

**EDUARDO GEORGE BAPTISTA DE CARVALHO**

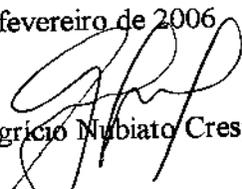
**INTEGRAÇÃO DE FRAGMENTO DE FÁSCIA  
LATA ENXERTADO NA LÂMINA PRÓPRIA  
DE PREGA VOCAL DE CÃES:**

**Estudo Histológico**

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas, área de concentração em Otorrinolaringologia do(a) aluno(a) **Eduardo George Baptista de Carvalho**

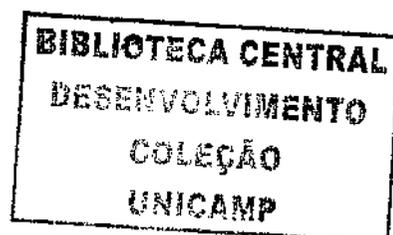
Campinas, 24 de fevereiro de 2006

Prof(a). Dr(a). Agrício Nubiato Crespo  
Orientador(a)



**CAMPINAS**

**2006**



**EDUARDO GEORGE BAPTISTA DE CARVALHO**

**INTEGRAÇÃO DE FRAGMENTO DE FÁSCIA  
LATA ENXERTADO NA LÂMINA PRÓPRIA  
DE PREGA VOCAL DE CÃES:**

**Estudo Histológico**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação  
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade  
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre  
em Ciências Médicas, área de concentração em  
Otorrinolaringologia*

**ORIENTADOR:** *Prof. Dr. Agrício Nubiato Crespo*

**CAMPINAS**

**2006**

ii

**BIBLIOTECA CENTRAL  
DESENVOLVIMENTO  
COLEÇÃO  
UNICAMP**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**  
Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8º / 6044

C253i

Carvalho, Eduardo George Baptista de  
Integração de fragmentos de fâscia lata enxertado na lâmina própria  
de prega vocal de cães: estudo histológico / Eduardo George Baptista de  
Carvalho. Campinas, SP : [s.n.], 2006.

Orientador : Agrício Nubiato Crespo  
Dissertação ( Mestrado ) Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Cordas vocais. 2. Fâscia lata. 3. Matriz extracelular. 4.  
Transplante autólogo. I. Crespo, Agrício Nubiato II. Universidade  
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Slp/fcm

**Título em inglês : Fascia grafting in the lamina propria of vocal folds: an  
histological experimental study**

**Keywords:** • Vocal cords

- Fascia lata
- Extracellular matrix
- Transplantation, Autologous

**Área de concentração : Otorrinolaringologia**

**Titulação:** Mestrado em Ciências Médicas

**Banca examinadora:** Prof Dr Agrício Nubiato Crespo  
Prof Dr Osiris de Oliveira Camponês do Brasil  
Prof Dr Reinaldo Jordão de Gusmão

**Data da defesa:** 24 / 07 / 2006

---

## **Banca examinadora da Dissertação de Mestrado**

---

---

**Orientador(a): Prof(a). Dr(a). AGRICIO NUBIATO CRESPO**

---

---

### **Membros:**

---

**1. OSÍRIS DE OLIVEIRA CAMPONES DO BRASIL**

---

**2. REINALDO JORDÃO GUSMÃO**

---

**3.**

---

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

---

**Data: 23/02/2006**

---

## **DEDICATÓRIA**

*À minha esposa Ana Zilda, por seu amor, compreensão e ajuda em todas as horas, que tornaram possível a realização deste trabalho.*

*À minha filha Júlia por ser a razão e alegria de nossas vidas.*

*Aos meus pais, Dra. Maria Auxiliadora e Dr. Fernando, in memoriam, por todo seu amor e exemplo, com a certeza do orgulho de ver cumprida mais esta etapa de vida.*

## ***AGRADECIMENTOS***

---

Ao Prof. Dr. Agrício Nubiato Crespo, pela oportunidade, apoio e incentivo constantes, e pela confiança na realização deste trabalho.

À Prof. Dra. Ester Nicola, pela amizade, orientações, apoio, e por ceder o Laboratório de Laser do Núcleo de Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas de UNICAMP, para desenvolver os experimentos.

À Prof. Dra. Albina Altemani, do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pela disponibilidade, pela propriedade em transmitir conhecimento.

Aos Profs. Drs. Jorge Rizzato Paschoal e Reinaldo Gusmão, pelas preciosas sugestões e orientações durante o exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Francisco Veríssimo de Melo Filho, preceptor e amigo, pelos conselhos e orientações no início desta jornada.

À colega de mestrado Dra. Iclea Camargo, pela inestimável ajuda no estudo das minhas lâminas.

Ao Dr. Edmir, funcionário responsável pelo Laboratório de Laser do Núcleo de Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, que muito contribuiu nos experimentos.

À Srta. Priscila Duarte, funcionária do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas, pela disponibilidade e ajuda.

Ao Sr. Adilson, funcionário do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas, responsável pela documentação micro-fotográfica.

Às Sras. Cristina, Ana Maria e Fátima, secretárias da Disciplina de Otorrinolaringologia, pela ajuda permanente no dia-a-dia.

Aos colegas de pós-graduação, com quem dividi dúvidas, incertezas e sucessos nesta etapa da vida profissional.

Aos funcionários do Núcleo de Cirurgia Experimental pela disponibilidade e ajuda.

Aos funcionários da Diretoria de Apoio Didático, Científico e Computacional, pelos trabalhos de fotografia e esquemas.

	<i>Pág.</i>
<b>RESUMO</b> .....	<i>xi</i>
<b>ABSTRACT</b> .....	<i>xiii</i>
<b>1 - INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 - REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	19
<b>3 - MÉTODO</b> .....	25
<b>3.1 - Animais de experimentação</b> .....	26
<b>3.2 - Procedimentos cirúrgicos</b> .....	26
<b>3.3 - Avaliação histológica dos resultados</b> .....	30
<b>4 - RESULTADOS</b> .....	34
<b>4.1 - Análise histológico do grupo A</b> .....	35
<b>4.2 - Análise histológica grupo B</b> .....	43
<b>4.3 - Comparação entre a PVD (enxertada) e PVE (controle) no grupo A</b> ....	49
<b>4.4 - Comparação entre a PVD (enxertada) e PVE (controle) no grupo B</b> ....	52
<b>4.5 - Comparação entre as pregas vocais direitas dos grupos A e B</b> .....	55
<b>5 - DISCUSSÃO</b> .....	60
<b>6 - CONCLUSÃO</b> .....	65
<b>7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	67
<b>8 - FONTES CONSULTADAS</b> .....	73
<b>9 - ANEXOS</b> .....	75

## ***LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS***

---

<b>CILP</b>	Camada intermediária da lâmina própria
<b>CPLP</b>	Camada profunda da lâmina própria
<b>CSLP</b>	Camada superficial da lâmina própria
<b>DIHA</b>	Dextranômeros em hialuronato
<b>FC<math>\beta</math></b>	Fator de crescimento $\beta$ transformante
<b>FCF</b>	Fator de crescimento de fibroblasto
<b>FCM</b>	Faculdade de Ciências Médicas
<b>FCP</b>	Fator de crescimento plaquetário
<b>H</b>	Histiocitário
<b>HE</b>	Hematoxilina eosina
<b>KCL</b>	cloreto de potássio
<b>L</b>	Linfocitário
<b>LH</b>	Linfo-histiocitário
<b>P</b>	Polimorfonuclear
<b>PV</b>	Prega vocal
<b>PVD</b>	Prega vocal direita
<b>PVE</b>	Prega vocal esquerda
<b>UNICAMP</b>	Universidade Estadual de Campinas

	<i>Pág.</i>
<b>Figura 1 -</b> Animal submetido à laringoscopia direta com sistema de suspensão.....	28
<b>Figura 2 -</b> Detalhe da ponta esférica do descolador.....	29
<b>Figura 3 -</b> Representação esquemática do procedimento cirúrgico nas pregas vocais.....	30
<b>Figura 4 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fâscia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. (4X) (cão 10).....	36
<b>Figura 5 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fâscia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. (40X) (cão 10).....	37
<b>Figura 6 -</b> Prega vocal esquerda, controle, sem enxerto de fâscia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses.(10X) (cão 10).....	38
<b>Figura 7 -</b> Prega vocal esquerda, controle, sem enxerto de fâscia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. (40X) (cão 10).....	39
<b>Figura 8 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fâscia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. (4X) (Cão 11).....	40
<b>Figura 9 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fâscia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. (40X) (Cão 11).....	41
<b>Figura 10 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fâscia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. (40X) (cão 16).....	42
<b>Figura 11 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fâscia na lâmina própria, no cão sacrificado após seis meses. (4X) (cão 3).....	44

<b>Figura 12 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fãscia na lâmina pr3pria, no cã3o sacrificado ap33s seis meses. (40X) (cã3o 3).....	45
<b>Figura 13 -</b> Prega vocal esquerda, controle, sem enxerto da fãscia na lâmina pr3pria, no cã3o sacrificado ap33s seis meses. (4X) (cã3o 3).....	46
<b>Figura 14 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fãscia na lâmina pr3pria, no cã3o sacrificado ap33s seis meses. (4X) (cã3o 2).....	47
<b>Figura 15 -</b> Prega vocal direita, com enxerto de fãscia na lâmina pr3pria, no cã3o sacrificado ap33s seis meses. (40x) (cã3o 2).....	48

## ***RESUMO***

A correção de alterações da lâmina própria nas pregas vocais, como sulcos, cicatrizes e degenerações senis, ainda é um desafio à fonocirurgia. Materiais implantáveis e métodos de implantação são continuamente investigados. Este trabalho avaliou a utilização de enxerto de fragmento da fâscia lata na lâmina própria da prega vocal de cães, estudando as alterações histológicas conseqüentes, quanto à reação inflamatória aguda e crônica, à fibrose e à neovascularização.

Doze cães adultos foram submetidos à enxertia de um fragmento de 0,3 X 0,3 cm da fâscia lata na lâmina própria da prega vocal direita. Na prega vocal esquerda, o mesmo acesso cirúrgico foi reproduzido, sem colocação do enxerto. Após dois e seis meses, os animais foram sacrificados e suas pregas vocais estudadas histologicamente.

A fâscia não induziu resposta inflamatória, aguda ou crônica, em qualquer animal, nem desencadeou fibrose além da conseqüente ao procedimento cirúrgico, como observado no lado controle. Em todos os casos, identificou-se o tecido enxertado sem evidências de reabsorção e com aumento da neovascularização, demonstrando que a fâscia lata apresenta integração tecidual boa na camada superficial da lâmina própria de prega vocal de cão.

# ***ABSTRACT***

Satisfactory corrective treatment for sulcus, scar and senile alterations in the lamina propria of vocal folds is still under development. This study assessed the utilization of a fascia lata graft in the vocal fold lamina propria of dogs by analyzing the histological alterations induced by acute and chronic inflammatory reactions as well as the fibrosis triggered by graft procedure and persistence.

A fragment measuring 0.3 X 0.3 cm of the fascia lata was grafted in the right vocal fold lamina propria of 12 adult dogs. Identical surgical access in the left vocal fold was reproduced without introducing the graft. After periods of two and six months, the animals were sacrificed and a histological study of their vocal cords was performed.

Besides the reactions resulting from the surgical procedure in the control side, the fascia did not induce an acute or chronic inflammatory reaction or trigger fibrosis in any of the animals. In all the cases, the grafted tissue did not show evidence of resorption, demonstrating that the superficial layer of the lamina propria in dogs presents good tolerance to fascia lata grafting.

## ***1 - INTRODUÇÃO***

A proteção das vias aéreas inferiores e a produção vocal são as principais funções da laringe, que atua como esfíncter e fonte geradora do som. Para a efetiva produção da voz deve existir contato adequado entre as pregas vocais.

A insuficiência glótica resultante do contato incompleto das pregas vocais pode ser provocada por diversas alterações deste órgão, incluindo paralisia, parestesia, arqueamento, atrofia, sulcos ou cicatrizes nas pregas vocais. Independentemente da etiologia, várias alternativas de tratamentos têm sido testadas para corrigir a insuficiência glótica e restaurar ou melhorar a voz, desde técnicas de medialização até a injeção de substâncias para aumento volumétrico das pregas vocais. (Hirano *et al.*, 1990; Lindestad *et al.*, 1994; Pontes *et al.*, 1994; Rosen, *et al.*, 2000.)

Os tratamentos disponíveis atualmente não permitem a reconstituição da estratificação em camadas e dos movimentos ondulatórios das pregas vocais. Possibilitam apenas a correção da insuficiência glótica, com melhora do tempo máximo de fonação e do esforço vocal com pouca influência na melhoria da qualidade da voz. Implantes ou enxertos de materiais diretamente dentro da prega vocal tem mostrado utilidade na correção da insuficiência glótica.

Brunings (1911) descreveu inicialmente o implante de parafina que, no entanto, produzia intensa reação inflamatória.

Por décadas tem-se usado teflon que apresenta bons resultados num primeiro momento e, posteriormente, pode desenvolver inflamação crônica, com formação de granuloma, o que limita seu uso. (Ford *et al.*, 1999)

Mais recentemente, Hill *et al.* (1991) introduziram o uso de gordura autóloga. Após intensa pesquisa e utilização, obtiveram excelentes resultados iniciais, sem reação inflamatória aguda ou do tipo corpo estranho. Apresenta alto índice de reabsorção, dependendo do método utilizado, que pode atingir 80% após um ano. Rihkanen (1998), referiu que, “para compensar a reabsorção, a prega vocal é sobrecorrigida e isso faz da gordura material problemático para ajuste fino da borda da prega vocal”.

O colágeno bovino também revela bons resultados iniciais, sendo usualmente reabsorvido em poucos meses, assim como acontece com o colágeno autólogo. (Ford *et al.*, 1999).

O enxerto de fásia tem sido utilizado há décadas em cirurgias otológicas e plásticas, sem complicações e com resultados reprodutíveis. Apresenta consistência tecidual similar à do colágeno e baixa taxa de atividade metabólica. Rihkanen (1998) propôs o uso de fásia triturada para cirurgia de aumento volumétrico da prega vocal. Reijonen *et al.*, (2000) em estudo experimental em cães utilizando a injeção de fásia triturada no músculo vocal, observaram que o enxerto permaneceu identificável histologicamente após um ano de seguimento e, na maioria dos casos, sem complicações precoces ou tardias. Tsunoda (1998) publicou, com resultados promissores, a utilização de enxerto de fásia íntegra no espaço de Reinke para a correção da incompetência glótica em modelo humano, principalmente decorrente de sulcos vocais.

Contraditoriamente, Rodgers *et al.* (2000) descreveram rápida absorção de fásia autóloga triturada injetada no músculo vocal, após três meses. Para esses autores, a fásia não representa material adequado para enxerto em prega vocal.

Mais recentemente, intervenções para restabelecimento estrutural da lâmina própria da prega vocal vêm sendo testadas, em caráter experimental, com o propósito de diminuir a fibrose pós-operatória e cicatriz, e melhorar a flexibilização da mucosa. Em estudos *in vitro* o fator de crescimento de hepatócitos e fator de crescimento de fibroblastos, associados ou não a células tronco, podem levar à diminuição da formação de colágeno tipo I e aumentar a produção de ácido Hialurônico, a partir de fibroblastos do espaço de Reinke. Essas técnicas, entretanto, ainda não estão disponíveis para uso clínico. (Hirano *et al.*, 1999; Ito *et al.*, 2003.)

Até o momento não há consenso sobre o enxerto ideal para cirurgias de medialização da prega vocal ou restituição de suas propriedades reológicas. A fásia autóloga parece apresentar boa perspectiva, apesar dos poucos estudos clínicos e experimentais existentes na literatura mundial. Os trabalhos publicados avaliam somente o enxerto de fásia triturada no músculo vocal (Rihkanen, 1998; Rodgers *et al.*, 2000; Reijonen *et al.*, 2001; Duke *et al.*, 2001). Não há estudos histológicos com utilização de enxerto de fásia íntegra implantado no espaço de Reinke.

