe 6 com sinéquia de 25%.....	58
Figura 37	Videoquimografia digital da laringe 6 com sinéquia de 33%.....	58
Figura 38	Videoquimografia digital da laringe 6 com sinéquia de 50%.....	58
Figura 39	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 7.....	59
Figura 40	Videoquimografia digital da laringe 7 com sinéquia de 25%.....	59
Figura 41	Videoquimografia digital da laringe 7 com sinéquia de 33%.....	59
Figura 42	Videoquimografia digital da laringe 7 com sinéquia de 50%.....	59
Figura 43	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 8.....	60
Figura 44	Videoquimografia digital da laringe 8 com sinéquia de 25%.....	60
Figura 45	Videoquimografia digital da laringe 8 com sinéquia de 33%.....	60
Figura 46	Videoquimografia digital da laringe 8 com sinéquia de 50%.....	60
Figura 47	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 9.....	61
Figura 48	Videoquimografia digital da laringe 9 com sinéquia de 25%.....	61
Figura 49	Videoquimografia digital da laringe 9 com sinéquia de 33%.....	61
Figura 50	Videoquimografia digital da laringe 9 com sinéquia de 50%.....	61
Figura 51	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 10	62
Figura 52	Videoquimografia digital da laringe 10 com sinéquia de 25%.....	62
Figura 53	Videoquimografia digital da laringe 10 com sinéquia de 33%.....	62
Figura 54	Videoquimografia digital da laringe 10 com sinéquia de 50%.....	62
Figura 55	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 11	63
Figura 56	Videoquimografia digital da laringe 11 com sinéquia de 25%.....	63
Figura 57	Videoquimografia digital da laringe 11 com sinéquia de 33%.....	63
Figura 58	Videoquimografia digital da laringe 11 com sinéquia de 50%.....	63
Figura 59	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 13	64
Figura 60	Videoquimografia digital da laringe 13 com sinéquia de 25%.....	64
Figura 61	Videoquimografia digital da laringe 13 com sinéquia de 33%.....	64

Figura 62	Videoquimografia digital da laringe 13 com sinéquia de 50%.....	64
Figura 63	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 14	65
Figura 64	Videoquimografia digital da laringe 14 com sinéquia de 25%.....	65
Figura 65	Videoquimografia digital da laringe 14 com sinéquia de 33%.....	65
Figura 66	Videoquimografia digital da laringe 14 com sinéquia de 50%.....	65
Figura 67	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 16	66
Figura 68	Videoquimografia digital da laringe 16 com sinéquia de 25%.....	66
Figura 69	Videoquimografia digital da laringe 16 com sinéquia de 33%.....	66
Figura 70	Videoquimografia digital da laringe 16 com sinéquia de 50%.....	66
Figura 71	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 17	67
Figura 72	Videoquimografia digital da laringe 17 com sinéquia de 25%.....	67
Figura 73	Videoquimografia digital da laringe 17 com sinéquia de 33%.....	67
Figura 74	Videoquimografia digital da laringe 17 com sinéquia de 50%.....	67
Figura 75	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 18	68
Figura 76	Videoquimografia digital da laringe 18 com sinéquia de 25%.....	68
Figura 77	Videoquimografia digital da laringe 18 com sinéquia de 33%.....	68
Figura 78	Videoquimografia digital da laringe 18 com sinéquia de 50%.....	68
Figura 79	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 19	69
Figura 80	Videoquimografia digital da laringe 19 com sinéquia de 25%.....	69
Figura 81	Videoquimografia digital da laringe 19 com sinéquia de 33%.....	69
Figura 82	Videoquimografia digital da laringe 19 com sinéquia de 50%.....	69
Figura 83	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 20	70
Figura 84	Videoquimografia digital da laringe 20 com sinéquia de 25%.....	70
Figura 85	Videoquimografia digital da laringe 20 com sinéquia de 33%.....	70
Figura 86	Videoquimografia digital da laringe 20 com sinéquia de 50%.....	70
Figura 87	Videoquimografia digital da situação controle da laringe 21	71

Figura 88	Videoquimografia digital da laringe 21 com sinéquia de 25%.....	71
Figura 89	Videoquimografia digital da laringe 21 com sinéquia de 33%	71
Figura 90	Videoquimografia digital da laringe 21 com sinéquia de 50%.....	71

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Distribuição das médias de frequência fundamental em hertz e respectivos erros-padrão entre os grupos estudados.....	48
Gráfico 2	Valores médios da diferença de frequência fundamental e respectivos erros-padrão segundo as extensões de sinéquia glótica anterior	50
Gráfico 3	Gráfico de dispersão das frequências fundamentais anterior e posteriores à confecção de sinéquia com extensão de 25%, com intervalo de confiança de 95%	52
Gráfico 4	Gráfico de dispersão das frequências fundamentais anterior e posteriores à confecção de sinéquia com extensão de 33%, com intervalo de confiança de 95%	52
Gráfico 5	Gráfico de dispersão das frequências fundamentais anterior e posteriores à confecção de sinéquia com extensão de 50%, com intervalo de confiança de 95%	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Descrição das medidas de frequência fundamental (F_0) em hertz em relação às extensões de sinéquia glótica anterior e resultado dos testes comparativos	49
Tabela 2	Resultado das comparações múltiplas das medidas de frequência fundamental (F_0) em hertz entre as diferentes extensões de sinéquia glótica anterior	49
Tabela 3	Descrição das relações de medidas de frequência fundamental (F_0) em semitons de acordo com as extensões de sinéquia glótica anterior e resultado dos testes comparativos	50
Tabela 4	Resultado das comparações múltiplas da relação de frequência fundamental (F_0) em semitons entre as diferentes extensões de sinéquia glótica anterior	51
Tabela 5	Análise subjetiva da laringe 1	56
Tabela 6	Análise subjetiva da laringe 4	57
Tabela 7	Análise subjetiva da laringe 6	58
Tabela 8	Análise subjetiva da laringe 7	59
Tabela 9	Análise subjetiva da laringe 8	60
Tabela 10	Análise subjetiva da laringe 9	61
Tabela 11	Análise subjetiva da laringe 10	62
Tabela 12	Análise subjetiva da laringe 11	63
Tabela 13	Análise subjetiva da laringe 13	64
Tabela 14	Análise subjetiva da laringe 14	65
Tabela 15	Análise subjetiva da laringe 16	66
Tabela 16	Análise subjetiva da laringe 17	67
Tabela 17	Análise subjetiva da laringe 18	68
Tabela 18	Análise subjetiva da laringe 19	69
Tabela 19	Análise subjetiva da laringe 20	70
Tabela 20	Análise subjetiva da laringe 21	71

Tabela 21	Exemplos de elevação esperada da frequência fundamental (F_0) em hertz, considerando os modelos elaborados neste estudo com as diferentes extensões de sinéquia glótica anterior, de 25%, 33% e 50% do comprimento da prega vocal 79
Tabela 22	Comparação entre os resultados de alteração da frequência fundamental (F_0) de estudos com formação de sinéquia glótica anterior 83

RESUMO

Pinheiro TG. *Avaliação da frequência fundamental em laringes humanas excisadas com diferentes extensões de sinéquia glótica anterior* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

INTRODUÇÃO: Os resultados do aumento da frequência fundamental após diminuição do comprimento da porção vibratória das pregas vocais pela realização de sinéquia na região anterior da glote são variáveis, e não é estabelecida a extensão ideal de tal sinéquia nas técnicas cirúrgicas para aumentar a frequência vocal. Comparou-se neste estudo a elevação da frequência fundamental do som produzido por laringes humanas excisadas de cadáveres após realização de diferentes extensões de sinéquia glótica anterior, correspondentes a $\frac{1}{4}$ (25%), $\frac{1}{3}$ (33%) e $\frac{1}{2}$ (50%) do comprimento da prega vocal. Além disso, verificou-se a correlação entre as frequências fundamentais anterior e posteriores aos experimentos com tais diferentes extensões de sinéquia glótica anterior para formular modelos matemáticos que estimem a frequência fundamental obtida após o procedimento. Os padrões de vibração das pregas vocais foram avaliados qualitativamente por videolaringoscopia e videoquimografia digital com câmera de alta velocidade. **MÉTODOS:** Realizou-se estudo experimental com 21 laringes humanas excisadas de cadáveres masculinos adultos. O som glótico foi artificialmente produzido com a colocação de ar comprimido pela traqueia, passando pelas pregas vocais. A frequência fundamental e os parâmetros da videoquimografia digital foram obtidos previamente (controle) e após realização de pontos que mimetizaram uma sinéquia glótica anterior de $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{3}$ e $\frac{1}{2}$ do comprimento das pregas vocais em todas as laringes, simulando uma das técnicas cirúrgicas para aumento da frequência vocal, a glotoplastia de Wendler. **RESULTADOS:** A frequência fundamental média foi distinta entre as diferentes extensões de sinéquia glótica anterior ($P < 0,001$), e observou-se aumento progressivo, significativo a cada ampliação da extensão da sinéquia na glote ($P < 0,05$), tanto em hertz quanto em semitons. Os modelos de regressão que estimam a frequência fundamental após os procedimentos mostraram melhor coeficiente de determinação (r^2) para extensões menores de sinéquia. Não se verificou aperiodicidade das vibrações em nenhum experimento, nem se constatou padrão de mudança de fechamento glótico ou de simetrias de fase e amplitude. **CONCLUSÕES:** A frequência fundamental do som aumentou com diferença significativa a cada ampliação da extensão da sinéquia anterior

na glote, sem alterações significativas nos parâmetros qualitativos da onda mucosa. Esses resultados sugerem que a medida da extensão da sinéquia glótica é relevante para o resultado final na elevação da frequência fundamental, e os dados apresentados podem ser uma referência inicial para o prognóstico do resultado cirúrgico.

Descritores: laringe; voz; qualidade da voz; cadáver; epidemiologia experimental; laringoscopia; percepção da fala; medida da produção da fala; acústica da fala.

ABSTRACT

Pinheiro TG. *Fundamental frequency in excised human larynges after the formation of anterior glottic webs of varying extent* [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2016.

INTRODUCTION: After anterior glottic web formation to decrease the length of the vibrating portion of the vocal folds, the degree of increase in fundamental frequency is variable. The ideal extent of such a web in surgical approaches aimed at raising the vocal pitch has not been established. This study compared the increase in the fundamental frequency of sound produced by excised human larynges after the formation of anterior glottic webs of varying extents (25%, 33%, and 50% of the length the vocal fold). In addition, the correlation between the fundamental frequencies before and after the experiments with the various extents of anterior glottic web formation was verified in order to create mathematical models designed to estimate the change in fundamental frequency obtained after the procedure. The vibration patterns of the vocal folds were evaluated qualitatively by laryngoscopy and by kymography with a high-speed digital camera. **METHOD:** We conducted an experimental study on 21 normal larynges excised from adult male human cadavers. Laryngeal vibration was artificially produced and was recorded by high speed videoendoscopy and digital kymography for analysis. The fundamental frequency and digital videokymography parameters were obtained before (as a control) and after the formation of anterior glottic webs occupying 25%, 33%, and 50% of the vocal folds, simulating a surgical technique to increase the vocal frequency, Wendler glottoplasty. **RESULTS:** The mean fundamental frequency differed among the various extents of anterior glottic web formation ($P < 0.001$), and there were significant increases from one extent to the next ($P < 0.05$), in hertz as well as in semitones. Regression models to estimate post-procedure fundamental frequency showed better coefficients of determination (r^2) for smaller web extents. There was no aperiodic vibration in any of the experiments. The changes in glottal closure/phase and amplitude symmetry did not follow any particular pattern. **CONCLUSIONS:** The fundamental frequency increased significantly at each increase in the extent of the anterior glottic web, without significant changes in the qualitative parameters of vocal fold vibration. These results suggest that the extent of the glottic web influences the final result, in terms of the magnitude of the increase in the fundamental frequency, and

the data presented here could serve as an initial reference for the postoperative prognosis.

Descriptors: larynx; voice; voice quality; cadaver; epidemiology, experimental; laryngoscopy; speech perception; speech production measurement; speech acoustics.

1 INTRODUÇÃO

Cada indivíduo tem sua voz como parte de sua identificação individual e pode ser reconhecido por ela. Homens, mulheres e crianças têm diferentes características vocais, e a falta de coerência entre a voz e os aspectos físicos da pessoa pode levar a repercussões funcionais e psicológicas que alteram sua qualidade de vida. Alterações da qualidade vocal podem causar constrangimento e prejudicar a vida social, a comunicação e até mesmo as atividades profissionais do indivíduo.

A frequência fundamental, uma das qualidades mais evidente da voz, é o ritmo em que as pregas vocais realizam o movimento de abertura e fechamento, ou seja, corresponde ao número de ciclos que a mucosa das pregas vocais desenvolve em um segundo e é medida quantitativamente em hertz (Hz) ou ciclos por segundo. O “pitch” vocal corresponde à percepção auditiva do som em relação à frequência. Quando o movimento é mais rápido, a frequência é maior, o som tende a ser mais agudo, e o “pitch”, mais alto. Quando a frequência é menor, o som resultante é mais grave, e o “pitch” é mais baixo (Isshiki, 1989; Isshiki et al., 1999).

Em indivíduos masculinos que falam o português brasileiro, a frequência fundamental é encontrada em torno de 113 Hz a 134,9 Hz. Em mulheres, a frequência fundamental costuma ser mais elevada, por volta de 205 a 215,42 Hz (Behlau et al., 1985; Pegoraro-Krook, Castro, 1994; Araujo et al., 2002; Naufel de Felipe et al. 2006).

A frequência fundamental é controlada principalmente pela massa, pela tensão e pelo comprimento das pregas vocais. Pregas vocais mais finas (menor massa), mais tensas e com comprimento de vibração menor produzem sons mais agudos. O aumento da pressão subglótica também pode alterar a frequência fundamental (Isshiki, 1989; Isshiki et al., 1999). O estudo da fisiologia de produção da fala é relevante para manejo clínico das incoerências do “pitch” vocal e para aprimoramento das técnicas cirúrgicas empregadas para as mudanças de frequência fundamental.

O “pitch” vocal baixo em pacientes do sexo feminino (androfonia) geralmente ocorre por influência de alguns hormônios na laringe como glicocorticoides e andrógenos (hiperplasia adrenal congênita e tumor adrenal virilizante), efeito colateral do uso de anabolizantes esteroides e de hormônios com efeitos androgênicos e hipotireoidismo (Pattie et al., 1998; Isshiki et al., 1999; Bohadana, Santoro, 2011).

A diminuição da frequência fundamental também pode ocorrer por paralisia do nervo laríngeo superior, cujo ramo externo é responsável pela inervação do principal músculo responsável pela elevação do “pitch”, o músculo cricotireóideo (Isshiki et al.,

1999). Com a ação do músculo citado, a prega vocal se estira, e ocorre aumento da sua tensão ou rigidez e diminuição da sua espessura (o que reduz a massa proporcional ao comprimento). Esses efeitos resultam em aumento do “pitch” vocal. O músculo cricotireóideo também alonga a prega vocal, o que teoricamente deveria reduzir o “pitch” vocal. Porém, os efeitos de aumento de tensão e redução da massa vibrátil superam o efeito contrário de aumento do comprimento vibrátil (Isshiki, 1989).

Outra situação de insatisfação com a frequência vocal ocorre nos casos de transexuais do sexo masculino, que desejam elevar seu “pitch” vocal para adequação ao gênero feminino. Nesses casos, a terapia hormonal não apresenta um efeito tão significativo na mudança da frequência fundamental como o uso de hormônios androgênicos para os transexuais do sexo feminino para o masculino. Muitas vezes, a fonoterapia como único tratamento pode não ter resultados satisfatórios. Mesmo conseguindo atingir frequência fundamental mais alta, a fala pode não soar natural pelo esforço e pela tensão, que podem causar também queixas subjetivas de rouquidão, sensação de globus e perda de potência da voz. Alguns sons como gargalhadas também podem continuar parecendo masculinos. A fonocirurgia pode ajudar os transexuais a se integrar na sociedade (Neumann; Welzel, 2004).

Assim, nos casos de incoerência entre a frequência fundamental da voz e o fenótipo do indivíduo, podem ser propostos alguns tipos de tratamento clínico ou cirúrgico. Para os casos que requerem tratamento cirúrgico, há vários procedimentos para elevação do “pitch” vocal, que abrangem técnicas que exigem cervicotomia e outras por acesso transoral.

Os princípios cirúrgicos para elevação do “pitch” vocal baseiam-se em diminuir a massa, diminuir o comprimento ou aumentar a tensão da porção vibratória das pregas vocais (Isshiki et al., 1974, 1983; Wendler, 1990; Gross, 1999; Neumann, Welzel, 2004; Mastronikolis et al., 2013).

Uma das técnicas utilizadas para aumento da frequência fundamental é a aproximação cricotireóidea ou tireoplastia tipo IV de Isshiki (Isshiki et al., 1974, 1983). Isshiki et al. também descreveram a expansão anteroposterior da lâmina tireoideia (Isshiki et al., 1977, 1983). Foram propostas técnicas baseadas em incisões longitudinais em pregas vocais (escarificações) e vaporizações com uso de laser, como a LAVA (ajuste vocal assistido a laser – *laser-assisted voice adjustment*) e a LRG (glotoplastia com redução a laser – *laser reduction glottoplasty*) (Orloff et al., 2006; Koçak et al.,

2010). Injeções intracordais de corticosteroides também foram descritas para a elevação da frequência fundamental (Isshiki et al., 1999; Yang et al., 2002), assim como procedimentos de avanço de comissura anterior por cervicotomia (LeJeune, 1983; Tucker, 1985).

Em 1982, Donald descreveu uma técnica cirúrgica de elevação do “pitch” vocal baseada na realização de sinéquia no terço anterior das pregas vocais por laringofissura. Em 1989, Wendler demonstrou técnica semelhante, porém por via transoral (Wendler, 1990; Gross, 1999; Mastronikolis et al., 2013). Nesses casos, o aumento da frequência fundamental ocorre pela diminuição da parte vibratória da glote.

