



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

EDER BARBOSA MURANAKA

DISTRIBUIÇÃO DE FIBRAS COLÁGENAS E ELÁSTICAS NA LÂMINA PRÓPRIA  
DAS PREGAS VOCAIS: COMPARAÇÃO INTERESPÉCIES

CAMPINAS  
2020

EDER BARBOSA MURANAKA

DISTRIBUIÇÃO DE FIBRAS COLÁGENAS E ELÁSTICAS NA LÂMINA PRÓPRIA  
DAS PREGAS VOCAIS: COMPARAÇÃO INTERESPÉCIES

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas como parte dos  
requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em  
Ciências, Área de Concentração em Otorrinolaringologia.

ORIENTADOR: PROF. DR. AGRÍCIO NUBIATO CRESPO

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL  
DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO EDER BARBOSA  
MURANAKA E ORIENTADA PELO PROF. DR. AGRÍCIO  
NUBIATO CRESPO.

CAMPINAS

2020

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas  
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

M931d Muranaka, Eder Barbosa, 1982-  
Distribuição de fibras colágenas e elásticas na lâmina própria das pregas vocais : comparação interespecies / Eder Barbosa Muranaka. – Campinas, SP : [s.n.], 2020.

Orientador: Agrício Nubiato Crespo.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Laringe. 2. Prega vocal. 3. Modelos animais. 4. Colágeno. 5. Elastina. I. Crespo, Agrício Nubiato, 1958-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Collagen and elastic fibers distribution in the vocal fold lamina propria : interspecies comparison

**Palavras-chave em inglês:**

Larynx

Vocal cords

Models, Animal

Collagen

Elastin

**Área de concentração:** Otorrinolaringologia

**Titulação:** Doutor em Ciências

**Banca examinadora:**

Agrício Nubiato Crespo [Orientador]

Albina Messias de Almeida Milani Altemani

Noemi Grigoletto De Biase

Rebecca Christina Kathleen Maunsell

Regina Helena Garcia Martins

**Data de defesa:** 14-02-2020

**Programa de Pós-Graduação:** Ciências Médicas

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-9005-4955>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0664262198115153>

# **COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO**

**EDER BARBOSA MURANAKA**

---

**ORIENTADOR: AGRÍCIO NUBIATO CRESPO**

---

## **MEMBROS TITULARES:**

- 1. PROF. DR. AGRÍCIO NUBIATO CRESPO**
- 2. PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. ALBINA MESSIAS DE ALMEIDA MILANI ALTEMANI**
- 3. PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. REBECCA CHRISTINA KATHLEEN MAUNSELL**
- 4. PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. NOEMI GRIGOLETTO DE BIASE**
- 5. PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. REGINA HELENA GARCIA MARTINS**

---

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

**Data de Defesa: 14/02/2020**

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Arnaldo e Arlene, exemplos de amor pela família e pela vida.

À minha esposa Andréa, pelo companheirismo e amor incondicionais.

Ao meu filho Gabriel, fonte de inspiração.

À minha querida irmã Cíntia, amiga de todas as horas.

Ao meu sogro Jurandir e à minha sogra Rubia, avós amorosos.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Agrício N. Crespo, Prof. Titular de Otorrinolaringologia Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pela oportunidade e privilégio de participar desse programa de pós-graduação, pela dedicação exemplar e pelo entusiasmo contagiante com o trabalho.

À Prof. Dra. Icléia S. Barreto, Patologista Assistente do Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, pela disponibilidade, pela gentileza e pelos ensinamentos sobre histologia, sem os quais não seria possível a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos R. S. Correa, Professor Assistente do Departamento de Medicina Preventiva e Social da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, pela cordialidade, pela paciência e pela colaboração inestimável com a análise estatística.

Aos meus amigos, em especial ao Igor M. Hazboun, que muito ajudou nas fases iniciais desse trabalho.

Aos colaboradores da Secretaria da Disciplina de Otorrinolaringologia da UNICAMP, sempre gentis e prestativos.

Aos colaboradores do Ambulatório de Otorrinolaringologia da UNICAMP, pelo auxílio prestado nesse período.