O objetivo do estudo é analisar a integração de fragmento de fáschia lata enxertado na lâmina própria de pregas vocais de cães. Esta avaliação será realizada pela análise histológica da resposta inflamatória aguda e crônica, da fibrogênese desencadeada pelo enxerto e pela presença de neovascularização.

## ***2 - REVISÃO DA LITERATURA***

Inicialmente abordaremos a estrutura da prega vocal, sua estratificação e a composição da lâmina própria. A seguir, a estrutura e as diferenças entre a prega vocal do animal de experimentação e o homem. Por fim, os métodos para a correção da insuficiência glótica com especial atenção para o uso da fâscia autóloga.

Hirano (1974) demonstrou histologicamente a estrutura em camadas da prega vocal humana e propôs a teoria do complexo corpo-cobertura. A lâmina própria da prega vocal, segundo o autor, é constituída por três camadas. A camada mais superficial da lamina própria (CSLP), é caracterizada histologicamente por tecido frouxo com poucas fibras colágenas e elásticas. A camada intermediária da lâmina própria (CILP) apresenta maior número de fibras elásticas e a camada profunda da lâmina própria (CPLP) é aquela com um número aumentado de fibras colágenas. A teoria corpo-cobertura da fonação trouxe evidência histológica que o tecido superficial, permitia liberdade de movimento, enquanto os tecidos profundos mostravam-se mais rigidamente integrados. A cobertura da prega vocal, nos relatos do autor, inclui o epitélio e a CSLP, enquanto a CPLP e o músculo vocal constituem o corpo. A CILP foi caracterizada como camada de transição.

Gray *et al.*, 1994, utilizando microscopia eletrônica, fizeram estudo descritivo da ultra-estrutura de três laringes humanas. Relataram que a zona da membrana basal de humanos se assemelha às de cães. A camada profunda da epiderme é forrada por células basais sobre a membrana basal. Descreveram a presença de “fibras de ancoragem que podem ser vistas fazendo uma alça a partir da lâmina densa para dentro da camada superficial da lâmina própria e readerindo à lâmina densa”. Demonstraram ainda, que as fibras colágenas da camada superficial se interdigitam com as alças, fixam a camada basal à prega vocal, e impedem que desgarre durante a vibração.

Ishii *et al.*, 1995 realizaram estudo tridimensional do arranjo das fibras colágenas e elásticas de pregas vocais humanas, por meio de microscopia eletrônica, após digerirem os elementos celulares e fibras colágenas com ácido fórmico e os elementos celulares e as fibras elásticas com hidróxido de sódio a 10%. Demonstraram que a camada superficial é composta de aglomerados de fibras colágenas e fibras elásticas finas que correm retas ou espiraladas. A camada intermediária consiste de feixes espessos de fibras olágenas e elásticas dispostas longitudinalmente e fibras elásticas finas espiraladas.

A camada profunda consiste de fibras elásticas espiraladas e feixes densos de colágeno. Os autores sugeriram que as fibras colágenas provavelmente estejam envolvidas na manutenção da estratificação da estrutura da lâmina própria. As fibras elásticas estão envolvidas na restauração rápida da morfologia da prega vocal após ação muscular e vibração.

Hammond *et al.* (1996, 2000) descreveram, com utilização de microscopia eletrônica de pregas vocais humanas, a composição da camada intermediária da lâmina própria, destacando a presença de elastina e ácido hialurônico. Relataram a morfologia das fibras elásticas e seus tipos. As fibras oxitalânicas, elauínicas e as fibras elásticas maduras diferem entre si pelo tamanho e pela quantidade de substância amorfa presente na sua estrutura. Demonstraram também, a importância do ácido hialurônico como preenchedor do espaço, que devido à sua capacidade hidrofílica, atrai sódio e água, o que proporciona viscosidade e regula o conteúdo de água da prega vocal.

Pawlak *et al.* (1996) avaliaram a composição normal de proteoglicanos nas pregas vocais de cadáveres humanos usando técnicas imunohistoquímicas. Mostraram a importância dos proteoglicanos glicosaminoglicanos, componentes da matriz extracelular. Correlacionaram seus resultados com eventuais estados patológicos e com a homeostase normal da lâmina própria. Referiram que a decorina e a fibromodulina retardam a formação de fibrilas de colágeno tipos I e II.

Gray *et al.* (1999), por meio de estudo anatômico das pregas vocais de cadáveres, demonstraram que, no envelhecimento ocorre diminuição da camada superficial da lâmina própria. Questionaram se há atrofia desta camada ou proliferação de elastina com invasão da CSLP. Mostraram que, nesta fase, há diminuição do “turnover” das fibras elásticas e do colágeno, com aumento de suas concentrações.

Madruga de Melo *et al.* (2003) estudaram a distribuição do colágeno na lâmina própria de cadáveres, por meio do método de polarização pelo picro – sirius. Descreveram o arranjo das fibras colágenas como não paralelos ao bordo livre da prega vocal, mas dispostos em forma de malha, constituídos por colágeno tipo III na camada superficial e colágeno tipo I na camada profunda. O espaço entre as fibras é preenchido por fibras elásticas imaturas e glicosaminoglicanos.

Gray *et al.* (2000) estudaram a composição molecular da prega vocal de humanos e a relação entre as moléculas fibrosas na performance biomecânica e fisiológica do tecido. Concluíram que os proteoglicanos, especialmente o ácido hialurônico, é o mais presente na lâmina própria e determina a vibração tecidual por conferir viscosidade tecidual. A decorina e fibromodulina estão presentes em menor quantidade e são importantes no metabolismo das proteínas fibrosas.

Hirano *et al.* (2003) fizeram estudo imunohistoquímico sobre a fibronectina e outras moléculas de adesão da lâmina própria de pregas vocais de cachorros. Demonstraram que a fibronectina atua na reparação da lâmina própria após lesão, formando um arcabouço para deposição de colágeno.

Em estudo histoquímico em pregas vocais de cães submetidos à injúria tecidual, Thibeault *et al.* (2004) demonstraram que o nível de ácido hialurônico sobe imediatamente após a lesão, o que é necessário para a reparação e prevenção da cicatriz.

Quanto à histologia comparada, Garret *et al.* (2000) compararam, histologicamente, pregas vocais de cães, porcos e macacos. Demonstraram que o cão apresenta a lâmina própria mais semelhante à humana. No cão, a lâmina própria é estratificada em três camadas. Abaixo da membrana basal há uma banda de elastina e colágeno. Após isto, existem proteínas intersticiais, em arranjo frouxo semelhante à humana. A camada intermediária é composta por elastina e proteína intersticial densa e a camada profunda é composta basicamente por colágeno.

Em 1994, em artigo de revisão sobre o uso de enxertos de fâscia, gordura e músculo em cirurgia de cabeça e pescoço, Boyce *et al.* relataram que a fâscia é constituída basicamente por fibroblastos em matriz extracelular composta por colágeno. Este fato, combinado à sua baixa taxa de metabolismo, explica porque a fâscia pode ser transplantada sem alterar sua forma ou função.

Rihkanen (1998) analisou a melhoria da qualidade vocal de nove indivíduos com paralisia de prega vocal, após serem submetidos à injeção de fâscia lata triturada no músculo vocal. Em todos os casos houve melhora do tempo máximo de fonação e na avaliação da qualidade vocal realizada por quatro foniatras avaliadores. Em cinco dos nove pacientes, a voz foi considerada normal após o procedimento.

Tsunoda *et al.* (1999, 2000, 2001) publicaram uma série de ensaios clínicos onde realizaram a implantação de fâscia temporal autóloga íntegra na lâmina própria de pregas vocais de nove pacientes com insuficiência glótica por sulcos vocais, atrofia ou cicatriz de pregas vocais. Após um ano de acompanhamento, os pacientes, portadores de sulcos e atrofia da prega vocal, apresentaram melhora na qualidade da voz e do padrão vibratório à estroboscopia; com notório desaparecimento da fenda glótica e melhora do tempo máximo de fonação. Relataram que após o implante, o volume da prega vocal continuou a aumentar, e que a melhoria dos parâmetros ocorria após seis meses do procedimento. Especularam sobre a possibilidade do transplante de fâscia temporal levar à regeneração do tecido da prega vocal, por mecanismo similar ao transplante de células tronco em outros órgãos.

Rodgers *et al.* (2001), em estudo histológico, analisaram as pregas vocais de seis cães com paralisia por secção do nervo laríngeo recorrente, submetidos à enxertia de fâscia lata triturada, injetada no interior do músculo vocal. Após três meses do experimento não identificaram a presença da fâscia injetada. Concluíram que a fâscia não possui a mesma persistência no músculo que os adipócitos, não representando um bom material para aumento volumétrico de prega vocal.

Duke *et al.* (2001) realizaram dois estudos, o primeiro histológico, comparando o implante de gordura e fâscia triturada injetadas no músculo tireo-aritenóideo das pregas vocais de um mesmo cão. O segundo, um ensaio clínico, em que avaliaram a melhora dos sintomas em um grupo de 40 pacientes portadores de insuficiência glótica de etiologia variada, submetidos à injeção de fâscia lata no músculo vocal. Para o estudo experimental, padronizaram o volume a ser injetado dos dois tecidos, cada um em uma prega vocal. Após 12 semanas, mediram o grau da reabsorção de cada um deles. Com a análise dos cortes histológicos de pregas vocais, concluíram que houve taxa de absorção similar entre os dois grupos: 32% da fâscia e 46,6% da gordura. No estudo clínico, com aumento volumétrico de prega vocal com paralisia utilizando fâscia, os parâmetros acústicos permaneceram mais estáveis que nos pacientes que utilizaram gordura após até dois anos de seguimento, sem necessidade de sobrecorreção para manter os resultados.

Reijonen *et al.* (2001) analisaram a histologia e a histo-morfometria de pregas vocais de cães submetidas à injeção no músculo vocal de fâscia autóloga triturada. O estudo demonstrou que a fâscia se mantém após um ano de seguimento. O que os fez supor que a pequena diminuição volumétrica do enxerto se deva à compactação e reorganização das fibras colágenas rotas e não à reabsorção do enxerto. Demonstraram que houve remodelação das fibras colágenas. Elas se encontravam rotas aos dez dias de acompanhamento e aos seis meses se organizavam em arranjos lineares. Encontraram ainda, resposta inflamatória aguda leve somente nos primeiros dias pós-operatórios.

Nishiyama *et al.*, (2002) propuseram o uso de enxerto de fâscia temporal autóloga, íntegra e enrolada, na lâmina própria de prega vocal por meio de laringoscopia direta. Para esta técnica confeccionaram bolsa submucosa no espaço de Reinke e introduziram o enxerto de fâscia. Na avaliação pós-operatória, comparou-se o volume da prega vocal, o tamanho da fenda glótica e a qualidade vocal, nos períodos pré e pós-operatórios, utilizando a escala GRBAS. Referiram que em todos os casos houve melhora dos parâmetros analisados, que se mantiveram durante seguimento de seis meses.

Chan *et al.* (1998, 1999), com utilização de um reômetro rotacional, mediram a viscoelasticidade do ácido hialurônico associado ou não a fibronectina e as comparou com a viscoelasticidade da prega vocal. A viscosidade do ácido hialurônico mostrou ser diretamente proporcional à sua concentração. A fibronectina não influenciou, *in vitro*, nas propriedades viscoelásticas do ácido Hialurônico.

Hallen *et al.* (2001) realizaram estudo clínico com uso de injeção de ácido hialurônico, na forma de DiHA, no músculo vocal de pacientes com insuficiência glótica. Em acompanhamento por nove e doze meses o experimento apontou melhora da qualidade vocal e da coaptação glótica. Porém, os autores deixaram de avaliar a reabsorção da substancia injetada. Em vinte e cinco por cento dos casos houve necessidade de reintervenção cirúrgica.

Stein *et al.* (2000) investigaram a histopatologia e as propriedades migratórias de teflon, gordura, silicone e hidroxiapatita, injetados em pregas vocais de cães. O teflon e o silicone resultaram em reação inflamatória variável com migração para linfonodos regionais. A gordura e a hidroxiapatita se encontravam presentes após seis meses, sem reação inflamatória ou migração.

## ***3 - MÉTODO***

### **3.1 - Animais de experimentação**

Foram selecionados 20 cães, sem raça definida, pesando entre 10 e 15 quilogramas, de ambos os gêneros. Os dois primeiros foram utilizados no estudo piloto para sistematização do procedimento cirúrgico e estudo histológico.

Foram excluídos da casuística os animais com quaisquer alterações laringeas observadas à laringoscopia direta, os que morreram fora do prazo estabelecido para o abate e as fêmeas prenhes.

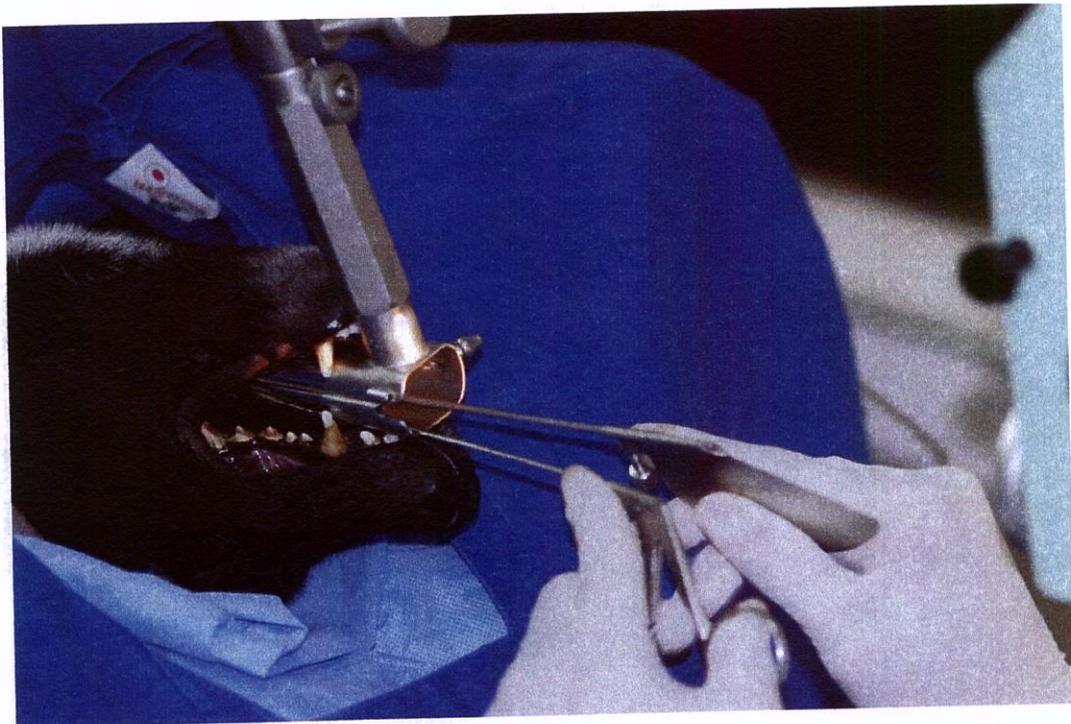
Os animais foram mantidos no biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da FCM da UNICAMP, em gaiolas, com água e ração "ad libitum", desde o pós-operatório imediato até o momento do sacrifício, de acordo com as normas do Comitê de Ética Animal da UNICAMP. (anexo 2)

