REBECCA MAUNSELL

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Otorrinolaringologia, área de concentração em Otorrinolaringologia do(a) aluno(a) **Rebecca Christina Kathleen Maunsell**

Campinas, 24 de fevereiro de 2006

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

EFEITO DA ASSIMETRIA DE TENSÃO DOS MÚSCULOS CRICOTIREÓIDEOS NA VIBRAÇÃO DAS PREGAS VOCAIS - ESTUDO EXPERIMENTAL EM SUÍNOS

CAMPINAS

2006

i

BIBLIOTECA CENTRAL DESENVOLVIMENTO COLEÇÃO UNISAMP

REBECCA MAUNSELL

EFEITO DA ASSIMETRIA DE TENSÃO DOS MÚSCULOS CRICOTIREÓIDEOS NA VIBRAÇÃO DAS PREGAS VOCAIS - ESTUDO EXPERIMENTAL EM SUÍNOS

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 na área de concentração em Otorrinolaringologia.

ORIENTADOR: PROF. DR. AGRÍCIO NUBIATO CRESPO

CAMPINAS

2006

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira - CRB-8ª / 6044

Maunsell, Rebecca M444e Efeito da assimetria de tensão dos músculos cricotireóideos na vibração das pregas vocais – Estudo experimental em suínos/ Rebecca Maunsell. Campinas, SP : [s.n.], 2006.

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

1. Prega vocal. 2. Análise espectral. 3. Eletrodos. 4. Paralisia. I. Crespo, Agrício Nubiato. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Título em ingles : Effects of cricothyroid muscle asymmetry on vocal fold vibration: experimental study

Keywords: • Vocal fold

- Spectrum analysis
- Electrodes
- Paralysis

Área de concentração : Otorrinolaringologia Titulação: Mestrado

Banca examinadora: Prof Dr Agrício Nubiato Crespo Prof Dr Osíris Camponês do Brasil Profa. Dra. Lúcia Figueiredo Mourão

Data da defesa: 24/02/2006

Ao Prof. Maurice Ouaknine por sua paciência e colaboração na minha instrução e aprendizado no manuseio da bancada experimental onde foram realizados os experimentos.

Ao Prof. Antoine Giovanni, Chefe do Laboratoire d'Audiophonologie Clinique do Hopital de La Timone que permitiu e estimulou o uso ilimitado da estrutura física do laboratório para realização destes experimentos.

À inestimável colaboração do Prof. Dr. Marcelo de Oliveira Rosa, sempre disponível, sempre paciente. Sua expertise técnica na análise de sinais elétricos e sua capacidade de transmitir seus conhecimentos de forma tão clara fizeram com que este trabalho pudesse ser concretizado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Agrício Nubiato Crespo que acreditou e apoiou a minha insistência em prosseguir com este trabalho e que, como sempre, somou aos nossos resultados experimentais sua valiosa experiência clínica.

RESUMO	xxvii
ABSTRACT	xxxi
1- INTRODUÇÃO	35
2- OBJETIVOS	43
2.1- Objetivo geral	45
2.2- Objetivos específicos	45
3- REVISÃO DA LITERATURA	47
3.1- Experimentos com laringes excisadas	49
3.2- Experimentos em laringes "in vivo"	53
3.3- A laringe suína	54
4- MATERIAL E MÉTODOS	57
5- RESULTADOS	69
5.1- Periodicidade e sincronia das pregas vocais	71
5.2- Freqüência fundamental (fo)	78
5.3- Características espectrais: harmônicos, subharmônicos, bifonação	81
6- DISCUSSÃO	85
7- CONCLUSÕES	95
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
9- BIBLIOGRAFIA CONSULTADA	107

10- ANEXOS	111
Anexo I- Curvas dos sinais dos optoreflectômetros em cada prega vocal,	
representada por cores diferentes (azul e vermelho). O fluxo aéreo	
está assinalado sobre cada traçado. A curva pontilhada ao fundo	
corresponde ao sinal do eletroglotógrafo. O cálculo da distância	
interpicos pode ser apreciada para cada etapa dos experimentos	113
Anexo II- Espectros extraídos do eletroglotógrafo e optoreflectômetros para	
todos os experimentos, em cada etapa de variação do fluxo aéreo. PV	
– prega vocal	121
Anexo III- Sobreposição dos espectros do eletroglotógrafo (azul, ao fundo) e do	
optoreflectômetro para cada prega vocal (vermelho, em primeiro	
plano). A prega vocal não tensionada está identificada como canal 5	
(sempre na coluna da esquerda) e a prega vocal tensionada está	
identificada como canal 6 (sempre na coluna da direita). As etapas de	
variação do fluxo aéreo para cada experimento estão em ordem	
crescente	135

LISTA DE ABREVIATURAS

CAL	Músculo cricoaritenóideo lateral
СТ	Músculo cricotireóideo
EGG	Eletroglotógrafo
FFT	fast Fourier transform
Fo	freqüência fundamental
hPa	hecta Pascal
Hz	Hertz
l/s	litros por segundo
MHz	megahertz
ORM	optorreflectômetro
Psubgl	pressão subglótica
rpm	rotações por minuto
ТА	Músculo tireo-aritenóideo

Tabela 1-	Valores do coeficiente de Pearson (r) e sua respectiva significância	
((p-valor) para as relações entre fluxo aéreo e distância interpicos e	
I	pressão suglótica e distância interpicos	78

Figura 1-	Ilustração modificada de ISSHIKI (1989) demonstrando as suturas	
	(linhas vermelhas) realizadas entre as cartilagens cricóide e tireóide	
	para simulação da ação do músculo cricotireóideo.**cartilagem	
	tireóide	61
Figura 2-	Vista lateral de laringe posicionada em bancada experimental	62
Figura 3-	Vista lateral de laringe posicionada em bancada experimental. Os	
	optoreflectômetros estão posicionados sobre as pregas vocais (setas vermelhas)	63
Figura 4-	Vista da superfície das pregas vocais e do posicionamento dos optorreflectômetros	64
Figura 5-	Ilustração esquemática simplificada da bancada experimental	65
Figura 6-	Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob fluxo aéreo de 0,3 l/s (a) e 1,0 l/s (b). Gráfico da evolução da distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (c).	
	Experimento 1	72
Figura 7-	Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob fluxo aéreo de 0,3 l/s (a) e 1,0 l/s (b). Gráfico da evolução da distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (c).	
	Experimento 2	73

Figura 8-	Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal	
	não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob	
	fluxo aéreo de 0,3 l/s (a) e 1,0 l/s (b). Gráfico da evolução da	
	distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (c).	
	Experimento 3	74
Figura 9-	Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal	
	não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob	
	fluxo aéreo de 0,3 l/s (a) e 1,0 l/s (b). Gráfico da evolução da	
	distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (c).	
	Experimento 4	75
Figura 10-	Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal	
	não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob	
	fluxo aéreo de 0,3 l/s (a) e 1,0 l/s (b). Gráfico da evolução da	
	distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (c).	
	Experimento 5	76
Figura 11-	Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal	
	não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob	
	fluxo aéreo de 0,3 l/s (a) e 1,0 l/s (b). Gráfico da evolução da	
	distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (c).	
	Experimento 6	77
Figura 12-	Espectro de todo o experimento 1 a partir do sinal do EGG e dos	
8.	optorreflectômetros da prega vocal não tensionada e da prega vocal	
	tensionada nos respectivos fluxos aéreos testados (de 0,3 l/s a	
	1,0 l/s)	82
Figura 13-	Sobreposição do espectro do EGG (em azul) com o espectro da	
	prega vocal não tensionada (a) e da prega vocal tensionada (b), em	
	cor vermelha. Experimento 1, fluxo aéreo de 1,0 l/s	83

Gráfico 1-	Variação da Fo (Hz nas ordenadas) em função do fluxo aéreo em	
	cada experimento (em l/s nas abscissas)	80
Gráfico 2-	Variação da pressão subglótica (em hPa nas ordenadas) em função	
	da variação do fluxo aéreo (em l/s nas abscissas). P= pressão	
	subglótica	81

Quadro 1-	Valores das freqüências fundamentais (Fo) e pressão subglótica em	
	função da variação do fluxo aéreo (l/s).	79

RESUMO

Estudos experimentais tem sido de grande utilidade para a compreensão da fisiologia da vibração das pregas vocais e seus mecanismos de compensação, em especial os estudos com situações de assimetria. A situação clínica de assimetria de tensão das pregas vocais tem sido particularmente enfocada nos últimos anos em decorrência de sua sintomatologia sutil e de uma incidência crescente após disseminação do uso da eletromiografia de laringe na prática diária dos otorrinolaringologistas.

O objetivo deste estudo foi de descrever e analisar o padrão vibratório das pregas vocais em situação de assimetria causada pela simulação da ação unilateral do músculo cricotireóideo, que leva a uma assimetria de tensão das pregas vocais.

O estudo foi desenvolvido em laringes excisadas e o padrão vibratório foi avaliado por meio de eletroglotografia e a optorreflectometria. A optoreflectometria consiste em método de análise do deslocamento vertical, individual de cada prega vocal. Para cada experimento as pregas vocais eram submetidas a fluxos aéreos crescentes e, dados referentes à pressão subglótica, freqüência fundamental de vibração das pregas vocais e o sinal elétrico produzido pelo eletroglotógrafo e pelos dois optorreflectômetros eram coletados. A análise dos dados se baseou no estudo descritivo qualitativo e quantitativo das curvas de vibração das pregas vocais e dos espectros extraídos a partir do eletroglotógrafo e cada optorreflectômetro.

Os movimentos vibratórios das pregas vocais foram periódicos, no entanto, houve uma diferença de fase entre as pregas vocais em todos os experimentos. A freqüência fundamental foi a mesma para ambas as pregas vocais em cada etapa de variação do fluxo aéreo. Observou-se a presença de subharmônicos e bifonação em todos os experimentos. A prega vocal não tensionada apresentou maior variabilidade espectral com a variação do fluxo aéreo do que a prega vocal tensionada.

ABSTRACT

Experimental studies have been of great use in the comprehension of vocal fold physiology and its compensatory mechanisms. Studies of asymmetric conditions of the larynx have been of particular interest for these purposes. The clinical condition of vocal fold tension asymmetry has been increasingly reported in the past years. This is probably due to its subtle clinical presentation in contrast to the increasing number of diagnosis being made after the growing knowledge and use of laryngeal electromyography.

The purpose of this study was to describe and analyze the vibratory pattern of the vocal folds in an asymmetric condition. Asymmetry was caused by simulation of the unilateral action of the cricothyroid muscle that leads to tension asymmetry of the vocal folds.

The experiments were performed on excised larynges. Electroglotography and optoreflectometry were used to evaluate vocal fold vibration. Optoreflectometry analyzed vertical displacement of each vocal fold, separately. For each larynx vocal fold vibration was observed under increasing airflow. At each air flow variation data regarding, subglottic pressure, fundamental frequency of vibration and signals produced by electroglotography and both optoreflectometers were registered for posterior analysis. Data analysis consisted on a qualitative and quantitative description of the curves of vibration. Power spectrums were used for detailed analysis of spectral formation, identification of harmonics and signal perturbations.