A maioria dos trabalhos relacionados à formação de sinéquia glótica anterior descreve a técnica cirúrgica realizando-se a decorticação e a confecção de pontos no terço anterior da glote. Outros estudos apenas descrevem a sinéquia englobando a região anterior das pregas vocais, sem especificar sua extensão (Wendler, 1990; Gross, 1999; Remacle et al., 2011; Mastronikolis, 2013). Assim, não é estabelecido se existe diferença na mudança da frequência fundamental com tamanhos diferentes de sinéquia glótica anterior. Ainda não é conhecida a extensão ideal a ser manipulada na cirurgia para se obterem diferentes intensidades de mudança no “pitch” vocal.

Além disso, faltam avaliações da onda mucosa após a técnica para tentar entender e, conseqüentemente, tentar diminuir o grau de disfonia que pode ocorrer após essas cirurgias. Assim, as observações dos estudos experimentais associadas aos achados clínicos podem auxiliar na melhor compreensão da fisiologia da vibração vocal. Para essas avaliações, considera-se que as imagens de alta velocidade forneçam parâmetros adequados para este estudo, pois possibilitam analisar imagens sequenciais de cada ciclo glótico, com dados objetivos para comparações.

Mediante essa lacuna na literatura, resolvemos fazer este estudo para pesquisar alguns pontos relacionados aos procedimentos que realizam sinéquia glótica anterior: observar se há mudança significativa na frequência fundamental do som produzido por diferentes extensões de sinéquia, tentar estabelecer uma forma de prever o resultado final em relação ao “pitch” vocal após a técnica e investigar melhor a vibração das pregas vocais após o procedimento.

2 OBJETIVOS

Objetivo primário

- Verificar se há diferença na frequência fundamental do som produzido em laringes humanas excisadas de cadáveres, mimetizando a formação de sinéquia glótica anterior, em que a diminuição da porção vibratória ocupe $\frac{1}{4}$ (25%), $\frac{1}{3}$ (33%) e $\frac{1}{2}$ (50%) do comprimento da prega vocal, em hertz e em semitons.

Objetivos secundários

- Verificar se há correlação entre as frequências fundamentais anterior e posteriores aos procedimentos com extensões de sinéquia glótica anterior de $\frac{1}{4}$ (25%), $\frac{1}{3}$ (33%) e $\frac{1}{2}$ (50%) do comprimento da prega vocal.
- Verificar a possibilidade de elaborar modelos que estimem a frequência fundamental após o procedimento de confecção de sinéquia glótica anterior com cada uma das extensões estudadas: $\frac{1}{4}$ (25%), $\frac{1}{3}$ (33%) e $\frac{1}{2}$ (50%) do comprimento da prega vocal.
- Descrever as mudanças nos padrões de vibração das pregas vocais após a cirurgia experimental, em relação a periodicidade, fechamento glótico e simetrias de fase e amplitude de vibração, por avaliação de videolaringoscopia e videoquimografia digital com câmera de alta velocidade.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Estudos experimentais sobre a produção da voz em laringes excisadas

Os primeiros relatos de estudos experimentais de produção vocal com laringes excisadas parecem ser de Leonardo da Vinci (1452-1519) (Cooper, 1986).

Em 1700, Denis Dodart prova que as vogais se originam na laringe, ao contrário da teoria anterior de Galeno, que entendia que a traqueia seria o órgão central (van den Berg, 1958). Dodart tenta explicar a produção da voz como turbilhões gerados na glote, sendo o “pitch” determinado pela área da glote (van den Berg; Tan, 1959). Em 1741, Antoine Ferrein estuda laringes excisadas de humanos e de cães para investigar se poderiam ser classificadas como instrumentos de corda (*à cordes*) ou de sopro (*à vent*). Contrastando com a teoria de Dodart, Ferrein descreve que a produção de som na laringe necessita de fluxo aéreo, e que a vibração das pregas vocais também é essencial, sendo assim, instrumento de corda e de sopro (*à cordes et à vent*). O termo cordas vocais foi proposto por Ferrein nessa época (van den Berg, 1958; van den Berg; Tan, 1959; van den Berg, 1968).

Assim como Dodart, outros estudiosos consideravam a vibração das pregas vocais como evento secundário e sem importância para a produção da voz, como Felix Savart (1825) e Karl Friedrich Salomon Liscovius (1846) (van den Berg; Tan, 1959).

Em 1840, Johannes Müller publica os resultados de seus experimentos, em que estudava laringes humanas excisadas. Ele relata que o ar exalado dos pulmões produz a vibração das pregas vocais e comprova que a voz se origina dessa vibração, como na teoria de Ferrein. Mas coube a Hermann von Helmholtz, em 1863, descrever mais claramente que a origem do som primário é a passagem de pulsos de ar por uma membrana vibrando, nesse caso, as pregas vocais (van den Berg, 1968).

Assim, no início do século XX, era aceita a teoria da função de vibração das pregas vocais. Porém, ainda existiam divergências em relação à produção dessa vibração. Raoul Husson propôs, em 1950, a teoria neurocronáxica, de acordo com a qual as pregas vocais teriam sua própria vibração pela contração rítmica das fibras do músculo vocal produzida por impulsos neurais enviados do cérebro pelo nervo recorrente. Já a teoria mioelástica aerodinâmica, exposta por Janwillem van den Berg (1958), postulava que as pregas vocais são acionadas pelo fluxo de ar emitido dos pulmões e da traqueia.

Essa teoria fornece as explicações para todos os fenômenos relacionados a produção da voz, ao contrário da teoria neurocronicista (van den Berg, 1958).

A teoria mioelástica aerodinâmica reconhece que a coluna de ar subglótica comprimida pelos músculos respiratórios torácicos nas pregas vocais aduzidas vencem a resistência glótica em um momento, fazendo com que as pregas vocais abram e propiciem a passagem de ar. A força elástica das pregas vocais reestabelece a resistência glótica e, aliada ao efeito de Bernoulli, promove o fechamento das pregas vocais, e o movimento cíclico de oscilação horizontal da glote continua. Assim, a laringe funciona como um gerador de onda acústica, produzindo um tom que pode ser modelado pelas estruturas superiores à glote. A frequência fundamental de vibração dependeria da massa efetiva e da rigidez das pregas vocais, reguladas detalhadamente pela inervação dos músculos internos e externos da laringe e a ativação das estruturas ressonadoras (van den Berg, 1958).

Inspirados nos experimentos de Müller, van den Berg e Tan (1959) pesquisam laringes frescas excisadas colocando uma fonte de ar por meio de um tubo na traqueia para obter a vibração das pregas vocais (Figura 1). Com equipamentos mais modernos que Müller, podem medir o fluxo de ar, pressão subglótica, amplitude de vibração e intensidade da voz.

FONTE: van den Berg e Tan, 1959.

Figura 1 – Modelo de experimentos com laringes excisadas usado por van den Berg e Tan

Estudos experimentais com laringes excisadas oferecem vantagens como o controle das condições dos testes. As condições podem ser mantidas em situações específicas, muitas vezes impossíveis em estudos *in vivo*. Além disso, a vibração das pregas vocais é facilmente vista de forma direta e em várias direções, a fonte de ar pode ser mais bem controlada, e as condições podem ficar inalteradas por longo período. Assim, as vibrações das pregas vocais podem ser estudadas com alto grau de detalhamento e com mudanças progressivas, lentas e controladas, tornando possível a medida de vários dados significativos (van den Berg; Tan, 1959).

Conforme van den Berg e Tan (1959), estudos com laringes excisadas logo após a morte e mantidas em condições ideais têm a desvantagem de não possibilitarem a contração muscular. Porém, isso somente se aplica aos músculos vocais, já que a contração dos outros músculos podem ser adequadamente mimetizadas.

Isshiki et al. (1977) estudam laringes excisadas de cães e humanos, usando o modelo de van den Berg e Tan (1959), e avaliam os efeitos de tensões diferentes entre as pregas vocais.

Tanaka e Tanabe (1986) pesquisam a variação de pressão subglótica e reportam que seu aumento eleva a intensidade vocal. Afirmam que, em laringes excisadas, é possível simular a contração dos músculos cricotireóideo e cricoaritenóideo lateral, ao contrário do músculo tireoaritenóideo.

Alipour et al. (1997) estudam a relação entre fluxo de ar e pressão subglótica em cinco laringes excisadas de cães em variados graus de adução das pregas vocais.

Tsuji (1997) estuda a vibração das pregas vocais de cadáveres humanos em modelo experimental após a tireoplastia de medialização da prega vocal.

Jiang et al. (1999), estudando laringes excisadas de cães, mostram que a hidratação das camadas superficiais das pregas vocais diminui a pressão subglótica necessária para iniciar e sustentar a fonação.

Figueiredo (2001) também estuda laringes humanas excisadas e avalia os efeitos do desnivelamento entre as pregas vocais por videoquimografia.

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

Chung et al. (2007) comparam dois tipos de cirurgia para o aumento de “pitch” vocal. Estudam os efeitos do deslocamento superior da comissura anterior e da aproximação cricotireóidea em laringes humanas excisadas.

Alipour et al. (2013) comparam os padrões vibratórios de laringes excisadas de humanos com os de cães, porcos, ovelhas e vacas. Sugerem que as diferenças encontradas podem ser atribuídas não só a diferenças anatômicas, mas também a composição molecular e rigidez características de cada prega vocal.

3.2 Fisiologia da produção da voz

A principal função da laringe é a proteção da via aérea, seguida pela respiração. Comparativamente, a função vocal é nova filogeneticamente e é sensível e vulnerável a alterações orgânicas ou funcionais nesse órgão (Woodson, 2010).

As primeiras teorias sobre a fonação são antigas, mas o refinamento do entendimento dos mecanismos de produção da voz é relativamente recente e continua a ser desenvolvido (Seikel et al., 2010).

A produção da fala engloba etapas como exalação, fonação, ressonância e articulação. Assim, os órgãos respiratórios fornecem o fluxo de ar subglótico por meio da exalação, que é cortado em sopros na glote fechada, enquanto as pregas vocais vibram. Esse som produzido na glote é chamado de som glótico ou tom laríngeo primário. O som glótico é modificado por meio da ressonância no trato vocal, amplificando alguns componentes de frequência e atenuando outros. A articulação é o processo de transformação do som glótico em som da fala por meio da movimentação do trato vocal. Portanto, o som glótico é modulado em fala pelos efeitos de ressonância e articulação (Isshiki et al., 1999).

Pela teoria de Daniel Bernoulli, quando há um fluxo constante de ar ou fluido passando por uma região de estreitamento, ocorre aumento da velocidade do fluxo no local, que leva à diminuição da pressão na área gerando uma força perpendicular à parede. Portanto, como a região glótica durante a fonação está estreita, o ar expirado leva a uma pressão negativa que aspira as pregas vocais em direção medial (Isshiki et al., 1999; Seikel et al., 2010).

Assim, a vibração das pregas vocais ocorre pelo efeito de forças antagônicas que agem revezando-se (Figura 2). A pressão subglótica é responsável pela força de

abertura, e a elasticidade da prega vocal e o efeito de Bernoulli são a força de fechamento (Noordzij; Ossoff, 2006).

Figura 2 – As forças de Bernoulli e mioelástica revezam-se com a força gerada pela pressão subglótica para promover a vibração das pregas vocais

Hirano (1974) propõe a teoria do complexo corpo-cobertura e demonstra a estrutura histológica das camadas da prega vocal, que abrangem o epitélio, a lâmina própria e o músculo vocal (Figura 3). A lâmina própria é dividida em três subcamadas: superficial, também chamada de espaço de Reinke, composta por tecido frouxo e flexível com poucos fibroblastos; intermediária, com predominância de fibras elásticas; profunda, predominantemente de fibras colágenas e rica em fibroblastos. Epitélio escamoso estratificado e tecido conjuntivo frouxo da camada superficial da lâmina própria compõem a cobertura, que propaga a onda mucosa sobre o corpo, composto pelo ligamento vocal (camadas intermediária e profunda da lâmina própria) e o músculo vocal (parte medial do músculo tireoaritenóideo) (Sataloff et al. 2007).

Figura 3 – Estrutura histológica da prega vocal

A produção do som glótico é um processo complexo de vibração das pregas vocais, que ocorre por meio da presença dos tecidos frouxamente ligados da cobertura sobre os tecidos mais densos que compõem o corpo. O tecido elástico suporta a oscilação e várias formas de vibração são possíveis (Seikel et al., 2010).

3.3 Frequência fundamental e “pitch” vocal

“Pitch” e frequência fundamental não são sinônimos. O “pitch” é determinado pela sensação de uma pessoa a um estímulo sonoro, a frequência é medida por instrumentos (Stevens; Volkmann, 1940). A frequência fundamental é a frequência em que as pregas vocais vibram, ou seja, é o ritmo que o fluxo de ar é cortado em pulsações glóticas, pela abertura e pelo fechamento da glote durante a produção do som. A frequência de vibração das pregas vocais é medida em ciclos por segundo ou hertz. Em geral, quando as pregas vocais vibram em ritmo mais rápido, um som mais agudo é percebido. O “pitch” vocal é um atributo perceptível do som, e a frequência fundamental é um

parâmetro físico da vibração. O “pitch”, a correspondência perceptiva da frequência fundamental, é como se percebe a sensação do som, se mais grave ou mais agudo (Isshiki et al., 1999).

Em homens brasileiros, Behlau et al. (1985) encontraram frequência média de 113,01 Hz para emissão da vogal /a/; Pegoraro-Krook e Castro (1994), $134,9 \pm 17,9$ Hz para a leitura oral; Araujo et al. (2002), 127,61 Hz no fonema /a/ e 132,45 Hz para o /e/; e Naufel de Felipe et al. (2006), 120 Hz para a vogal /a/. Em mulheres, os autores encontraram médias de frequência fundamental de 204,91 Hz a 215,42 Hz (Behlau et al., 1985; Araujo et al., 2002; Naufel de Felipe et al., 2006).

Wolfe et al. (1990) estudaram vinte transexuais masculinos para femininos e identificaram que o menor valor médio de frequência fundamental percebido como pertencente a uma pessoa do gênero feminino foi de 155 Hz. A média do grupo identificado como feminino foi de 172 Hz, variando de 156 Hz a 195 Hz. Já os identificados como masculinos tiveram média de frequência fundamental de 118 Hz, com variação de 97 Hz a 140 Hz.

Gelfer e Schofield (2000) também estudaram transexuais masculinos para femininos, numa amostra de quinze, e encontraram média de frequência fundamental de 187 Hz (164 Hz a 199 Hz) no grupo identificado como mulheres e média de 142 Hz (112 Hz a 181 Hz) no grupo percebido como homens.

Apesar de esses dois estudos concordarem que médias de frequência fundamental acima de 156 Hz são necessárias para um transexual ser identificado como indivíduo do sexo feminino, para Gelfer e Schofield somente isso não é suficiente, já que pessoas com frequência fundamental até 181 Hz foram identificadas como homens (Wolfe et al., 1990; Gelfer, Schofield, 2000).

Existem duas visões conceituais de “pitch”. Para a visão musical, o “pitch” refere-se à forma em que os tons são arranjados na escala musical. A escala musical divide a variedade de frequências audíveis em oitavas, que é o intervalo entre oito notas (dó-ré-mi-fá-sol-lá-si-dó, por exemplo), que, por sua vez, são divididas em tons e semitons. Assim, considera-se igual a diferença de “pitch” entre quaisquer dois semitons em diferentes partes da gama de sons audíveis da escala musical (Stevens et al., 1937). Na escala musical, dobrar a frequência em hertz é equivalente a aumentar o tom em uma oitava, e existem doze semitons em uma oitava (Baken; Orlikoff, 2000), como ilustrado na Figura 4.

Figura 4 – Em uma oitava, a frequência em hertz dobra o valor, e existem doze semitons nesse intervalo

Para o conceito científico, em que o “pitch” refere-se a sensação auditiva da frequência, em geral, um aumenta com o aumento do outro, mas essa relação não é linear. O sistema auditivo é mais sensível a algumas diferenças de frequência que outras. A maioria dos ouvintes é mais sensível a alterações em frequências mais baixas (Stevens et al., 1937). Por exemplo, o aumento da frequência fundamental de 100 Hz para 200 Hz é uma diferença de “pitch” mais perceptível ao sistema auditivo humano que a mudança de 2.100 Hz para 2.200 Hz.

Algumas escalas foram elaboradas com o intuito de se medirem numericamente atributos de sensação. Em 1937, Stevens et al. construíram uma escala que media o “pitch” em mels, unidade adotada pelos autores para quantificar a sensação de percepção do som, e já demonstravam a relação não linear entre a frequência e o “pitch” (Figura 5).

FONTE: Stevens et al., 1937.

Figura 5 – Relação entre a frequência e o "pitch" medido em unidade mels

Semitons também podem ser usados para descrever a variação de medida de frequências. A escala de semitom reflete a relação não linear entre a frequência fundamental e o “pitch” (percepção da frequência fundamental) por uma função de crescimento exponencial, o que significa que a diferença em semitons entre duas frequências cresce mais devagar, à medida que a frequência aumenta (Isshiki et al., 1999; Baken; Orlikoff, 2000).

A escala musical padrão reflete esse fato. Por exemplo, a frequência do Dó 2 (nota C2 – uma oitava abaixo do Dó central do piano) é 65,41 Hz, e do Ré 2 (nota D2), que é percebido como uma nota acima, é 73,42 Hz. A mudança de uma nota nesse caso requer aumento de um pouco mais de 8 Hz. Porém, a mudança do Dó 4 (nota C4 – uma oitava acima do Dó central) para o Ré 4 (nota D4) revela alteração na frequência de 261,6 Hz para 293,7 Hz, sendo quatro vezes maior que o primeiro exemplo, em tons mais graves.