### **3.2 - Procedimentos cirúrgicos.**

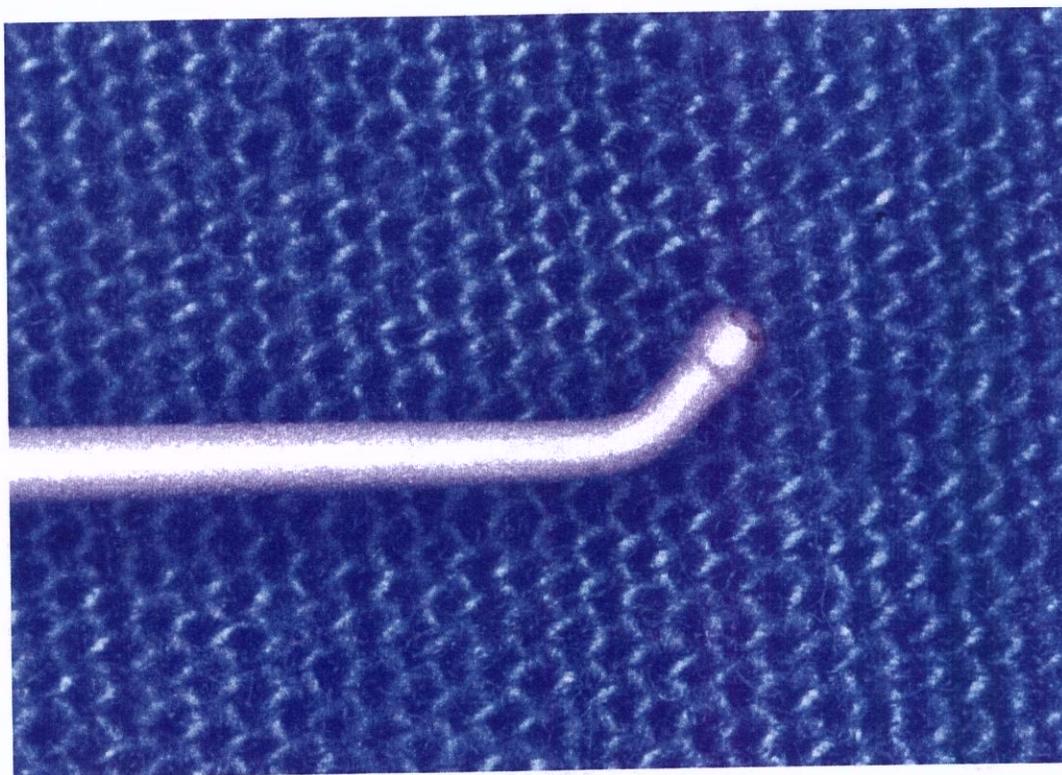
Após 12 horas de jejum, os animais foram submetidos a anestesia geral intravenosa. Utilizou-se thiopental sódico a 1% na dose de 50 mg/kg/dose, e Inoval ® (Fentanila 50 mg/ml e droperidol 2,5 mg/ml), na dose de 0,3 mg/kg, mantidos em respiração espontânea durante o procedimento. Os cães foram posicionados em decúbito dorsal em um suporte em forma de canaleta, sobre a mesa cirúrgica. Foi realizada tricotomia da face externa da pata posterior direita do animal, medindo aproximadamente 10 x 10 cm. A anti-sepsia foi feita com polivinilpovidona a 10% e o animal coberto por campos cirúrgicos esterilizados, com exposição exclusiva da boca e da pata posterior direita.

Realizada incisão longitudinal de aproximadamente 4cm de extensão na face lateral da pata utilizando bisturi de lâmina nº 15. O tecido subcutâneo foi incisado com bisturi elétrico até o plano da fáscia lata, que foi exposta com a utilização de tesoura para dissecação romba. Foi excisado fragmento da fáscia de aproximadamente 9 cm<sup>2</sup>. Após a revisão da hemostasia por diatermocoagulação, foi realizada síntese da ferida em pontos separados com fio de náilon 3.0. A fáscia foi estendida sobre superfície metálica e deixada desidratar-se espontaneamente.

A seguir, o animal foi submetido à laringoscopia direta com sistema de suspensão, por meio de laringoscópio modelo Kleinsasser, com ampla exposição das pregas vocais (Fig.1). Foi realizada incisão longitudinal de aproximadamente 3 mm de extensão, com micro bisturi, à frente do processo vocal, na face vestibular das pregas vocais, direita e esquerda (PVD e PVE), próximo à margem de coaptação. Subseqüentemente procedeu-se à introdução do descolador na incisão efetuada, e confecção de túnel por dissecação roma, no sentido pósterio-anterior, paralelo à margem de coaptação da prega vocal, no nível da lâmina própria, separando-se o epitélio e o ligamento vocal. Para tanto, foi utilizado micro bisturi para incisão mucosa e micro dissector rombo em forma de “L” com angulação de 45 ° (Fig. 2). Com utilização de régua graduada confeccionou-se fragmento da fâscia lata de 0,3x0,3 cm, que foi introduzido no túnel submucoso criado na CSLP de prega vocal direita.

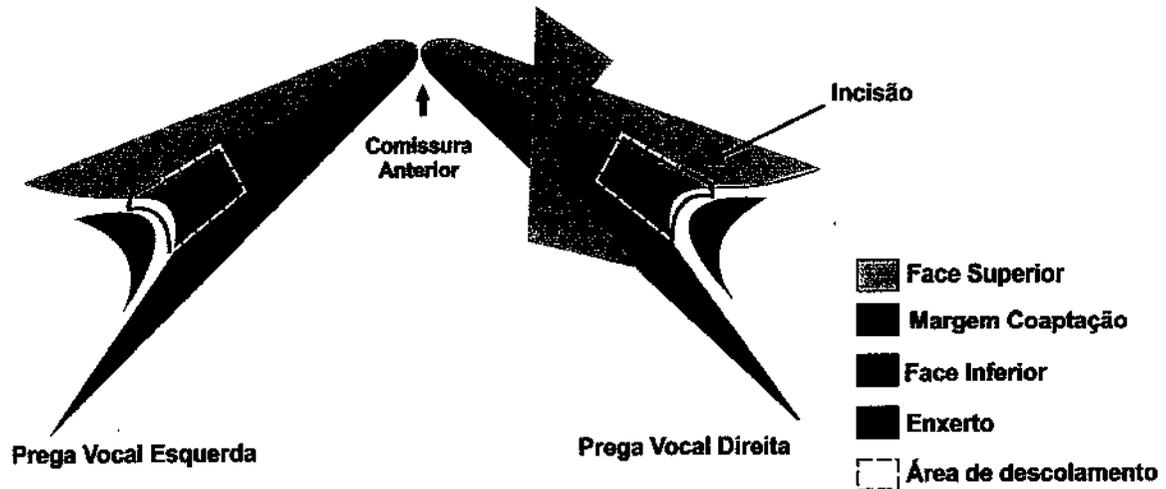


**Figura 1** - Animal submetido à laringoscopia direta com sistema de suspensão



**Figura 2** - Detalhe do instrumento utilizado para dissecação da lâmina própria.  
Observar a extremidade cilíndrica.

Na prega vocal esquerda foi realizado o mesmo procedimento cirúrgico, porém sem enxertia. (Fig.3) Este lado serviu como controle histológico das alterações causadas pelo trauma cirúrgico isolado.



**Figura 3** - Representação esquemática do procedimento cirúrgico nas pregas vocais

### 3.3 - Avaliação histológica dos resultados

Os animais foram sacrificados utilizando-se 10 ml de Thiopental sódico a 1% seguidos por 5 ml de KCl a 19,1% intravenoso em “bolus” e suas laringes excisadas para exame histológico.

Os cães foram divididos em dois grupos de seis animais. O grupo A foi sacrificado dois meses após o procedimento cirúrgico e o grupo B após seis meses do procedimento. Os cães foram sequencialmente numerados de 1 a 18. A tabela 1 apresenta a lista de animais de cada grupo.

Os cães 1,4,7,8,14,e 17 adoeceram, foram sacrificados e excluídos da pesquisa.

Os cães 6, 10, 11, 12, 15 e 16 foram sacrificados após dois meses da cirurgia, e constituíram o grupo A. Os cães 2, 3, 5, 9, 13 e 18 foram sacrificados após seis meses do procedimento cirúrgico, e constituíram o grupo B (tabela 1).

**Tabela 1** - Distribuição dos cães nos grupos

Grupo	nº. dos cães					
A	6	10	11	12	15	16
B	2	3	5	9	13	18

O estudo histológico foi realizado no Departamento de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da FCM UNICAMP.

As laringes, após avaliação macroscópica, foram fixadas por imersão em formol a 10% durante 48 horas. As peças foram abertas posteriormente, por secção mediana da lâmina da cartilagem cricóideia. As pregas vocais foram ressecadas em monobloco por secção axial da cartilagem tiróideia. A seguir, as pregas vocais foram submetidas à secção coronal na linha média, obtendo-se duas metades, anterior e posterior, que foram colocadas em cápsulas plásticas identificadas com o número do animal e o lado correspondente, e, posteriormente, encaminhadas para processamento histológico.

O processamento consiste em sete banhos seqüenciais de uma hora cada, em álcool absoluto, para desidratação. Após, por tres banhos em xilol ap, também durante uma hora, para diafanização. Por fim, três banhos em parafina líquida a 60°. Os fragmentos da prega vocal foram colocados em moldes metálicos, cobertos por parafina a 66° C e submetidos a resfriamento em placa de gelo. Após a solidificação resultaram dois blocos de parafina para cada prega vocal, identificadas como direita e esquerda e o número do animal ao qual pertenciam.

Os blocos foram submetidos a cortes coronais por micrótomo, com espessura de 4µm. Em cada lâmina foram montados quatro cortes da prega vocal. Para a confecção das lâminas, os cortes histológicos foram colocados sobre as lâminas de vidro, aquecidas em

estufa durante cinco minutos para derreter a parafina. A seguir, foram banhadas em xilol ap para desparafinizar. Foram rehidratadas em banho rápido em álcool absoluto e lavadas em água corrente por cinco minutos. Foram encaminhadas para coloração com hematoxilina e eosina. Para tanto, as lâminas permaneceram cinco minutos em hematoxilina, foram lavadas em água corrente, rapidamente, e permaneceram mais cinco minutos em banho de eosina. Para finalizar, as lâminas foram acrescidas de resina e laminula e postas para secar por 24 horas.

Ao exame, se o tecido enxertado não estivesse bem visível, os cortes eram aprofundados, isto é, mais quatro cortes eram realizados, até que o corte mais representativo do tecido enxertado fosse encontrado. As lâminas foram analisadas por microscopia óptica convencional, nas objetivas de 4, 10 e 40 vezes, com análise dos seguintes parâmetros: número de células inflamatórias (neutrófilos, linfócitos e macrófagos), presença de fibrose, neoformação vascular e reação tipo corpo estranho.

A intensidade do infiltrado inflamatório foi avaliada semiquantitativamente. Comparou-se a faixa de tecido circunjacente à fâscia implantada com a lâmina própria além desta área, numa extensão de tres campos de maior aumento (X 40). A reação inflamatória foi classificada segundo os seguintes critérios:

- Ausente (Ø): Não foram observadas células inflamatórias;
- Leve (I): Quando se observaram 1 a 10 células mononucleares maduras;
- Moderada (II): Quando se observaram 11 a 20 células mononucleares maduras;
- Intensa (III): Quando se observaram mais que 20 células mononucleares maduras;

A reação inflamatória foi classificada ainda, como aguda quando havia predomínio de polimorfonucleares, e crônica do tipo corpo estranho, quando havia predomínio de macrófagos ativos.

A intensidade da fibrose também foi avaliada semiquantitativamente. Comparou-se a faixa de tecido circunjacente à fâscia implantada com a lâmina própria além desta área, numa extensão de três campos de maior aumento (X 40). Foi classificada de acordo com os seguintes critérios:

Ausente (Ø): Não foram observadas fibras colágenas;

Leve (I): Presença de focos esparsos de fibras colágenas;

Moderada (II): Traves contínuas de fibras colágenas circunjacentes ao enxerto;

Intensas (III): Longas faixas de fibras colágenas em torno do enxerto, constituindo cápsula fibrosa.

A neoformação vascular foi analisada na periferia e no interior do tecido enxertado, quanto à ausência ou presença de vasos com paredes finas ou em processo de formação.

Esses parâmetros foram estudados na prega vocal fora da área enxertada, na área de enxerto, e também na prega vocal contralateral, que não foi enxertada e serviu como controle do estudo.

A análise estatística dos resultados foi feita utilizando-se o teste exato de Fisher, por testar hipótese univariada, em dois grupos de indivíduos diferentes e com mensuração nominal.

O  $p\text{-valor} < 0.05$  indica diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos comparados, com 95% de confiança, enquanto que o  $p\text{-valor} > 0.05$  indica que não há diferença estatisticamente significativa entre os grupos, também com 95% de confiança.

## ***4 - RESULTADOS***

#### 4.1 - Análise histológica grupo A

Os aspectos histológicos encontrados em ambas as pregas vocais do grupo A estão expostos na tabela 2.

**Tabela 2** - Aspectos histológicos encontrados no grupo A

Número do cão	Intensidade do infiltrado		Predomínio celular		Intensidade da fibrose		Reação crônica		Neo vascularização	
	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE
6	I	I	H	LH	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
10	II	I	LH	L	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
11	I	I	L	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
12	I	I	LH	LH	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
15	I	I	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
16	I	I	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø

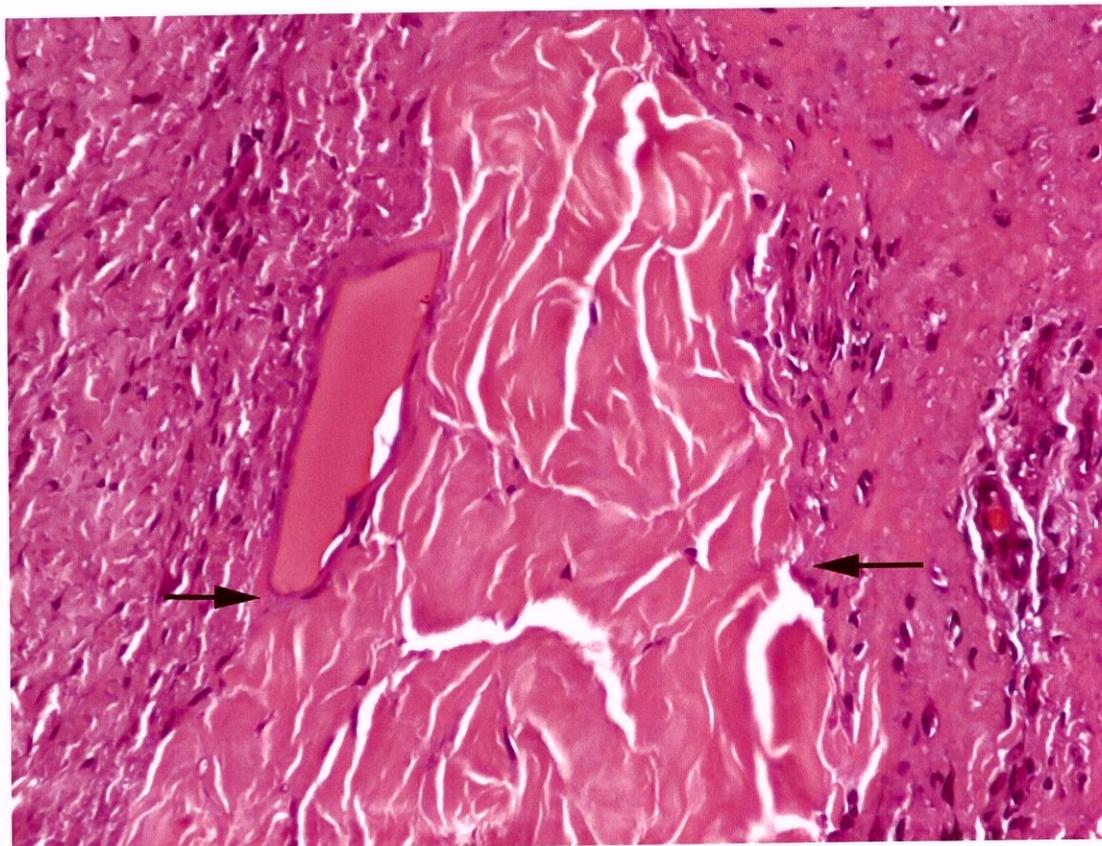
Intensidade do processo inflamatório: ausente (Ø), leve (I), moderado (II), intenso (III); Predomínio de celularidade: Polimorfonucleares (P), Linfocitário (L), Linfohistiocitário (LH), Histiocitário (H); Intensidade da fibrose: ausente (Ø), leve (I), moderado (II), intenso (III); Reação gigante celular: ausente (Ø), presente (I); Presença de neovascularização: ausente (Ø), presente (I)

A figura 4 mostra, em pequeno aumento, a prega vocal do cão 10 onde se identifica a fásia implantada, bem delimitada, na lâmina própria.