Vibratory movements of the vocal folds were periodic. A phase shift was found on all experiments. Fundamental frequency was the same for both vocal folds under the same airflow. Subharmonics and biphonation were observed on all experiments. The lax vocal fold showed greater spectral variation with increasing airflow than the tense vocal fold.

1- INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas décadas as alterações neurológicas da laringe e, em especial, a paralisia do músculo cricotireóideo tem despertado interesse entre os diversos profissionais que se ocupam direta ou indiretamente da fisiopatologia e tratamento das alterações vocais.

O músculo cricotireóideo (CT) é o único músculo inervado pelo ramo externo do nervo laríngeo superior. A contração do CT provoca tração do bordo anterior da cartilagem cricóide superiormente e posteriormente, em direção à tireóide, acarretando aproximação da porção anterior das cartilagens tireóide e cricóide (ARNOLD, 1961). Como as cartilagens aritenóides estão apoiadas sobre a cartilagem cricóide, este movimento provoca alongamento ou estiramento das pregas vocais que estão inseridas anteriormente na cartilagem tireóide e, posteriormente, nas cartilagens aritenóides. A contração unilateral ou assimétrica destes músculos pode resultar em assimetria de tensão das pregas vocais e alterações da vibração das mesmas em maior ou menor intensidade.

A paralisia unilateral dos músculos cricotireóideos provoca assimetria de tensão entre as pregas vocais. Esta situação clínica tem sido foco de interesse em decorrência dos relatos de número crescente de pacientes diagnosticados após o refinamento das técnicas da eletromiografia laríngea (ABELSON e TUCKER 1981; TANAKA et al., 1994; DURSON et al., 1996). Desde FAABORG-ANDERSEN (1957, 1960) e DEDO (1969, 1970) a eletromiografia tem se tornado exame de rotina na prática clínica nas suspeitas de doenças neuromusculares. A cada ano, maior experiência é descrita (ECKLEY et al., 1998, KIMAID et al., 2004, NASSERI e MARRAGOS 2000, KOUFMAN e BELAFSKY 2001) e, conseqüentemente, maior número de casos de paralisia do CT são diagnosticados. Já em 1961, ARNOLD afirmava que a paralisia do CT ocorria com maior freqüência do que se reconhecia e WARD et al. em 1977 ainda suspeitavam que a paralisia do nervo laríngeo superior era uma entidade subdiagnosticada. Cresceu também o interesse nas repercussões clínicas desta alteração visto que inúmeros casos diagnosticados pela eletromiografia laríngea pareciam, à primeira vista, «assintomáticos». NASSERI e MARAGOS (2000) mais recentemente também chamaram atenção para o fato de que este é um tipo de paralisia vista regularmente, na prática clínica, apesar de ser considerada incomum.

ABELSON e TUCKER (1981), em seu estudo com voluntários, provocaram paralisia do nervo laríngeo superior por injeção de anestésico local e observaram vozes discretamente soprosas com aperiodicidade, quebras de pitch na exploração da extensão vocal e dificuldade de controlar a variação do *pitch* na fonação sustentada. Em geral, os sintomas mais descritos referem-se à presença de voz fraca, monótona e com baixo registro modal, perda da abrangência em *pitch* elevado, pigarro, dificuldade em elevar, mudar e manter o pitch elevado (DURSON et al., 1996; NASSERI e MARAGOS, 2000). Quanto às alterações observadas à laringoscopia os achados mais comumente relatados com maior ou menor ênfase conforme o autor são: prega vocal encurtada, desnivelada e hiperemiada em relação à prega vocal contralateral (WARD, 1977); desvio lateral assimétrico da epiglote e da porção anterior da laringe em direção ao lado não paralisado e da região posterior em direção ao lado paralisado (NEW e CHILDREY, 1930; ARNOLD, 1962; FAABORG-ANDERSEN e JENSEN, 1964; ABELSON e TUCKER; MAY et al., 1980); rápida perda da regularidade vibratória e movimentos verticais anômalos da prega vocal paralisada (MYGIND, 1906; BEYER, 1941) e atrofia da prega vocal (NEW e CHILDREY, 1930). Mais recentemente KOUFMAN e BELAFSKY (2001) apontaram uma possível associação destas alterações neurológicas com a ocorrência de lesões unilaterais das pregas vocais como o edema localizado unilateral e o pseudocisto. Segundo estes autores a fisiopatologia do aparecimento destas lesões poderia ser explicada pela atividade muscular assimétrica.

A relevância do CT no controle do *pitch* e na capacidade de atingir notas agudas tem sido enfocada há muitas décadas. FAABORG-ANDERSEN em seu artigo clássico de 1957 demonstrou um registro de baixa atividade do CT durante o repouso e contração de intensidade crescente com o aumento progressivo do *pitch*. ATKINSON (1978) em seu estudo eletromiográfico dos músculos esterno-hióideo, cricoaritenóideo lateral (CAL), tireoaritenóideo (TA) e cricotireóideo (CT) durante a fonação observou alta correlação da freqüência fundamental (Fo) com a atividade do cricotireóideo. Esta correlação, da freqüência fundamental (Fo) com a atividade muscular, era bem menos evidente para o TA e o CAL. HIRANO et al (1969) embasados em seus achados eletromiográficos já identificavam o CT como primariamente responsável pela variação da Fo e, secundariamente, o TA e o CAL tanto na fala quanto no canto. Em geral,

os inúmeros estudos nesta linha são concordantes com relação à ação do CT como grande responsável pela variação da Fo. Em estudo experimental utilizando cães HONG et al. (1998) demonstraram maior aumento da Fo quando os dois ventres do CT, *pars recta* e *pars obliqua*, eram estimulados eletricamente sugerindo uma ação sinérgica das duas porções do músculo.

A voz é resultado do ato físico da interação das pregas vocais com um fluxo de ar exalado. O modelo físico ideal para a produção de voz pressupõe a existência de pregas vocais simétricas quanto à anatomia, deslocamento e tensão. Esta simetria permite o estabelecimento de um padrão vibratório perfeitamente sincronizado onde, apesar de existirem dois osciladores (as pregas vocais) vibrando, o sinal resultante da interação dos dois é indistinguível daquele produzido por um único oscilador (TITZE, 1993). Segundo TITZE (1993) as pregas vocais são como as duas hemifaces : jamais são perfeitamente simétricas. Ainda assim, normalmente, as pregas vocais vibram de forma sincrônica. Existem, portanto, mecanismos compensatórios destas pequenas assimetrias.

O contato entre as pregas vocais a cada ciclo vibratório é um dos principais mecanismos responsáveis pela sincronia de vibração, ainda que exista assimetria entre elas (ISSHIKI et al., 1977; FLETCHER, 1996). Outro mecanismo compensatório de pequenas assimetrias entre as pregas vocais é o aumento da pressão subglótica. Há décadas esta constatação fornece bases para técnicas fonoterápicas aplicadas a pacientes disfônicos. Cada vez mais pesquisadores vêm contribuindo para a compreensão dos mecanismos envolvidos no movimento vibratório das pregas vocais e da interação entre elas. Busca-se promover um raciocínio diagnóstico cada vez mais refinado e que oriente terapêuticas mais precisas e eficazes para as alterações da voz. Com esta finalidade, inúmeros trabalhos vêm sendo direcionados ao estudo das assimetrias das pregas vocais.

Diversos autores estudaram situações clínicas de assimetria. Nódulos, pólipos, cistos (REMACLE e TRIGOUX, 1991), papilomas (ASKENFELT e HAMMARBERG, 1964), neoplasias (KOIKE, 1969), paralisias (PTOK et al., 1993; SMITH et al., 1992) e doenças neurológicas (LUDLOW et al., 1983; TITZE, 1993) podem causar assimetria de massa e tensão das pregas vocais. Outros priorizaram estudos em laringes excisadas, animais e humanas (ISSHIKI et al., 1977; FLETCHER, 1996;

GIOVANNI et al., 1999; YANAGI e MCCAFFREY, 1992), e alguns ainda desenvolveram estudos «in vivo» em laringes de cães (SLAVIT et al., 1991). De modo geral estes estudos permitiram a observação de diversos fenômenos acústicos como a modulação de amplitude e/ou freqüência que refletiriam esta assincronia das pregas vocais. O achado destes fenômenos poderia auxiliar no diagnóstico de algumas doenças conforme sugerem alguns autores (REMACLE e TRIGOUX, 1991; OUAKNINE et al., 2000).

Quando uma assimetria faz com que cada prega vocal tenha tendência a oscilar, simultaneamente, em modos diferentes, uma das acomodações para este conflito de dominância dos modos é que cada modo de vibração «tenha a sua vez» (TITZE, 1993). Surgem então períodos e amplitudes alternantes que são as chamadas bifurcações. Bifurcações são mudanças qualitativas no comportamento de um sistema dinâmico como o das pregas vocais. Estas bifurcações são freqüentemente precursoras do caos em sistemas dinâmicos (TITZE, 1993), ou seja, da imprevisibilidade dos movimentos e desordenação total. As bifurcações geralmente ocorrem quando algum parâmetro do sistema vibratório é mudado, como fluxo aéreo, tensão muscular, assimetrias em geral. Em análises espectrográficas, que são particularmente relevantes no estudo dos sinais vocais, as bifurcações mais importantes são os subharmônicos e as modulações de baixa freqüência. Ocasionalmente bifurcações podem aparecer em situações normais como relatados por SIRVIO e MICHELSSON em 1976, em seu estudo espectrográfico de choro de recémnascidos. DOLANSKY (1968), KLATT (1990) e MOORE (1958) também relataram a presença de bifurcações ocasionalmente em vozes normais. Sabe-se que pequenas variações ou perturbações em amplitude e freqüência nos sinais vocais são ingredientes naturais da fonação normal (LIEBERMAN, 1991). Estas variações são provavelmente secundárias à periodicidade do sistema de controle neuromuscular da fonação (SCHULTZ-COULON, 1979). No entanto, perturbações de grande magnitude produzem vozes ásperas e refletem alterações do padrão vibratório normal das pregas vocais, freqüentemente associado à disfunção laríngea (VON LEDEN, 1960). Episódios de vocalização subharmônica são percebidos acusticamente como aspereza intermitente (HERZEL, 1994). Se os subharmônicos são de muito baixa freqüência o sinal acústico percebido é de «vocal fry» (HERZEL, 1994) que, apesar de ser considerado

lingüisticamente normal (HOLLIEN, 1968) é sintomático nas patologias laríngeas (TITZE, 1989).

Na tentativa de caracterizar especificamente a paralisia unilateral dos músculos cricotireóideos e o padrão vibratório das pregas vocais secundário a esta paralisia reproduziu-se um modelo de assimetria das pregas vocais bastante simplificado, mas, de grande interesse clínico. Neste estudo simulou-se, em bancada experimental, a ação unilateral dos músculos cricotireóideos. A metodologia utilizada e validada por estudos anteriores (OUAKNINE et al., 2003) permitiu, análise individual de cada prega vocal durante o ciclo vibratório. A compreensão do comportamento isolado de cada prega vocal talvez possa explicar a eficiência dos mecanismos de compensação em pregas vocais assimétricas.