Matematicamente, a diferença de semitons (*st*) entre duas frequências (*f*₁ e *f*₂) é dada pela fórmula:

$$st = \frac{(12 \times [\log_{10}(f_2) - \log_{10}(f_1)])}{\log_{10}(2)}$$

3.4 Fisiologia da variação do “pitch”

Muitos autores tentam explicar como a laringe, em especial as pregas vocais, comporta-se para variar a frequência fundamental durante a fala e o canto. Possivelmente, as dificuldades em elaborar um modelo para essa explicação relacionam-se à existência de diversos aspectos da qualidade da voz (normal, desordens por doenças, fonotrauma e alterações funcionais), diferentes registros e faixas de extensão e de intensidade vocal (Hollien, 2014).

Ferrein, em 1741, demonstra aumento na frequência fundamental pelo aumento de tensão das pregas vocais com a aproximação cricotireóidea (van den Berg; Tan, 1959).

Mills (1883) examina alguns pontos controversos em sua época sobre a fisiologia da voz. Para alguns, a epiglote teria um papel na mudança do “pitch” vocal. Pelas suas observações, Mills conclui que a epiglote atua como ressonador e modifica a qualidade do som, e não o seu “pitch”. Nesse artigo, cita ainda a visão do laringologista Louis

Elsberg, para o qual as variações de “pitch” vocal são produzidas por alterações na tensão, no comprimento, na largura e no formato das pregas vocais, além da força expiratória. Cada indivíduo usa esses fatores de maneira diferente em diferentes circunstâncias, atuando ou não de forma combinada.

Isshiki et al. (1977) estudam os efeitos da assimetria de tensão no padrão vibratório das pregas vocais com imagens de alta velocidade em laringes excisadas de cães e de humanos com modelos teóricos computadorizados. Relatam que diferentes padrões podem depender da área glótica inicial (Ag_0). Quando a Ag_0 é zero ou próxima disso, as pregas vocais assimetricamente tensas podem vibrar na mesma frequência, mas com assimetria de fase, com a mais tensa precedendo a mais relaxada. Em caso de Ag_0 maior, o fechamento glótico ocorre irregularmente, e a vibração pode não ser periódica. Num outro modo, o fechamento glótico pode ser incompleto e a vibração tornar-se mais periódica e com amplitude diminuída.

Hirano et al. (1988) pesquisando os músculos intrínsecos de laringes humanas excisadas, demonstram diferenças funcionais entre os sexos masculino e feminino. Entre as alterações funcionais, sabe-se que o fechamento glótico mais completo é esperado durante a fonação de homens, e maior número de mulheres apresenta um “gap” glótico posterior (Palmer et al., 2012).

A perda de elasticidade que ocorre pela idade e o aumento da ossificação da lâmina tireoideia também parecem levar a aumento de “pitch” (Woodson, 2010).

Titze et al. (1989), pesquisando o papel do músculo tireoaritenóideo na regulação da frequência fundamental, propõem que o estímulo desse músculo pode tanto aumentar como diminuir o “pitch” vocal, dependendo se o corpo participa mais ou menos da vibração da prega vocal. A contração do músculo tireoaritenóideo pode tensionar o corpo da prega vocal enquanto relaxa a cobertura. Quando a amplitude é grande o suficiente para que uma porção do corpo participe da vibração, a contração desse músculo aumenta o “pitch” pelo aumento de tensão do corpo, apesar de afrouxar um pouco a cobertura por diminuir o comprimento da prega vocal. Quando a amplitude é pequena e a cobertura está muito tensa (atividade intensa do músculo cricotireóideo), a contração do músculo tireoaritenóideo diminui o “pitch” vocal, pois a redução de tensão na cobertura resultante de pequena diminuição do comprimento da prega vocal prevalece sobre o pequeno ganho na tensão do músculo, que quase não participa da vibração nessa situação.

Os principais fatores que afetam a frequência de vibração das pregas vocais são a tensão (rigidez ou elasticidade), a massa (espessura) e o comprimento (Isshiki, 1989). Pregas vocais mais tensas, mais finas e mais curtas, produzem “pitch” mais alto. A tensão nas pregas vocais pode ser ativa (contração do músculo tireoaritenóideo), passiva (contração do músculo cricotireóideo) ou a combinação das duas formas (Alipour et al., 2013).

O tom vocal também pode ser levemente elevado apenas com o aumento da pressão subglótica, sem modificar as condições das pregas vocais. Com a maior velocidade do fluxo de ar glótico, a glote abre e fecha mais rapidamente (Isshiki et al., 1999). A relação entre o fluxo de ar exalado dos pulmões e a pressão subglótica é estudada por Howe e McGowan (2013). A fonação começa pela contração da caixa torácica até que a pressão subglótica passe um valor crítico suficiente para separar as pregas vocais e iniciar a vibração.

Hollien (2014) revisa os dados de literatura e considera que a extensão completa do alongamento das pregas vocais após a adução não ocorre somente pela contração do músculo cricotireóideo. Para os tons modais mais agudos, é proposto que esse deslocamento adicional seja realizado pela contração dos músculos interaritenóideo e cricoaritenóideo posterior, que deslocam as aritenoides sobre a cricoide em direção posterior. Além disso, Hollien estuda a relação entre a frequência fundamental e a espessura das pregas vocais e encontra alta correlação entre os valores. Quanto maior a frequência fundamental, menor a espessura das pregas vocais, independentemente do sexo ou do comprimento da prega vocal, tanto em “pitch” mais baixo quanto mais alto. Os dados apresentados pelo autor também apoiam a teoria mioelástica aerodinâmica da produção da voz.

3.5 Cirurgias que aumentam o “pitch” vocal

Quando a frequência fundamental soa desconfortável e incompatível com o fenótipo do indivíduo, são realizados procedimentos para a mudança do “pitch” vocal. Contrariamente à terapia hormonal com testosterona, que diminui o “pitch” vocal, a administração de estrogênios em adultos não tem efeitos na estrutura laríngea ou na

feminilização da voz. A fonoterapia pode ser eficiente em aumentar funcionalmente o “pitch” e feminilizar a voz assim como o comportamento vocal, mudando respiração, entonação, articulação e escolha das palavras. Porém, a voz masculina tende a reaparecer em situações não controladas como gargalhadas, espirros, tosse e bocejos. Além disso, o esforço contínuo para soar naturalmente feminino pode levar a desordens vocais funcionais e orgânicas. Tais pacientes podem queixar-se de rouquidão, globus, fadiga vocal, entre outros sintomas. Assim, a cirurgia para atingir frequência fundamental mais alta é uma opção (Mastronikolis et al., 2013).

Vários procedimentos cirúrgicos foram propostos para aumentar o “pitch” vocal, baseando-se em princípios de aumentar a tensão, diminuir o comprimento das pregas vocais, reduzir a massa ou alterar a consistência das pregas vocais.

Uma das cirurgias mais conhecidas para o aumento do “pitch” vocal é a aproximação cricotireóidea, descrita por Isshiki em 1974, conhecida também como tireoplastia tipo IV (Isshiki et al., 1974). Esse procedimento simula a contração do músculo cricotireóideo por meio de suturas que aproximam as cartilagens cricoide e tireoide, aumentando assim a tensão da prega vocal e conseqüentemente, o “pitch” (Figura 6).

FONTE: Isshiki, 2000.

Figura 6 – Aproximação cricotireóidea (tireoplastia tipo IV, descrita por Isshiki)

Em 1986, Lee et al. modificaram a técnica, incluindo a secção do músculo cricotireóideo bilateralmente e usando suturas mais longas, passando pela incisura tireoidiana e envolvendo a cartilagem cricoide e o tecido subcutâneo na linha média, com o objetivo de melhorar as zonas de tensão nas cartilagens (Figura 7).

FONTE: Isshiki et al., 1999.

Figura 7 – Aproximação cricotireóidea com a modificação de Lee, que contempla a secção do músculo cricotireóideo (setas) e uma sutura longa (A e B) para aproximar as cartilagens

Porém, tanto a técnica de Isshiki quanto a modificação de Lee têm como desvantagens a incisão externa e o aumento da proeminência laríngea, que denota uma característica mais masculina, incompatível com o objetivo de aumentar a frequência fundamental da voz. Além disso, há descrição de resultados pouco consistentes em longo prazo, com diminuição do “pitch” vocal após 6 a 18 meses do procedimento (Gross, 1999; Koçak et al., 2010; Remacle et al., 2011; Mastronikolis et al., 2013). Entretanto, alguns autores publicaram permanência de “pitch” elevado em pacientes submetidos a aproximação cricotireóidea após três anos de acompanhamento (Gibbins et al. 2011), sendo esse um assunto controverso.

Isshiki propôs, em 1977, uma técnica de expansão anteroposterior da lâmina tireoideia por inserção vertical de tira de implante, com o objetivo de aumentar o “pitch” vocal pelo aumento de tensão nas pregas vocais (Figura 8). Entretanto, o efeito

no aumento do “pitch” pode ser menor, e a intervenção cirúrgica é maior que em outras técnicas propostas posteriormente (Isshiki et al., 1999).

FONTE: Isshiki et al., 1999.

Figura 8 – Técnica de expansão anteroposterior da lâmina tireoideia com implante de silicone

Saito e Kokawa relataram, em 1977, uma cirurgia que consistia em incisões longitudinais nas pregas vocais (escarificação), que elevariam o “pitch” provavelmente pelo aumento da rigidez pelas cicatrizes. Alguns anos depois, usou-se o laser de CO₂ (*laser-assisted voice adjustment* – LAVA) para a vaporização parcial das pregas vocais. Nessa técnica, é feita a vaporização 1-2mm lateralmente à borda livre da prega vocal, estendendo-se pela superfície superior do processo vocal até a região mais anteriormente possível. O aumento do “pitch” ocorre por diminuição de massa e aumento da rigidez das pregas vocais, resultantes do processo de cicatrização após a vaporização (Orloff et al., 2006).

Koçak et al. (2010) descreveram uma técnica modificada da cirurgia LAVA chamada glotoplastia com redução a laser (*laser reduction glottoplasty* – LRG). Nessa modificação, a vaporização com laser de CO₂ é feita no epitélio e camadas mais profundas, entre o ligamento e o músculo vocal, provocando redução tecidual pelo laser. A seguir, é realizada sutura em alguns pontos da incisão, que se estende do processo vocal ao terço anterior, bilateralmente (Figura 9). Dessa forma, ocorre diminuição da

massa da prega vocal. Injeções intracordais de corticosteroides também foram testadas para o mesmo fim (Koçak et al., 2010).

FONTE: Koçak et al., 2010.

Figura 9 – Vaporização das pregas vocais com uso de laser

Porém, esses procedimentos de alteração na massa das pregas vocais devem ser feitos conservadoramente pelo risco de prejuízo na voz. Alguns estudos mostraram prevalência de efeitos não desejados, como diminuição do “pitch” e disфонia devido à rigidez das pregas vocais após a cirurgia. Além disso, em alguns casos, a elevação da frequência fundamental não é significativa. Outra desvantagem no caso do uso do laser é o custo do equipamento (Isshiki et al., 1999; Yang et al., 2002).

Em 1982, Donald descreveu uma técnica cirúrgica de elevação do “pitch” vocal baseada na realização de sinéquia no terço anterior das pregas vocais por laringofissura.

Em 1983, LeJeune et al. descreveram o avanço de comissura anterior. A cirurgia consiste em realizar um retalho com a base caudal na região mediana da cartilagem tireoide, que inclui a comissura anterior, e fixá-lo em posição avançada mais anteriormente com um enxerto, aumentando, assim, a tensão nas pregas vocais

(Figura 10). Tucker modificou a técnica em 1985, invertendo a base do retalho para a direção superior (Figura 11). Esse tipo de cirurgia tem alguns bons resultados na literatura, mas o número de pacientes em cada série é pequeno, e a técnica tem as desvantagens de incisão externa e acentuação da proeminência laríngea (LeJeune, 1983; Tucker, 1985; Gross, 1999; Isshiki et al., 1999).

FONTE: Isshiki et al., 1999.

Figura 10 – Técnica de LeJeune, com avanço da comissura anterior com retalho com base inferior

FONTE: Isshiki et al., 1999.

Figura 11 – Técnica de Tucker, com avanço da comissura anterior com retalho com base superior

Em 1989, Wendler descreveu uma cirurgia para o aumento do “pitch” vocal semelhante à cirurgia de Donald, mas sem a necessidade de cervicotomia. Nessa técnica endoscópica transoral, é feita a desepitelização do terço anterior das pregas vocais e sutura em forma de “V”, formando uma sinéquia anterior e levando à diminuição do comprimento da prega vocal e da massa da parte vibratória (Figura 12). Não é descrita dispneia em repouso ou aos esforços após essa cirurgia, e disfonia pós-operatória pode ocorrer por poucas semanas, sendo normalmente corrigida com fonoterapia (Wendler, 1990; Mastronikolis et al., 2013).

FONTE: Mastronikolis et al., 2013.

Figura 12 – Foto durante ato cirúrgico de glotoplastia de Wendler, após desepitelização do terço anterior das pregas vocais, sutura da região e colocação de cola de fibrina

Gross (1999), em uma série de dez pacientes (de 30 a 57 anos de idade) operados com a técnica de Wendler, mostrou redução da variação vocal para frequências mais baixas e aumento médio de 9,2 semitons na frequência fundamental espontânea, com médias de 116,9 Hz no pré-operatório e 201 Hz no pós-operatório e com seguimento entre 35 e 45 meses.

Wagner et al. (2003) mostraram dados de quatorze indivíduos que foram submetidos ao avanço de comissura anterior, aproximação cricotireóidea ou ambos os

procedimentos, com média de seguimento de 6,5 meses. O ganho mediano na frequência fundamental foi de 11 Hz.

Orloff et al. (2006) publicaram uma série de 31 pacientes submetidos a vaporização da prega vocal com laser de CO₂ que obtiveram a média de aumento do “pitch” de 26 Hz. Dos pacientes dessa série, 22% tiveram diminuição ou permaneceram sem modificação da frequência fundamental. Além disso, houve diminuição da intensidade, da qualidade e da extensão vocal.

Koçak et al. (2010) descreveram uma série de seis pacientes submetidos a técnica de glotoplastia com redução a laser (LRG) após falha com a aproximação cricotireóidea. Os autores obtiveram aumento médio da frequência fundamental de 45,17 Hz: $158,33 \pm 12,14$ Hz para $203,50 \pm 13,34$ Hz, após doze meses da cirurgia.

Remacle et al. (2011) mostraram resultados em uma série de quinze pacientes operados com a técnica de Wendler modificada. A cirurgia consistia na desepitelização do terço anterior das pregas vocais com laser de CO₂ e sutura com fio 3.0 absorvível, além da colocação de cola de fibrina ao final do procedimento para fortalecer a sutura. A mediana de frequência fundamental aumentou de 150 Hz (intervalo de confiança de 95% (IC 95%) = 118–182 Hz) no pré-operatório para 194 Hz (IC 95% = 146–242 Hz) após dois anos de cirurgia, com $P = 0,006$.

Mastronikolis et al. (2013) avaliaram os resultados da técnica descrita por Wendler, modificada pelo uso de laser em vez de instrumentos frios, em pacientes com menos e mais de quarenta anos de idade, comparando as possíveis diferenças em relação à idade em que a cirurgia é realizada. Os autores acreditavam que os resultados tendem a ser melhores quando a cirurgia é realizada em pacientes mais novos. O limite de quarenta anos foi escolhido subjetivamente, baseado no fato de que indivíduos da quinta década de vida que decidem alterar sua imagem para características femininas já têm corpo e personalidade masculinas mais desenvolvidas. O estudo de Mastronikolis et al. avaliou 31 pacientes, sendo dezenove menores de quarenta anos. A média de seguimento foi de 9,2 meses. Três pacientes haviam sido submetidos a aproximação cricotireóidea anteriormente. O aumento da frequência fundamental foi de 135,8 Hz para 206,3 Hz, considerando todos os pacientes ($P = 0,001$). No grupo de menos de quarenta anos, a alteração na frequência fundamental foi de $132,8 \pm 41,3$ Hz para $213,8 \pm 42,8$ Hz ($P = 0,001$). No grupo de mais de quarenta anos, a variação foi de $142,8 \pm 45,4$ Hz para $187 \pm 45,2$ Hz ($P = 0,003$).

3.6 Estudo da vibração das pregas vocais

A vibração das pregas vocais é fator determinante para a qualidade da voz. Sua avaliação é de extrema relevância e vem sendo estudada e aprimorada. Os primeiros relatos de tentativas de visualização *in vivo* da laringe são do início do século XIX. Existem descrições de visualização das pregas vocais com diferentes aparatos, usando tubos e espelhos, como em 1829 por Benjamin Guy Babington, em 1832 por Bennati e em 1844 por Warden. Porém, somente em 1854, Manuel Garcia, um cantor e professor de canto, obteve mais sucesso no uso e na descrição do método conhecido atualmente como laringoscopia indireta. Garcia posicionou atrás da própria úvula um pequeno espelho odontológico com cabo longo, previamente aquecido em água quente. De costas para o sol, ele refletiu a luz solar por meio de outro espelho posicionado à sua frente, que, ao iluminar a laringe, possibilitou sua visualização (Clerf, 1956). Após esse relato, os métodos de visualização da laringe e de sua vibração foram aprimorados.

Devido à alta velocidade da vibração glótica (mais de 100 ciclos por segundo), a observação visual dos fenômenos que ocorrem em cada ciclo só é possível com o uso de alguns equipamentos. Quando uma imagem é exposta, ela permanece na retina humana por cerca de 200 ms. Essa persistência da visão da imagem percebida significa que a retina não processa mais que cinco imagens distintas sucessivas por segundo. Assim, eventos que ocorram a mais de cinco quadros por segundo parecerão borrados (Woo, 2010).

Tentando superar essa dificuldade, Oertel usou pela primeira vez, em 1895, um estroboscópio mecânico para avaliar a laringe (Isshiki et al., 1999; Woo, 2010).