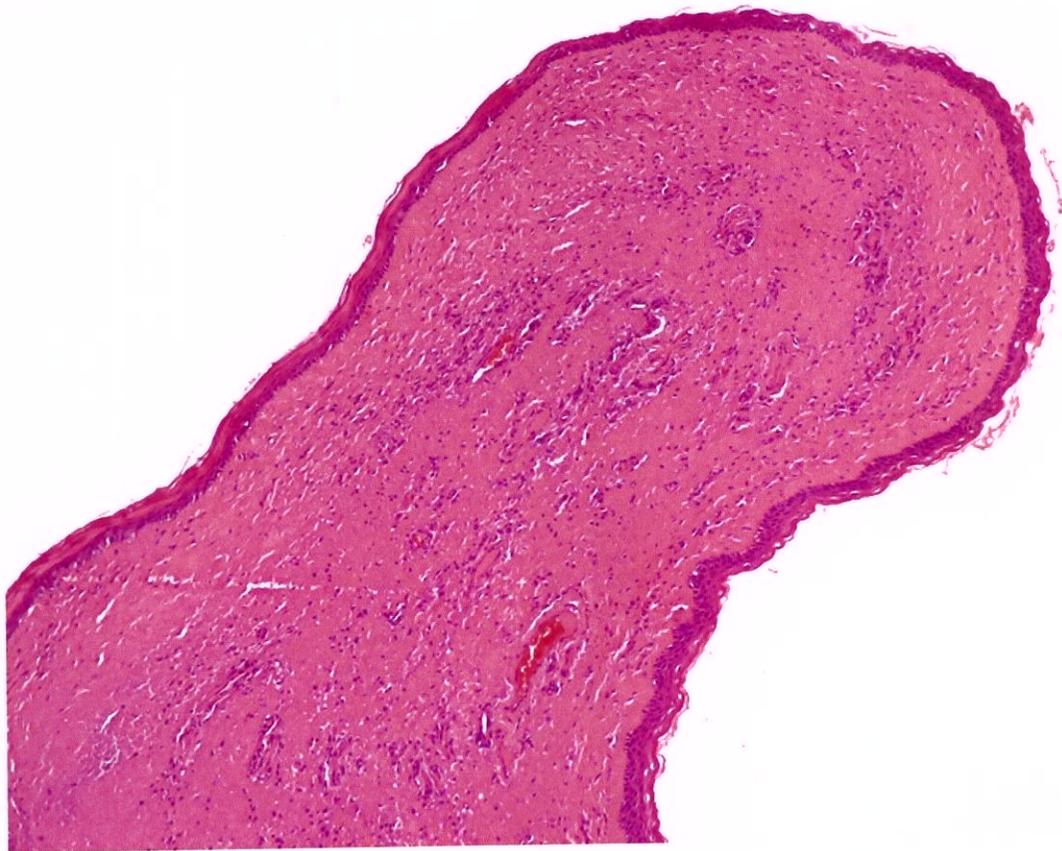
**Figura 4** - Prega vocal direita, com enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. Observar a fásia implantada, delimitada por setas.(4X)  
(cão 10)

Na figura 5, aumento de 40 X, é importante ressaltar a ausência de resposta inflamatória ou fibrose na lâmina própria circundante.



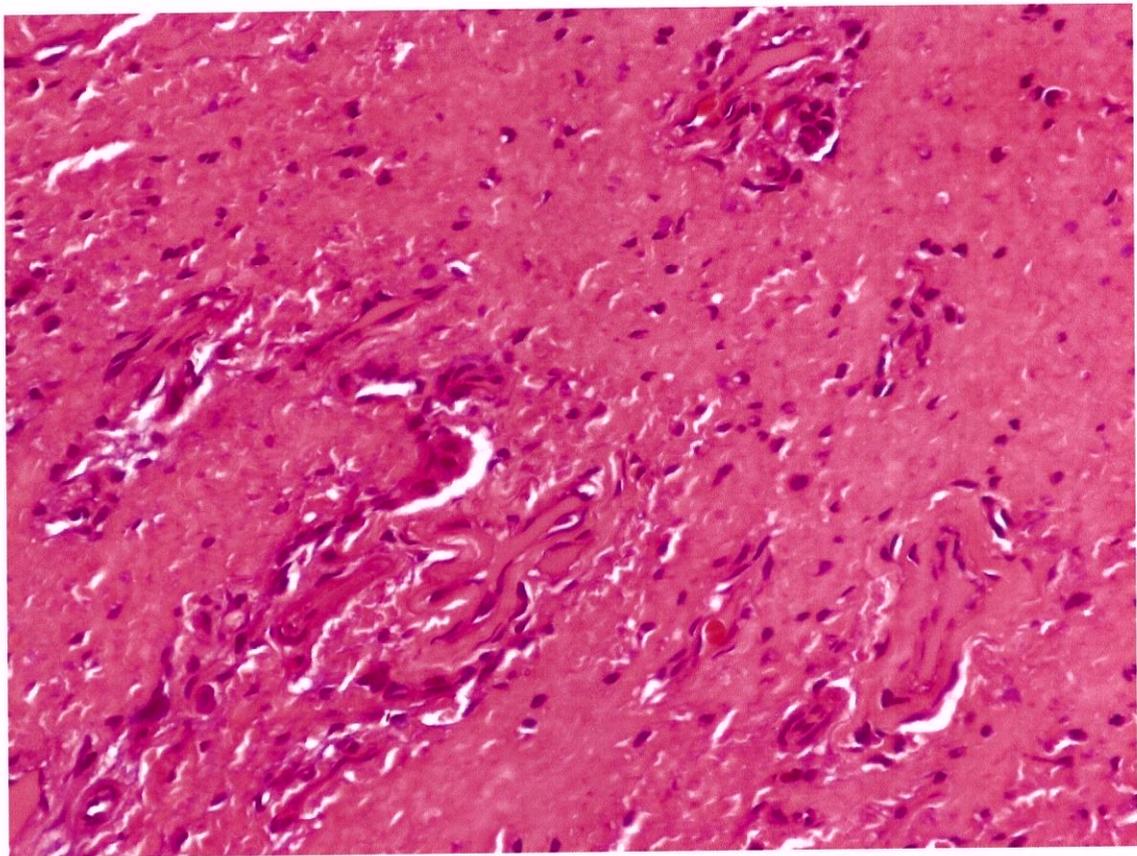
**Figura 5** - Prega vocal direita, com enxertia de fásia na lâmina própria em cão sacrificado após 2 meses. Aumento maior da figura 4. A fásia implantada (entre setas), é constituída por tecido fibroso hipocelular. Observar a ausência de reação inflamatória ou fibrose na lâmina própria circundante.(40X) (cão 10)

A figura 6 mostra a prega vocal esquerda (controle) das figuras anteriores, referentes ao cão 10, salientando a ausência da fásia na lâmina própria.



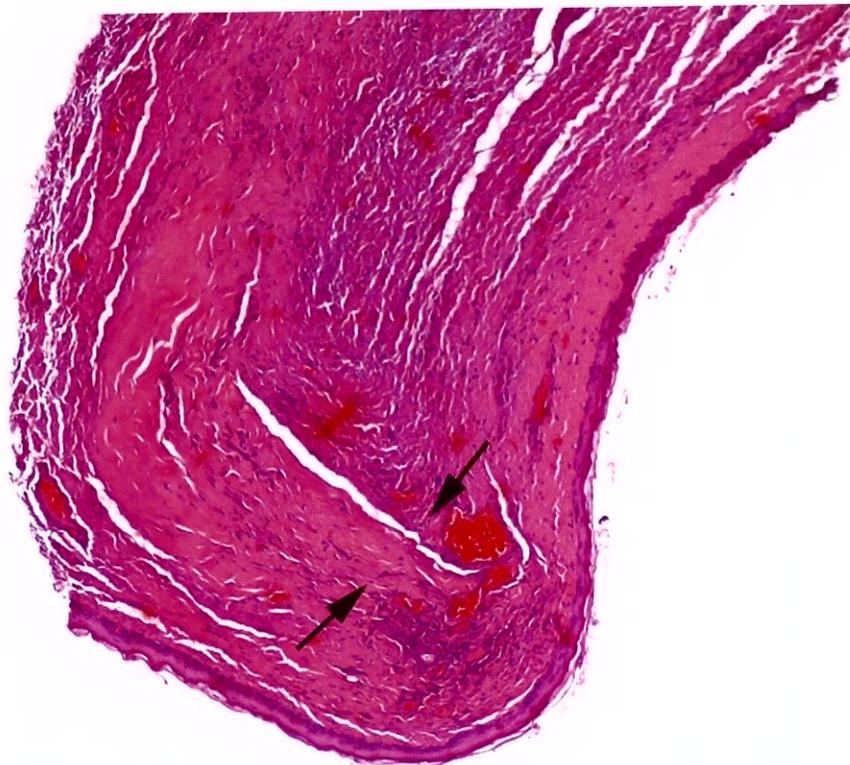
**Figura 6** - Prega vocal esquerda, controle, sem enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. (10X) (cão 10)

A figura 7 apresenta maior aumento (40X) da prega vocal esquerda (controle) do cão 10, onde se pode observar que a lâmina própria apresenta aspecto semelhante à do lado enxertado (PVD), com baixa celularidade e ausência de fibrose e neoformação vascular.



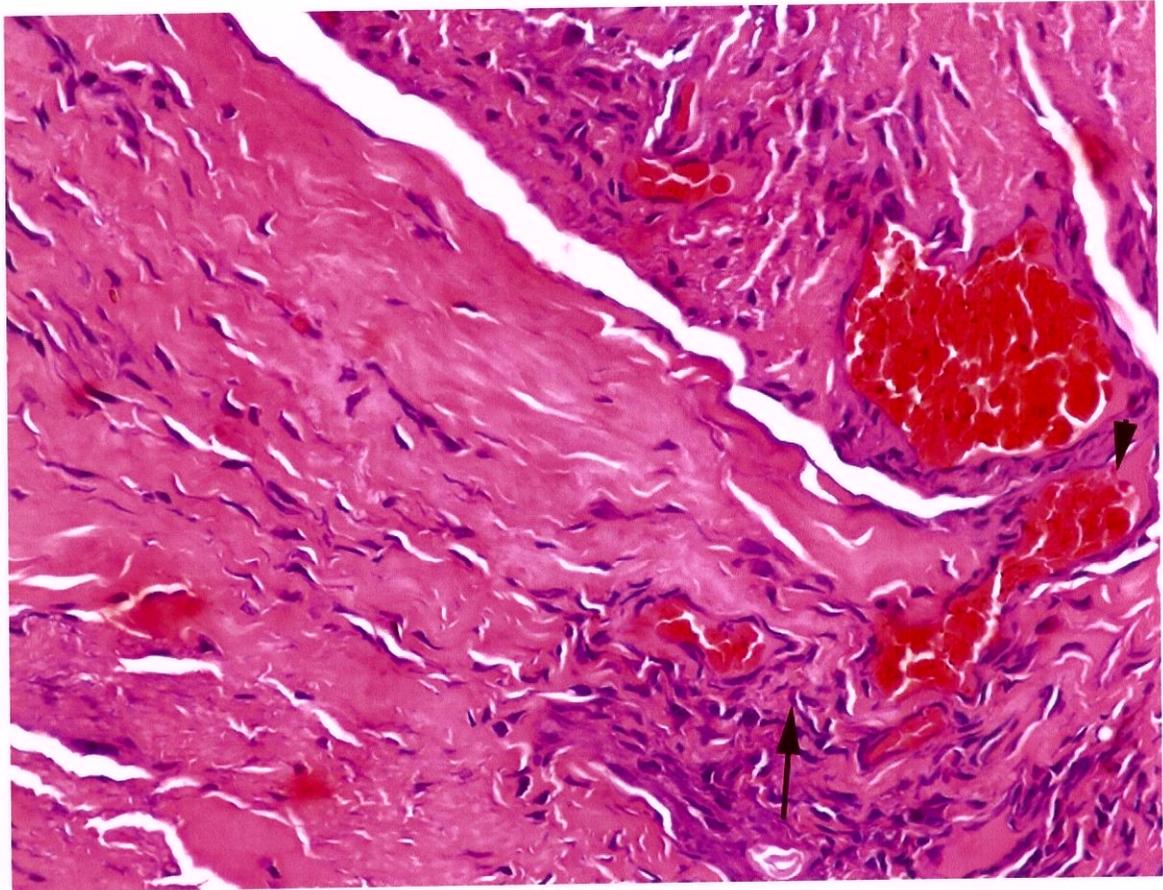
**Figura 7** - Prega vocal esquerda, controle, sem enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. Aumento maior da figura 6. Observar que a lâmina apresenta aspecto semelhante àquela mostrada na figura 5, na qual houve enxertia de fásia.(40X) (cão10)

Na figura 8, em lente de pequeno aumento (4X), é difícil diferenciar a fásia da lâmina própria circunjacente.



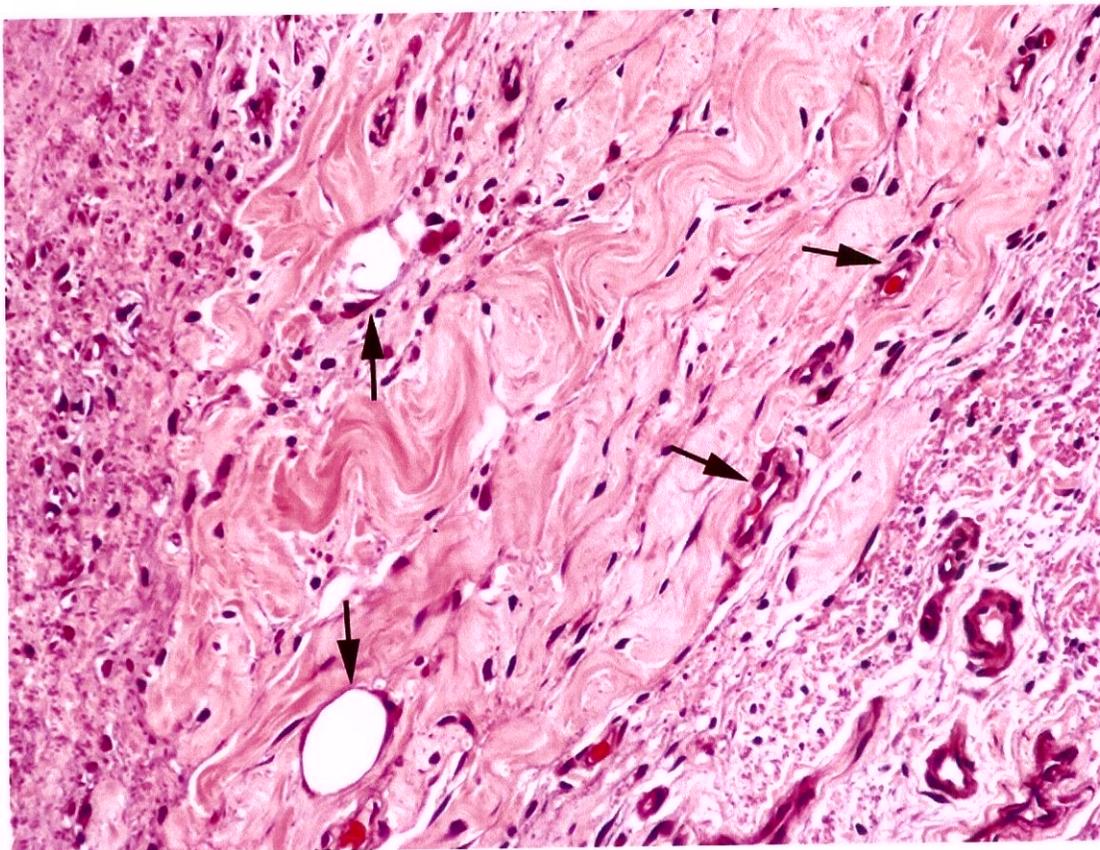
**Figura 8** - Prega vocal direita, com enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. Neste caso a fásia implantada apresenta-se menos evidente devido a sua semelhança com a lâmina própria que a circunda.(4X) (cão 11)

Percebe-se melhor, na fig. 9 com maior aumento (40X), o tecido fibroso acelular da fásia, bem integrado à lamina própria, com destaque para congestão vascular e leve fibrose focal.