Aos funcionários do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da UNICAMP, pela colaboração com o manejo dos animais utilizados no trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Anatomia Patológica, sempre prestativos.

## RESUMO

**Introdução:** O conhecimento das características histológicas da lâmina própria (LP) da prega vocal (PV) é essencial para o entendimento da fonação, das desordens vocais e para o desenvolvimento das modalidades de tratamento. As características biomecânicas da LP da PV são determinadas principalmente pelos componentes extracelulares, com destaque para o colágeno e as fibras elásticas. Modelos animais são importantes nos estudos da fonação. Dadas as diferenças morfológicas e fisiológicas, nenhuma espécie animal emergiu como modelo ideal no estudo da laringe, seja para ensino ou pesquisa. **Objetivos:** Descrever a concentração e distribuição das fibras colágenas e elásticas na face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI) da LP da PV humana e comparar com a LP das demais espécies estudadas. **Material e métodos:** Estudo experimental. Cortes coronais do terço médio da porção membranosa de PV de bovino, cão, coelho, humano, ovino, porco e rato foram selecionados e corados pelo Tricrômico de Masson e pelo método Weigert Van Gieson. Foram avaliadas a concentração e a distribuição do colágeno e das fibras elásticas ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV, por análise digital e avaliação morfológica microscópica, utilizando-se de modelo de segmentação histológica inédito. Na avaliação objetiva utilizamos o teste não paramétrico *Wilcoxon* e adotamos o nível de 5% de significância estatística. A avaliação morfológica microscópica foi feita de modo descritivo. **Resultados:** Verificamos gradiente crescente de concentração de colágeno e das fibras elásticas na LP da PV humana, de superficial para profundo, ao longo de todo seu eixo craniocaudal. Nessa comparação, a LP da PV do rato foi a mais semelhante e a do cão a mais diferente da humana. Não houve diferenças significativas entre as concentrações de fibras elásticas e colágenas entre níveis equivalentes ao longo da FS, BL e FI da PV humana, assim como na bovina. Nas demais espécies estudadas houve diferenças significativas entre as concentrações de colágeno em níveis equivalentes ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV. No cão e no coelho, não houve diferenças significativas entre as concentrações de fibras elásticas em níveis equivalentes ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV, diferente do verificado em ovino, porco e rato. A estruturação da LP da PV em camadas, presente em todas as espécies estudadas, foi observada na avaliação quantitativa. Verificamos, pela avaliação morfológica microscópica, que há duas camadas na LP de cão, coelho, ovino e de porco. Na LP da PV de rato, há duas camadas na FS e três camadas na BL e FI. **Conclusões:** A estruturação da lâmina própria da prega vocal em camadas foi observada na avaliação quantitativa e na avaliação morfológica microscópica em todas as espécies estudadas. O número de camadas manteve-se o mesmo ao longo do eixo craniocaudal da lâmina própria da prega vocal de todas as espécies animais, exceto no rato. Nenhuma espécie animal reproduziu as mesmas condições histológicas na lâmina própria da prega vocal humana quanto à concentração e distribuição de colágeno e de fibras elásticas.

*Palavras-chave:* Laringe; Fonação; Prega vocal; Modelos animais; Membrana mucosa; Colágeno; Elastina.

## ABSTRACT

**Introduction:** Knowing the histological features of vocal fold lamina propria is essential to understand phonation and voice disorders, as well as to help developing treatment modalities. Biomechanical properties of vocal fold lamina propria are mainly determined by extracellular components, with emphasis on collagen and elastic fibers. Animal models are important tools in phonation studies, although none of them have all the complex anatomical and histological features of the human vocal fold.

**Objectives:** The aims of the current study are to describe the concentration and distribution of collagen and elastic fibers on the superior surface (SS), free edge (FE) and inferior surface (IS) of the human vocal fold lamina propria and to compare them to the lamina propria of other investigated species.