Com a luz estroboscópica ajustada com pequena diferença em relação à frequência de vibração das pregas vocais, cada micropulso luminoso incide sobre uma fase diferente e sucessiva do ciclo vibratório (Figura 13). A estroboscopia é, assim, uma composição de imagens de fases sequenciais de diferentes ciclos vibratórios, provocando um movimento ilusório em câmera lenta das pregas vocais. Dessa maneira, não corresponde aos ciclos completos reais. Quando a frequência dos pulsos de iluminação é idêntica à da vibração das pregas vocais, o resultado é um aparente congelamento da imagem (Isshiki et al., 1999; Woo, 2010, 2014).

FONTE: Woo, 2010.

Figura 13 – Esquema sobre a estroboscopia: a breve luz incide somente em uma parte do ciclo vibratório das pregas vocais, e as rápidas imagens mostradas são processadas na retina como movimento contínuo em câmera lenta

A laringoestroboscopia é um exame rápido, de custo acessível e muito utilizado para a avaliação da vibração das pregas vocais. Porém, tem as limitações de ser uma composição de imagens e de não permitir a avaliação de ciclos aperiódicos (Švec; Schutte, 1996).

Em 1937, a câmera de alta velocidade foi usada pela primeira vez nos Laboratórios da Bell Telephone. Em 1940, Farnsworth descreveu a gravação de imagens de vibração das pregas vocais humanas com câmeras de alta velocidade (Farnsworth, 1940).

Nas décadas de 1970 e 1980, a fotoquimografia foi utilizada para estudo da laringe, mas o método não permitia a visualização instantânea (Švec; Schutte, 1996). Com o tempo, as técnicas de filmagem foram aprimoradas, evoluindo da cinematografia para videocâmeras em tubo e posteriormente, para CCD (*charge-coupled device* – dispositivo de carga acoplada) (Woo, 2010).

A quimografia baseia-se em selecionar uma linha do eixo glótico para observar o movimento de vibração dessa região das pregas vocais durante o tempo. A imagem quimográfica é composta de várias sucessivas imagens dessa linha selecionada. Existem várias técnicas de imagens quimográficas, como a fotoquimografia, a videoquimografia e a quimografia digital de alta velocidade (Figura 14) (Lohscheller et al., 2013).

Figura 14 – Videoquimografia digital obtida neste estudo, mostrando o movimento em uma linha do eixo da glote, e a prega vocal esquerda está representada na parte inferior da figura, e a direita, na superior

Em 1996, Švec e Schutte propuseram o uso da videoquimografia de alta velocidade para avaliação da vibração laríngea. Foi desenvolvido um CCD especial, cujo modo videoquimográfico grava somente uma linha selecionada da imagem, alcançando a frequência de 7.812,5 imagens dessa linha por segundo, que é uma frequência maior que a das pregas vocais. As imagens sucessivas dessa linha são apresentadas instantaneamente em um monitor, de forma contínua, e o eixo vertical representa o fator

tempo. Com essa frequência de gravação, uma imagem contínua da vibração é proporcionada, diferenciando-se da estroboscopia, que é uma composição de imagens.

Somente na década de 1990, sistemas de videolaringoscopia de alta velocidade foram introduzidos no comércio. Em 2006, foram lançados os primeiros sistemas coloridos, que melhoraram a identificação de lesões e de alterações vasculares e teciduais (Deliyski et al., 2008).

Atualmente, os equipamentos de videolaringoscopia com câmeras de alta velocidade podem produzir mais de 4.000 imagens por segundo, com resolução de mais de 512 x 512 pixels, por oito segundos (Pinheiro, 2014; Woo, 2014).

Após captura das imagens, programas de computador específicos possibilitam a análise imediata das imagens gravadas por segmentação, videoquimografia digital, curvas acústicas, eletroglotografia e quantificação de quocientes de abertura. Na videoquimografia digital de alta velocidade, pode-se escolher a linha e o trecho que se quer analisar, diferentemente da videoquimografia convencional, que avalia uma única linha da imagem das pregas vocais (Kendall, 2012; Woo, 2014).

Em relação ao uso clínico, a videolaringoscopia de alta velocidade apresenta alto custo, e as avaliações demandam tempo prolongado (Deliyski et al., 2008; Woo, 2014). Porém, esse é considerado o método mais potente de processamento e avaliação da vibração das pregas vocais (Švec; Schutte, 1996), possibilitando o registro dos ciclos vibratórios inteiros e reais com a imagem completa das pregas vocais, mesmo que sejam aperiódicos (Deliyski et al., 2008). Assim, pode ser considerado método útil para a avaliação das vibrações das pregas vocais em estudos experimentais.

Além disso, estudos em indivíduos sem disfonia que usam a videoquimografia digital com imagens de alta velocidade têm mostrado variações nos padrões de simetria de amplitude e de fase de vibração, de acordo com a idade e o gênero dos indivíduos e com a intensidade e a frequência da emissão vocal (Mehta et al., 2011; Chen et al., 2014; Yamauchi et al., 2015). Desse modo, as avaliações com esses equipamentos são mais sensíveis, e estudos com tais equipamentos são necessários para melhor conhecimento da vibração das pregas vocais e para normatização dos padrões de normalidade.

4 MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi aprovado sob o protocolo 177/12 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-FMUSP), em 6 de junho de 2012. A pesquisa foi cadastrada e aprovada na Plataforma Brasil sob número 34.698 (30 de maio de 2012). Obteve também aprovação da Diretoria do Setor de Verificação de Óbitos da Capital (SVOC), em São Paulo (Apêndices).

Foi dispensado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) específico para esse estudo, pois foram usadas laringes excisadas no SVOC, que já aplica um TCLE aos familiares dos cadáveres, que foram previamente esclarecidos e consentiram com a possibilidade de remoção de órgãos para pesquisas.

4.2 Tipo, local e população de estudo

Foi realizado estudo experimental controlado não randomizado com 21 laringes excisadas de cadáveres humanos masculinos, provenientes discricionariamente do SVOC, no município de São Paulo.

4.3 Critérios de inclusão

Foram utilizadas somente laringes masculinas para que os valores da frequência fundamental inicial fossem mais baixos e para diminuir a variação das medidas.

Foram incluídas apenas laringes de cadáveres adultos (maiores de dezoito anos), cuja morte não foi violenta. Os experimentos foram feitos com laringes frescas, com menos de doze horas de retirada do cadáver.

4.4 Critérios de exclusão

Foram excluídas as laringes com lesões macroscópicas nas pregas vocais, sem integridade do arcabouço laríngeo e traqueia proximal, com assimetria visível entre as pregas vocais ou que não tiveram possibilidade de vibração das pregas vocais durante os experimentos.

A raça e o biotipo do cadáver não foram considerados como fatores de exclusão do estudo.

4.5 Procedimentos do estudo

4.5.1 Preparo das laringes

As laringes foram removidas dos cadáveres por um técnico do SVOC e foram levadas para o Laboratório de Investigação Médica em Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Foram retiradas algumas estruturas anexas à peça removida, como vasos sanguíneos, língua, esôfago, músculos extrínsecos, osso hioide, gordura pré-epiglótica, glândula tireoide e mucosa faríngea (Figura 15). A epiglote e as bandas ventriculares foram removidas para melhor visualização da vibração cordal (Figura 16). Os anéis traqueais proximais foram preservados, assim como as cartilagens cricoide, tireoide, aritenoides, corniculadas e cuneiformes e a musculatura intrínseca laríngea (Figura 17). Visando a hidratação e melhor vibração das pregas vocais, todas as laringes foram submersas em solução salina a 0,9%, conforme o estudo de Jiang et al. (1999).

Figura 15 – Preparo das laringes, com retirada de estruturas anexas

Figura 16 – Preparo das laringes, com remoção da epiglote e das bandas ventriculares

Figura 17 – Laringe após o preparo, com preservação de anéis traqueais e musculatura intrínseca

4.5.2 Obtenção da vibração

Cada laringe foi colocada em um suporte com garras, específico para esse fim (Figura 18). Para a adução das pregas vocais e obtenção do fechamento da glote posterior, foi dado um ponto com fio Nylon 3.0 entre os dois processos vocais, envolvendo as cartilagens aritenoides posteriormente, promovendo o fechamento glótico para a consequente vibração das pregas vocais (Figuras 19 e 20). Um fio de 5mm foi colocado na região mais lateral (próximo à lâmina da cartilagem tireoide, porém no nível das pregas vocais) para obtenção de uma escala fidedigna para as medidas que foram realizadas no estudo (Figura 21).

Figura 18 – Suporte para fixação da laringe

Figura 19 – Fio envolvendo as cartilagens aritenoides, passando pelos processos vocais (visão superior da laringe)

Figura 20 – Visão da região posterior da laringe após a passagem do fio pelas cartilagens aritenoides, antes da confecção do ponto para promover a adução das pregas vocais

Figura 21 – Visão superior da laringe no suporte, após a adução das pregas vocais, com o fio de 5mm para referência das medidas

A pressão subglótica no sistema foi possibilitada com a colocação de um tubo de ventilação orotraqueal com balão insuflado na traqueia para a vedação completa, sem vazamentos ao redor, com o orifício distal na transição cricotraqueal, conectado a um sistema de ar comprimido, que passava por um recipiente com solução fisiológica a 0,9% aquecida (36-39°C). Foi mantido um fluxo de ar úmido, aquecido e contínuo entre 5 L/min e 10 L/min, controlado por um fluxômetro calibrado. A intensidade do fluxo foi determinada para cada laringe, no valor que possibilitava a vibração cordal adequada (Figura 22). Durante todos os testes na mesma laringe, a intensidade do fluxo manteve-se. Tal experimento seguiu os modelos de Tsuji (1997, 2003), Figueiredo (2001), Bohadana (2002) e Chung et al. (2007).

Figura 22 – Esquema do sistema experimental para obtenção da vibração das pregas vocais

4.5.3 Registro da vibração vocal

Para análise da vibração cordal, foram gravados os ciclos vibratórios com câmera de alta velocidade. As imagens foram obtidas com o seguinte material: laringoscópio

rígido (Richard Wolf, Knittlingen, Alemanha, HReS 90°, modelo 8454.002), cabeça da câmera (Richard Wolf, Knittlingen, Alemanha, modelo 5562.901), câmera (Richard Wolf, Knittlingen, Alemanha, HRES ENDOCAM 5562), fonte de luz de xenônio de 300 W (Richard Wolf, Knittlingen, Alemanha, AUTO LP 5132) e microfone integrado (Richard Wolf, Knittlingen, Alemanha, modelo 5052.801).

Durante as gravações, o laringoscópio rígido de 90° foi fixado a um apoio e mantido imóvel, ficando em uma linha paralela e a 10cm da glote, com o objetivo de anular eventuais alterações de angulação ou distância das imagens e não distorcer as medidas lineares. Durante todas as documentações, foi utilizado o mesmo sistema. As imagens foram gravadas em um computador integrado ao sistema da câmera de alta velocidade.

4.5.4 Técnica cirúrgica de glotoplastia com formação de sinéquia glótica anterior

A glotoplastia com formação de sinéquia anterior descrita por Wendler consiste em diminuir o comprimento da área glótica (e consequentemente da parte vibratória das pregas vocais), promovendo uma sinéquia na região anterior. Neste experimento, para simular a sinéquia, foram realizadas suturas na região anterior das pregas vocais.

Inicialmente foi feita a medida do comprimento das pregas vocais após a confecção do ponto de adução da glote. O mesmo compasso de medida linear de precisão (compasso Castroviejo 0/40mm, Factory Instrumental Cirúrgico Ltda., São Paulo, São Paulo, Brasil) foi usado em todas as medidas, em todas as laringes. O comprimento da porção membranosa das pregas vocais foi determinado pela medida obtida do processo vocal à comissura anterior, como demonstrado na Figura 23.

Figura 23 – Local de referência para a medida do comprimento da prega vocal, da comissura anterior ao processo vocal

A seguir, foi calculada a distância de três pontos a serem dados, simulando extensões diferentes de sinéquia anterior na glote, diminuindo o comprimento da porção membranosa das pregas vocais: o primeiro ponto fechando o $\frac{1}{4}$ anterior da prega vocal (25%), outro ponto diminuindo em $\frac{1}{3}$ (33%), outro ponto na metade (50%) do comprimento das pregas vocais (Figura 24).

Figura 24 – As linhas tracejadas representam os locais determinados neste estudo para confecção dos pontos para reproduzir as diferentes extensões de sinéquia anterior na glote, com 25%, 33% e 50% do comprimento das pregas vocais

As suturas foram realizadas com fio monofilamentar de polipropileno 6-0, com agulha 3/8 com 9,3mm (Prolene®, Ethicon, Somerville, NJ, EUA). Todos os pontos foram dados pela mesma pessoa, em direção perpendicular à borda livre da prega vocal, sempre da prega vocal direita para a esquerda, envolvendo o ligamento vocal bilateralmente e preservando o músculo vocal. As suturas foram feitas com pontos simples, amarrando-se o nó na face superior da glote.

Ao final do experimento do controle (sem sutura), foi dado o primeiro ponto, diminuindo em 25% o comprimento da porção vibratória das pregas vocais. Com o fim do experimento que reproduz a sinéquia anterior com extensão de 25%, foi mantido o primeiro ponto, e foi realizado o segundo, na transição do terço anterior com o terço

médio das pregas vocais, representando a sinéquia anterior com extensão de 33% das pregas vocais (Figura 25). Após os experimentos dessa terceira forma, foram mantidos os dois primeiros pontos, e foi confeccionado o ponto na metade do comprimento das pregas vocais, reproduzindo a sinéquia anterior de 50%. Portanto, cada laringe foi registrada em quatro maneiras: sem a glotoplastia (controle) e com $\frac{1}{4}$ (25%), com $\frac{1}{3}$ (33%) e com $\frac{1}{2}$ (50%) de fechamento das pregas vocais anteriormente.

Figura 25 – Medida com compasso linear de precisão para confecção dos pontos nas pregas vocais

4.5.5 Obtenção dos dados

Foram realizadas gravação e análise dos parâmetros basais (controles) de cada laringe, e tudo foi repetido em cada uma das porcentagens de extensão de sinéquia anterior (25%, 33% e 50%), em cada laringe.

Os exames de videolaringoscopia de alta velocidade foram armazenados a 4.000 quadros por segundo e resolução de 256 x 256 pixel. Foi realizado estudo pela videoquimografia digital obtida pelo programa HRES Endocam 5562 (Richard Wolf Corporation, versão 1.10, Knittlingen, Alemanha) (Figura 26). Para a videoquimografia digital, foi usado o vídeo completo de cada experimento e a linha para sua obtenção foi posicionada no local de maior amplitude de movimento das pregas vocais. Além disso,

a linha de geração da videoquimografia foi ajustada perpendicularmente ao eixo anteroposterior da glote, ou seja, 90° em relação às bordas livres, com auxílio de um transferidor de medição de ângulos.

Figura 26 – Interface do programa HRES Endocam 5562 - Richard Wolf, utilizado para análise das imagens obtidas com videolaringoscopia com câmera de alta velocidade. A linha amarela seleciona o local do eixo glótico que será avaliado por videoquimografia digital

Foi realizada a contagem do número de ciclos vibratórios completos obtidos durante todo o tempo de registro gravado para cada etapa, em cada laringe. A frequência fundamental foi obtida por meio da divisão do número de ciclos pelo tempo da gravação em segundos (hertz = ciclos/s). Após o cálculo das frequências de vibração de cada laringe em cada uma das quatro etapas (controle, 25%, 33% e 50%), foram obtidas as diferenças em semitons, calculadas em planilha do programa Microsoft® Excel® pela fórmula: $= (12 \times (\text{LOG}_{10}(\text{valor da frequência obtida após os pontos em glote}) - \text{LOG}_{10}(\text{valor da frequência do controle}))) / \text{LOG}_{10}(2)$.

Pela análise da videoquimografia digital e dos vídeos obtidos pela câmera de alta velocidade, foi feita a classificação subjetiva da vibração cordal quanto a periodicidade, simetrias de fase e de amplitude e fechamento glótico.

A periodicidade da onda mucosa foi classificada em presente/regular (vibração quasiperiódica), irregular (vibração aperiódica) ou inconsistente (momentos de regularidade e momentos de irregularidade). 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.

A simetria avalia as fases de vibração e a amplitude de vibração. A simetria de fase foi considerada presente quando ambas as pregas vocais estavam no mesmo momento do ciclo vibratório (fechamento e abertura). Quando não houve concordância entre as duas, a classificação foi assimetria de fase de vibração.

A amplitude de vibração corresponde à extensão da excursão lateral que a borda livre de cada prega vocal apresenta durante os ciclos, do ponto máximo de medialização ao ponto máximo de afastamento lateral do ciclo vibratório. Foi realizada a comparação subjetiva entre o afastamento da borda livre de cada prega vocal da linha mediana, e a classificação foi simétrica ou assimétrica, de acordo com a concordância ou não entre as pregas vocais.

O fechamento glótico foi considerado completo quando as bordas livres das pregas vocais direita e esquerda encostavam-se durante a fase fechada, em sua totalidade. Quando havia espaço constante entre as pregas vocais, mesmo que em uma região da glote somente, o fechamento glótico foi considerado incompleto.

4.6 Análise estatística dos dados

Foram analisados estatisticamente os dados obtidos entre os quatro grupos: controle, pontos em $\frac{1}{4}$ (25%), $\frac{1}{3}$ (33%) e $\frac{1}{2}$ (50%) do comprimento das pregas vocais. Para essa análise estatística foram usados os programas “SPSS for Windows®” versão 20.0 e Microsoft® Excel® versão 2011.

Primeiramente foram avaliados os parâmetros referentes a frequência fundamental em valores absolutos em hertz e em diferenças relativas em semitons.

Foram descritas as medidas realizadas em cada uma das quatro situações estudadas com uso de médias e desvios-padrão e calculados os intervalos com 95% de confiança para as medidas de frequência fundamental, sendo que o teste de verificação de

normalidade de distribuição dos dados Kolmogorov-Smirnov não apresentou fuga dessa suposição.