**Figura 9** - Prega vocal direita, com enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. Lâmina própria adjacente a fásia apresenta congestão vascular (cabeça de seta) e leve fibrose em áreas (seta preta).(40X) (cão 11)

A figura 10 mostra a prega vocal direita do cão 16 submetido à enxertia de fásia após 2 meses. Nota-se que a fásia sofreu organização e destaca-se a presença de neoformação vascular em seu interior, originada na lâmina própria ao redor.



**Figura 10** - Prega vocal direita, com enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após dois meses. Neste caso a fásia implantada sofreu organização, podendo se observar vasos neoformados no seu interior, os quais são oriundos da lâmina própria que a circunda.(40X) (cão 16)

## 4.2 - Análise histológica grupo B

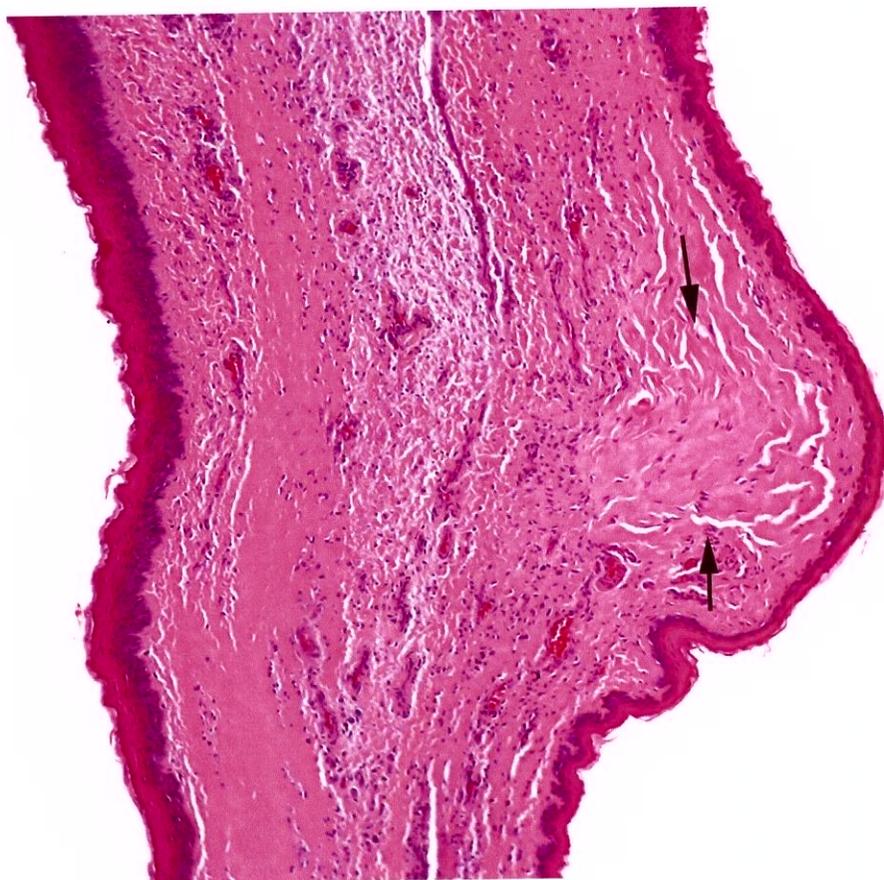
Os aspectos histológicos encontrados em ambas as pregas vocais do grupo B estão expostos na tabela 3

**Tabela 3** - Aspectos histológicos encontrados no grupo B

Número do cão	Intensidade do infiltrado		Predomínio celular		Intensidade da fibrose		Reação crônica		Neo vascularização	
	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE
2	I	I	LH	L	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
3	I	I	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
5	II	I	LH	L	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
9	I	Ø	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
13	I	I	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
18	I	I	L	LH	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø

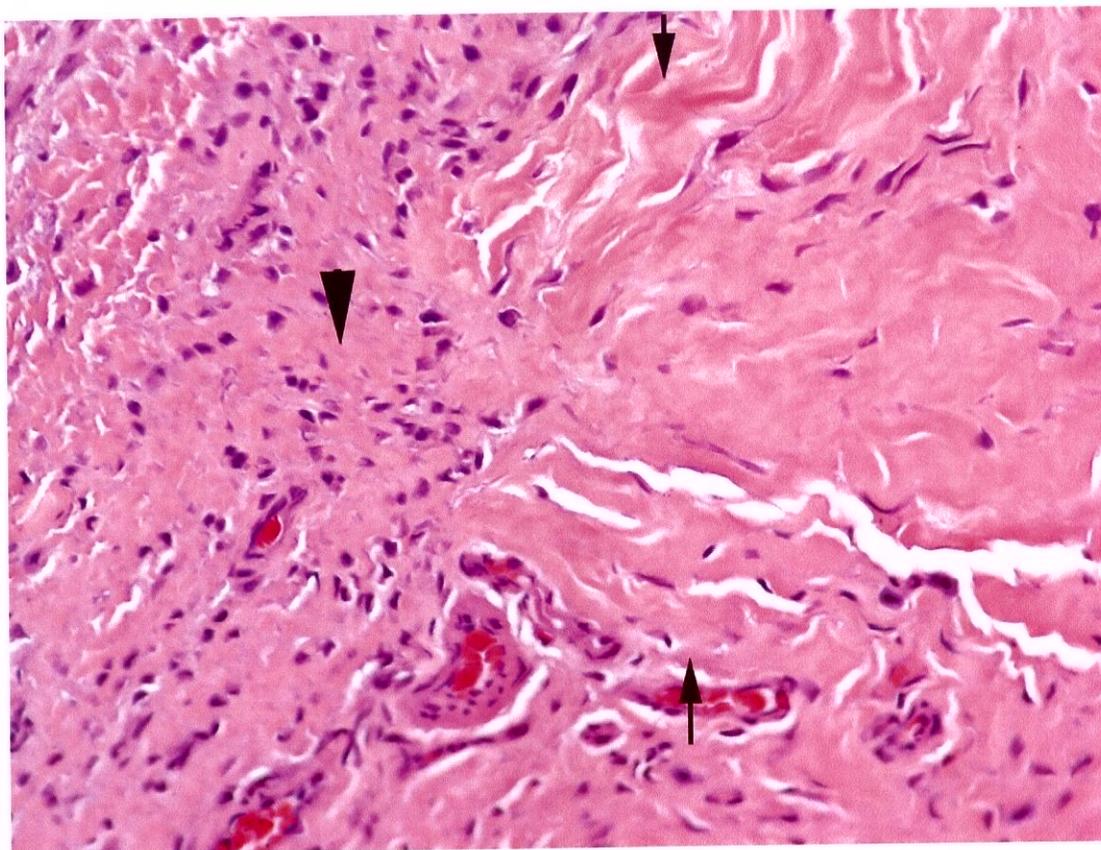
Intensidade do processo inflamatório: ausente (Ø), leve (I), moderado (II), intenso (III); Predomínio de celularidade: Polimorfonucleares (P), Linfocitário (L), Linfohistiocitário (LH), Histiocitário (H); Intensidade da fibrose: ausente (Ø), leve (I), moderado (II), intenso (III); Reação gigante celular: ausente (Ø), presente (I); Presença de neovascularização: ausente (Ø), presente (I)

A figura 11 (cão 3) apresenta o aspecto da prega vocal submetida ao enxerto de fásia há 6 meses. A fásia apresenta-se como bandas de colágeno compactas grossas e eosinofílicas, bem identificadas na lâmina própria. A fásia é hipocelular, com alguns fibroblastos em permeio.



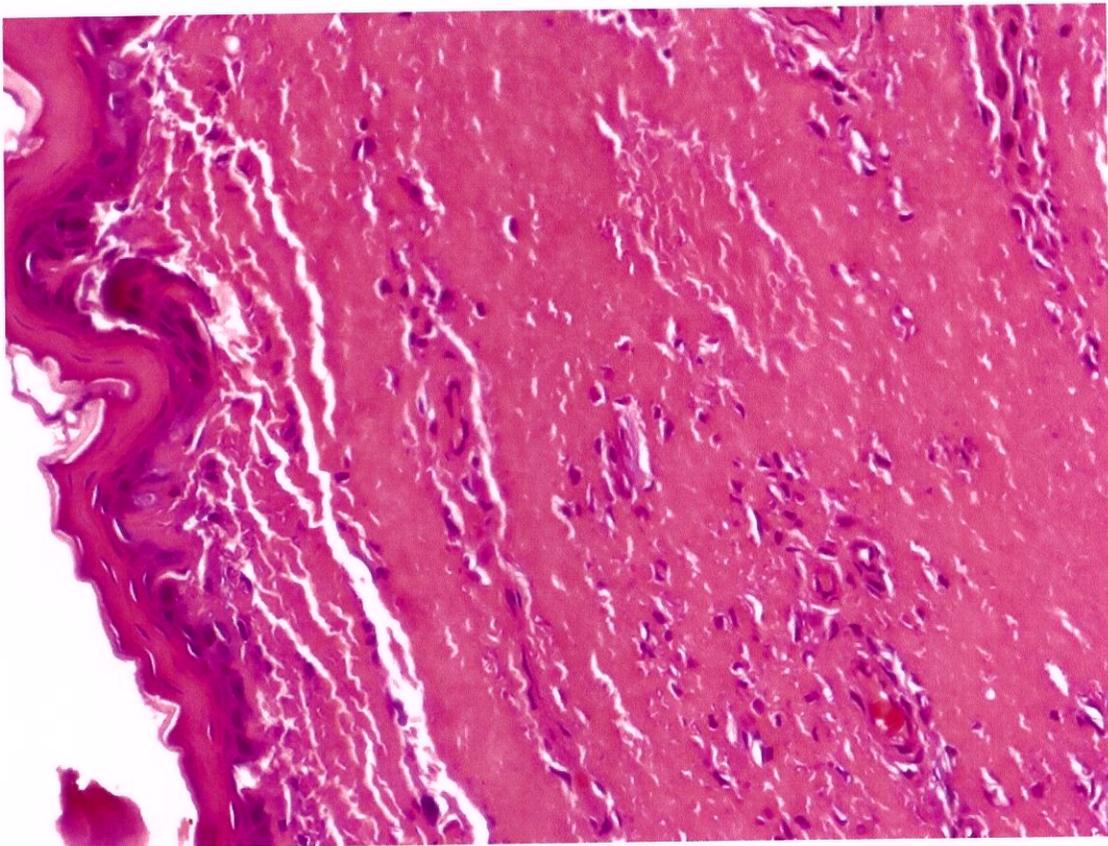
**Figura 11** - Prega vocal direita, com enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após seis meses. Observar a fásia implantada, delimitada entre setas.(4X)  
(cão 3)

Na figura 12 observa-se, em maior aumento (40X), detalhe da prega vocal do mesmo animal. Observa-se aumento da celularidade devido à leve fibrose.



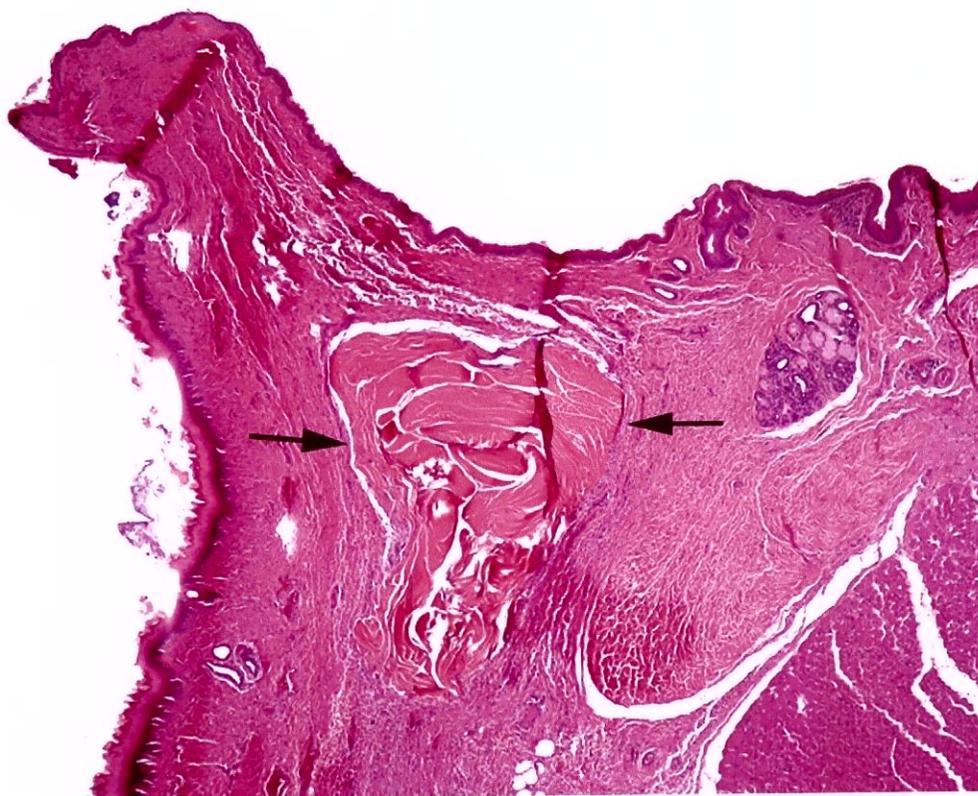
**Figura 12** - Prega vocal direita, com enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após seis meses. Aumento maior da figura 11. Observar a maior celularidade da lâmina própria adjacente à fásia, (cabeça de seta). (40X) (cão 3)

A figura 13 apresenta, em aumento de 40X, detalhe da prega vocal esquerda (controle) do cão 3. A lâmina própria tem aspecto muito semelhante ao da lâmina própria da prega vocal contralateral, no que diz respeito à celularidade e presença de fibrose.