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Avaliar os efeitos da assimetria de tensão dos músculos cricotireóideos no modo de vibração das pregas vocais com variação do fluxo aéreo quanto à:

2.2- Objetivos específicos

Avaliar os efeitos da assimetria de tensão dos músculos cricotireóideos com variação do fluxo aéreo quanto à:

- periodicidade e sincronia de vibração;
- freqüência fundamental de vibração das pregas vocais;
- ocorrência de bifurcações no modo de vibração;
- efeitos da assimetria em cada prega vocal, isoladamente, quanto à definição de harmônicos.

3- REVISÃO DA LITERATURA

3.1- Experimentos com laringes excisadas

VAN DEN BERG e TAN (1959). Estudaram o mecanismo de produção da voz humana em 29 laringes humanas excisadas. Após remoção de toda a supraglote para adequada exposição da superfície vestibular das pregas vocais, as laringes foram presas a uma barra vertical. As aritenóides foram fixadas através de um ponto de sutura entre os seus processos vocais. Fluxo aéreo infraglótico, aquecido e umidificado foi aplicado. Simulou-se o estiramento das pregas vocais por meio de um fio inextensível instalado na cartilagem tireóide, logo acima da inserção das pregas vocais na comissura anterior. A força máxima aplicada ao estiramento foi de 300g. Avaliou-se o padrão vibratório com estroboscopia. Concluíram que o padrão vibratório obtido não foi diferente daquele observado "in vivo", no entanto, afirmaram que o padrão vibratório pôde ser analisado com muito mais detalhe. Um fluxo mínimo foi necessário para fazer com que as laringes vibrassem. O aumento do fluxo foi associado a aumento do *pitch*. Diferenças consideráveis foram observadas entre as pregas vocais. No entanto, o padrão vibratório foi sempre normal quando uma das pregas vocais era praticamente normal e também quando as pregas vocais eram tecnicamente transformadas em pregas assimétricas. Isto, segundo o autor, foi atribuído ao fator de coaptação, segundo ele, a prega vocal com menos limitação na amplitude dos movimentos rege os movimentos vibratórios.

VAN DEN BERG (1962). Seu trabalho representou um marco para a época e cuja metodologia tem sido repetida por todos os pesquisadores contemporâneos que trabalham com modelos laríngeos excisados em bancada experimental. Descreveu um formato experimental para estudos com laringes excisadas frescas. Descreveu ainda a possibilidade de simular vários graus de atividade dos músculos interaritenóides, cricoaritenóideos posteriores, cricoaritenóideos laterais e cricotireóideos com o uso de fios de sutura. Na ocasião, utilizou como métodos de avaliação da vibração das pregas vocais, luz estroboscópica e filmagem. Fez observações quanto à grande utilidade dos experimentos em laringes excisadas para a compreensão da função laríngea. Intrigou-se com o fato de laringes bastante assimétricas soarem absolutamente normais enquanto que por outro lado outras com assimetrias discretas poderiam soar bastante "ásperas".

ISSHIKI et al. (1977). Em trabalho experimental com laringes excisadas humanas e caninas simularam a fonação com as pregas vocais aduzidas em diferentes posições de repouso. Para cada grau de abertura glótica variaram a tensão das pregas vocais de modo a provocar assimetria de tensão. A assimetria foi simulada por meio de fios de sutura e pesos fixos a uma das extremidades destes fios. Avaliaram a vibração das pregas vocais com fotografias ultra-rápidas e posterior análise quadro a quadro. Avaliaram também, a freqüência de vibração extraída do sinal sonoro produzido pela vibração. As variáveis estudadas foram: pressão subglótica, fluxo aéreo, área glótico de repouso, peso aplicado sobre o músculo. Foram estudadas 20 condições distintas de assimetria e abertura glótica. Os autores puderam observar três padrões de vibração em condições de assimetria de tensão e concluíram que estes padrões dependem em grande parte na presença ou ausência de fenda glótica na condição de repouso. Compararam os achados dos experimentos com laringes excisadas com a simulação do mesmo experimento em um modelo virtual, computadorizado, onde foram inseridos os parâmetros de alterações das variáveis envolvidas. Os achados dos experimentos em si e da simulação computadorizada foram bastante consistentes apesar de não comparáveis. Na situação em que não havia fenda glótica as pregas vocais vibraram sob a mesma freqüência, mas com a prega vocal tensa precedendo a prega vocal frouxa, criando uma diferença de fase. O aumento unilateral da tensão de uma das pregas vocais resultou em elevação do pitch. Na situação em que havia uma pequena fenda glótica o padrão vibratório foi bem mais complexo, descritas pelos autores como dicróticas ou tricóticas e, às vezes, padrões menos complexos e não periódicos puderam ser observados. Os autores sugerem que estas alterações complexas do padrão vibratório estão associadas com a interação das pregas vocais na ausência do efeito recorrente de contenção durante o fechamento glótico. As "vozes" percebidas nestes casos foram descritas como ásperas e diplofônicas. Na situação em que as pregas vocais permaneceram abertas, ou seja, com fenda glótica ampla os movimentos vibratórios foram periódicos, a freqüência de vibração foi a mesma para ambas as pregas vocais, mas a voz produzida era mais soprosa do que áspera. Os autores constataram ainda que, sob a mesma configuração glótica, diferentes pressões subglóticas podem produzir padrões distintos de vibração. Concluíram que uma discreta assimetria de tensão não afeta a qualidade vocal exceto se houver fenda glótica.

BERRY et al. (1996). Com o intuito de avaliar a vibração das pregas vocais por meio da análise de bifurcações, estes autores realizaram experimentos com cinco laringes excisadas de cães. A presença de bifurcações foi analisada através de espectros e espectrogramas e, também, através da realização de um diagrama de bifurcações em duas dimensões que possibilita a observação de momentos de sobreposição de modos de vibração distintos que, caracteristicamente, ocorrem em pregas vocais assimétricas. Pontos de suturas entre as cartilagens aritenóides e o arco anterior da cricóide foram utilizados para simular assimetrias de tensão ou alongamento das pregas vocais. Fios de sutura entre os processos musculares das aritenóides bilateralmente e o arco anterior da cartilagem cricóide foram utilizados para simular assimetria de adução entre as pregas vocais. Os sinais acústicos foram colhidos por microfone e digitalizados posteriormente. Os espectros e espectrogramas foram posteriormente analisados e identificados por meio de análise perceptiva além de serem classificados nos diferentes registros vocais. Em apenas uma laringe foram notadas bifurcações para a situação de assimetria de tensão. Quanto às assimetrias de tensão ou estiramento das pregas vocais os autores levantaram a hipótese de que talvez a assimetria aplicada não tenha sido suficiente para induzir instabilidades em todas as laringes. Concluíram que: o modelo experimental com laringes excisadas é mais representativo da verdadeira morfologia das pregas vocais do que os modelos computadorizados; nas assimetrias de tensão diversos registros vocais puderam ser observados através de análise perceptual e também "saltos" de um registro para outro quando a assimetria era mais acentuada; apesar de assimetrias de tensão não serem sempre visíveis ou alteraram a geometria das pregas vocais os resultados mostraram que elas tiveram uma grande influência no padrão vibratório das pregas vocais; no tratamento das paralisias não apenas as assimetrias geométricas mais óbvias devem ser tratadas, mas também a influência das assimetrias de tensão devem ser consideradas.

OUAKNINE et al. (2003). Para descrição e validação de uma nova metodologia para o estudo da vibração das pregas vocais os autores realizaram experimentos com laringes excisadas suínas.

Num primeiro experimento o novo dispositivo chamado optorreflectômetro (ORM) foi validado. Trata-se de um novo sistema baseado em um conceito antigo, capaz de representar a vibração de cada prega vocal, permitindo o estudo do seu padrão vibratório. O sistema é baseado na reflectometria, isto é, medição da luz refletida de um objeto que vibra. Um feixe de luz é emitido sobre o objeto e a fração de luz refletida é medida por um fotodetector. Como a intensidade do sinal produzido é função da distância entre o objeto e a fonte de luz, esta distância é medida indiretamente. O sinal produzido foi então padronizado como sendo positivo quando o objeto se aproxima da fonte de luz (menor distância) e negativo quando o objeto se afasta da fonte de luz (maior distância). No ciclo de vibração das pregas vocais, portanto, teríamos um sinal mais positivo no momento em que a superfície da face vestibular das pregas vocais está mais elevada o que ocorre no momento em que as pregas vocais estão iniciando sua abertura. Os autores validaram o ORM utilizando-o para detecção de uma vibração previamente definida. Após o bom desempenho do sistema na detecção destes sinais previamente com o uso de um método convencional de detecção de vibração que no caso foi o eletroglotógrafo. Os autores concluíram que o ORM é um método preciso e simples de registrar a vibração individual de cada prega vocal de excelente aplicabilidade em estudos experimentais.

Em seguida foram realizados dois tipos de experimentos: um, em situação de simetria das pregas vocais e outro em situação de assimetria máxima. Assimetria máxima foi considerada quando bifonação fosse audível. As laringes foram posicionadas em adução em bancada experimental. A simetria e assimetria foi proporcionada por micropesos aplicados no terço posterior do soalho do ventrículo laríngeo. Para a avaliação da vibração das pregas vocais foram utilizados eletroglotógrafos e o novo dispositivo descrito chamado optorreflectômetro. O optorreflectômetro posicionado sobre cada prega vocal, registrou indiretamente o deslocamento vertical de cada prega vocal separadamente e simultaneamente a cada experimento. Os experimentos foram realizados em 17 laringes suínas excisadas frescas. Os sinais obtidos do eletroglotógrafo e optorreflectômetros foram comparados e analisados. Na situação de máxima simetria as pregas vocais iniciaram a vibração simultaneamente e vibraram na mesma freqüência. A comparação das curvas simultâneas do eletroglotógrafo e optorreflectômetros mostrou um padrão normal de vibração: a morfologia das curvas dos dois optorreflectômetros foram semelhantes e sincrônicas com a curva do eletroglotógrafo. Sob assimetria discreta das pregas vocais (ainda sem bifonação audível) os sinais de cada prega vocal revelaram um atraso inicial na

sincronia entre as pregas vocais, no entanto, em seguida houve sincronização e os movimentos mostraram-se periódicos. Assimetria extrema com obtenção de bifonação audível foi obtida em 12 das 17 laringes.