As medidas foram comparadas entre as diferentes extensões de sinéquia anterior nas pregas vocais com uso de análises de variâncias (ANOVA) com medidas repetidas seguidas de comparações múltiplas de Bonferroni para saber entre quais situações ocorreram as diferenças nas medidas.

Os resultados foram ilustrados com uso de gráficos de barras, representando as médias das medidas avaliadas com os respectivos erros-padrão.

A correlação entre a frequência fundamental antes dos procedimentos, controle (variável independente), e após os procedimentos (variável dependente) foi estudada por diagramas de dispersão com intervalos de confiança de 95% e pela análise de regressão linear simples. Para essa avaliação, foi usado o programa Small Stata® 11.2 2009.

Pelos cálculos da regressão linear simples, foram elaboradas fórmulas para estimar a frequência fundamental (F_0 esperada) após cada uma das três extensões de sinéquia anterior, tendo como ponto de partida a frequência fundamental controle (F_0 pré-procedimento). As fórmulas seguiram o formato: F_0 esperada = constante + (coeficiente da variável independente) x (F_0 pré-procedimento).

Todos os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

Os dados qualitativos – periodicidade, simetrias de fase e de amplitude de vibração e fechamento glótico – foram tratados por meio da estatística descritiva.

5 RESULTADOS

Foram usadas 21 laringes para o estudo, todas de adultos do sexo masculino. Cinco laringes foram excluídas por não apresentarem vibração adequada durante os estudos da fase controle. As idades variaram de 49 a 83 anos, com média de 67,81 anos. Nas laringes incluídas no estudo, o comprimento das pregas vocais variou de 15mm a 22mm, com média de 17,06mm, sendo que 10 das 16 laringes tinham pregas vocais com medidas entre 15mm e 16,5mm. Os dados referentes aos tamanhos das pregas vocais e às frequências fundamentais das dezesseis laringes incluídas no estudo estão no Anexo.

5.1 Frequência fundamental em hertz

Os dados referentes a frequência fundamental em valores absolutos em hertz nas quatro condições estudadas estão representados no Gráfico 1 e nas Tabelas 1 e 2.

Gráfico 1 – Distribuição das médias de frequência fundamental em hertz e respectivos erros-padrão entre os grupos estudados

Tabela 1 – Descrição das medidas de frequência fundamental (F_0) em hertz em relação às extensões de sinéquia glótica anterior e resultado dos testes comparativos

Variável	Extensão da sinéquia	Média	DP	IC (95%)		N	P
				Inferior	Superior		
Frequência fundamental em hertz	Controle	208.87	56.32	178.85	238.88	16	<0,001
	25%	250.20	76.62	209.38	291.03	16	
	33%	292.37	93.45	242.58	342.17	16	
	50%	342.67	123.36	276.94	408.40	16	

DP: desvio-padrão; IC (95%): intervalos com 95% de confiança; N: tamanho da amostra; P: significância estatística segundo análises de variâncias (ANOVA) de medidas repetidas

Tabela 2 – Resultado das comparações múltiplas das medidas de frequência fundamental (F_0) em hertz entre as diferentes extensões de sinéquia glótica anterior

Variável	Comparação	Diferença média	Erro-padrão	P	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Frequência fundamental em hertz	Controle - 25%	-41.34	9.36	0.003	-69.77	-12.91
	Controle - 33%	-83.51	15.77	0.001	-131.37	-35.64
	Controle - 50%	-133.81	24.85	<0,001	-209.24	-58.37
	25% - 33%	-42.17	9.57	0.003	-71.23	-13.11
	25% - 50%	-92.47	19.99	0.002	-153.16	-31.78
	33% - 50%	-50.30	15.16	0.028	-96.34	-4.26

IC (95%): intervalos com 95% de confiança; P: significância estatística segundo comparações múltiplas de Bonferroni

A frequência fundamental média em hertz apresentou diferenças estatisticamente significativas entre as extensões estudadas de sinéquia anterior na glote ($P < 0,001$), variando de $208,87 \pm 56,32$ Hz no grupo controle para $250,20 \pm 76,62$ Hz no grupo com sinéquia na extensão de 25% das pregas vocais, $292,37 \pm 93,45$ Hz no grupo com sinéquia na extensão de 33% das pregas vocais e $342,67 \pm 123,36$ Hz no grupo com sinéquia na extensão de 50% das pregas vocais.

Houve aumento médio estatisticamente significativo a cada prolongamento da extensão de sinéquia anterior ($P < 0,05$).

5.2 Diferença de frequência fundamental em semitons

Os dados referentes a frequência fundamental em valores relativos em semitons nas quatro condições estudadas estão representados no Gráfico 2 e nas Tabelas 3 e 4.

Gráfico 2 – Valores médios da diferença de frequência fundamental e respectivos erros-padrão segundo as extensões de sínquia glótica anterior

Tabela 3 – Descrição das relações de medidas de frequência fundamental (F_0) em semitons de acordo com as extensões de sínquia glótica anterior e resultado dos testes comparativos

Variável	Extensão da sínquia	Média	DP	IC (95%)		N	P
				Inferior	Superior		
Diferença de F_0 em relação ao controle (semitons)	25%	3.00	2.49	1.67	4.32	16	<0,001
	33%	5.62	3.48	3.76	7.48	16	
	50%	8.15	4.86	5.57	10.74	16	

DP, desvio-padrão; IC (95%): intervalos com 95% de confiança; N, tamanho da amostra; P, significância estatística segundo análises de variâncias (ANOVA) de medidas repetidas

Tabela 4 – Resultado das comparações múltiplas da relação de frequência fundamental (F_0) em semitons entre as diferentes extensões de sinéquia glótica anterior

Variável	Comparação	Diferença média	Erro-padrão	P	IC (95%)	
					Inferior	Superior
Diferença de F_0 (semitons)	25% - 33%	-2.62	0.56	0.001	-4.12	-1.12
	25% - 50%	-5.16	1.00	<0,001	-7.86	-2.46
	33% - 50%	-2.54	0.78	0.016	-4.64	-0.43

IC (95%), intervalos com 95% de confiança; P, significância estatística segundo comparações múltiplas de Bonferroni

Os dados de frequência fundamental em semitons apresentaram, em média, diferenças estatisticamente significativas entre as extensões estudadas de sinéquia anterior na glote ($P < 0,001$). Em relação ao controle, houve aumento médio de três semitons no grupo com sinéquia na extensão de 25%, 5,62 semitons no grupo com sinéquia na extensão de 33% e 8,15 semitons no grupo com sinéquia na extensão de 50%.

Em relação à frequência fundamental em semitons, também houve aumento médio estatisticamente significativo a cada ampliação da extensão de sinéquia anterior na glote ($P < 0,05$).

5.3 Correlação entre as frequências fundamentais anterior e posteriores aos procedimentos

Os Gráficos 3, 4 e 5 correspondem às análises de correlação entre as frequências fundamentais anterior (controle) e posteriores a cada procedimento experimental (sinéquias com extensões de 25%, 33% e 50%, respectivamente), com intervalos de confiança de 95%. Em todos gráficos de dispersão apresentados, o eixo horizontal corresponde aos valores da frequência fundamental em Hz antes do procedimento, e o eixo vertical, aos valores obtidos após cada etapa de redução da porção membranosa das pregas vocais.

Gráfico 3 – Gráfico de dispersão das frequências fundamentais anterior e posteriores à confecção de sinéquia com extensão de 25%, com intervalo de confiança de 95%

Control, frequência controle (antes do procedimento) em Hz; *fitted values*, valores estimados; 95% CI, intervalo com 95% de confiança; PV25, redução de 25% da porção membranosa das pregas vocais

Gráfico 4 – Gráfico de dispersão das frequências fundamentais anterior e posteriores à confecção de sinéquia com extensão de 33%, com intervalo de confiança de 95%

Control, frequência controle (antes do procedimento) em Hz; *fitted values*, valores estimados; 95% CI, intervalo com 95% de confiança; PV33, redução de 33% da porção membranosa das pregas vocais

Gráfico 5 – Gráfico de dispersão das frequências fundamentais anterior e posteriores à confecção de sinéquia com extensão de 50%, com intervalo de confiança de 95%

Control, frequência controle (antes do procedimento) em Hz; *fitted values*, valores estimados; 95% CI, intervalo com 95% de confiança; PV50, redução de 50% da porção membranosa das pregas vocais

Os coeficientes de correlação (r) entre os valores de frequência fundamental anterior e posteriores aos procedimentos de redução do comprimento da porção vibratória das pregas vocais em 25%, 33% e 50% foram 0,874 ($P < 0,001$), 0,768 ($P = 0,005$) e 0,571 ($P = 0,021$), respectivamente.

Modelos de regressão foram elaborados para estimar o valor da frequência fundamental após cada procedimento (F_0 esperada), partindo da frequência fundamental da situação controle (F_0 pré-procedimento). Em todos os casos, o coeficiente da variável independente (F_0 pré-procedimento) foi significativo estatisticamente ($P < 0,05$).

A precisão dos modelos de regressão em estimar a variável dependente (F_0 esperada) (r^2) foi de 74,63%, 56,10% e 27,83% para as extensões de sinéquia de 25%, 33% e 50%, respectivamente.

As fórmulas empregadas para estimar a frequência fundamental após cada procedimento (F_0 esperada) com base na frequência da situação controle (F_0 pré-procedimento) neste estudo estão relacionadas a seguir.

- Para sinéquia com extensão de $\frac{1}{4}$ (25%):
 - $F_0\text{esperada} = 20,47 + 1,09 \times F_0\text{pré-procedimento}$
- Para sinéquia com extensão de $\frac{1}{3}$ (33%):
 - $F_0\text{esperada} = 69,21 + 1,02 \times F_0\text{pré-procedimento}$
- Para sinéquia com extensão de $\frac{1}{2}$ (50%):
 - $F_0\text{esperada} = 111,59 + 1,03 \times F_0\text{pré-procedimento}$

5.4 Dados qualitativos

Todas as análises de vibração laríngea mostraram-se com periodicidade regular (padrão quasiperiódico) (Tabelas 5 a 20 e Figuras 27 a 90).

Em duas de dezesseis laringes, o fechamento glótico completo tornou-se incompleto após a realização das sinéquias. Em seis, o fechamento glótico incompleto no controle tornou-se completo com as sinéquias de 50%. Três laringes tiveram fechamento glótico incompleto somente com a sinéquia de 33% da extensão das pregas vocais, mantendo-se com fechamento completo nas outras três situações (controle e sinéquias com extensão de 25% e 50%). Três laringes apresentaram-se com fechamento glótico incompleto nas quatro situações, e duas outras laringes mantiveram-se com fechamento glótico completo em todas as situações.

Três laringes apresentaram-se com simetria de fase, e três, com assimetria de fase durante as quatro situações testadas. Seis laringes com simetria de fase na situação controle apresentaram assimetria após a realização de pelo menos uma das sinéquias. Quatro laringes com assimetria de fase na situação controle apresentaram simetria após a realização das sinéquias (a partir de 25% em uma e somente com sinéquia de 50% nas outras).

Seis das dezesseis laringes mostraram assimetria de amplitude nas quatro situações testadas. Seis laringes apresentavam simetria de amplitude na situação controle e evidenciaram assimetria após as sinéquias. Três laringes que tinham assimetria de amplitude na situação controle apresentaram simetria em pelo menos uma

das situações com sinéquia. Uma laringe com simetria de amplitude no controle mostrou-se com assimetria com sinéquias de 25% e 33%, voltando à situação com simetria com 50%.

Tabela 5 – Análise subjetiva da laringe 1

Laringe 1	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Completo	Simetria	Simetria
25%	Regular	Completo	Simetria	Simetria
33%	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria
50%	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria

Figura 27 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 1

Figura 28 – Videoquimografia digital da laringe 1 com sinéquia de 25%

Figura 29 – Videoquimografia digital da laringe 1 com sinéquia de 33%

Figura 30 – Videoquimografia digital da laringe 1 com sinéquia de 50%

Tabela 6 – Análise subjetiva da laringe 4

Laringe 4	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria
25%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
33%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria

Figura 31 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 4

Figura 32 – Videoquimografia digital da laringe 4 com sinéquia de 25%

Figura 33 – Videoquimografia digital da laringe 4 com sinéquia de 33%

Figura 34 – Videoquimografia digital da laringe 4 com sinéquia de 50%

Tabela 7 – Análise subjetiva da laringe 6

Laringe 6	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria
25%	Regular	Incompleto	Simetria	Simetria
33%	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Simetria	Simetria

Figura 35 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 6

Figura 36 – Videoquimografia digital da laringe 6 com sinéquia de 25%

Figura 37 – Videoquimografia digital da laringe 6 com sinéquia de 33%

Figura 38 – Videoquimografia digital da laringe 6 com sinéquia de 50%

Tabela 8 – Análise subjetiva da laringe 7

Laringe 7	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria
25%	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Simetria
50%	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria

Figura 39 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 7

Figura 40 – Videoquimografia digital da laringe 7 com sinéquia de 25%

Figura 41 – Videoquimografia digital da laringe 7 com sinéquia de 33%

Figura 42 – Videoquimografia digital da laringe 7 com sinéquia de 50%

Tabela 9 – Análise subjetiva da laringe 8

Laringe 8	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
25%	Regular	Incompleto	Assimetria	Simetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria

Figura 43 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 8

Figura 44 – Videoquimografia digital da laringe 8 com sinéquia de 25%

Figura 45 – Videoquimografia digital da laringe 8 com sinéquia de 33%

Figura 46 – Videoquimografia digital da laringe 8 com sinéquia de 50%

Tabela 10 – Análise subjetiva da laringe 9

Laringe 9	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Assimetria	Simetria
25%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria

Figura 47 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 9

Figura 48 – Videoquimografia digital da laringe 9 com sinéquia de 25%

Figura 49 – Videoquimografia digital da laringe 9 com sinéquia de 33%

Figura 50 – Videoquimografia digital da laringe 9 com sinéquia de 50%

Tabela 11 – Análise subjetiva da laringe 10

Laringe 10	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Completo	Assimetria	Simetria
25%	Regular	Completo	Assimetria	Simetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria

Figura 51 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 10

Figura 52 – Videoquimografia digital da laringe 10 com sinéquia de 25%

Figura 53 – Videoquimografia digital da laringe 10 com sinéquia de 33%

Figura 54 – Videoquimografia digital da laringe 10 com sinéquia de 50%

Tabela 12 – Análise subjetiva da laringe 11

Laringe 11	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Assimetria	Simetria
25%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria

Figura 55 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 11

Figura 56 – Videoquimografia digital da laringe 11 com sinéquia de 25%

Figura 57 – Videoquimografia digital da laringe 11 com sinéquia de 33%

Figura 58 – Videoquimografia digital da laringe 11 com sinéquia de 50%

Tabela 13 – Análise subjetiva da laringe 13

Laringe 13	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
25%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria

Figura 59 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 13

Figura 60 – Videoquimografia digital da laringe 13 com sinéquia de 25%

Figura 61 – Videoquimografia digital da laringe 13 com sinéquia de 33%

Figura 62 – Videoquimografia digital da laringe 13 com sinéquia de 50%

Tabela 14 – Análise subjetiva da laringe 14

Laringe 14	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
25%	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria

Figura 63 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 14

Figura 64 – Videoquimografia digital da laringe 14 com sinéquia de 25%

Figura 65 – Videoquimografia digital da laringe 14 com sinéquia de 33%

Figura 66 – Videoquimografia digital da laringe 14 com sinéquia de 50%

Tabela 15 – Análise subjetiva da laringe 16

Laringe 16	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
25%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
33%	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria

Figura 67 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 16

Figura 68 – Videoquimografia digital da laringe 16 com sinéquia de 25%

Figura 69 – Videoquimografia digital da laringe 16 com sinéquia de 33%

Figura 70 – Videoquimografia digital da laringe 16 com sinéquia de 50%

Tabela 16 – Análise subjetiva da laringe 17

Laringe 17	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
25%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
33%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria

Figura 71 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 17

Figura 72 – Videoquimografia digital da laringe 17 com sinéquia de 25%

Figura 73 – Videoquimografia digital da laringe 17 com sinéquia de 33%

Figura 74 – Videoquimografia digital da laringe 17 com sinéquia de 50%

Tabela 17 – Análise subjetiva da laringe 18

Laringe 18	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Simetria	Simetria
25%	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Assimetria	Assimetria

Figura 75 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 18

Figura 76 – Videoquimografia digital da laringe 18 com sinéquia de 25%

Figura 77 – Videoquimografia digital da laringe 18 com sinéquia de 33%

Figura 78 – Videoquimografia digital da laringe 18 com sinéquia de 50%

Tabela 18 – Análise subjetiva da laringe 19

Laringe 19	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Incompleto	Simetria	Simetria
25%	Regular	Incompleto	Assimetria	Simetria
33%	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria
50%	Regular	Incompleto	Simetria	Assimetria

Figura 79 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 19

Figura 80 – Videoquimografia digital da laringe 19 com síncope de 25%

Figura 81 – Videoquimografia digital da laringe 19 com síncope de 33%

Figura 82 – Videoquimografia digital da laringe 19 com síncope de 50%

Tabela 19 – Análise subjetiva da laringe 20

Laringe 20	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
25%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
33%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria
50%	Regular	Incompleto	Assimetria	Assimetria

Figura 83 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 20

Figura 84 – Videoquimografia digital da laringe 20 com sinéquia de 25%

Figura 85 – Videoquimografia digital da laringe 20 com sinéquia de 33%

Figura 86 – Videoquimografia digital da laringe 20 com sinéquia de 50%

Tabela 20 – Análise subjetiva da laringe 21

Laringe 21	Periodicidade	Fechamento	Fase	Amplitude
Controle	Regular	Completo	Simetria	Simetria
25%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
33%	Regular	Completo	Simetria	Assimetria
50%	Regular	Completo	Simetria	Simetria

Figura 87 – Videoquimografia digital da situação controle da laringe 21

Figura 88 – Videoquimografia digital da laringe 21 com sinéquia de 25%

Figura 89 – Videoquimografia digital da laringe 21 com sinéquia de 33%

Figura 90 – Videoquimografia digital da laringe 21 com sinéquia de 50%

6 DISCUSSÃO

O primeiro objetivo deste estudo foi verificar se há diferença na frequência fundamental obtida com variadas extensões de sinéquia glótica anterior, e, no caso, foram padronizadas para o trabalho as extensões de $\frac{1}{4}$ (25%), $\frac{1}{3}$ (33%) e $\frac{1}{2}$ (50%) do comprimento das pregas vocais.