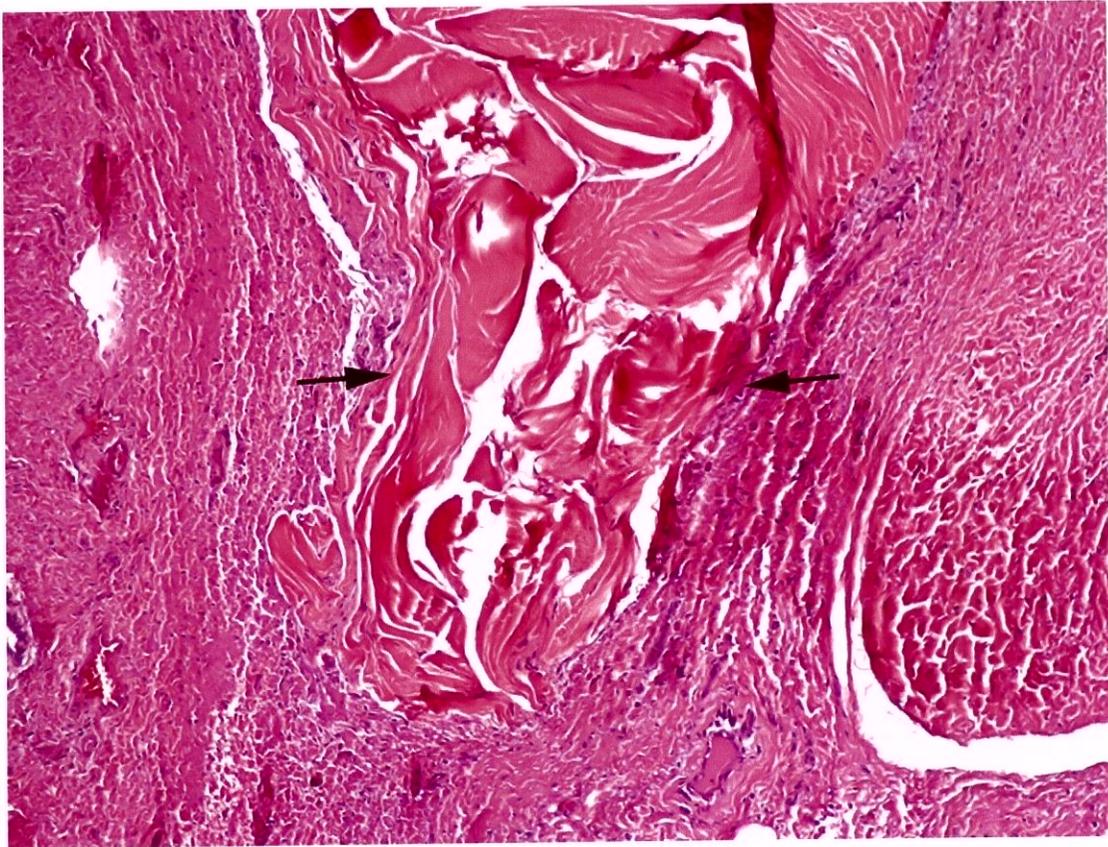
**Figura 13** - Prega vocal esquerda, controle, sem enxerto da fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após seis meses. (40X) (cão 3)

Na figura 14 (cão 2) nota-se a fásia implantada. A lâmina própria não apresenta alterações significantes do tecido que a circunda.



**Figura 14** - Prega vocal direita, com enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após seis meses. Notar a ausência de modificações morfológicas significantes na lâmina própria que a circunda.(4X) (cão 2)

A figura 15 mostra, em detalhe de maior aumento (40X), a fásia implantada constituída por tecido fibroso acelular. Não se percebe inflamação ou fibrose no tecido circundante.



**Figura 15** - Prega vocal direita, com enxerto de fásia na lâmina própria, no cão sacrificado após seis meses. Aumento maior da figura 8. A fásia implantada (entre setas) é constituída por tecido fibroso acelular e a lâmina própria adjacente apresenta ausência de inflamação ou fibrose(40x) (cão 2)

### 4.3 - Comparação entre a PVD (enxertada) e PVE (controle) no grupo A

As tabelas de 4 a 8 mostram a análise comparativa entre os achados histológicos encontrados nas pregas vocais submetidas ao implante de fáschia e nas pregas controles do grupo A, quanto à intensidade do processo inflamatório, predomínio celular, intensidade de fibrose induzida pelo enxerto, neovascularização e presença de reação inflamatória crônica do tipo corpo estranho.

**Tabela 4 - Análise comparativa da intensidade do infiltrado inflamatório entre o lado submetido à enxertia de fáschia (PVD) e o lado controle (PVE) do grupo A**

Intensidade do processo Inflamatório	PVD		PVE	
	n	%	N	%
Ø	0	0	0	0
I	5	83,3	6	100
II	1	16,7	0	0
III	0	0	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Ausente ( Ø ), leve ( I ), moderado ( II ), intenso ( III ), em número absoluto e em frequência relativa P=0,833

Comparando a intensidade da resposta inflamatória das pregas submetidas à enxertia de fragmento de fáschia e as pregas vocais controle do grupo A, não se observa diferença estatística significativa após 2 meses, prevalecendo resposta inflamatória de grau leve. (p=0,833)

**Tabela 5** - Análise comparativa do predomínio da celularidade entre o lado submetido à enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle (PVE) do grupo A

Celularidade Predomínio	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Polimorfonuclear	0	0	0	0
Linfocitário	1	16,7	1	16,7
Linfohistiocitário	4	66,6	5	83,3
Histiocitário	1	16,7	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Polimorfonuclear ( P ), linfocitário ( L ), linfohistiocitário ( LH ), histiocitário ( H ), em número absoluto e em frequência relativa  $p= 1,000$

A análise comparativa da celularidade na lâmina própria no lado submetido à enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle (PVE), nos cães sacrificados após 2 meses, mostra predomínio linfohistiocitário. Não há diferença estatística significativa. ( $p= 1,000$ )

**Tabela 6** - Análise comparativa da intensidade da fibrose entre o lado submetido à enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle(PVE) do grupo A

Intensidade da Fibrose	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Ø	3	50	6	100
I	3	50	0	0
II	0	0	0	0
III	0	0	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Ausente ( Ø ), leve ( I ), moderado ( II ), intensa ( III ), em número absoluto e em percentual  $p= 0,182$

Na comparação da intensidade da fibrose entre a prega vocal submetida à enxertia (PVD) e a prega vocal controle (PVE) se observa predomínio de fibrogênese de grau leve ou ausente ( $p= 0,182$ ), sem diferença estatística.

**Tabela 7 - Análise comparativa da presença de reação crônica do tipo corpo estranho entre o lado submetido à enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle (PVE) do grupo A**

Presença de reação Giganto-celular	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Ø	6	100	6	100
I	0	0	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Ausente(Ø), presente (I), em número absoluto e em percentual p= 1,000

Na comparação entre a presença de reação inflamatória crônica do tipo giganto celular entre o lado submetido à enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle (PVE), não se observa diferença estatística significativa após 2 meses do procedimento cirúrgico. (p=1,000)

**Tabela 8 - Análise comparativa entre a presença de neovascularização entre o lado submetido a enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle (PVE) do grupo A**

Presença de neovascularização	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Ø	0	0	6	100
I	6	100	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Ausente (Ø), presente (I), em número absoluto e em percentual

Quando se compara a neoformação vascular nas pregas vocais submetidas à enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle (PVE), se observa que, na prega vocal operada, todos os animais apresentaram neoformação vascular, ao contrario da prega vocal contralateral.

#### 4.4 - Comparação entre a PVD (enxertada) e PVE (controle) no grupo B

As tabelas de 9 a 13 mostram a análise comparativa entre os aspectos histológicos encontrados nas pregas vocais submetidas ao implante de fásia e nas pregas controles do grupo B, quanto à intensidade do processo inflamatório, predomínio celular, intensidade de fibrose induzida pelo enxerto, neovascularização e presença de reação inflamatória crônica do tipo corpo estranho.

**Tabela 9** - Análise comparativa da intensidade do infiltrado inflamatório entre o lado submetido à enxertia de fásia (PVD) e o lado controle (PVE) do grupo B

Intensidade do processo Inflamatório	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Ø	0	0	1	16,7
I	5	83,3	5	83,3
II	1	16,7	0	0
III	0	0	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Ausente (Ø), leve (I), moderado (II), intenso (III), em número absoluto e em percentual p=1,000

A comparação da intensidade da resposta inflamatória entre a prega vocal submetida à enxertia de fásia e a prega vocal controle do grupo B não mostra diferença estatística significativa após 6 meses do procedimento (p=1,000).

**Tabela 10** - Análise comparativa do predomínio da celularidade entre o lado submetido à enxertia de fásia (PVD) e o lado controle (PVE) do grupo B

Celularidade Predomínio	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Polimorfonuclear	0	0	0	0
Linfocitário	1	16,7	2	33,4
Linfohistiocitário	5	83,3	4	66,60
Histiocitário	0	0	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

polimorfonuclear ( P ), linfocitário ( L ), linfohistiocitário ( LH ), histiocitário( H ), em número absoluto e em percentual p=0,999

A análise comparativa da celularidade da lâmina própria no lado submetido à enxertia e no lado controle, nos cães sacrificados após 6 meses, mostra predomínio linfohistiocitário sem diferença estatística entre os lados (p= 0,999).

Em conjunto, os resultados das tabelas 9 e 10 mostram reação inflamatória leve em PVD e PVE, sem diferença estatística entre os lados.

**Tabela 11** - Análise comparativa da intensidade da fibrose induzida pelo enxerto entre o lado submetido a enxertia de fásia (PVD) e o lado controle do (PVE) grupo B

Intensidade da Fibrose	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Ø	3	50	6	100
I	3	50	0	0
II	0	0	0	0
III	0	0	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Ausente (Ø), leve (I), moderado (II), intensa (III), em número absoluto e em percentual p= 0,182

Na comparação quanto à intensidade da fibrose entre o lado submetido à enxertia de fásia e o lado controle, se observa predomínio de fibrogênese de grau ausente e leve, sem diferença estatística (p= 0,182).

**Tabela 12** - Análise comparativa da presença de reação gigante celular do tipo corpo estranho entre o lado submetido a enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle (PVE) do grupo B

Presença de reação Giganto-celular	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Ø	6	100	6	100
I	0	0	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Ausente (Ø), presente (I), em número absoluto e em percentual p= 1,000

Na comparação entre a presença de reação inflamatória crônica do tipo corpo estranho entre o lado submetido à enxertia de fâscia e o lado controle, observa-se que não houve essa reação em nenhum dos casos operados no grupo B.

**Tabela 13** - Análise comparativa entre a presença de neovascularização entre o lado submetido à enxertia de fâscia (PVD) e o lado controle (PVE) do grupo B

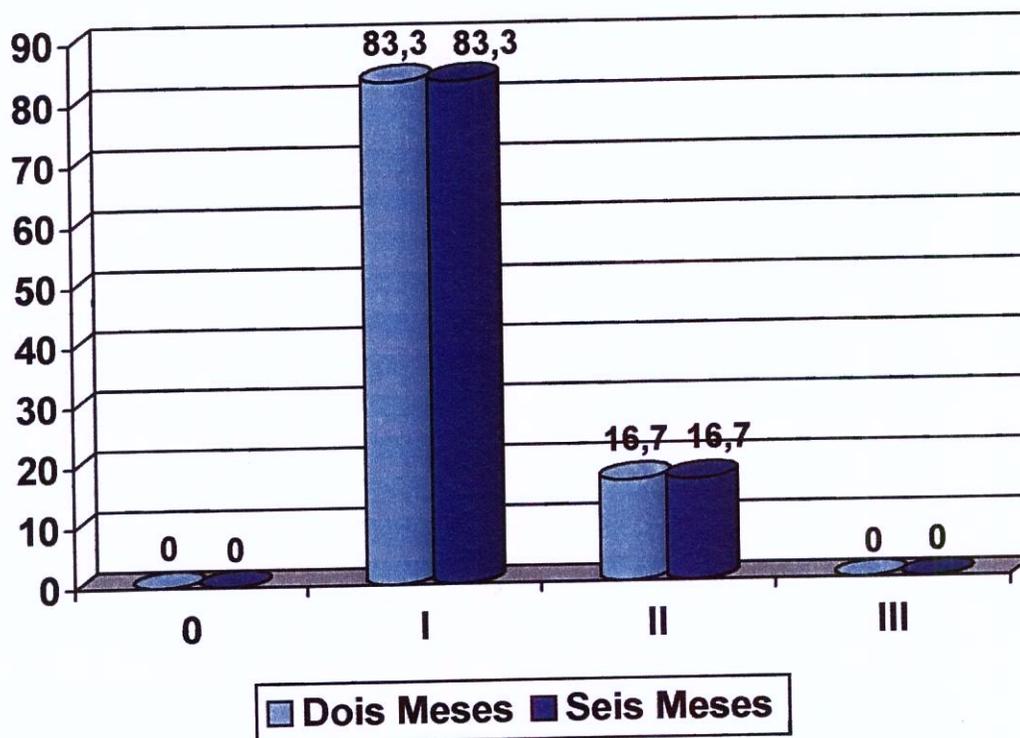
Presença de neovascularização	PVD		PVE	
	n	%	n	%
Ø	0	0	6	100
I	6	100	0	0
TOTAL	6	100%	6	100%

Ausente (Ø), presente (I), em número absoluto e em percentual

Quando se compara a neoformação vascular nas pregas vocais submetidas à enxertia de fâscia (PVD) com o lado controle (PVE), se observa que há aumento da angiogênese em todas as pregas submetidas à enxertia de fâscia.

#### 4.5 - Comparação entre as pregas vocais direitas dos grupos A e B

O gráfico 1 mostra a comparação quanto à intensidade do processo inflamatório das pregas vocais submetidas a enxerto de fásia nos grupos A (2 meses) e o grupo B (6 meses)

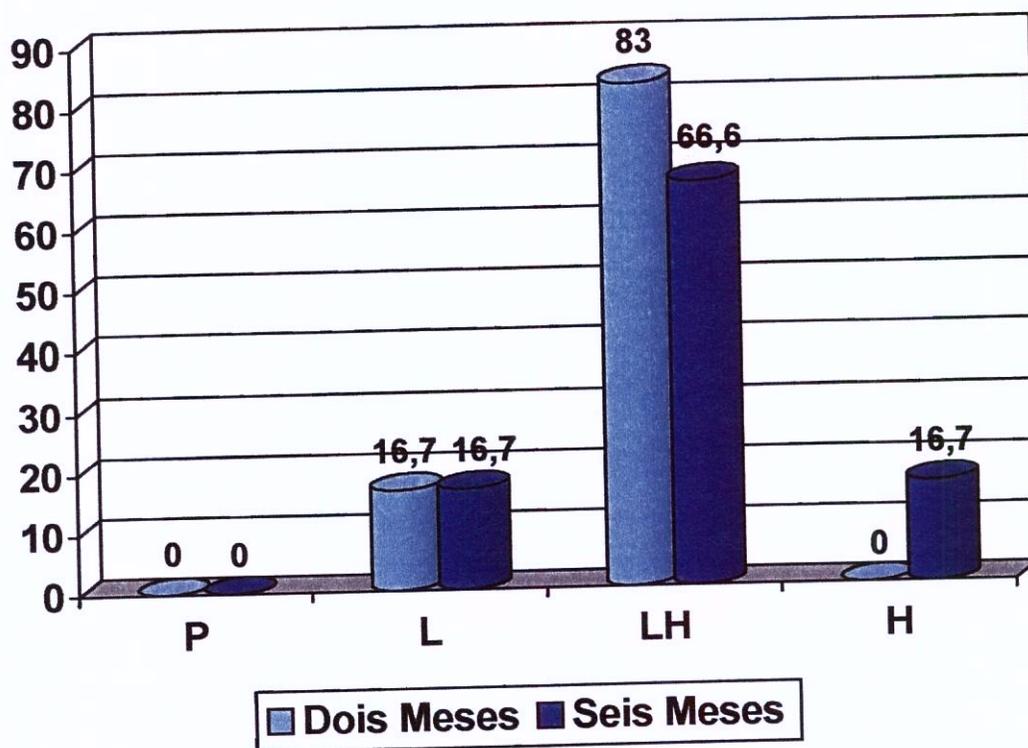


Ausente (Ø) Leve ( I ), Moderado ( II ), Intenso ( III )

P= 1,000

**Gráfico 1** - Análise comparativa da intensidade do infiltrado inflamatório das pregas vocais submetidas a implante de fásia dos grupos A e B

Comparando a frequência relativa da intensidade do processo inflamatório entre as pregas vocais submetidas à enxertia, nota-se que não há diferença entre os 2 grupos de estudo (p= 1, 000).