3.2- Experimentos em laringes "in vivo"

SLAVIT et al. (1991). Com a finalidade de acessar os efeitos da variação de tensão das pregas vocais com a contração do músculo cricotireóideo foram estudados 8 laringes caninas em um modelo experimental "in vivo". Os métodos de avaliação da vibração utilizados foram eletroglotografia e fotoglotografia e os quocientes de abertura e quocientes de velocidade de abertura glótica foram calculados. Os nervos laríngeos recorrentes e laríngeos superiores foram dissecados e isolados para estimulação elétrica isolada de cada um sob anestesia geral. Enquanto o estímulo do nervo laríngeo recorrente era mantido constante variou-se a intensidade e a freqüência do estímulo do nervo laríngeo superior, assim como o fluxo aéreo. Foram estudadas 50 combinações distintas de fluxo aéreo, amplitude e freqüência de estimulação do nervo laríngeo superior. Com o aumento da amplitude do estímulo do nervo laríngeo superior houve aumento da freqüência fundamental e aumento do quociente de abertura. A contração do músculo cricotireóideo não teve efeitos na pressão subglótica, nem na intensidade sonora.

BERKE et al. (1989). Os autores estudaram o efeito da variação na estimulação do nervo laríngeo superior na vibração das pregas vocais. Foram utilizados fotoglotografia e eletroglotografia para o estudo em sete cães usados como modelos vivos de fonação. Os sinais da fotoglotografia, eletroglotografia e pressão subglótica foram examinados em três diferentes freqüências de estimulação elétrica dos nervos laríngeos superiores a um fluxo aéreo contínuo. O aumento do estímulo aplicado ao nervo laríngeo superior produziu aumento na freqüência fundamental, pouca alteração da pressão subglótica, aumento no quociente de abertura glótico e diminuição no quociente de fechamento glótico.

3.3- A laringe suína

GORTI et al. (1999). Realizaram estudo anatômico da laringe suína para estabelecer um modelo pré-clínico de transplante de laringe. Observaram que as características anatômicas da laringe de porcos são próximas das humanas. O esqueleto cartilaginoso é idêntico na sua estrutura e correlações. A musculatura intrínseca é constituída dos mesmos grupos musculares com inserções e funções idênticas exceto pela presença de um músculo interaritenóideo mais volumoso. As dimensões globais mantêm uma relação de aproximadamente 1,5 para o homem considerando um porco de cerca de 120 Kg.

As principais diferenças são hipertrofia das cartilagens sesamóides situadas sob as aritenóides e inserção da epiglote ao bordo superior da cartilagem tireóide por uma membrana conjuntiva. Estas diferenças aparentemente não interferem com a mecânica vibratória das pregas vocais.

JIANG et al. (2001). Na busca por um bom modelo animal para estudo com laringes excisadas os autores compararam laringes humanas com as de porcos, cães e alces. O estudo foi baseado em laringes excisadas: duas humanas, três suínas, três caninas e três de alces. Os aspectos de interesse que foram estudados foram: comprimento da porção membranosa das pregas vocais em repouso, a distância entre a articulação cricotireóidea ao eixo longitudinal da prega vocal que forneceu a altura das pregas vocais, a abrangência de movimentação angular da articulação cricotireóidea e a rigidez as pregas vocais. Quanto ao comprimento da porção membranosa das pregas vocais as laringes caninas foram as mais próximas das laringes humanas, as laringes de porcos e alces foram um pouco mais longas. A altura das pregas vocais foi semelhante em humanos, porcos e cães, mas significativamente menor em alces. Os ângulos de rotação da articulação cricotireóidea foram semelhantes para humanos, porcos e cães e maiores do que as laringes de alces o que estabelece maior tensão de pregas vocais no controle do *pitch*. Quanto à rigidez das pregas vocais as laringes as laringes humanas e de alces apresentaram um grande deslocamento lateral, as laringes caninas apresentaram um deslocamento lateral intermediários e as laringes suínas apresentaram um deslocamento lateral relativamente pequeno. Observaram ainda que o músculo cricotireóideo apresenta tamanho parecido em humanos, cães e

porcos. Quanto à espessura e estrutura da cobertura das pregas vocais as laringes humanas e suínas foram as mais parecidas.

PIERCECCHI (2000). Realizou cortes histológicos nas pregas vocais de suínos e pôde comprovar a estrutura em camadas como as descritas por HIRANO (1974) para laringes humanas. Confirmou ainda a presença do espaço de Reinke.

4- MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em seis laringes suínas excisadas, provenientes de abatedouros. Os porcos eram animais miscigenados das raças Landrace e Large White pesando em torno de 120Kg. Foram abatidos para fins de consumo e suas laringes seriam desprezadas. Ao ser consultado, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas considerou desnecessário a submissão do presente estudo para aprovação em decorrência das condições descritas acima (Anexo IV).

A disposição da bancada experimental utilizada para realização dos experimentos foi modificada a partir do modelo descrito por VAN DEN BERG e TAN (1959). As laringes foram dissecadas até 48 horas após o abate, deixando intactos os músculos intrínsecos e 15 cm de traquéia. Para adequada exposição da região glótica e, principalmente, da face vestibular das pregas vocais, as laringes foram seccionadas num plano horizontal no nível do assoalho do ventrículo laríngeo e a região supraglótica foi desprezada. Para obtenção de vibração, as pregas vocais foram posicionadas em adução por meio de suturas com fio de nylon 3.0 fixando os processos vocais entre si na linha média. Eletroglotografia foi obtida por meio de eletrodos de superfície (EGG, Laryngograph®, London) que foram suturados com fios de seda 6.0 em cada lado externo das alas da cartilagem tireóide, no nível das pregas vocais.

Fios de nylon 3.0 foram atados em um dos lados da laringe, aleatoriamente, nas zonas de inserção do ventre lateral (*pars obliqua*) e do ventre medial (*pars recta*) do músculo cricotireóideo, provocando aproximação entre as cartilagens cricóide e tireóide daquele lado (figura 1). A tensão aplicada era a máxima possível sem provocar fratura do arcabouço cartilaginoso da laringe. Desta forma produziu-se uma assimetria de tensão. A laringe foi posicionada em bancada experimental no Laboratoire d'Audiophonologie Clinique do Hopital de La Timone, Marseille, França onde todos os experimentos foram realizados. A laringe era sustentada por um suporte de acrílico (figura 2). Uma sonda traqueal de 4mm de diâmetro foi inserida na região interaritenóidea, posteriormente aos processos vocais das pregas vocais, para obtenção de medidas da pressão subglótica (figura 2). Para gerar fluxo aéreo, um tubo traqueal foi conectado à traquéia e a uma turbina de 320 Watts girando a 2800rpm, capaz de gerar fluxo aéreo de até 10 l/s. O tubo traqueal foi introduzido de baixo para cima na traquéia e o "cuff" foi insuflado para evitar escape de

ar (figura 2). O débito de ar foi regulado por válvula elétrica comandada por programa computadorizado desenvolvido especificamente para este fim (SignLab). O fluxo aéreo foi umidificado e aquecido a 37°C por meio de dispositivo elétrico de aquecimento de água pelo qual o ar passava. Em seguida, optorreflectômetros foram posicionados o mais próximo possível da região central da face vestibular de cada prega vocal de forma simétrica, sem tocá-las (figuras 3, 4 e 5). Os optoreflectômetros consistem em dispositivos que emitem feixes de laser diodo vermelho pulsados em alta freqüência (20kHz) e medem, indiretamente, a distância entre suas extremidades e uma superfície, gerando um sinal elétrico correspondente. Quando posicionados acima das pregas vocais, medem o deslocamento vertical das mesmas. O sinal obtido deve ser uma curva senoidal, semelhante àquela obtida com o EGG. O fluxo aéreo fornecido foi inicialmente baixo e, progressivamente, elevado de 0,3 l/s a 1,0 l/s, de modo não contínuo. Para cada variação de fluxo aéreo foram registrados a pressão subglótica atingida, o sinal produzido pelo eletroglotógrafo e os sinais produzidos por cada optorreflectômetro. Estes sinais foram digitalizados por meio de uma placa de aquisição e dispostos no computador utilizando o editor de sinal Phonedit® (SQ-Lab, Marseille). A utilização destes dispositivos permitiu a análise do deslocamento horizontal das pregas vocais, com a EGG e do deslocamento vertical de cada prega vocal isoladamente com o ORM.


Figura 1- Ilustração modificada de ISSHIKI (1989) demonstrando as suturas (linhas vermelhas) realizadas entre as cartilagens cricóide e tireóide para simulação da ação do músculo cricotireóideo.**cartilagem tireóide, * cartilagem cricóide. Vêem-se os dois ventre do músculo cricotireóideo do lado esquerdo da figura.



Figura 2- Vista lateral de laringe posicionada em bancada experimental. A seta vermelha indica a sonda de detecção de pressão subglótica.1=eletrodo do EGG suturado à asa da cartilagem tireóide, 2= suporte de acrílico, 3= traquéia, 4= fixador do suporte, 5= tubo traqueal.



Figura 3- Vista lateral de laringe posicionada em bancada experimental. Os optoreflectômetros estão posicionados sobre as pregas vocais (setas vermelhas).



Figura 4- Vista da superfície das pregas vocais e do posicionamento dos optorreflectômetros.



Figura 5- Ilustração esquemática simplificada da bancada experimental.

PC: computador e *software* T: turbina L: laringe ORM: optorreflectômetros EGG: eletroglotógrafo AD: placa de conversão analógico-digital

Para análise dos resultados quanto à periodicidade e sincronia de vibração das pregas vocais foram sobrepostas as curvas do EGG e dos dois optorreflectômetros utilizando o programa Acrobat Distiller 4.0 para ambiente Windows. Vibração periódica foi caracterizada pela presença de harmônicos no sinal do EGG. As diferenças de sincronia ou fase entre as pregas vocais foram avaliadas por meio da análise das curvas de vibração de cada prega vocal, representadas, pelo sinal dos optorreflectômetros. Para análise e mensuração das diferenças de fase entre as pregas vocais, calculou-se a distância entre picos correspondentes, no ciclo vibratório, de cada prega vocal. Para tal, utilizando o programa Coral Draw, linhas foram traçadas entre picos correspondentes no ciclo vibratório de cada prega vocal e a distância entre elas foi medida em milímetros. Estas medidas foram

repetidas para cada etapa de variação do fluxo aéreo em todos os experimentos (Anexo I). Em decorrência das diferentes freqüências de vibração a cada etapa de variação do fluxo aéreo, a distância entre os picos correspondentes nas curvas de cada prega vocal foi calculada da seguinte forma:

$$d = x/y$$
,

onde: *d* corresponde à distância entre os picos (denominada distância interpicos), *x* corresponde à distância entre picos correspondentes de cada prega vocal, e *y* corresponde à distância entre dois picos consecutivos da mesma curva (Anexo I).

A freqüência fundamental (Fo) foi extraída do sinal vocal a partir do EGG e, para cada prega vocal, a partir do ORM por meio da transformação rápida de Fourier (Fast Fourier Transform ou FFT) utilizando o programa computadorizado SignLab. A Fo foi medida sempre que o fluxo aéreo foi alterado, em todos os experimentos.

Espectros (curvas de densidade de potência espectral) foram gerados a partir de cada um dos três sinais (EGG, ORM da prega vocal direita e ORM da prega vocal esquerda) por meio do programa MatLab 4.2 (MathWorks, Inc.) utilizando janela de Hanning e análise de banda estreita. Todos os picos entre 0 Hz e 3000 Hz foram identificados no espectro (Anexo II). A descrição dos espectros se baseou na presença de harmônicos, subharmônicos e bifonação.