No presente estudo, foi realizada sutura na região anterior das pregas vocais para simular a sinéquia glótica anterior. Verificou-se que a frequência fundamental aumentou com diferença significativa após cada ampliação da extensão da sinéquia. Esse resultado sugere que a medida da extensão da sinéquia é relevante e pode interferir no resultado final da cirurgia em relação ao aumento da frequência fundamental da voz.

Os trabalhos que descrevem detalhadamente a técnica de glotoplastia de Wendler fazem a desepitelização do terço anterior das pregas vocais e confeccionam pontos com fio absorvível 3.0 em duas regiões: um fio passando pelo ligamento vocal, na transição do terço anterior com o terço médio, o outro, em região mais anterior ao primeiro (Gross, 1999; Remacle et al., 2011; Mastronikolis et al., 2013). Para a cirurgia experimental deste estudo, como não há a possibilidade de cicatrização após a desepitelização, apenas a sutura na região anterior das pregas vocais foi realizada.

Além da extensão de sinéquia glótica anterior descrita na maioria dos trabalhos que utilizam a técnica cirúrgica de Wendler, de $\frac{1}{3}$ (33%) do comprimento das pregas vocais, optamos por realizar o experimento também com 25% e com 50% do comprimento da prega vocal, para verificar se há diferença em relação à mudança de frequência fundamental. Devido ao pequeno tamanho das pregas vocais, extensões variadas e muito próximas entre si dificultam tecnicamente o experimento com essa metodologia. Por isso, foram propostas essas três extensões diferentes.

O maior fechamento foi preconizado em 50% das pregas vocais, pois acreditamos que redução maior da área glótica poderá ocasionar dispneia aos pacientes quando o procedimento for realizado *in vivo*.

Os resultados obtidos mostraram que houve aumento médio significativo da frequência fundamental em valores absolutos em hertz com o aumento da extensão da sinéquia glótica. As médias dos grupos controle, extensão da sinéquia de 25%, 33% e 50% foram de 208,87 Hz, 250,20 Hz, 292,37 Hz e 342,67 Hz, respectivamente. Além disso, a comparação estatística dos valores entre cada um dos grupos evidenciou que houve diferença significativa nesses achados.

Estudou-se também a variação da frequência fundamental em semitons, pois se sabe que a percepção auditiva da mudança de frequência dos sons para os humanos em hertz segue um padrão não linear. O ouvido humano é capaz de perceber mudanças de frequência de forma diferente para tons graves e tons agudos (Stevens et al., 1937; Stevens; Volkman, 1940). A maioria das pessoas percebe mais facilmente alterações em frequências mais graves. E a escala de semitons descreve a variação de frequência dos sons refletindo essa relação não linear (Isshiki et al., 1999; Baken; Orlikoff, 2000). Dessa forma, alterações de frequência fundamental em hertz podem não refletir, em alguns casos, mudanças significativas em semitons, não tendo, assim, significado clínico.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram aumento médio significativo da frequência fundamental também em semitons. Os valores em relação ao grupo controle foram de aumento de três semitons, quando a sinéquia realizada foi de 25% do comprimento das pregas vocais, 5,62 semitons no grupo da sinéquia de 33% e 8,15 semitons no grupo de 50%. A comparação entre todos os grupos também mostrou diferença significativa, mostrando a relevância da extensão da sinéquia realizada em relação ao aumento da frequência fundamental obtido, tanto em valores absolutos em hertz quanto em valores relativos (em relação ao controle) em semitons.

O aumento da frequência fundamental com a diminuição do comprimento das pregas vocais corroborou os achados publicados por outros autores (Donald, 1982; Isshiki, 1989; Wendler, 1990; Gross, 1999; Remacle et al., 2011; Mastronikolis et al., 2013).

Há centenas de anos, estudam-se os fatores que causam a elevação do “pitch” vocal. Autores como Ferrein e Elsberg, verificaram mudanças na frequência fundamental com alterações de tensão, comprimento, largura e formato das pregas vocais (van den Berg; Tan, 1959). A maneira que a laringe comporta-se para variar a frequência fundamental durante a fala e o canto continua sendo estudada, e diferentes qualidades vocais, registros, faixas de extensão e intensidade da voz possivelmente tornam difícil a elaboração de um modelo que explique detalhadamente essa complexa ação (Hollien, 2014).

Atualmente, entende-se que os principais fatores que afetam a frequência de vibração das pregas vocais são a tensão (rigidez ou elasticidade), a massa (espessura) e o comprimento (Mills, 1883; Isshiki, 1989; Isshiki et al., 1999). Pregas vocais mais

tensas, mais finas e mais curtas produzem “pitch” mais alto. A perda de elasticidade que ocorre pela idade parece levar a aumento de “pitch” vocal, possivelmente pelo aumento da tensão das pregas vocais (Woodson, 2010). O aumento de tensão também pode ocorrer por ação muscular, seja ativamente pela contração do músculo tireoaritenóideo, seja passivamente pela contração do músculo cricotireóideo (Alipour et al., 2013). O tom vocal também pode ser levemente elevado apenas com o aumento da pressão subglótica, sem modificar as condições das pregas vocais, já que com a maior velocidade do fluxo de ar, a glote abre e fecha mais rapidamente (Isshiki et al., 1999).

Diversos procedimentos cirúrgicos para elevação do “pitch” vocal foram descritos à luz desses princípios de aumento fisiológico da frequência fundamental.

Considerando a quantidade de publicações na literatura médica sobre o tema, a tireoplastia tipo IV de Isshiki é um dos métodos mais utilizados para se elevar a frequência fundamental da voz. O procedimento consiste na aproximação cricotireóidea, que simula a contração do músculo cricotireóideo por meio de suturas que aproximam as cartilagens cricoide e tireoide. Porém, como o próprio autor dessa técnica constatou, a tensão das pregas vocais obtida após a cirurgia pode diminuir ao longo do tempo, provavelmente pelo afrouxamento dos nós de sutura continuamente sob forte tensão (Isshiki et al., 1974; Isshiki, 2000). Essa redução na tensão pode comprometer os resultados duradouros em relação ao “pitch” vocal. Entretanto, essa é uma questão ainda controversa na literatura (Lee et al., 1986; Gross, 1999; Yang et al., 2002; Wagner et al., 2003; Koçak et al., 2010; Gibbins et al. 2011; Remacle et al., 2011; Mastronikolis et al., 2013).

Várias outras técnicas cirúrgicas são descritas para se obter aumento na frequência vocal, mas não existe ainda consenso sobre o procedimento com melhores resultados. Isshiki et al. também descreveram a expansão anteroposterior da lâmina tireoideia, que aumenta o “pitch” vocal pelo aumento da tensão nas pregas vocais (Isshiki et al., 1974, 1999). Podem ser realizadas técnicas baseadas em incisões longitudinais em pregas vocais (escarificações) e vaporizações com uso de laser, como a LAVA e a LRG (Orloff et al., 2006; Koçak et al., 2010), técnicas com injeções intracordais de corticosteroides (Isshiki et al., 1999; Yang et al., 2002), técnicas com avanço de comissura anterior por cervicotomia (LeJeune, 1983; Tucker, 1985) e técnicas com deslocamento superior da comissura anterior (Chung et al., 2007).

Os procedimentos externos, como as tireoplastias de Isshiki e o avanço de comissura anterior, têm a desvantagem da necessidade de cicatriz cervical externa e o possível aumento da proeminência tireoideia, que é uma característica masculina, incompatível com o objetivo de feminizar a voz. Em relação aos procedimentos que alteram a massa das pregas vocais, como escarificações, vaporizações com uso de laser e injeções intracordais de corticosteroides, há risco de disfonia devido à rigidez e de efeitos não desejados, como a diminuição do “pitch” vocal (Gross, 1999; Wagner et al., 2003; Neumann; Welzel, 2004; Remacle et al., 2011).

Uma vantagem da técnica de glotoplastia com realização de sinéquia anterior é a ausência de cicatriz cervical, e as séries de trabalhos têm mostrado resultados satisfatórios, além de permanentes (Gross, 1999; Neumann; Welzel, 2004; Remacle et al., 2011; Mastronikolis et al., 2013).

Apesar de trabalhos recentes sugerirem o uso de laser para realização da cirurgia, a técnica pode ser efetuada com microinstrumentos frios, possivelmente sem mudança em relação ao resultado. Como discutido anteriormente, consideramos que um dos pontos mais importantes em relação ao resultado pós-operatório seja a extensão da sinéquia anterior, já que a elevação da frequência fundamental depende disso. Acreditamos que o padrão vibratório também tenha relação com a extensão da sinéquia e assim, consequentemente, o grau de disfonia.

Corroborando os achados deste trabalho, já foi demonstrado na literatura o aumento da frequência fundamental com a realização de procedimentos cirúrgicos com sinéquia glótica anterior *in vivo* (Gross, 1999; Remacle et al., 2011; Mastronikolis et al., 2013). Esses estudos, no entanto, padronizam a extensão da sinéquia em $\frac{1}{3}$ (33%) das pregas vocais, e somente essa região é desepitelizada e aproximada durante a cirurgia (Remacle et al., 2011; Mastronikolis et al., 2013). Gross (1999) descreve a desepitelização e a sutura da região anterior, sem especificar a extensão da sinéquia no estudo. Faltam ainda análises de alterações de frequência fundamental com outras extensões de sinéquia. Continua, assim, sem comprovação se a diferença encontrada neste estudo em relação às extensões de sinéquia anterior mantém-se *in vivo*, já que não foi encontrado trabalho na literatura que proponha tamanhos diferentes nessa medida.

Foi também avaliada nesse estudo a existência de correlação entre as frequências fundamentais anterior e posteriores aos procedimentos experimentais com as variadas extensões de sinéquia glótica. Com a correlação encontrada, que foi estatisticamente

significativa, foi possível elaborar modelos de regressão para estimar a frequência fundamental após cada um dos procedimentos com sinéguas de 25%, 33% e 50% de extensão, com coeficiente de determinação (r^2) de 74,63%, 56,10% e 27,83%, respectivamente. Assim, por exemplo, para o procedimento feito com realização de sinéguia glótica anterior com 25% da extensão das pregas vocais, a frequência fundamental anterior aos procedimentos explica 74,63% das frequências fundamentais encontradas após o procedimento no estudo. É relevante ressaltar que essa não é uma análise de causa e efeito. Tal análise significa que as frequências anterior e posteriores aos procedimentos estão relacionadas.

Esses valores decrescentes de r^2 sugerem que quanto maior a extensão da sinéguia glótica, menos previsível é a frequência fundamental após o procedimento. Apesar de o valor do r^2 para a extensão de sinéguia de 50% ser menor que o valor dos outros grupos, o coeficiente de correlação linear (r) foi significativo em todos eles, mostrando que essas equações de regressão podem ser modelos aceitáveis para a relação estudada.

Uma explicação para o valor de r^2 ser menor para as extensões de sinéguia maiores estudadas pode ser a influência de variáveis ocultas. Um dos pontos que pode mudar em relação aos diferentes grupos é a pressão subglótica. O aumento de resistência glótica causado pela diminuição do comprimento das pregas vocais e conseqüentemente da área glótica pode levar ao aumento da pressão subglótica, já que o fluxo de ar subglótico foi mantido.

A relação entre fluxo de ar, resistência glótica e pressão subglótica é complexa e ainda desconhecida em certas questões comparativas. Estudos tentam elaborar modelos matemáticos para essa relação e mostram que ela pode ou não ser linear (Alipour et al., 1997). Os achados do presente estudo podem corroborar citações de Alipour et al. (1997) em relação ao aumento da frequência fundamental com o aumento da adução glótica, quando o fluxo é constante. Os autores estudaram laringes caninas excisadas em diferentes graus de adução das pregas vocais. Quando a pressão subglótica foi constante, o fluxo de ar diminuiu com o aumento da resistência glótica (aumento da adução). Quando o fluxo foi conservado sem alteração, houve aumento da pressão subglótica com o aumento da resistência glótica. No presente estudo, a diminuição da área glótica pela formação da sinéguia anterior pode corresponder ao aumento de resistência como a adução glótica estudada no trabalho de Alipour et al. (1997).

Vários trabalhos simulam a produção da voz e determinam pressão média subglótica constante ou fluxo constante. Howe e McGowan (2013), considerando que a caixa torácica contrai mais ou menos numa taxa fixa, sugerem que não é necessário assumir que a pressão deve ser constante, como no trabalho anterior dos próprios autores. Uma condição mais natural e prática seria especificar o fluxo de saída dos pulmões, já que a produção vocal inicia-se pela contração da caixa torácica até que a pressão subglótica atinja um valor crítico capaz de iniciar a fonação. No presente estudo, optou-se por manter o fluxo de ar em valor fixo, seguindo as premissas aqui discutidas.

Os modelos deste estudo sugerem que, no caso de a frequência fundamental inicial ser 100 Hz, fazendo-se uma sinéquia glótica anterior que envolva 25% do comprimento das pregas vocais, a frequência fundamental esperada após o procedimento será em torno de 129 Hz (F_0 esperada = $20,47 + 1,09 \times F_0$ pré-procedimento). Se a extensão da sinéquia for de 33% das pregas vocais, espera-se que a frequência fundamental aumente para cerca de 171 Hz (F_0 esperada = $69,21 + 1,02 \times F_0$ pré-procedimento). E se a sinéquia ocupar 50% da extensão das pregas vocais, a frequência fundamental após o procedimento deve ser em torno de 215 Hz (F_0 esperada = $111,59 + 1,03 \times F_0$ pré-procedimento).

Na prática clínica, é importante saber a média de elevação da frequência fundamental de acordo com a extensão da sinéquia anterior após o procedimento cirúrgico, pois sabe-se que alguns pacientes necessitam de variação menor ou maior que outros. Ainda, uma extensão maior que a necessária pode levar a aumento indesejado de frequência fundamental, causando distúrbios da fala, com consequências na qualidade de vida do paciente e com possíveis alterações psicológicas. Além disso, se a sinéquia glótica realizada for grande, o paciente poderá ter comprometimento da via aérea.

Considerando as amostras da Tabela 21, que utiliza os modelos encontrados neste estudo, a realização de glotoplastia com extensão de sinéquia anterior no padrão de 33% do comprimento da glote pode não ser ideal quando a frequência fundamental inicial for de 150 Hz, por exemplo. Talvez a confecção de uma sinéquia um pouco menor seja melhor nesses casos. Por outro lado, se a frequência fundamental inicial for de 120 Hz, pode ser que uma sinéquia pequena ainda não seja satisfatória para elevar a frequência fundamental a um padrão desejado.

Tabela 21 – Exemplos de elevação esperada da frequência fundamental (F_0) em hertz, considerando os modelos elaborados neste estudo com as diferentes extensões de sinéquia glótica anterior, de 25%, 33% e 50% do comprimento da prega vocal

F_0 pré (Hz)	F_0 esperada (Hz)		
	25%	33%	50%
100	129	171	215
120	151	192	235
130	162	202	245
150	184	222	266

Evidentemente, uma das principais limitações deste estudo é a sua validade externa, já que foram usadas laringes humanas excisadas. Em estudos com laringes excisadas, não há influência da musculatura extrínseca da laringe, das estruturas supraglóticas e dos órgãos de ressonância. Além disso, não é possível mimetizar a ação do músculo tireoaritenóideo (van den Berg; Tan, 1959; Tanaka; Tanabe, 1986). Apesar de os dados desta pesquisa não serem referentes a estudo *in vivo*, podem ser referência inicial para o prognóstico do resultado cirúrgico, embora necessitem de melhor comprovação com maior casuística e na prática clínica.

Estudos propõem que a contração do músculo tireoaritenóideo pode tanto aumentar como diminuir a frequência fundamental, dependendo da participação do corpo na vibração da prega vocal. Conforme a teoria do complexo corpo-cobertura de Hirano (1974), o epitélio e a camada superficial da lâmina própria compõem a cobertura, que propaga a onda mucosa sobre o corpo, composto pelo músculo vocal (parte medial do músculo tireoaritenóideo) e o ligamento vocal (Sataloff et al. 2007). Se a amplitude da onda for suficiente para o corpo participar da vibração, a contração do músculo vocal aumentará a tensão e consequentemente também o “pitch”. Se a amplitude do movimento for pequena, a cobertura estará muito tensa, e a contração do músculo vocal reduzirá essa tensão e ocasionará diminuição do “pitch” (Titze et al., 1989).

Por outro lado, estudos experimentais têm algumas vantagens que incluem, por exemplo, a possibilidade de controlar a documentação de maneira detalhada e fixa por longo período, a visualização da vibração das pregas vocais de forma direta e em várias

direções (van den Berg; Tan, 1959), a exclusão de fenômenos fisiológicos compensatórios e o controle individual de alguns fatores que não podem ser guiados *in vivo* e que podem levar a falsas conclusões sobre uma observação específica. A função vocal é sensível e vulnerável a alterações orgânicas e funcionais da laringe (Woodson, 2010), e o melhor entendimento da produção da voz continua a evoluir (Seikel et al., 2010).