**Methods:** Sections of the middle part of the membranous portion of the vocal fold of rat, rabbit, canine, sheep, pig, cow and human models were collected and stained with Masson's Trichrome and Weigert Van Gieson. The concentration and distribution of collagen and elastic fibers along the cranio-caudal axis of the vocal fold lamina propria of all models were subjected to digital analysis and microscopic morphological assessment based on an unprecedented histological segmentation model. Non-parametric Wilcoxon test was used for objective assessment at 5% significance level. Microscopic morphological assessment was carried out in a descriptive way.

**Results:** There was increased concentration of collagen and elastic fibers along the entire cranio-caudal axis of the human vocal fold lamina propria - from the superficial to the deep level of it. Rat vocal fold lamina propria was the most similar to that of humans, whereas dog vocal fold lamina propria was the most different one. There were no significant differences in concentrations of elastic and collagen fibers at equivalent levels throughout SS, FE and IS between human and cow vocal folds. The other investigated species have shown significant differences in collagen concentrations at equivalent levels along the cranio-caudal axis of the vocal fold. There were no significant differences in elastic fiber concentrations at equivalent levels along the cranio-caudal axis of the vocal fold lamina propria between dogs and rabbits, which was different from the concentration observed for pig, rat and sheep models. Quantitative assessment has shown layered structure in the vocal fold lamina propria of all investigated species. Microscopic morphological evaluation has evidenced two layers in the vocal fold lamina propria of dog, rabbit, sheep and pig models. Rat vocal fold lamina propria presented two layers in SS and three layers in FE and IS.

**Conclusion:** Based on quantitative and microscopic morphological assessments, all investigated species presented layered structure in the vocal fold lamina propria. The number of layers remained the same along the cranio-caudal axis of the vocal fold lamina propria of all animal species, except for rats. No animal species reproduced the same histological conditions observed for humans when it comes to the concentration and distribution of collagen and elastic fibers in the vocal fold lamina propria.

*Keywords:* Larynx; Phonation; Vocal cords; Models, animal; Mucous membrane; Collagen; Elastin.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>BL</b>	Borda livre
<b>CAAE</b>	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa
<b>CEUA</b>	Comissão de Ética no Uso de Animais
<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>FCM</b>	Faculdade de Ciências Médicas
<b>FI</b>	Face inferior
<b>FS</b>	Face superior
<b>GAG</b>	Glicosaminoglicanos
<b>HE</b>	Hematoxilina-Eosina
<b>LP</b>	Lâmina própria
<b>MISP</b>	<i>Microscope Image Segmentation Profiles</i>
<b>NII</b>	Nível intermediário intermediário
<b>NIP</b>	Nível intermediário profundo
<b>NIS</b>	Nível intermediário superficial
<b>NP</b>	Nível profundo
<b>NS</b>	Nível superficial
<b>PG</b>	Proteoglicanos
<b>PPVV</b>	Pregas vocais
<b>PV</b>	Prega vocal

**RGB** *Red Green Blue*

**TM** Tricrômico de Masson

**UNICAMP** Universidade Estadual de Campinas

**WVG** Weigert Van Gieson

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. OBJETIVOS .....	17
2.1- Objetivo geral .....	17
2.2 - Objetivos específicos .....	17
3. REVISÃO DA LITERATURA .....	18
3.1 – Histologia da prega vocal humana .....	18
3.2 – Modelos animais .....	25
3.3 – Estudos comparativos entre a laringe humana e a de animais.....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	32
4.1 – Obtenção das laringes .....	32
4.1.1 – Laringes humanas .....	32
4.1.2 – Laringes animais não humanas .....	33
4.2 – Isolamento das pregas vocais.....	34
4.3 – Preparação histológica, colorações especiais e digitalização das lâminas...	41
4.4 – Áreas de estudo.....	42
4.4.1 – Segmentação da prega vocal em três áreas: face superior, borda livre e face inferior.....	42
4.4.2 – Delimitação da lâmina própria.....	46
4.4.3 – Subdivisão da lâmina própria em níveis.....	46
4.5 – Avaliação objetiva da concentração de colágeno .....	49
4.6 – Avaliação objetiva da concentração de fibras elásticas.....	50
4.7 – Avaliação morfológica microscópica da lâmina própria .....	50
4.7.1 – Quanto ao colágeno .....	50
4.7.2 – Quanto às fibras elásticas.....	50
4.8 – Avaliação dos resultados .....	50
5. RESULTADOS.....	54
5.1 – Quanto à porcentagem de colágeno e fibras elásticas, por nível, na lâmina própria da prega vocal .....	54
5.1.1 – Colágeno .....	54
5.1.2 – Fibras elásticas.....	58
5.2 – Comparação da concentração de colágeno na lâmina própria entre a prega vocal humana e dos animais.....	62