A presença de harmônicos foi definida pela detecção de picos proeminentes de freqüência sempre múltiplos inteiros da Fo. Os harmônicos foram avaliados não somente quanto ao número de vezes em que apareceram ao longo do espectro, mas também quanto à sua definição. Quanto à sua extensão no espectro, os harmônicos foram contados à partir da FFT, considerando sempre o mesmo ganho para todos os sinais. A definição dos harmônicos foi estabelecida de forma visual e, portanto, subjetiva. Foram considerados como fatores determinantes de melhor definição de harmônicos: extensão de picos harmônicos até as freqüências mais agudas, a altura dos picos harmônicos e o nível de semelhança visual do padrão de harmônicos entre os espectros extraídos dos optoreflectômetros e do eletroglotógrafo. Uma relativa objetividade nesta análise foi

estabelecida comparando-se os espectros das pregas vocais entre si e, de cada prega vocal com o espectro do EGG. Esta comparação foi facilitada pela sobreposição dos espectros utilizando o programa Acrobat Distiller 5.0 para ambiente Windows (Anexo III).

A presença de subharmônicos foi definida como a detecção de picos mais baixos entre picos consecutivos de harmônicos (NUNEZ et al., 2000), devendo ocorrer sempre em frações múltiplas da Fo, por exemplo: 1/2 ou 1/3 (OMORI et al., 1997).

A presença de bifonação foi definida como fonação com duas freqüências independentes, visibilizados no espectro como picos proeminentes de freqüência próximas aos harmônicos. A distância entre os picos de bifonação não guardam necessariamente relação com a Fo.

A análise dos dados foi descritiva, qualitativa e quantitativa.

A utilização de ganhos diferentes, como recurso para captação mais adequada dos sinais dos optorreflectômetros, não permitiu avaliações comparativas com relação à amplitude dos sinais de cada prega vocal.

Análise estatística foi realizada para tentar estabelecer a existência de correlação entre distância interpicos e o fluxo aéreo e entre a distância interpicos e a pressão subglótica. Para tal, utilizamos a correlação paramétrica de Pearson. Os testes *t* de Student e o teste de Wilcoxon foram aplicados para avaliação da variação da pressão subglótica e Fo para os menores e maiores valores de fluxo aéreo em cada experimento. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando p<0,05.

5- RESULTADOS

Denominaremos a prega vocal ipsilateral ao músculo cricotireóideo em que foi simulada a contração, de «prega vocal tensionada», e a contralateral, de «prega vocal não tensionada».

Os resultados foram avaliados quanto à periodicidade e sincronia das pregas vocais, freqüência fundamental e quanto às características espectrais.

5.1- Periodicidade e sincronia das pregas vocais

As pregas vocais apresentaram movimentos periódicos em todos os experimentos e durante todo o registro. Apesar de periódicos, os sinais de cada prega vocal mostraram diferença de fase em todos os experimentos (figuras 6 -11). Calculando-se a distância entre picos correspondentes no ciclo vibratório de cada prega vocal observamos que com o aumento do fluxo aéreo em quatro dos seis experimentos esta diferença de fase diminuiu (figura 6, 7, 9, 11). Nos outros dois experimentos esta distância aumentou (figuras 8 e 10).



d: deslocamento, t: tempo.

Figura 6- Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob fluxo aéreo de 0,3 l/s (A) e 1,0 l/s (B). Gráfico da evolução da distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (C). Experimento 1.



d: deslocamento, t: tempo.

Figura 7- Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob fluxo aéreo de 0,3 l/s (A) e 1,0 l/s (B). Gráfico da evolução da distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (C). Experimento 2.



d: deslocamento, t: tempo.

Figura 8- Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob fluxo aéreo de 0,3 l/s (A) e 1,0 l/s (B). Gráfico da evolução da distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (C). Experimento 3.



d: deslocamento, t: tempo.

Figura 9- Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob fluxo aéreo de 0,3 l/s (A) e 1,0 l/s (B). Gráfico da evolução da distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (C). Experimento 4.



d: deslocamento, t: tempo.

Figura 10- Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob fluxo aéreo de 0,3 l/s (A) e 1,0 l/s (B). Gráfico da evolução da distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (C). Experimento 5.



d: deslocamento, t: tempo.

Figura 11- Curvas do EGG (preto pontilhado), optreflectômetro da prega vocal não tensionada (azul) e da prega vocal tensionada (vermelho) sob fluxo aéreo de 0,3 l/s (A) e 1,0 l/s (B). Gráfico da evolução da distância interpicos com o aumento do fluxo aéreo (C). Experimento 6.

A análise dos valores obtidas através da correlação de Pearson entre fluxo aéreo e distância interpicos mostrou uma tendência à correlação negativa (r = - 0,357 para p< 0,10), ou seja, o aumento do fluxo mostrou uma tendência a ser inversamente proporcional ao aumento da distância interpicos (tabela 1). A análise da correlação de Pearson entre pressão subglótica e a distância interpicos também mostrou uma tendência à correlação negativa (r = - 0,4 para p<0,10), ou seja, o aumento da pressão apresentou uma tendência a ser inversamente proporcional ao aumento da distancia interpicos.

 Tabela 1- Valores da coeficiente de Pearson (r) e sua respectiva significância (p-valor) para as relações entre fluxo aéreo e distância interpicos e pressão suglótica e distância interpicos

Variáveis	Correlação de Pearson				
	r	p-valor			
Fluxo aéreo X Distância Interpicos	-0,357	0,094			
Pressão subglótica X Distância Interpicos	-0,400	0,059			

5.2- Freqüência fundamental (fo)

A Fo foi a mesma em ambas as pregas vocais, a cada etapa de variação do fluxo aéreo. Com o aumento do fluxo aéreo, a Fo apresentou elevação pequena mas gradativa em metade dos casos (experimentos 1, 2 e 6). Em três casos (experimentos 3, 4 e 5) não houve aumento da Fo, apesar do aumento do fluxo aéreo e da pressão subglótica (quadro 1, gráficos1 e 2).

Utilizando os testes pareado t de Student e o teste de Wilcoxon para avaliação das variações das frequências fundamentais para cada experimento observamos que não houve aumento significativo da frequência fundamental entre o menor e maior fluxo aéreo testado para cada experimento (p=0,753 para o teste de Wilcoxon e p=0,818 para o teste tde Student). Com relação à pressão subglótica, tanto o teste t de Student quanto o teste de Wilcoxon mostraram haver aumento significativo da pressão subglótica com o aumento dos valores de fluxo aéreo testado para cada experimento. Este aumento foi significativo com p<0,05 tanto para o teste *t* de Student (p=0,003) quanto para o teste de Wilcoxon (p=0,027).

Quadro	1- Valores	das	freqüé	ências	funda	imentais	(Fo)	e press	ão subg	lótica ei	m funçâ	ão da
	variação	do	fluxo	aéreo	(l/s).	PVD=	prega	vocal	direita,	PVE=	prega	vocal
	esquerda	, hPa	a (hect	ta Pasc	cal).							

	FLUXO AÉREO (l/s)											
	0,3		0,4		0,5		0,6		0,7		1,0	
	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE	PVD	PVE
Experimento 1/Fo (Hz)	316	316	325	325	356	356	347	347	352	352	369	369
Psubgl (hPa)	14	14	15	15	18	18	16	16	17,5	17,5	20	20
Experimento 2/Fo (Hz)	285	285	289	289	294	294	311	311	352	352	356	356
Psubgl (hPa)	9	9	11	11	11	11	16	16	18	18	22	22
Experimento 3/Fo (Hz)	365	365	360	360	360	360	360	360	356	356	360	360
Psubgl (hPa)	15	15	16	6	17	17	18	18	19	19	21	21
Experimento 4/Fo (Hz)	392	392	383	383	387	387	378	378	374	374	365	365
Psubgl (hPa)	9	9	12	12	13	13	14	14	14,5	14,5	15,6	15,6
Experimento 5/Fo (Hz)					743	743			739	739	627	627
Psubgl (hPa)					24	24			25	25	29	29
Experimento 6/Fo (Hz)	578	578			601	601			619	619	645	645
Psubgl (hPa)	25	25			29	29			32	32	38	38



Gráfico 1- Variação da Fo (Hz nas ordenadas) em função do fluxo aéreo em cada experimento (em l/s nas abscissas).



Gráfico 2- Variação da pressão subglótica (em hPa nas ordenadas) em função do fluxo aéreo (em l/s nas abscissas) para cada experimento.

5.3- Características espectrais: harmônicos, subharmônicos, bifonação

Nos espectros pudemos observar a presença de harmônicos em todos os registros. Os espectros extraídos dos optorreflectômetros foram sempre notadamente diferentes na prega vocal tensionada e na prega vocal não tensionada. Esta diferença se tornou mais evidente com o aumento do fluxo aéreo, em todos os experimentos. Observou-se maior número de harmônicos nas pregas vocais não tensionadas em 56,25% dos registros (18 do total de 32 registros). A definição do traçado dos harmônicos foi sempre melhor no espectro extraído do EGG, que não permite a avaliação individual de cada prega vocal. Nos espectros extraídos dos optorreflectômetros a melhor definição dos harmônicos esteve relacionada com os registros com fluxos aéreos mais elevados (acima de 0.5 l/s) em todos os experimentos, como exemplificado na figura 12.



Figura 12- Espectro de todo o experimento 1 a partir do sinal do EGG e dos optorreflectômetros da prega vocal não tensionada e da prega vocal tensionada nos respectivos fluxos aéreos testados (de 0,3 l/s a 1,0 l/s). Notar a variação espectral da prega vocal não tensionada. PV: prega vocal.

Nos experimentos 1, 3 e 5 observou-se melhor definição dos harmônicos para o espectro da prega vocal não tensionada, com a tendência ao traçado desta prega vocal se assemelhar mais ao traçado do EGG, exemplificado nas figuras 13a e 13b. Nos outros experimentos esta definição dos harmônicos foi considerada semelhante nas duas pregas vocais.



Figura 13- Sobreposição do espectro do EGG (em azul) com o espectro da prega vocal não tensionada (a) e da prega vocal tensionada (b), em cor vermelha. Observar a semelhança da definição dos harmônicos entre o EGG e a prega vocal não tensionada. Experimento 1, fluxo aéreo de 1,0 l/s.

Subharmônicos e bifonação foram observados em todos os experimentos nos espectros extraídos do sinal da eletroglotografia e estão exemplificados nas figuras 14 e 15.



Figura 14- Curva de densidade de potência espectral de eletroglotógrafo do experimento 1 com fluxo aéreo de 0,3 l/s evidenciando bifonação nas freqüências mais elevadas (área assinalada em vermelho).



Figura 15- Curva de densidade de potência espectral de eletroglotógrafo evidenciando subharmônicos (pequenos picos periódicos entre os harmônicos) no experimento 2, fluxo aéreo de 0,5 l/s.

Todos os espectros podem ser apreciados no anexo II e a sobreposição dos espectros de cada prega vocal com o EGG pode ser apreciada, para cada experimento, no anexo III.