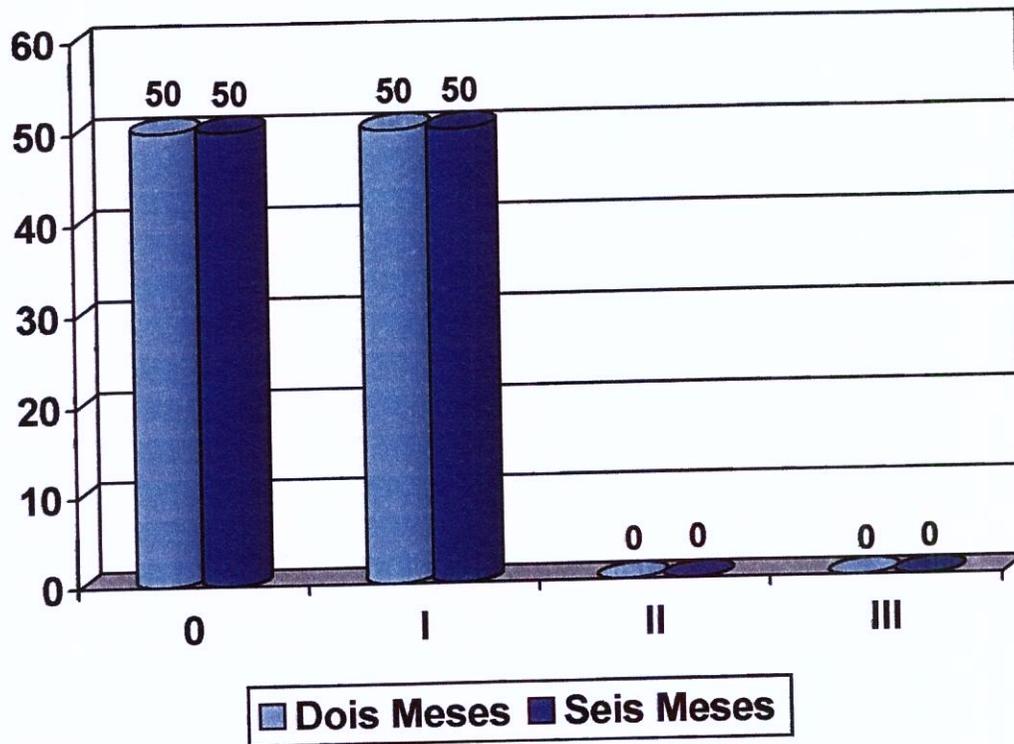


Polimorfonuclear (P), linfocitário (L), linfohistiocitário (LH), histiocitário (H), em número absoluto e frequência relativa.  $p= 0,141$

**Gráfico 2** - Análise comparativa do predomínio da celularidade entre os lados submetidos à enxertia de fâscia nos grupos A e B

À análise comparativa dos grupos A (2 meses) e grupo B (6 meses), observa-se que há predomínio linfohistiocitário nos dois grupos de estudo ( $p= 0,141$ ), sem diferença estatística.

O gráfico 3 mostra a comparação das freqüências relativas quanto à intensidade da fibrose nas pregas vocais submetidas ao enxerto de fâscia nos grupos A (2 meses) e B (6 meses).

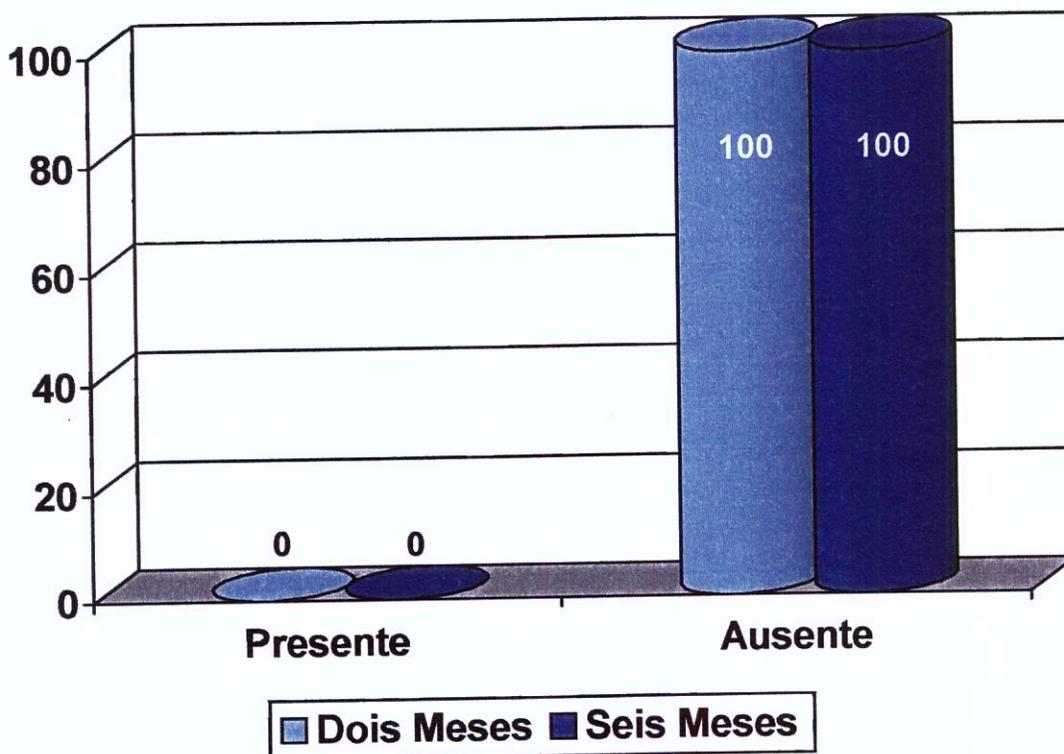


Ausente ( Ø ), leve ( I ), moderado ( II ), intensa ( III ), em número absoluto e freqüência relativa.  $p=1,000$

**Gráfico 3** - Análise comparativa da intensidade da fibrose induzida pelo enxerto entre os lados submetidos à enxertia de fâscia nos grupos A e B

Na análise comparativa da intensidade da fibrose das pregas vocais submetidas à enxertia dos 2 grupos, observa-se que elas são idênticas, com predomínio de intensidade leve e ausente, em ambos os grupos. ( $p=1,000$ )

O gráfico 4 mostra a comparação da resposta inflamatória quanto à presença de reação do tipo corpo estranho nas pregas vocais submetidas ao enxerto de fásia e nas pregas vocais controle nos grupos A (2 meses) e B (6 meses).

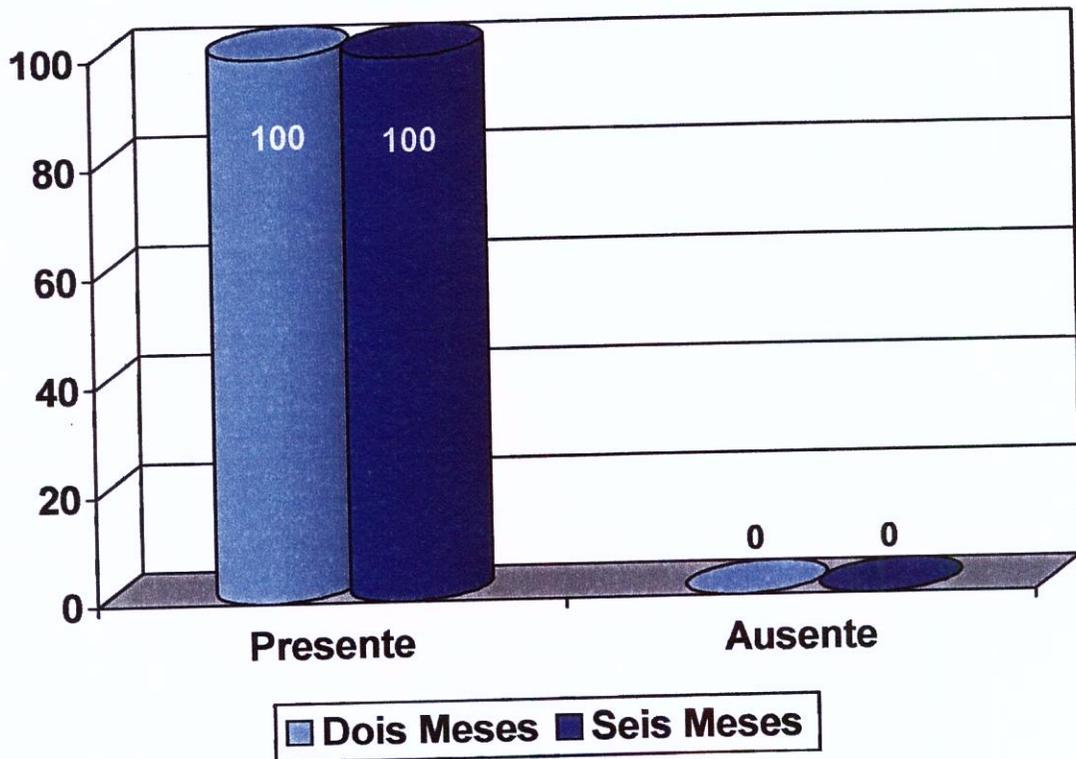


Ausente (Ø), presente (I), em número absoluto e em percentual ( $p=1,000$ ).

**Gráfico 4** - Análise comparativa da presença de reação crônica do tipo corpo estranho entre os lados submetidos à enxertia de fásia nos grupos A e B

Na análise comparativa entre a presença de reação inflamatória crônica do tipo corpo estranho entre as pregas vocais submetidas à enxertia dos grupos A (2 meses) e B (6 meses), não se observa sua presença em nenhum dos casos estudados. ( $p=1,000$ )

O gráfico 5 mostra a comparação quanto à presença de neoformação vascular nas pregas vocais submetidas ao enxerto de fásia e nas pregas vocais controle entre grupos A (2 meses) e B (6 meses).



Ausente (0), presente (1), em número absoluto e em percentual

**Gráfico 5** - Análise comparativa entre a presença de neovascularização entre os lados submetidos à enxertia de fásia nos grupos A e B

Quando se compara a neoformação vascular nas pregas vocais submetidas à enxertia de fásia dos grupos A (2 meses) e B (6 meses), se observa que ambos os grupos apresentaram resultados idênticos. ( $p=1,000$ )

## ***5 - DISCUSSÃO***

Existem várias técnicas cirúrgicas propostas na tentativa de melhorar ou solucionar as alterações vocais decorrentes da perda da estratificação normal da prega vocal. As opções consistem em excisão e ablação do tecido cicatricial; liberação da mucosa e quebra da contratatura linear; medialização da prega vocal seja pela injeção de substâncias e tecidos no espaço de Reinke ou no músculo vocal, seja por cirurgia do arcabouço laríngeo como propostas por Isshiki há 30 anos.

A idéia de se promover a medialização das pregas vocais e com isso fechar a fenda glótica existente não é recente, Brunings (1911) descreveu o implante de parafina no interior do músculo vocal, porém esta substância produzia intensa reação inflamatória. Mais recentemente, o uso de teflon, colágeno autólogo e bovino, hidroxapatita, gordura, ácido hialurônico, gelfoam, enxerto dérmico micronizado acelular humano (cymetra), entre outros, foi estudado e experimentado por diversos autores, com vantagens e desvantagens. No entanto, ainda faltam ensaios clínicos que mostrem resultados estáveis e com respostas reprodutíveis após longo tempo de seguimento.

Devemos ter em mente que, para conseguir resultados próximos do ideal, é importante considerar as propriedades dos materiais biológicos usados e as do sítio receptor, além de aplicar princípios mecânicos já bem estabelecidos, como observar o contato de toda a prega vocal membranosa e o correto nivelamento das pregas vocais.

Para Constantino e Friedman, 1994, o bioimplante ideal depende da facilidade para sua obtenção, da quantidade disponível, da baixa morbidade ao doador, das características imunogênicas e mutagênicas, da baixa susceptibilidade à infecção, da sua maleabilidade e de sua taxa de absorção. A fásia é utilizada, há décadas, em cirurgias plásticas e otológicas, tanto na substituição de tecidos perdidos, quanto para conferir resistência tênsil como no caso de cirurgias ortopédicas para reparação de tendões. E, como característica, apresenta baixa taxa de absorção e complicações. Existem na literatura mundial poucos estudos que analisem o comportamento da fásia quando implantado na prega vocal. Entre os trabalhos existentes os resultados são conflitantes, principalmente no que diz respeito à taxa de absorção.

De acordo com Hom (1994), a evolução do enxerto de tecido em algum sítio receptor depende de uma série de fatores: suporte nutricional, compatibilidade imunogênica e similaridade anatômica entre o enxerto e o hospedeiro. A fásia é constituída por um único tipo de célula, o fibroblasto, e matriz intercelular composta por colágeno, ambos presentes na lâmina própria das pregas vocais. Teoricamente quando implantada na forma autóloga, espera-se que não desencadeie resposta imunológica, e que seja incorporada ao leito receptor.

Para avaliar se a fásia pode ser considerada um bom bioimplante para utilização em fonocirurgia, utilizamos o modelo experimental, por ser mais controlado. O animal escolhido foi o cão que, apesar de possuir mucosa um pouco mais espessa, tem lâmina própria estruturada em três camadas, sendo sua camada superficial de fácil identificação e consistência similar à humana (Garret et al. 2000). No presente estudo analisamos de que maneira o enxerto de fragmento de fásia se comporta quando implantado no espaço de Reinke de pregas vocais de cães.

Os parâmetros escolhidos para avaliar o comportamento da fásia implantada e leito receptor foram baseados na resposta normal de cicatrização do organismo.

Quando o enxerto é introduzido em qualquer outro tecido, os estágios de inflamação e proliferação são prolongados. Ocorre migração de polimorfonucleares, que se dispõem na sua periferia resultando em lise e fagocitose do enxerto. A seguir, por estímulo quimiotático, macrófagos são atraídos e substituem os neutrófilos. Os macrófagos realizam fagocitose de bactérias e desbridam a ferida. O grau de resposta inflamatória ao enxerto parece estar relacionado ao quanto o enxerto é químico ou fisicamente reativo ao sítio receptor. O que pode levar à reparação tecidual normal ou à inflamação crônica (Hom, 1994).

Os resultados deste estudo sugerem que o implante de fásia é bem tolerado, por não ter desencadeado reação inflamatória aguda ou crônica quando realizado na lâmina própria de prega vocal de cão. Não houve diferença estatisticamente significativa, nos períodos de dois e seis meses de seguimento pós-operatório, entre a intensidade da resposta inflamatória nas pregas vocais submetidas à enxertia de fásia e o grupo controle,

submetido à confecção do túnel submucoso, sem, no entanto, ter sido submetido à enxertia de fásia. Estes resultados concordam com os descritos por Reijonen et al. (2000) e Duke et al. (2001), que avaliaram a histologia de pregas vocais submetidas à injeção de fásia lata triturada em músculo vocal de cães.

O predomínio linfo-histiocitário presente na lâmina própria das pregas vocais submetidas à enxertia de fásia, não pode ser considerado como sendo decorrente de reação inflamatória crônica desencadeada pela presença deste tecido. O predomínio linfo-histiocitário também ocorreu na prega vocal controle e não houve diferença estatística significativa quando se comparou os dois lados.