Estudos experimentais com laringes excisadas foram essenciais para a descoberta de vários fatores da produção da voz. Os primeiros relatos de estudos com laringes excisadas datam do século XV, com Leonardo da Vinci (Cooper, 1986), e, posteriormente, Denis Dodart, Antoine Ferrein, Johannes Müller e Hermann von Helmholtz descrevem que a produção do som origina-se na laringe e necessita do fluxo de ar exalado dos pulmões passando pelas pregas vocais e provocando a sua vibração. Esses autores e conceitos possibilitaram o início dos estudos com laringes excisadas (van den Berg, 1958; van den Berg; Tan, 1959; van den Berg, 1968).

O artigo sobre o estudo experimental em laringes humanas excisadas publicado por van den Berg e Tan (1959) foi um dos primeiros trabalhos para a padronização desse tipo de investigação. Por meio de um fluxo controlado de ar aquecido e umidificado, esses autores estudaram a vibração das pregas vocais e descreveram o experimento. Esse modelo mimetiza as etapas de exalação e fonação, tornando possível a produção do som glótico, evidentemente sem as etapas de ressonância e articulação, que modulam esse som em fala (Isshiki et al., 1999).

Mesmo sem os comandos neurais, é possível produzir o som glótico após a adução das pregas vocais e a colocação do fluxo de ar contínuo na traqueia, gerando pressão subglótica e permitindo a vibração das pregas vocais pela ação alternada dessa força de abertura e da força de fechamento, originada pela elasticidade da prega vocal e pelo efeito de Bernoulli (Noordzij; Ossoff, 2006; Seikel et al., 2010).

Nosso método experimental usou laringes humanas excisadas e seguiu as orientações de Tsuji (1997 e 2003). Apesar de alguns autores usarem laringes excisadas de animais, Alipour et al. (2013) estudaram padrões vibratórios de laringes de humanos, cães, porcos, ovelhas e vacas e verificaram diferenças, que, além de anatômicas, podem também ser atribuídas à composição molecular e à rigidez características das pregas vocais de cada espécie.

O presente estudo diferenciou-se do de van den Berg e Tan pelo método de fixação das aritenoides. Esses autores fixavam as aritenoides à barra vertical de apoio da laringe de modo separado, com um fio em cada lado. Além disso, dissecavam o músculo interaritenóideo, colocando um pedaço de algodão úmido no local. Como os próprios autores propuseram no artigo de 1959, passamos um só fio pelas duas aritenoides para a adução da glote, sem fixá-las à barra de apoio. Desse modo, achamos que esse método experimental assemelha-se mais à fisiologia *in vivo*. Sabe-se, entretanto, que em certas ocasiões durante a fala, uma fenda posterior entre os processos vocais pode ser observada (Palmer et al., 2012).

Como nos trabalhos de van den Berg e Tan (1959) e Jiang (1999), preocupou-se no presente estudo em promover a hidratação das laringes, bem como manter o aquecimento e a umidificação do ar. Isso foi mantido de forma padronizada durante todos os testes, em todas as laringes. As laringes frescas, com menos de doze horas da retirada do cadáver, eram submersas em solução salina a 0,9%. O fluxo de ar de entrada no sistema passava por um recipiente com solução fisiológica a 0,9% aquecida entre 36°C e 39°C antes de entrar na laringe.

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, fluxo de ar alto pode dificultar a obtenção de “pitch” vocal mais baixo. Assim, neste estudo, o fluxo de ar foi mantido na faixa de 5 L/min a 10 L/min, valor suficiente para haver vibração das pregas vocais e não tão alto para não influenciar fortemente o “pitch” vocal, dificultando a análise dos outros fatores que podem alterar a frequência fundamental.

O fluxo de ar do sistema não foi mantido idêntico para todas as laringes, pois se verificou em estudo-piloto que diferentes laringes vibraram idealmente com diferentes fluxos. Quando mantivemos o fluxo mais alto, a vibração das pregas vocais não ocorria de forma adequada em várias laringes e, mesmo com a fixação das estruturas, poderiam ocorrer pequenos deslocamentos longitudinais da laringe e alterações da adução das pregas vocais. Mesmo com os processos vocais fixados em adução com o fio de sutura passando por eles, o grande aumento da pressão subglótica provocado pelo aumento do fluxo de ar do sistema poderia levar a pequenos deslocamentos e até mesmo a pequena abertura da região posterior da glote. Assim, foi mantido o fluxo de saída do sistema de ar comprimido da parede para todos os experimentos em cada laringe. Porém, a

intensidade era selecionada no início do experimento com o controle, escolhendo a menor intensidade que atingisse vibração adequada.

Outro motivo para optarmos por não usar o fluxo de 15 L/min como usado em outros trabalhos com laringes excisadas (Figueiredo, 2001; Bohadana, 2002; Chung et al., 2007) foi a possibilidade de esse fluxo tornar a frequência fundamental de todas as laringes mais alta.

A impossibilidade de realizar esse tipo de estudo apresentado em pacientes torna o uso desse método experimental de grande vantagem. Nos casos *in vivo*, não se pode estudar vários procedimentos em um mesmo paciente, padronizando todos os fatores dessa forma. Também não seria adequado propor aos pacientes a realização de extensões de sinéquia menores ou maiores para avaliar os resultados, sem que antes se saiba o que pode ser esperado. Assim, são necessárias avaliações futuras *in vivo*, mas o presente estudo pôde iniciar essas análises em relação a esse ponto da fisiologia laríngea.

Outro fator de difícil padronização *in vivo* é a realização de medidas precisas dos comprimentos da prega vocal e da sinéquia. Durante o procedimento cirúrgico, alguns pacientes apresentam exposição glótica ruim, e a cânula de intubação endotraqueal prejudica a visualização completa da glote. Assim, a própria medida da extensão da sinéquia de $\frac{1}{3}$ do comprimento das pregas vocais referida na literatura pode variar um pouco, já que essa padronização é difícil *in vivo*. Considerando a diferença encontrada neste trabalho entre as distintas extensões de sinéquia, seria interessante a confirmação dessas medidas nos estudos em pacientes, após a cicatrização da glote, durante os exames de videolaringoscopia.

O comprimento das pregas vocais das laringes masculinas usadas neste estudo variou de 15mm a 22mm. Como a medida é pequena, a diferença de extensão entre sinéquias com 25% e 33% do comprimento da glote pode ser de apenas 1,25mm, por exemplo para pregas vocais de 15mm de comprimento. E isso é difícil de controlar durante os procedimentos cirúrgicos *in vivo*. Isso pode justificar a variação de resultados descritos nos estudos publicados na literatura. Apesar de os trabalhos com a técnica de glotoplastia de Wendler e suas modificações considerarem a extensão da sinéquia de $\frac{1}{3}$ das pregas vocais, não é possível ter certeza que, após a cicatrização completa, a sinéquia formada tenha exatamente esse tamanho.

A Tabela 22 compara os resultados dos estudos com a técnica de Wendler. Foram usados os dados do presente trabalho correspondentes à sinéquia com extensão de $\frac{1}{3}$ das pregas vocais, pois esse foi o padrão relatado nos outros trabalhos, segundo a técnica descrita por Wendler, com pequenas modificações (Gross, 1999; Remacle et al. 2011; Mastronikolis et al., 2013). Os resultados encontrados neste estudo seguem o mesmo padrão publicado na literatura.

Tabela 22 – Comparação entre os resultados de alteração da frequência fundamental (F_0) de estudos com formação de sinéquia glótica anterior

Autores, ano	N	Aumento da F_0		Variação média da F_0
		Semitons	Hz	
Gross, 1999	10	9,2	84,1*	116,9 Hz (IC95 = 110,2-123,6) para 201 Hz (IC95 = 179,8-222,2)*
Remacle et al., 2011	15	-	44	150 Hz (IC95 = 118-182) para 194 Hz (IC95 = 146-242)
Mastronikolis et al., 2013	31	-	70,5*	135,8 Hz (IC95 = 120,6-151) para 206,3 Hz (IC95 = 190,2-222,4)*
Presente estudo (sinéquia de $\frac{1}{3}$)	16	5,62	83,5	208,9 Hz (IC95 = 178,9-238,9) para 292,4 Hz (IC95 = 242,6-342,2)

* Dados estatísticos calculados com base nos valores apresentados pelos autores; N, tamanho da amostra; IC95, intervalo de confiança de 95%

A média de frequência fundamental em laringes de cadáveres masculinos no presente estudo foi de 208,87 Hz $\pm$ 56,32 Hz (IC 95%: 178,85 - 238,88). Neste estudo, os valores de frequência fundamental observados no grupo controle são maiores que o esperado em homens, segundo dados da literatura.

Estudos com indivíduos masculinos que falam o português brasileiro evidenciaram frequência fundamental média de 113,01 Hz (Behlau et al., 1985), 120 Hz (Naufel de Felipe et al., 2006) e 127,61 Hz (Araujo et al., 2002) para a emissão da vogal /a/ e 132,45 Hz para o fonema /e/ (Araujo et al., 2002). Durante a leitura oral, Pegoraro-Krook e Castro (1994) encontraram frequência fundamental de 134,9 $\pm$ 17,9 Hz.

Em mulheres, a frequência fundamental encontrada é mais elevada, com médias variando em torno de 204,91 Hz a 215,42 Hz (Behlau et al., 1985; Araujo et al., 2002; Naufel de Felipe et al., 2006).

O menor valor médio de frequência fundamental percebido como pertencente a uma pessoa do gênero feminino varia em torno de 155 Hz (Wolfe et al., 1990). Wolfe et al. estudaram transexuais masculinos para femininos e encontraram média de frequência fundamental do grupo identificado como feminino de 172 Hz (156 a 195 Hz). Gelfer e Schofield (2000) encontraram média de frequência fundamental de 187 Hz (164 a 199 Hz) no grupo identificado como feminino. Esses dados sugerem que uma pessoa pode ter a voz identificada como feminina sem, no entanto, alcançar frequência fundamental na extensão da maioria das mulheres. Por outro lado, o fato de um indivíduo ter frequência fundamental acima de 156-160 Hz não é suficiente para ser identificado como do sexo feminino (Gelfer; Schofield, 2000).

Comparando com outros estudos que utilizaram laringes excisadas de cadáveres, a média de frequência fundamental observada em nossa amostra foi maior. Como a metodologia para a produção do som glótico foi semelhante, uma das possíveis explicações para esse fato relaciona-se ao tamanho das pregas vocais. Em estudo de Bohadana (2002), a média observada de frequência fundamental e do comprimento das pregas vocais foi de 161,50 Hz e 21,38mm para laringes masculinas e de 231,29 Hz e 14,07mm para laringes femininas. A média geral do grupo de trinta laringes foi de 194,07 Hz, com comprimento médio de 17,97mm. Em estudo de Chung et al. (2007), observou-se frequência fundamental com média de 133 Hz no grupo masculino, com 20,49mm de comprimento médio das pregas vocais. No grupo feminino, com comprimento médio de 13,27mm, a média de frequência fundamental foi de 170,20 Hz. Considerando o total de vinte pacientes do estudo, a média de frequência fundamental foi de 151,60 Hz, com comprimento médio de 16,88mm.

No presente estudo, foram usadas dezesseis laringes masculinas e o tamanho médio das pregas vocais foi de 17,06mm. Essa média é menor que as encontradas nos estudos citados anteriormente para laringes masculinas. Além disso, nessa amostra, a distribuição tende para os menores tamanhos. Dez das dezesseis laringes tinham pregas vocais com medidas entre 15mm e 16,5mm. Como pregas vocais mais curtas produzem “pitch” mais alto (Isshiki, 1989; Isshiki et al., 1999), esse fator pode ter contribuído para a média de frequência fundamental dessa amostra (208,87 Hz) ser mais alta que a

observada em outros estudos com laringes humanas excisadas. Esse valor encontrado é compatível com a média geral (masculina e feminina) da amostra de Bohadana (2002), cuja média de comprimento foi de 17,97mm, e a frequência fundamental média, de 194, 07 Hz.

Neste estudo, optamos pelo uso da filmagem de alta velocidade para a visualização e avaliação da vibração das pregas vocais, por meio da videolaringoscopia de alta velocidade associada a videoquimografia digital de alta velocidade. A vantagem desse método é a possibilidade do registro dos ciclos vibratórios inteiros e reais com a imagem completa das pregas vocais. Assim, não se trata de uma composição de imagens, e mesmo as vibrações aperiódicas podem ser avaliadas, diferentemente da estroboscopia (Deliyski et al., 2008). Além disso, pode-se escolher qual o trecho da gravação e qual linha do eixo glótico se quer analisar (Kendall, 2012; Woo, 2014).

Como a vibração glótica ocorre em alta velocidade, normalmente a mais de 100 ciclos por segundo, a visão humana não é capaz de observar todo esse fenômeno de forma completa. A retina humana permanece com a imagem exposta por cerca de 200 ms e, conseqüentemente, a visão não processa mais que cinco imagens diferentes sucessivas por segundo (Woo, 2010). Para a observação da vibração das pregas vocais, com movimentos de abertura e fechamento ocorrendo de forma muito rápida, são necessários métodos que possibilitem essa visualização.

A estroboscopia possibilita uma composição de imagens em fases sequenciais de vários ciclos da vibração glótica, dando a impressão de se visualizar o movimento em câmera lenta. Esse método, usado pela primeira vez para avaliação da laringe no final do século XIX, foi um grande avanço para o estudo da vibração glótica, ocorrendo cerca de quatro décadas após os primeiros relatos de visualização do movimento das pregas vocais *in vivo* (Clerf, 1956). Porém, as limitações do método – impossibilidade de avaliar vibrações aperiódicas e composição de imagens em vez de ciclos reais – levaram à necessidade de desenvolver outras formas de avaliação da laringe, para possibilitar a análise adequada dos detalhes de cada ciclo vibratório.

O início do estudo da vibração das pregas vocais por câmeras de alta velocidade ocorreu em 1940, por Farnsworth. Mas somente na década de 1990 esses sistemas foram comercializados. Devido ao alto custo dos aparelhos e ao tempo prolongado para se analisar as imagens, esse método ainda não é amplamente utilizado na prática clínica.

Apesar disso, trata-se do método mais completo de análise e foi considerado o ideal para este estudo experimental.

A quimografia, utilizada para o estudo das pregas vocais desde a década de 1970, é um método usado em vários trabalhos. Existem diversas técnicas, como a fotoquimografia, a videoquimografia, a videoquimografia de alta velocidade (Lohscheller et al., 2013). A imagem quimográfica é uma composição de diversas imagens de uma determinada linha selecionada do eixo da glote durante certo tempo. Assim, o movimento de vibração de somente uma região das pregas vocais é observado (Švec; Schutte, 1996).

Os equipamentos de videolaringoscopia com câmeras de alta velocidade mais modernos podem registrar mais de 4.000 imagens por segundo (Pinheiro, 2014; Woo, 2014), e possibilitam a análise das gravações por videoquimografia digital, curvas acústicas, eletroglotografia e quantificação de quocientes de abertura. Com esse sistema, é possível analisar qualquer região do eixo glótico pela quimografia, diferentemente da videoquimografia convencional (Kendall, 2012; Woo, 2014).

Assim, por tratar-se do método mais completo disponível atualmente, que possibilita a avaliação de todos os tipos de vibração glótica (aperiódicas inclusive), com análise quimográfica de qualquer região da glote e imagens reais e completas de vários ciclos glóticos inteiros sucessivos, a videolaringoscopia com câmeras de alta velocidade foi usada neste estudo, possibilitando avaliar com precisão todas as fases de cada um dos ciclos vibratórios e a frequência de vibração glótica.

Optou-se pela análise subjetiva dos padrões de vibração das pregas vocais, pois ainda são necessários mais estudos sobre os dados quantitativos que podem ser analisados pelos exames de videoendoscopia de alta velocidade e pela videoquimografia digital. Alguns autores sugeriram parâmetros como assimetria de amplitude de vibração e os quocientes de abertura e de velocidade, porém faltam estudos para normatizar os valores em indivíduos com voz normal (Lohscheller et al., 2013). Estudos que avaliam as curvas da área glótica obtidas por segmentação após a videoendoscopia de alta velocidade também estão sendo realizados para padronizar uma análise mais objetiva. Porém, indivíduos normais podem ter grande variância nas medidas, podem existir diferenças estatísticas significativas entre os gêneros, e esses padrões podem ter alterações com mudanças de intensidade e frequência (Woo, 2014).

Sabe-se também que podem existir variações nos quocientes de abertura e de velocidade e na amplitude de vibração de acordo com a idade. Geralmente os idosos apresentam maiores parâmetros de assimetria, que podem estar relacionados à degeneração da lâmina própria e da musculatura e à assimetria do arcabouço laríngeo que ocorrem com o envelhecimento (Yamauchi et al., 2015). Como os limites de idade usados neste estudo foram extensos, a comparação interna é prejudicada.

Assim, foi realizada descrição subjetiva dos parâmetros relacionados à videoquimografia digital, comparando-se as laringes após os procedimentos de simulação de sínquia somente com o próprio controle delas.

Nenhuma laringe apresentou aperiodicidade ou alteração intensa no padrão de vibração das pregas vocais durante os procedimentos. Como apresentado por Kendall (2012), estudos baseados em imagens de videolaringoscopia de alta velocidade em indivíduos normais sugerem que a regularidade de vibração é consistente com a produção de uma voz limpa, e uma voz limpa pode ser produzida por diferentes padrões de vibração glótica.

Verificou-se frequente assimetria de fase de vibração na análise subjetiva do presente estudo. Porém, não houve um padrão para tal mudança, observando-se tanto a manutenção de assimetria nos quatro experimentos na mesma laringe quanto mudança de simetria para assimetria e *vice-versa*. A assimetria de fase de vibração entre as pregas vocais direita e esquerda pode ser observada tanto em indivíduos com voz normal quanto com disfonia, e vários fatores podem influenciar isso, como a pressão subglótica, a frequência fundamental, a massa e a rigidez da prega vocal (Mehta et al., 2011).