6- DISCUSSÃO

FABRY, em 1957, descreveu a eletroglotografia, aplicando os métodos de impedância para o estudo da vibração das pregas vocais. Utilizou uma corrente elétrica alternada de alta freqüência e baixa intensidade aplicada à pele do pescoço, por meio de eletrodos de superfície. A corrente que atravessava a região glótica sofria variação na sua impedância, ou seja, na resistência oferecida à sua passagem. O ar entre as pregas vocais (durante a fase de abertura) determinava maior resistência à passagem da corrente elétrica e a ausência de espaço aéreo entre as pregas vocais, durante o fechamento das mesmas, resultava em menor resistência. A variação da impedância durante os ciclos de fechamento e abertura glótica era representada por uma curva de aspecto senoidal e o autor padronizou que o pico de menor impedância estaria representado para cima, nas ordenadas, e corresponderia ao ponto de contato máximo entre as pregas vocais. Na ocasião FABRY afirmou que esta metodologia permitira a "exploração dos detalhes da vibração glótica". Em 1992, após muitos anos de aplicação clínica e experimental desta metodologia, BAKEN, numa reflexão sobre a validade e os usos da EGG, confirmou sua utilidade na extração da Fo, na avaliação qualitativa da morfologia da curva, na determinação do registro vocal e na observação de inúmeras situações patológicas através da instabilidade na amplitude dos sinais ou do período. YANAGI e MACCAFFREY (1992), em seu estudo com laringes caninas excisadas, também utilizaram a eletroglotografia como método de avaliação da vibração das pregas vocais. Concluíram que este método permitiu boa descrição do movimento vibratório quanto ao efeito da musculatura intrínseca da laringe, eficiência vocal e resistência glótica nos distúrbios da voz.

No presente estudo, utilizamos a EGG como referência do sinal global gerado pela interação dos movimentos de uma prega vocal com a outra. Como método já consagrado foi possível sua utilização também como controle para a análise individual de cada prega vocal. A observação do movimento isolado de cada prega vocal foi realizada por meio de optoreflectômetros. Os optoreflectômetros descreveram o deslocamento vertical das pregas vocais, que assim como o deslocamento lateral, deve ser o mais simétrico e sincrônico possível. A soma dos movimentos laterais e verticais faz com que a trajetória da borda livre de cada prega vocal seja elíptica e não horizontal (MUSEHOLD, 1898; KIRIKAE, 1943). Com o uso de dois optoreflectômetros simultaneamente, um sobre cada prega vocal, foi possível analisar o movimento isolado de cada prega vocal. É importante lembrar que as pregas vocais continuavam sofrendo influência uma da outra no momento da coaptação e o dispositivo não interferiu nesta interação.

A avaliação dos sinais obtidos com estes dispositivos para o nosso modelo de assimetria, nos mostrou a presença de vibração periódica e estável nas duas pregas vocais, com ambas vibrando a uma mesma Fo apesar da condição de assimetria. Estas constatações foram feitas a partir da observação do sinal glótico e da extração da Fo que foi sempre comum às duas pregas vocais. Estes achados são concordantes com aqueles apresentados por OUAKNINE et al. (2003) que observaram, para pregas vocais assimétricas, um período transitório inicial de vibração aperiódica que, em seguida, se estabilizou tornando-se periódico. No presente estudo o registro dos sinais foi analisado após a vibração estável das pregas vocais e não no momento do ataque glótico, portanto, esta sincronia já havia se instalado. Apesar de periódico, no entanto, houve sempre diferença de fase entre as pregas vocais, constatada com a observação dos sinais dos optoreflectômetros. Esta diferença de fase entre as pregas vocais foi um achado bastante destacado por ISSHIKI et al. (1977). Em seu estudo, citou este como sendo o seu achado mais constante apesar de as pregas vocais também apresentarem movimentos periódicos e estarem vibrando com a mesma Fo. Afirmou ainda que este seria o principal indício de assimetria entre as pregas vocais ainda que não pudesse ser considerado um achado específico para as assimetrias de tensão. BERRY et al. (26) relataram, em seu estudo da assimetria de tensão das pregas vocais, uma melhor sincronia dos movimentos vibratórios com o aumento do fluxo aéreo e da pressão subglótica. Este fato também pode ser observado em mais da metade de nossos experimentos, através da redução da diferença de fase entre as duas pregas vocais com o aumento da pressão subglótica, que foi comprovada estatisticamente. Vale lembrar, no entanto, que a análise estatística realizada para este estudo foi limitada a poucos experimentos e deve ser vista com restrições. Possivelmente uma amostragem maior confirmaria a correlação negativa sugerida pela correlação de Pearson neste estudo.

O sinal do EGG também evidenciou a presença de bifurcações previstas na literatura (BERRY et al.). Através da análise espectral deste sinal pudemos detectar subharmônicos e bifonação em todos os experimentos. A ocorrência de subharmônicos e bifonação em todos nossos experimentos é concordante com os achados relatados na literatura, descritos tanto nos estudos em laringes excisadas quanto nas observações clínicas de pacientes disfônicos. GIOVANNI et al. (1999) utilizando a EGG no estudo de laringes suínas excisadas, em situação de assimetria, observaram a presença de subharmônicos em 11 dos 13 experimentos. HERZEL et al. (1994) analisaram 95 vozes disfônicas de pacientes com alterações variadas e observaram nos espectrogramas subharmônicos, bifonação e caos. Segundo estes autores, alguns tipos de assincronia podem resultar nestas alterações chamadas de bifurcações. Citaram como exemplos de situações onde haveria assincronia: lesões unilaterais ou paralisias das pregas vocais, alterações no modo de vibração horizontal ou vertical como ocorre no "fry", interação das pregas vocais com estruturas supraglóticas como ocorre no esforço vocal. OMORI et al. (1997), analisando 389 vozes alteradas, encontraram 20 vozes que apresentavam, à análise espectral, presença de subharmônicos. As alterações envolvidas eram: pólipos, cistos, nódulos, atrofias e paralisias que podem ser consideradas como situações clínicas de assimetria. Destas 20 vozes, oito, apresentaram jitter e shimmer normal. Concluíram, portanto, que rouquidão pode ser caracterizada não apenas através de jitter e shimmer mas também pela presença de subharmônicos na análise espectral. TITZE e LIANG (1993) já haviam afirmado que alterações como os subharmônicos e bifonação são mal analisadas pelos métodos acústicos convencionais como *jitter* e *shimmer* porque não diferenciam instabilidades ocorridas ao acaso, dos fenômenos de baixa periodicidade. A análise espectral seria, portanto, um parâmetro objetivo útil para a análise de vozes disfônicas. Os fenômenos de bifurcação foram interpretados por OUAKNINE et al. (2003) como sendo consequência, ou efeito, do contato entre duas pregas vocais assimétricas, visto que, na ausência de assimetrias estes fenômenos não devem ser normalmente encontrados. Neste estudo podemos reforçar esta afirmação pelo fato destes fenômenos não terem sido identificados na análise individual de cada prega vocal da mesma maneira em que foram claramente evidenciados no sinal do EGG que mostra a interação das duas pregas vocais.

Em nosso ponto de vista somente esta interação poderia explicar a boa definição do espectro evidenciada nos movimentos vibratórios das pregas vocais, quando avaliados conjuntamente pelo EGG, apesar dos padrões distintos e menos definidos, ou piores, observados com os optoreflectômetros. O efeito do contato entre as pregas vocais durante a coaptação não é muito evidente quando as pregas vocais são suficientemente

simétricas, mas pode ser apreciado nas situações de assimetria como a que foi criada neste estudo. ISSHIKI et al. (1977), em seus experimentos, já notaram que se a tensão aplicada a uma das pregas vocais era muito grande, ela poderia se tornar muito rígida para vibrar e, portanto, o *pitch* seria determinado pelas características reológicas da prega vocal contralateral. Esta afirmação é concordante com os achados de maior variação espectral no sinal da prega vocal não tensionada com o aumento da pressão subglótica nos resultados do presente estudo. Talvez esta também seja uma possível explicação para a manutenção e, às vezes, até diminuição da freqüência fundamental com o aumento da pressão subglótica. Aparentemente, a prega vocal tensionada é capaz de sustentar seu movimento, ou, está tão tensa e rígida que já não sofre os efeitos da variação da pressão subglótica como a prega vocal não tensionada. Ao mesmo tempo poderíamos especular ainda que a prega vocal tensionada não foi capaz de interferir nos movimentos da prega vocal não tensionada, o que faz com que notemos alterações espectrais não apenas no sinal individual da prega vocal não tensionada mas, também, no sinal do EGG, que representa o sinal resultante das duas pregas vocais. VAN DEN BERG (1959) já verificava um domínio do movimento vibratório das pregas vocais por parte da prega vocal "com menos limitação na amplitude dos movimentos" que no seu ponto de vista regia os movimentos vibratórios nestas assimetrias. A relação entre ocorrência de subharmônicos e bifonação e elevação do fluxo aéreo e pressão subglótica deve, no entanto, ser feita com ressalvas visto que a vibração das pregas vocais é regida por fenômenos não lineares, ou seja, cujas variáveis não são linearmente proporcionais e, portanto, muito mais complexas e imprevisíveis.

Um paralelo poderia ser traçado com as observações clínicas de pacientes com paralisia do músculo cricotireóideo. Nestes pacientes, apesar de ocorrer coaptação aparentemente normal, a análise do registro vocal denuncia a presença de perturbações como bifonação e subharmônicos (HERZEL, 1994). SIRVIO e MICHELSSON (1976) afirmaram que regimes subharmônicos e bifonação são indicadores relevantes de alteração vocal em humanos. Notaram que a ocorrência destes fenômenos aumenta em casos de desordens do aparelho fonatório e portanto, poderiam ser indicadores destas desordens.

Deve-se notar que nos experimentos relatados, 50% dos experimentos apresentaram uma elevação do *pitch* com o aumento do fluxo aéreo, no entanto, este aumento não foi estatisticamente significativo. Apesar disso, coincidentemente os mesmo

três experimentos apresentaram redução na diferença de fase presente entre as duas pregas vocais (experimentos 1, 2 e 6). O aumento do fluxo foi, portanto, suficiente para provocar aumento da pressão subglótica conforme constatamos estatisticamente mas suficiente para elevar a Fo nesta situação de assimetria. Talvez nos casos em que houve aumento da Fo, mesmo que não estatisticamente significativo, a coaptação entre as pregas vocais estivesse ocorrendo de forma mais eficiente, permitindo melhor sincronia entre as pregas vocais e, portanto, melhor eficiência dos mecanismos de compensação da assimetria. Em relação aos três casos nos quais não houve aumento do *Fo* com o aumento do fluxo aéreo e pressão subglótica, pode-se considerar que este é também um aspecto concordante com os relatos clínicos de pacientes com paralisia unilateral do músculo cricotireóideo descritos cuja principal queixa é a dificuldade na elevação e na manutenção do *pitch*. Embora a análise estatística tenha mostrado que este aumento da Fo não tenha sido significativo, acreditamos que esta análise deva ser vista com ressalvas considerando o tamanho da amostra estudada. Talvez numa amostragem maior estas afirmações pudessem ser mais conclusivas.