A ausência de macrófagos ativados, no estudo histológico de nossos casos, é outro fato que comprova a biocompatibilidade entre a fásia e a prega vocal. Quando qualquer substância é reconhecida como estranha ao tecido, ocorre a coalescência dos macrófagos que se tornam ativados, e realizam a fagocitose com eliminação do mesmo. Sua presença caracteriza a reação inflamatória crônica do tipo corpo estranho (Robins et al., 1986)

Nosso estudo revelou que a enxertia de fragmento de fásia íntegra na lâmina própria não desencadeou fibrose além do esperado com a manipulação cirúrgica, já que a intensidade da fibrogênese foi semelhante à encontrada nas pregas vocais controle. Em contraste Reijonen et al., em 2000, e Duke et al, em 2001, relataram formação de cápsula fibrosa identificável ao redor do enxerto de fásia triturada, quando injetada em pregas vocais de cães. Em nosso estudo, metade das pregas vocais enxertadas apresentou focos esparsos de fibrose, caracterizados como leve. Provavelmente esses pequenos e raros focos de fibrose estejam mais relacionados ao procedimento cirúrgico em si do que à presença do enxerto. A diferença de nossos resultados com os dos autores citados, talvez possa ser explicada por dois fatores: a integridade dos fibroblastos no fragmento de fásia, em oposição à fásia triturada e o local da enxertia. Na fásia triturada há maior fragmentação de fibroblastos que, assim talvez possam desencadear reação tecidual com fibrose. A camada superficial da lâmina própria pode ser menos indutora da formação de fibrose por ter constituintes semelhantes aos da fásia, diferentemente da enxertia intramuscular.

No nosso experimento, em todos os animais estudados, a fáschia permaneceu presente, sem evidência de ruptura de suas fibras ou aparente absorção do tecido enxertado. Fato que pode ser inferido, também, pela ausência de macrófagos ativos, responsáveis pela fagocitose e eliminação de qualquer substância estranha ao tecido hospedeiro, novamente em concordância aos estudos de Reijonen et al., 2000, Reikonen, 1998, e Duke et al., 2001.

Aparentemente, a fáschia não permanece somente inerte, ocupando espaço no interior da lâmina própria. Talvez seja totalmente integrada ao local, o que é sugerido pela presença de neoformação vascular na periferia e no interior da mesma. Não há trabalhos prévios que avaliem a neovascularização em fáschia enxertada em pregas vocais.

Este é o primeiro estudo que avalia a integração de fragmento de fáschia implantado na lâmina própria. Em quatro dos animais avaliados, a fáschia tornou-se pouco distinta dos tecidos da lâmina própria circunjacente. Este fato pode sugerir que este enxerto possa apresentar boa perspectiva de utilização para o restabelecimento estrutural da lâmina própria na correção de sulcos e cicatrizes, por não induzir à formação de fibrose.

Nos animais onde observamos que a fáschia lata era mais espessa, o enxerto permaneceu mais distinto dos tecidos adjacentes na lâmina própria. A espessura da fáschia talvez deva ser avaliada em estudos posteriores no intuito de adequar as melhores características do enxerto às do leito receptor sejam eles a lâmina própria ou o músculo vocal.

O conjunto de nossos resultados dá suporte às observações clínicas realizadas por Tsunoda et al., (1999, 2000 e 2001), que atribuem a melhoria do padrão vocal, de pacientes com sulcos vocais, operados com utilização de enxertia de fáschia integra.

A técnica cirúrgica de enxertia de fáschia na camada superficial da lâmina própria que desenvolvemos neste trabalho respeita a integridade da mucosa normal, que não precisa ser incisada em grande extensão, elimina a necessidade de suturas e colas para manter o enxerto posicionado. Este procedimento pode ser utilizado em fonocirurgia, em casos selecionados.

## ***6 - CONCLUSÃO***

Da avaliação de 12 cães submetidos à enxertia da fâscia lata na camada superficial da lâmina própria da prega vocal, pudemos concluir que o fragmento íntegro de fâscia enxertado não desencadeia resposta inflamatória aguda ou crônica e não induz à formação de fibrose.

O enxerto de fâscia lata desencadeia neoformação vascular e apresenta boa integração na lâmina própria de prega vocal de cão.

## ***7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

BOYCE R G; NUSS D W; KLUKA E A. The use of autogenous fat, fascia and nonvascularized muscle grafts in head and neck. **Otolaryngol. Clin. of north am.** 1994, 27(1): 39-68,

BUTLER J E; HAMMOND T H; GRAY S D. Gender- related differences of hyaluronic acid distribution in the human vocal fold. **Laryngoscope** 2001, 111(5): 907-911.

CHAN R W; TITZE I R; Viscosities of implantable biomaterials in vocal fold augmentation surgery. **Laryngoscope** 1998, 108(5): 725-731.

CHAN R W; TITZE I R. Hyaluronic acid ( with fibronectin) as a bioimplant for the vocal fold mucosa. **Laryngoscope** 1999, 109 (7 pt1): 1142-1149.

DUKE S G; SALOMON J; BLALOCK D; POSTMA G N; KOUFMAN J A. Fascia augmentation of the vocal fold: Graft yield in the canine and preliminary clinical experience. **Laryngoscope** 200, 111(5): 759-764.

ELIACHAR I; MUNOZ-RAMIREZ H; MYLES J; STROME M. Histopathologic study of alternative substances for vocal fold medialization. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 2000, 109(2): 221-226.

FORD C N; INAGI K; BLESS D M; KHIDR A; GILCHRIST K W. Sulcus vocalis: A rational analytical approach to diagnosis and management. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 1999, 105(2): 189-200.

FORD C N. Advances and refinements in phonosurgery. **Laryngoscope** 1999, 109(12): 1891-1900.

GARRET C G; COLEMAN J R; REINISCH L. Comparative histology and vibration of the vocal folds: Implications for experimental studies in microlaryngeal surgery. **Laryngoscope** 2000, 110(7): 814-824.

GRAY S; PIGNATARI S S N, HARDING P. Morphologic ultrastructure of anchoring fibers in normal vocal fold basement membrane zone. **J voice** 1994, 8(1): 48- 52.

GRAY S D; HAMMOND E; HANSON D F. Benign pathologic reponses of the larynx. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 1995, 104(5): 13-18.

GRAY S D; TITZE I R; CHAN R; HÁMMOND T H. Vocal fold proteoglycans and their influence on biomechanics. **Laryngoscope** 1999, 109(6): 845-854.

GRAY S D; ALIPOUR F; TITZE I R; HÁMMOND T H. Biomechanical and histologic observations of vocal fold fibrous proteins. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 2000, 109(1): 77-85.

HAJI T; MORI K; OMORI K; ISSHIKI N. Experimental studies on viscoelasticity of the vocal fold. **Acta Otolaryngol ( Stockh )** 1992, 112(1): 151-159.

HALLÉN L; TESTAD P; SEDERHOLM S L P; DAHLQVIST A; LAURENT C. DiHA Injections for treatment of Insufficient closure of the vocal folds: early clinical experiences. **Laryngoscope** 2001, 111(6): 1063-1067.

HÁMMOND T H; ZHOU R; HÁMMOND E H; PAWLAK A; GRAY S D. The intermediate layer: A morphologic study of the elastin and hyaluronic acid constituents of human vocal folds. **J Voice** 1997, 11 (1); 59-66.

HAVAS T; LOWINGER D; PRIESTLEY J. Unilateral vocal fold paralysis: causes, options and outcomes. **Aust N Z Surg** 1999, 69(2): 509-513.

HIRANO M; TANAKA S; YOSHIDA T; HIBI S. Sulcus vocalis: funcional aspects. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 1990, 99(9 pt 1): 679-683.

HIRANO M; SATO K; NAKASHIMA T. Fibroblasts in human vocal fold mucosa. **Acta Otolaryngol ( Stockh )** 1999, 119(3): 271-276.

HIRANO M; SATO, K; NAKASHIMA T. Fine structure of the human newborn and infant vocal fold mucosae. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 2001, 110(5 pt 1): 417-424.

HIRANO S; BLESS D M; ROUSSEAU B; WELHAM N; SCHEIDT T; FORD CN. Fibronectin and adhesion molecules on canine scarred vocal folds. **Laryngoscope** 2003, 113(6): 966-972.

HOM D B. The Wound healing reponse to grafted tissues. **Otolaryngol. Clin. of North Am.** 1994, 27(1): 13-24.

HSIUNG M W; WOO P; MINASIAN A; SCHAEFER M J. Fat augmentation for glottic insufficiency. **Laryngoscope** 2000, 110 (6): 1026-1033.

ISHII K, ZHAI W G; AKITA M; HIROSE H. Ultrastructure of the lamina propria of the human vocal fold. **Acta Otolaryngol ( Stockh )** 1996, 116(5):778-782.

KANEMARU S I; KOJIMA H; HIRANO S; NAKAMURA T; MAGRUFOV A; ITO J; OMORI K; HIRATSUKA Y; SHIMIZU Y. Regeneration of the vocal fold using autologous mesenchymal stem cells. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 2003, 112(11): 915-920.

LACCOURREYE O; HANS S; MÉNARD M ;HACQUART N; CREVIER-BUCHMAN L. Results of intracordal injection of autologous fat in postoperative laryngeal paralysis. **Chirurgie** 1999, 124(3): 283-287.

LACCOURREYE O; PACZONA R; AGEEL M; HANS S; BRASNU D; CREVIER-BUCHMAN L. Intracordal autologous fat injection for aspiration after recurrent laryngeal nerve paralysis **Eur Arch Otorhinolaryngol** 1999, 256(9): 458-461.

LINDESTAD P A; HERTEGARD S. Spindle shaped glottal insufficiency with and without sulcus vocalis: a retrospective study. **Ann Otol Rhinol. Laryngol** 1994, 103(7): 547-553.

MELO E C M; LEMOS M; XIMENOS FILHO J A; SENNES L U; SALDIVA P H N; TSUJI D H. Distribution of collagen in the lamina propria of the human vocal fold. **Laryngoscope** 2003, 113(12): 2187-2191.

NISHIYAMA K; HIROSE H; IGUSHI Y; NAGAI H; YAMANAKA J; OKAMOTO M. Autologous transplantation of fascia into the vocal fold as a treatment for recurrent nerve paralysis. **Laryngoscope** 2002, 112(8): 1420-1425.

PAWLAK A S; HÁMMOND E H; HÁMMOND T; GRAY S. D. Immunocytochemical study of proteoglycans in vocal fold. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 1996, 105(1): 6-11.

PONTES P; BEHLAU M; GONSALVES I. Alterações estruturais mínimas da laringe (AEM ): considerações básicas. **Acta Awho** 1994, XIII(1 ): 2-6.

RAVIV R R; JIANG J.; HANSON D G. Comparison of the phonation-related structures among pig, dog, white-tailed deer, and human larynges. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 2001, 110(12): 1120-1125.

REIJONEN P; LEIVO I; NEVALAINEN T; RIIKANEN H. Histology of injected autologous fascia in the paralyzed canine vocal fold. **Laryngoscope** 2001, 111(6): 1068-1074.

RIHKANEN H. Vocal fold augmentation by injection of autologous fascia. **Laryngoscope** 1998, 108(1 pt1): 51-54.

RODJERS B J; ABDUL-KARIM F W; STRAUSS M. Histological study of injected autologous fascia in the paralyzed canine vocal fold. **Laryngoscope** 2000, 110(12): 2012-2015.

ROSEN C A. Vocal fold scar: evaluation and treatment. **Otolaryngol. Clin. of North Am.** 2000, 33(5): 1081-1086.

SITTEL C; THUMFART W F; POTOTSCHNIG C; WITTEKINDT C; ECKEL H E. Textured polydimethylsiloxane elastomers in the human larynx. **J Biomed Mater Res** 2000, 53(6): 646-650.

SOMMER B; SATTLER G. Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of the literature. **Dermatol Surg.** 2000, 26 (12): 1159-1166.

STEIN J; ELIACHAR I; RAMIREZ H M; MYLES J; STROME M. Histopathologic study of alternative substances for vocal fold medialization. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 2000, 109(2): 221-226.

SUAREZ NETO R; CASA . P; VIGIL M V. Morfologia comparada del musculo tiroaritenoidico. **Anales O.R.L. Iber Amer** 1986, XIII(1): 39-63.

THIBEAULT S L; ROUSSEAU B; WELHAM N; HIRANO S; BLESS D M. Hyaluronan levels in acute vocal fold scar. **Laryngoscope** 2004, 114(4): 760-764.

TSUNODA K; TAKANOSAWA M; NIIMI S. Autologous transplantation of fascia into the vocal fold: a new phonosurgical technique for glottal incompetence. **Laryngoscope** 1999, 109(3): 504-508.

TSUNODA K; NIIMI S. Autologous transplation of fascia into the vocal fold. **Laryngoscope** 2000, 110(4): 680-682.

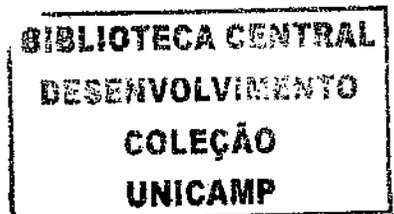
TSUNODA K; BAER T; NIIMI S. Autologous transplation of fascia into the vocal fold: long-term results of a new phonosurgical technique for glottal incompetence. **Laryngoscope** 2001, 111 (3): 453-457.

XIMENES FILHO J A; NASCIMENTO P H S; TSUJI D H; SENNES L U. Histologic changes in human vocal folds correlated with aging: a histomorphometric study. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 2003, 112(10): 894-898.

WOO P; RAHBAR R; WANG Z. Fat implantation into Reike's space: Histologic and stroboscopic study in the canine. **Ann Otol Rhinol Laryngol** 1999, 108(6): 738-744.

ZEITES S M. New procedures for paralytic dysphonia. Adduction arytenopexy, goretex, medialization laryngoplasty and cricothyroid sublaxation. **Otolaryngol. Clin. of North Am.** 2000, 33(4): 841-853.

## ***8 - FONTES CONSULTADAS***



Robins, S. L.; Cotran, R. S.; Kumar, V.M. ed. **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro, ed Guanabara, 1886. p.39-82.

Soares Amora, A. A., **Dicionário da língua portuguesa**. São Paulo, ed. Saraiva, 1997.

## ***9 - ANEXOS***

## IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS

Experimento Nº	2
Ficha de identificação Nº	0637
Data de chegada	14/03/03
Sexo	Masc
Raça	Poodle
Proveniente de	Hortolândia
Vacina anti-rábica	14/03/03
Vacina anti-leptospira	04/04/03
Características	Amarelo pelo grande
Data do experimento	22/05/03
Nº da ninhada	
Data do sacrifício	11/12/03
<p>Cão grande com focinho longo, laringoscópio posicionado atrás dos caninos permitiu ótima exposição das pregas vocais.</p> <p>Enxerto facilmente introduzido com a utilização do descolador.</p> <p>Cão desnutrido apresentava fásia lata pouco espessa.</p> <p>Evolução sem intercorrência.</p>	

## PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL



Universidade Estadual de Campinas  
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal  
CEEA-IB-UNICAMP

## CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 486-1, sobre "Estudo Histológico da Integração de Fascia Autóloga Enxertada no Interior da prega Vocal de Cão" sob a responsabilidade de Agrício Nubiato Crespo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 12/12/2002.

## CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 486-1, entitled "Experimental Study of the Integration of Autologous Fascia Implanted into the Vocal Fold of Dog", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the Institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on December 12, 2002.

Campinas, 12 de Dezembro de 2002.

Prof. Dra. Líana Verinaud  
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso  
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP

## DADOS DE CADA CÃO

Cão Número	Grau do infiltrado		Celularidade predomínio		Grau Fibrose		Reação crônica		Neo vascularização	
	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE
2	I	I	LH	L	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
3	I	I	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
5	II	I	LH	L	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
6	I	I	H	LH	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
9	I	Ø	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
10	II	I	LH	L	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
11	I	I	L	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
12	I	I	LH	LH	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø
13	I	I	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
15	I	I	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
16	I	I	LH	LH	Ø	Ø	Ø	Ø	I	Ø
18	I	I	L	LH	I	Ø	Ø	Ø	I	Ø