Em relação à simetria de amplitude de vibração, também não se observou um padrão no presente trabalho. Estudos com indivíduos com voz normal também evidenciam assimetria de amplitude em análise de videoquimografias digitais (Chen et al., 2014; Yamauchi et al., 2015).

Pode ocorrer assimetria de tensão entre as pregas vocais após os pontos realizados neste trabalho. Segundo estudos experimentais de Isshiki et al. (1977) com laringes excisadas de cães e humanos, a assimetria de tensão nas pregas vocais pode resultar em diversos padrões de vibração, dependendo da área glótica inicial (Ag_0). Quando a Ag_0 é zero (fechamento glótico completo) ou próxima disso, as pregas vocais assimetricamente tensas podem ter a mesma frequência de vibração, mas com assimetria de fase, com a mais tensa antecedendo a mais frouxa. Quando a Ag_0 é maior, a vibração

pode não ser periódica, e o fechamento glótico pode ser irregular. Nesses casos, Isshiki et al. (1977) observaram que o fechamento glótico pode ser incompleto, e a vibração ser periódica e com amplitude diminuída. A assimetria de tensão pode ser uma explicação para os diferentes padrões de vibração observados no presente estudo.

Portanto, como há variações em relação a simetria de fase e amplitude de vibração da glote em indivíduos normais, a interpretação desses resultados torna-se difícil. Também faltam estudos com maior número de indivíduos que examinem diferentes frequências e intensidades de som (Chen et al., 2014). Além disso, os estudos *in vivo* relacionados à confecção de sinéquia glótica anterior não avaliam tais parâmetros para possibilitar comparação.

Além de avaliações *in vivo*, estudos futuros podem incluir comparações das análises acústicas e das imagens de vibração.

7 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo mostraram aumento significativo e progressivo da frequência fundamental a cada ampliação de sinéquia glótica anterior, tanto em valores absolutos em hertz quanto em elevação em semitons. Isso sugere que a extensão da sinéquia é relevante e determinante para a elevação de frequência fundamental desejada após os procedimentos.

Os modelos de regressão para estimar a frequência fundamental após cada experimento com base na frequência da situação controle mostraram melhores coeficientes de determinação para as sinéquias menores, sugerindo que, quanto maior a sinéquia, menos previsível é a frequência fundamental.

As análises subjetivas do estudo não mostraram vibrações aperiódicas em nenhuma etapa, e não foi possível identificar padrão de mudança nos parâmetros subjetivos em relação ao fechamento glótico e às simetrias de fase e de amplitude.

Anexo – Tamanho das pregas vocais e frequências fundamentais (F_0) em hertz e semitons das laringes deste estudo

Laringe	Tamanho PV	F_0 controle	F_0 25%	F_0 33%	F_0 50%	St 25%	St 33%	St 50%
1	15	184.07	182.70	308.17	410.00	-0.13	8.92	13.86
4	19	363.81	426.92	444.60	501.15	2.77	3.47	5.54
6	22	143.00	210.43	233.75	304.08	6.69	8.51	13.06
7	16	202.46	214.37	229.21	285.03	0.99	2.15	5.92
8	15	200.00	203.58	220.08	291.86	0.31	1.66	6.54
9	15	220.85	280.99	345.55	223.48	4.17	7.75	0.20
10	19	219.02	276.49	280.68	327.71	4.03	4.29	6.98
11	16	220.55	241.87	261.13	265.98	1.60	2.92	3.24
13	19	212.26	273.21	339.55	485.27	4.37	8.13	14.32
14	17	202.18	251.11	331.20	368.38	3.75	8.54	10.39
16	16	174.17	216.08	242.50	280.35	3.73	5.73	8.24
17	16.5	131.67	169.84	193.14	228.76	4.41	6.63	9.56
18	15	271.34	400.85	518.52	629.86	6.76	11.21	14.58
19	15.5	235.78	303.25	348.14	463.61	4.36	6.75	11.71
20	21	132.14	156.08	185.66	208.98	2.88	5.89	7.93
21	16	228.57	195.45	196.10	208.28	-2.71	-2.65	-1.61

PV: pregas vocais; F_0 : frequência fundamental; St: semitons em relação a situação controle

9 REFERÊNCIAS¹

¹ De acordo com:

Adaptado de *International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver)*.

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely C. Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

- Alipour F, Finnegan EM, Jaiswal S. Phonatory Characteristics of the Excised Human Larynx in Comparison to Other Species. *J Voice*. 2013;27(4):441-7.
- Alipour F, Scherer RC, Finnegan E. Pressure-flow Relationships During Phonation as a Function of Adduction. *J Voice*. 1997;11(2):187-94.
- Araujo SA, Grellet M, Pereira JC, Rosa MO. Standardization of acoustic measures of the normal voice. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2002;68(4):540-4.
- Baken RJ, Orlikoff RF. *Clinical Measurement of Speech and Voice*. 2nd ed. San Diego: Singular Publishing Group; 2000. Chap.6, p.145-224: Vocal Fundamental Frequency.
- 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;4:5-9.
- 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.
- Bohadana SC, Santoro PP. Influência dos hormônios na laringe. In: Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cervico-Facial. *Tratado de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cervicofacial*. 2ª ed. São Paulo: Editora Roca; 2011. Cap.39, p.356-61.
- Chen W, Woo P, Murry T. Spectral analysis of digital kymography in normal adult vocal fold vibration. *J Voice*. 2014;28(3):356-61.
- Chung D, Tsuji DH, Sennes LU, Imamura R. Upper displacement of the anterior commissure: experimental study of a new phonosurgical approach to raising vocal pitch. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2007;116(6):462-70.
- Clerf LH. Manuel Garcia's contribution to laryngology. *Bull N Y Acad Med*. 1956;32(8):603-11.

- Cooper DS. Research in laryngeal physiology with excised larynges. In: Cummings CW, editor. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 3rd ed. St. Louis: C. V. Mosby; 1986. p.1766-76.
- Deliyski 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.
- Donald PJ. Voice change surgery in the transsexual. *Head Neck Surg*. 1982;4(5):433-7.
- Farnsworth DW. High-speed motion pictures of human vocal cords. *Bell Lab Rec*. 1940;18:203-8.
- Figueiredo, LAP. *Desnivelamento das pregas vocais: estudo experimental da vibração das pregas vocais através da videoquimografia* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2001.
- Gelfer MP, Schofield KJ. Comparison of acoustic and perceptual measures of voice in male-to-female transsexuals perceived as female versus those perceived as male. *J Voice*. 2000;14(1):22-33.
- Gibbins N, Bray D, Harries ML. Long-term quantitative results of an Isshiki type 4 thyroplasty – a case study. *J Voice*. 2011;25(3):283-7.
- Gross M. Pitch-raising surgery in male-to-female transsexuals. *J Voice*. 1999; 13:246–50.
- Hirano, M. Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variations. *Folia Phoniatr*. 1974;26:89-94.
- Hirano M, Kiyokawa K, Kurita S. Laryngeal Muscles and Glottic Shaping. In: Fujimura O, editor. *Vocal physiology: voice production, mechanisms and functions*. New York: Raven Press; 1988. p.49-65.
- Hollien H. Vocal fold dynamics for frequency change. *J Voice*. 2014;28(4):395-405.
- Howe MS, McGowan RS. Voicing produced by a constant velocity lung source. *J Acoust Soc Am*. 2013;133(4):2340-9.

Isshiki N. Mechanical and dynamic aspects of voice production as related to voice therapy and phonosurgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000;122(6):782-93.

Isshiki N. *Phonosurgery: theory and practice*. Tokyo: Springer-Verlag; 1989.

Isshiki N, Morita H, Okamura H, Hiramoto M. Thyroplasty as a new phonosurgical technique. *Acta Otolaryngol.* 1974;78:451-7.

Isshiki N, Taira T, Tanabe M. Surgical alteration of the vocal pitch. *J Otolaryngol.* 1983;12(5):335-40.

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

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

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

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

Koçak I, Akpınar ME, Çakır ZA, Doğan M, Bengisu S, Çelikoyar MM. Laser Reduction Glottoplasty for managing androphonia after failed cricothyroid approximation surgery. *J Voice.* 2010;24(6):758-64.

Lee SY, Liao TT, Hsieh T. Extralaryngeal approach in functional phonosurgery. In: *Proceedings of the 20th Congress of the IALP*. Tokyo. 1986:482-3.

LeJeune FE, Guice CE, Samuels PM. Early experiences with vocal ligament tightening. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1983;92:475-7.

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;38:182-92.

- Mastronikolis NS, Remacle M, Biagini M, Kiagiadaki D, Lawson G. Wendler glottoplasty: an effective pitch raising surgery in male-to-female transsexuals. *J Voice*. 2013;27(4):516-22.
- Mehta DD, Zañartu M, Quatieri TF, Deliyski DD, Hillman RE. Investigating acoustic correlates of human vocal fold vibratory phase asymmetry through modeling and laryngeal high-speed videoendoscopy. *J Acoust Soc Am*. 2011;130(6):3999-4009.
- Mills TW. An examination of some controverted points of the physiology of voice, especially the registers of the singing voice and the falsetto. *J Physiol*. 1883;4(2-3):133-59.
- Naufel de Felipe AC, Grillo MHMM, Grechi TH. Standardization of acoustic measures for normal voice patterns. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2006;72(5):659-664.
- Neumann K, Welzel C. The importance of the voice in male-to-female transsexualism. *J Voice*. 2004;18(1):153-67.
- Noordzij JP, Ossoff RH. Anatomy and physiology of the larynx. *Otolaryngol Clin N Am*. 2006;39:1-10.
- Orloff LA, Mann AP, Damrose JF, Goldman SN. Laser-Assisted Voice Adjustment (LAVA) in transsexuals. *Laryngoscope*. 2006;116:655-60.
- Palmer D, Dietsch A, Sear J. Endoscopic and stroboscopic presentation of the larynx in male-to-female transsexual persons. *J Voice*. 2012;26(1):117-26.
- Pattie MA, Murdoch BE, Theodoros D, Forbes K. Voice changes in women treated for endometriosis and related conditions: the need for comprehensive vocal assessment. *J Voice*. 1998;12(3):366-71.
- Pegoraro-Krook MI, Castro VC. Normative Speaking Fundamental Frequency (SFF) characteristics of Brazilian male subjects. *Braz J Med Biol Res*. 1994;27(7):1659-61.
- Pinheiro AP, Dajer ME, Hachiya A, Montagnoli AN, Tsuji D. Graphical evaluation of vocal fold vibratory patterns by high-speed videolaryngoscopy. *J Voice*. 2014;28(1):106-11.

- Remacle M, Matar N, Morsomme D, Veduyck I, Lawson G. Glottoplasty for male-to-female transsexualism: voice results. *J Voice*. 2011;25(1):120-3.
- Sataloff RT, Heman-Ackah YD, Hawkshaw MJ. Clinical anatomy and physiology of the voice. *Otolaryngol Clin North Am*. 2007;40(5):909-29.
- Seikel JA, King DW, Drumright DG. *Anatomy & Physiology for Speech, Language, and Hearing*. 4th ed. Clifton Park: Delmar Cengage Learning; 2010. Chap. 5, p.223-266: Physiology of Phonation.
- Stevens SS, Volkmann J, Newman EB. A scale for the measurement of the psychological magnitude pitch. *J Acoust Soc Am*. 1937;8(3):185-90.
- Stevens SS, Volkmann J. The relation of pitch to frequency: a revised scale. *Am J Psychol*. 1940;53(3):329-53.
- Švec JG, Schutte HK. Videokymography: high-speed line scanning of vocal fold vibration. *J Voice*. 1996;10(2):201-5.
- Tanaka S, Tanabe M. Glottal adjustment for regulating vocal intensity. An experimental study. *Acta Otolaryngol*. 1986;102(3-4):315-24.
- Titze IR, Luschei ES, Hirano M. Role of the thyroarytenoid muscle in regulation of fundamental frequency. *J Voice*. 1989;3(3):213-24.
- Tsuji DH, de Almeida ER, Sennes LU, Butugan O, Pinho SM. Comparison between thyroplasty type I and arytenoid rotation: a study of vocal fold vibration using excised human larynges. *J Voice*. 2003;17(4):596-604.
- 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.
- Tucker HM. Anterior commissure laryngoplasty for adjustment of vocal fold tension. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1985;94(6Pt1):547-9.
- Van den Berg J. Myoelastic-aerodynamic theory of voice production. *J Speech Hear Res*. 1958;1(3):227-44.

- Van den Berg J. Sound production in isolated human larynges. *Ann N Y Acad Sci*. 1968;155(1):18-27.
- Van den Berg J, Tan TS. Results of experiments with human larynxes. *Pract Otorhinolaryngol (Basel)*. 1959 Nov;21(6):425-50.
- Wagner I, Fugain C, Monneron-Girard L, Cordier B, Chabolle F. Pitch-raising surgery in fourteen male-to-female transsexuals. *Laryngoscope*. 2003;113:1157-65.
- Wendler J. Vocal pitch elevation after transsexualism male to female. In: *Proceedings of the Union of the European Phoniatricians*; Salsomaggiore, Italy, 1990.
- Wolfe VI, Ratusnik DL, Smith FH, Northrop G. Intonation and fundamental frequency in male-to-female transsexuals. *J Speech Hear Disord*. 1990;55(1):43-50.
- Woo P. Objective measures of laryngeal imaging: what have we learned since Dr. Paul Moore. *J Voice*. 2014;28(1):69-81.
- Woo P. *Stroboscopy*. San Diego: Plural Publishing; 2010. Chap. 1, p.3-10: Historical aspects of visualization of the larynx and vibration. Chap. 2, p.11-16: Stroboscopy and Talbot's Law.
- Woodson GE. Laryngeal and Pharyngeal function. In: Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT, Thomas JR, editors. *Cummings Otolaryngology Head & Neck Surgery*. 5th ed. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2010. v.1, p. 805-12.
- 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.
- Yang CY, Palmer AD, Meltzer TR, Murrat KD, Cohen JI. Cricothyroid approximation to elevate vocal pitch in male-to-female transsexuals: results of surgery. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2002;111:477-85.

APÊNDICES

Apêndice 1 – 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 **06/06/2012**, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **177/12** intitulado: **“AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA VOCAL E VIBRAÇÃO DAS PREGAS VOCAIS COM IMAGENS DE ALTA VELOCIDADE NA GLOTOPLASTIA 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: Thaís Gonçalves Pinheiro

CEP-FMUSP, 13 de Junho de 2012.

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

Apêndice 2 – Carta do Serviço de Verificação de Óbitos da Capital

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
SERVIÇO DE VERIFICAÇÃO DE ÓBITOS DA CAPITAL

**Manifestação prévia a respeito dos aspectos técnicos relacionados
à obtenção de material de estudo para pesquisa científica**

Título da Pesquisa: Avaliação da frequência vocal e vibração das pregas vocais com imagens de alta velocidade na glotoplastia experimental em laringes humanas excisadas.

Orientador: Domingos Hiroshi Tsuji

Pesquisador Responsável: Thais Gonçalves Pinheiro

Em relação aos aspectos técnicos relacionados à obtenção de material de estudo para pesquisa científica mencionada acima, informamos não haver impedimento do ponto de vista técnico e nem risco de mutilação.

São Paulo, 18 de janeiro de 2012.

Prof. Dr. Carlos Augusto Pasqualucci
Diretor SVOC-USP

Apêndice 3 – Aprovação na Plataforma Brasil

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP

PROJETO DE PESQUISA

Título: AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA VOCAL E VIBRAÇÃO DAS PREGAS VOCAIS COM IMAGENS DE ALTA VELOCIDADE NA GLOTOPLASTIA EXPERIMENTAL EM LARINGES HUMANAS EXCISADAS

Pesquisador: Domingos Hiroshi Tsuji

Versão: 1

Instituição: Fundação Faculdade de Medicina - ICESP

CAAE: 01343412.1.0000.0065

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 34698

Data da Relatoria: 30/05/2012

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa prospectiva que pretende fazer glotoplastia, cirurgia esta a ser realizada em laringe de cadáveres humanos (n=10). Nesta técnica (glotoplastia de Wendler) ainda não é definida a porcentagem de diminuição da área glótica para a maior elevação na frequência fundamental. Será fundamental. Será

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo principal é determinar a medida ideal da sinéquia anterior que deve ser confeccionada para produzir a maior elevação possível da frequência fundamental e assim, determinar as melhores referências para realização desse tipo de cirurgia para elevação do pitch vocal. Além disso, serão analisadas as mudanças nos padrões de vibração cordal após a cirurgia, como periodicidade, simetria de fase e amplitude de vibração, onda mucosa e rigidez mucosa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos para o objeto da pesquisa, entretanto são relatados riscos para o executante da pesquisa, como por exemplo transmissão de doenças infecto-contagiosas e, por isso, serão utilizados equipamentos de proteção individual, como luvas, óculos, máscaras e aventais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo tem objetivo acadêmico (doutorado) e já foi aprovada pelo DEpartamento em questão (otorrinolaringologia), assim como contém carta de concordância do Serviço de Verificação de Óbitos da Capital - SVOC. Consta ainda no cadastro que a pesquisa terá financiamento próprio. Consta ainda no cadastro informações sobre a forma de limpeza do material utilizado que seguirá as orientações da comissão de controle de infecção hospitalar do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP); e que o material descartável será descartado em lixo apropriado no laboratório. As peças anatômicas utilizadas serão descartadas conforme a Cartilha de Descarte de Resíduo da FMUSP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não existe a necessidade de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Recomendações:

O estudo é simples, bem delineado e a metodologia está bem descrita, demonstrando que o projeto deverá ser bem sucedido. O projeto conta com infra-estrutura do Departamento de Otorrinolaringologia e do SVOC, tendo inclusive anuência do Conselho de Departamento. Não há previsão de financiamento, entretanto o Departamento possui todos os recursos necessários para o desenvolvimento do projeto. O projeto atende às exigências do Comitê de Ética em Pesquisa para pesquisas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Considero o projeto aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado

SAO PAULO, 12 de Junho de 2012

Assinado por:
Roger Chammas