O fato de a prega vocal não tensionada apresentar maior variação espectral do que a prega vocal tensionada, também mostra o paralelo entre nossa impressão e a impressão clínica de alguns autores que relatam, nos casos de paralisia unilateral do músculo cricotireóideo, uma prega vocal de aparência flácida que se desloca no sentido vertical mesmo durante os movimentos respiratórios (MYGIND, 1906; NEW e CHILDREY, 1930; BEYER, 1941; ARNOLD 1962; FAABORG-ANDERSEN e JENSEN, 1964; ABELSON e TUCKER; MAY et al., 1980).

O modelo adotado neste estudo foi capaz de produzir assimetria e os achados esperados para situações de assimetria. Um de nossos interesses era observar a repercussão da variação do fluxo aéreo nas alterações provocadas pela assimetria. Os resultados obtidos neste sentido foram irregulares. As variáveis que regem os movimentos vibratórios das pregas vocais são variáveis não-lineares. Em alguns experimentos o aumento do fluxo aéreo diminuiu a ocorrência de bifurcações para no aumento seguinte, incrementá-las. Isto talvez possa ser explicado pela possível interferência de outras variáveis não inseridas em nosso modelo como as propriedades reológicas das pregas vocais estudadas, as diferenças de tamanho das laringes e pregas vocais utilizadas nos experimentos, entre outras variáveis.

O fato de não termos mensurado a tensão aplicada pode ter criado diversos modelos distintos de vibração em decorrência das possíveis diferentes tensões aplicadas. Daí a ocorrência de aumentos irregulares de Fo observada em alguns de nossos experimentos e as diferenças quantitativas nos achados de subharmônicos e bifonação. Baseado em nossas observações da análise de cada prega vocal separadamente, podemos dizer, que a maior suscetibilidade da prega vocal não tensionada às variações de fluxo aéreo e pressão subglótica poderia ser explicada se lembrarmos que esta prega vocal está "flácida" ou "frouxa". Nestas condições é bastante aceitável que, sob determinado fluxo aéreo, esta prega vocal se deixe levar como uma bandeira ao vento. Provavelmente, se não tivéssemos o fator coaptação determinando a influência de uma prega vocal sobre a outra, teríamos movimentos mais amplos e caóticos desta prega vocal. Esta teoria é reforçada por inúmeros trabalhos experimentais e constatações clínicas em que observamos qualidade vocal cada vez pior quanto menor o contato entre as pregas vocais, ou seja, quanto maior a fenda glótica (ISSHIKI et al., 1977). Daí o grande interesse nas técnicas de medialização das pregas vocais.

Apesar da análise de cada prega vocal também evidenciar os efeitos da interferência da prega vocal contralateral, a observação simultânea dos sinais de cada prega vocal nos permitiu a comparação dos sinais e sustentação de algumas correlações com trabalho experimentais e com as observações clínicas das assimetrias de tensão das pregas vocais.

A metodologia utilizada nos permitiu a observação do funcionamento glótico na ausência dos fenômenos de compensação supraglóticos possibilitando melhor controle e observação dos mecanismos de assimetria, característico de trabalhos experimentais. Devemos lembrar, no entanto, que por tratar-se de um estudo experimental em animais, não podemos transpor os resultados para situações clínicas em humanos. Apesar disso, diversos paralelos podem ser traçados e considerados pertinentes com situações clínicas.

Com o crescente interesse na fonocirurgia o conhecimento das repercussões das alterações da massa, tensão e posição das pregas vocais é imprescindível. O padrão vibratório das pregas vocais depende da massa e rigidez das pregas vocais, além da pressão subglótica. Acreditamos que este estudo tenha contribuído para o avanço no entendimento

da fisiologia da interação entre as pregas vocais e de seus possíveis mecanismos de adaptação.

Os métodos de avaliação da vibração das pregas vocais utilizados neste estudo, tanto a eletroglotografia quanto a análise espectral, têm aplicações clínicas que poderiam ser interessantes na avaliação das paresias e/ou paralisias dos músculos cricotireóideos.

7- CONCLUSÕES

A análise do sinal elétrico produzido pela vibração das pregas vocais de suínos em situação de assimetria de tensão provocada pela simulação da ação unilateral do músculo cricotireóideo evidenciou que:

- a assimetria de tensão não interferiu na periodicidade dos movimentos vibratórios;
- a assimetria de tensão gerou assincronia, percebida na diferença de fase entre os ciclos vibratórios das pregas vocais. Esta diferença de fase mostrou ter uma tendência a ser inversamente proporcional ao aumento do fluxo aéreo e da pressão subglótica;
- a prega vocal tensionada e a prega vocal não tensionada vibraram com a mesma freqüência fundamental. O aumento do fluxo aéreo não foi capaz de aumentar significativamente a freqüência fundamental nesta situação de assimetria;
- ocorreram bifurcações, como subharmônicos e bifonação em todos os experimentos e, baseado nas análises individuais da vibração de cada prega vocal, estas alterações parecem ser reflexo da interação de uma prega vocal com a outra, em situações de assimetria;
- o aumento do fluxo aéreo promoveu melhor definição de harmônicos na prega vocal não tensionada quando comparado à prega vocal tensionada.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABLESON, T.I.; TUCKER H.M. Laryngeal findings in superior laryngeal nerve paralysis: a controversy. **Otolaryngol Head Neck Surg**, 89:463-470, 1981.

ARNOLD, G.E. Physiology and pathology of the cricothyroid muscle. Laryngoscope, 71:687-753, 1961.

ASKENFELT, A.G.; HAMMARBERG, B. Speech waveform perturbation analysis: A perceptual-acoustical comparison of seven measures. Journal of Speech and Hearing Research, 29:50-64, 1986.

ATKINSON, J.E. Correlation analysis of the physiological factors controlling fundamental voice frequency. **J Acoust Soc Am**., 63(1):211-222, 1978.

BAKEN, R.J. Electroglottography. J Voice, 6(2):98-110, 1992.

BERKE, G.S.; MOORE, D.M.; GERRATT, B.R.; HANSON, D.G.; NATIVIDAD, M. Effect of superior laryngeal nerve stimulation on phonation in an in vivo canine model. **Am J Otolaryngol.**,10:181-187, 1989.

BERRY, D.A.; HERZEL, H.; TITZE, I.R.; STORY, B.H. Bifurcations in excised larynx experiments. **J Voice**, 10(2):129-138, 1996.

BEYER, T.E. Traumatic paralysis of the cricothyroid muscle. Laryngoscope, 51:296-298, 1941.

CHAN, R.W.; TITZE, I.R. Effect of postmortem changes and freezing on the viscoelastic properties of vocal fold tissues. **Ann Biomed Eng.**, 31(4):482-491, 2003.

DEDO, H.H.; HALL, W.N. Electrodes in laryngeal electromyography. Realiability comparison. **Ann Otol Rhinol Laryngol**, 78:172-180, 1969.

DEDO, H.H. The paralyzed larynx: An electromyographic study in dogs and humans. Laryngoscope, 80:1455-1517, 1970.

DOLANSKY, L. On certain irregularities of voiced speech waveforms. **IEEE Trans**, AU-116:51-56, 1968.

DURSUN, G.; SATALOFF, R.T.; SPIEGEL, J.R.; MANDEL, S.; HEUER, R.J.; ROSEN, D.C. Superior laryngeal nerve paresis and paralysis. **J Voice**, 10:206-211, 1996.

ECKLEY, C.A.; SATALOFF, R.T.; HAWKSHAW, M.; SPIEGEL, J.R.; MANDEL, S. Voice range in superior laryngeal nerve paresis and paralysis. J Voice, 12(3):340-348, 1998.

FAABORG-ANDERSEN, K. Electromyographic investigation of intrinsic laryngeal muscles in humans. Acta Physiol Scand, 41:140-167, 1957.

FAABORG-ANDERSEN, K.; SONNINEN, A. The function of the extrinsic laryngeal muscles at different *pitch*. Acta Otolaryngol, 51:89-93, 1960.

FAABORG-ANDERSON, K.; JENSEN, A.M. Unilateral paralysis of the superior laryngeal nerve. Acta Otolaryngol, 57:155-159, 1964.

FLETCHER, N.H. Nonlinearity, complexity, and control in vocal systems. In: DAVIS, P.J.; FLETCHER, N.H. Vocal fold physiology: controlling complexity and chaos. San Diego, London: Singular Publishing Group, 1996. p.3-16.

GIOVANNI, A.; OUAKNINE, M.; GUELFUCCI, B.; YU, P.; TRIGLIA, J.M. Non linear behavior of vocal fold vibration in an experimental model: role of coupling between the vocal folds. **J Voice**, 3(4):465-476, 1999.

GORTI, G.K.; BIRCHALL, M.A.; HAVERSON, K.; MACCHIARINI, P.; BAILEY, M. A. preclinical model for laryngeal transplantation:anatomy and mucosal immunology of the porcine larynx. **Transplantation**, 68(11):1638-1642, 1999.

HERZEL, H.; BERRY, D.; TITZE, I.; SALEH, M. Analysis of vocal disorders with methods from nonlinear dynamics. **J Speech Hear Res**, 37:1008-1019, 1994.

HIRANO, M.; OHALA, J.; VENNARD, W. The function of laryngeal muscles in regulating fundamental frequency and intensity of phonation. **J Speech Hear Res.**, 12(3):616-628, 1969.

HONG, K.H.; YE, M.; KIM, M.; KEVORKIAN, K.F.; KREIMAN, J.; BERKE, G.S. Functional differences between the two bellies of the cricothyroid muscle. **Otolaryngol Head Neck Surg**, 118(5):714-722, 1998.

ISSHIKI, N.; TANABE, M.; ISHIZAKA, K.; BROAD, D. Clinical significance of asymmetrical vocal cord tension. **Ann Otol**, 86:58-66, 1977.

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

KIMAID, P.A; CRESPO, A.N.; QUAGLIATO, E.M.; WOLF, A.; VIANA, M.; RESENDE, M.A. Laryngeal electromyography: contribution to vocal fold immobility diagnosis.

Electromyogr Clin Neurophysiol., 44(6):371-4, 2004.

KIRIKAE, I. Strobocinematographic study on the human vocal cord vibration during phonation. **Jap Oto-rhinol-laryng Soc**, 49:236-262, 1943.

KLATT, D.H.; KLATT, L.C. Analysis, synthesis, and perception of voice quality vibrations among female and male talkers. **Journal of the Acoustical Soc of Am**, 87:820-841, 1990.

KOIKE, Y. Amplitude modulations in patients with laryngeal diseases. Journal of the Acoustical Society of America, 45:839-844, 1969.

KOUFMAN, J.A.; BELAFSKY, P.C. Unilateral or localized Reinke's edema (pseudocyst) as a manifestation of vocal fold paresis: the paresis podule. **Laryngoscope**, 111(4):576-580, 2001.

LUDLOW, C.; COULTER, D.; GENTAGES, F. The differential sensitivity of frequency perturbation to laryngeal neoplasms and neuropathologies. In: D. BLESS & J. ABBS **Vocal fold physiology: Contemporary research and clinical issues.** San Diego: College Hill Press., 1990, p. 381-392.

MAY, M.; LAVORATO, A.S.; BLEYAERT, A.L. Rehabilitation of the crippled larynx: Application of the Tucker technique for muscle-nerve reinnervation. **Laryngoscope**, 90:1-18, 1980.

MOORE, G.; VAN LEDEN, H. Dynamic variation of the vibratory pattern in the normal larynx. **Folia Phoniatr**, 10:205-238, 1958.

MUSEHOLD, A. Stroboskopische und phoniatrische studien uber die stellung der stimmlippe im brust-und falsett-register. **Arch Laryngol Rhinol**, 7:1-21, 1898.
MYGIND, H. Die paralyse des musculus cricothyroideus. Arch Otolaryngol, 18:403-418, 1906.

NASSERI, S.S.; MARAGOS, N.E. Combination thyroplasty and the "twisted larynx:"combined type IV and type I thryroplasty for superior laryngeal nerve weakness. **J Voice**, 14(1):104-111, 2000.

NEW, G.B.; CHILDREY, J.H. Paralysis of the superior laryngeal nerve associated with arteriosclerosis of the central nervous system. **Arch Otolaryngol**, 11:752-754, 1930.

OMORI, K.; KOJIMA, H.; KAKANI, R.; SLAVIT, D.; BLAUGRUND, S.M. Acoustic characteristics of rough voice: subharmonics. **J Voice**, 11(1):40-47, 1997.

OUAKNINE, M.; FERNANDES, M.; GIOVANNI, A. Visualization of the vibratory movements of the vocal cords under assymetrical conditions. **Rev Laryngol Otol Rhinol** (**Bord**), 121(5):297-300, 2000.

OUAKNINE, M.; GARREL, R.; GIOVANNI, A. Separate detection of vocal fold vibration by optoreflectometry: a study of biphonation on excised porcine larynges. Folia Phoniatr Logop, 55:28-38, 2003.

PONTES, P.; VIEIRA, V.P.; GONÇALVES, M.I.R.; PONTES, A.L. Characteristics of hoarse, rough and normal voices: acoustic spectrographic comparative analysis. **Brazilian J Otorhinolaryngol**, 68(2):182-188, 2002.

PTOK, M.; SESTERHENN, G.; ARNOLD, R. Bewertung der laryngealen Klanggeneration mit der FFT – Analyse der glottischen Impedanz bei Pattienten mit Rekurrensparese. Folia Phoniatrica, 45:182-198, 1993.

REMACLE, M.; TRIGOUX, I. Characteristics of nodules through the high-resolution frequency analyzer. Folia Phoniatrica., 43:53-59, 1991.

SIRVIO, P.; MICHELSSON, K. Sound-spectrographic cry analysis of normal and abnormal newborn infants. A review and a recommendation for standardization of the cry characteristics. **Folia Phoniatr (Basel)**, 28(3):161-173, 1976.

SLAVIT, D.H.; MCCAFFREY, T.V.; YANAGI, E. Effect of superior laryngeal nerve on vocal fold function: an in vivo canine model. **Otolaryngol Head Neck Surg**, 105:857-863, 1991.

SMITH, M.E.; BERKE, G.S.; GERRATT, B.R.; KREIMAN, J. Laryngeal paralyses: Theoretical considerations and effects on laryngeal vibration. Journal of Speech and Hearing Research., 35:545-554, 1992.

TANAKA, S.; HIRANO, M.; UMENO, H. Laryngeal behavior in unilateral superior laryngeal nerve paralysis. Ann Otol Rhinol Laryngol, 103:93-7, 1994.

TITZE, I.; BAKEN, R.; HERZEL, H. Evidence of chaos in vocal fold vibration. In: TITZE, I. **Principles of voice production**. San Diego: Singular Publishing Group,1993. p.143-188.

TITZE, I.R.; LIANG, H. Comparison of Fo extraction methods for high-precision voice perturbation measurements. **J Speech Hear Res**, 36:1120-1133, 1993.

VAN DEN BERG, J.; TAN, T.S. Results of experiments with human larynxes. **Pract. Oto-Rhino-Laryngologica**, 21(6):426-450, 1959.

WARD, P.H.; BERCI, G.; CALCATERRA, T.C. Superior laryngeal nerve paralysis: an often overlooked entity. **Tr Am Acad Opth Otol**, 84:78-89, 1977.

YANAGI, E.; MCCAFFREY, T. Study of vibratory pattern of the vocal folds in excised canine larynx. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, 118:30-361, 992.

9- BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

BERGE, P. ; POMEAU, Y. ; VIDAL, C. L'ordre dans le chaos. Vers une approche déterministe de la turbulence. Paris, 1988. 1 ed.

COLTON, R.H.; CONTURE, E.G. Problems and pitfalls of electroglottography. **J Voice**, 4(1):10-24, 1990.

COLTON, R.H. Some acoustic parameters related to the perception of modal-falsetto voice quality. **Folia Phoniatr (Basel)**, 25(4):302-311, 1973.

COLTON, R.H. Spectral characteristics of the modal and falsetto registers. Folia Phoniatr (Basel), 24(5):337-344, 1972.

DEDO, H.H.; OGURA, J.H. Vocal cord electromyography in the dog. Laryngoscope, 75:201-211, 1965.

FRECHE, C.; DEJEAN, Y.; DEMARD, F.; DEMARD, D.; MORGON, A.; TRAISSAC, L. et al. La voix humaine et ses troubles. Paris, 1984. P. 9-118.

HERZEL, H. Bifurcations and chaos in voice signals. Applied Mechanics Review, 46:399-413, 1993.

HIRANO, M. Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variation. **Folia Phoniatr**, 26:89-94, 1974.

HSIAO, T.Y.; LIU, C.M.; LUSCHEI, E.S.; TITZE, I.R. The effect of cricothyroid muscle action on the relation between subglottal pressure and fundamental frequency in an in vivo canine model. **J Voice**, 15(2):187-193, 2001.

ISSHIKI, N. Phonosurgery. Theory and practice. Tokyo, 1989. p. 2-59.

ISSHIZAKA, K.; ISSHIKI, N. Computer simulation of pathological vocal-cord vibration. **Journal of the Acoustical Society of America**., 60:1193-1198, 1976.

KOUFMAN, J.A.; WALKER, F.O.; JOHARJI, G.M. The cricothyroid muscle does not influence vocal fold position in laryngeal paralysis. Laryngoscope, 105:368-372, 1995.

LECLUSE, F.L.E.; BROCAAR, M.P.; VERSCHUURE, J. The electroglottography and its relation to glottal activity. **Folia phoniat**., 27:215-224, 1975.

ROUBEAU, B.; CHEVRIE-MULLER, C.; LACAU SAINT GUILY, J. Electromyographic activity of strap and cricothyroid muscles in *pitch* change. **Acta Otolaryngol.**, 117(3):459-464, 1997.

SASAKI, C.; ISSACSON, G. Functional anatomy of the larynx. **Otolaryngol Clin North Am**, 21(4):595-612, 1988.

SULICA, L.; BLITZER, A. Electromyography and the immobile vocal fold. **Otolaryngol Clin North Am**, 37(1):59-74, 2004.

TITZE, I.R. Interpretation of the electroglottographic signal. J Voice, 4(1):1-9, 1990.

TITZE, I.R. Mechanisms underlying the control of fundamental frequency. In: GAUFFIN, J.; HAMMARBERG, B. Vocal fold physiology: acoustic, perceptual and physiological aspects of voice mechanisms. San Diego: Singular Publishing Group, 1991.,p:128-138.

TSUJI, D.H.; ALMEIDA, E.R.; SENNES, L.U.; BUTUGAN, O.; PINHO, S. Comparison between thyroplasty type I and arytenoid rotation: a study of vocal fold vibration using excised human larynges. **J Voice**, 17(4):496-604, 2003.

VAN DEN BERG, J. Modern research in experimental phoniatrics. Folia Phoniatrica, 14(2/3):81-149, 1962.

WOODSON, G. Configuration of the glottis in laryngeal paralysis: clinical study. Laryngoscope, 103:1227-1234, 1993.

WOODSON, G.E.; MURRY, M.P.; SCHWEIZER, V.; HENGESTEG, A.; CHEN, N.; YEUNG, D. Unilateral cricothyroid contraction and glottic configuration. J Voice, 12(3):335-339, 1998.

WOODSON, G.E. Respiratory activity of the cricothyroid muscle in conscious humans. Laryngoscope, 100:49-53, 1990.

ZARETSKY, L.S.; SANDERS, I. The three bellies of the canine cricothyroid muscle. Ann Otol Rhinol Laryngol, 101:3-16, 1992.

ZEALEAR, D.L.; BILLANTE, C.L. Neurophysiology of vocal fold paralysis. Otolaryngol Clin North Am., 37 (1):1-23, 2004.

10-ANEXOS

ANEXO I- Curvas dos sinais dos optoreflectômetros em cada prega vocal, representada por cores diferentes (azul e vermelho). O fluxo aéreo está assinalado sobre cada traçado. A curva pontilhada ao fundo corresponde ao sinal do eletroglotógrafo. O cálculo da distância interpicos pode ser apreciada para cada etapa dos experimentos.

































































ANEXO II - Espectros extraídos do eletroglotógrafo e optoreflectômetros para todos os experimentos, em cada etapa de variação do fluxo aéreo. PV – prega vocal

ANEXO II - Espectros extraídos do eletroglotógrafo e optoreflectômetros para todos os experimentos, em cada etapa de variação do fluxo aéreo. PV – prega vocal

PV NÃO TENSIONADA

ELETROGLOTÓGRAFO

OPTOREFLECTÔMETROS

PV TENSIONADA



fluxo aéreo 0.5 l/s

ELETROGLOTÓGRAFO

OPTOREFLECTÔMETROS

PV NÃO TENSIONADA

PV TENSIONADA





fluxo aéreo 0.5 l/s

ELETROGLOTÓGRAFO

OPTOREFLECTÔMETROS





fluxo aéreo 0.5 l/s

ELETROGLOTÓGRAFO



PV TENSIONADA





OPTOREFLECTÔMETROS



fluxo aéreo 0.5 l/s

ELETROGLOTÓGRAFO

OPTOREFLECTÔMETROS



Anexos 129 **ELETROGLOTÓGRAFO**

OPTOREFLECTÔMETROS











fluxo aéreo 1.0 l/s



Anexos 132



fluxo aéreo 1.0 l/s

ANEXO III- Sobreposição dos espectros do eletroglotógrafo (azul, ao fundo) e do optoreflectômetro para cada prega vocal (vermelho, em primeiro plano). A prega vocal não tensionada está identificada como canal 5 (sempre na coluna da esquerda) e a prega vocal tensionada está identificada como canal 6 (sempre na coluna da direita). As etapas de variação do fluxo aéreo para cada experimento estão em ordem crescente.


































Experimento 5





Experimento 6