5.2.1 – Na face superior das pregas vocais .....	62
5.2.2 – Na borda livre das pregas vocais .....	63
5.2.3 – Na face inferior das pregas vocais .....	64
5.3 – Comparação da concentração de fibras elásticas na lâmina própria entre a prega vocal humana e dos animais.....	65
5.3.1 – Na face superior das pregas vocais .....	65
5.3.2 – Na borda livre das pregas vocais .....	66
5.3.3 – Na face inferior das pregas vocais .....	67
5.4 – Comparação da concentração de colágeno e fibras elásticas entre os níveis na mesma área, por espécie.....	69
5.4.1 – Quanto ao colágeno .....	69
5.4.2 – Quanto às fibras elásticas.....	77
5.5 – Comparação da concentração de colágeno e fibras elásticas entre as três áreas da prega vocal, por espécie .....	85
5.5.1 – Quanto ao colágeno .....	85
5.5.2 – Quanto às fibras elásticas.....	91
5.6 – Quanto à morfologia microscópica.....	96
5.6.1 – Humano .....	96
5.6.2 – Bovino .....	101
5.6.3 – Cão.....	106
5.6.4 – Coelho .....	110
5.6.5 – Ovino .....	114
5.6.6 – Porco .....	119
5.6.7 – Rato.....	124
6. DISCUSSÃO.....	127
7. CONCLUSÕES.....	142
8. REFERÊNCIAS.....	143
9. APÊNDICE.....	154
9.1 – Tabelas: áreas demarcadas em relação a área total de cada amostra .....	154
10. ANEXOS.....	172
10.1 – Comitê de ética em pesquisa .....	172
10.2 – Comissão de ética no uso de animais.....	175

## 1. INTRODUÇÃO

A laringe humana é de elevada complexidade, tanto estrutural quanto funcional. Participa de três funções: ventilação, proteção das vias aéreas inferiores e da fonação.

A função fonatória é de alta relevância, cada vez mais estudada, principalmente pela repercussão social, cultural e ocupacional atribuída à mesma. Além de ser a fonte de energia sonora para a geração de comunicação oral inteligível, a voz reflete as características emocionais e da personalidade do orador. Estima-se que cerca de três a nove por cento da população geral sofra, em algum momento da vida, alguma desordem relacionada à voz(1).

Avanços no entendimento da laringe e de suas funções têm ocorrido recentemente. Permitem abordagens preventivas e terapêuticas menos invasivas e visam a preservação máxima das funções laríngeas, escopo da laringologia contemporânea(2,3).

Pode-se considerar a voz o fruto da complexa interação entre as vias aéreas e as estruturas fonatórias, finamente regulada por mecanismos neurológicos. Essa regulação fina, altamente especializada, fica evidente pela baixa razão de inervação presente nas unidades motoras da musculatura intrínseca da laringe, de até duas fibras musculares por unidade motora(4).

A natureza das características estruturais vibratórias das pregas vocais (PPVV) é elemento central da fonação humana, dadas as exigências biofísicas ímpares a que essa estrutura altamente especializada é submetida. Logo, ser capaz de observar, mensurar e estudar os movimentos vibratórios é importante para o entendimento da física da fonação, no diagnóstico e no tratamento das desordens vocais(5).

Na fonação, a energia aerodinâmica gerada pelo fluxo aéreo expiratório é convertida, pela vibração da prega vocal (PV), em energia acústica. A vibração da PV consiste de movimentos mediais e laterais, que produzem a onda mucosa, enquanto se propagam da região inferior para região superior da PV(6).

Na vanguarda, Minoru Hirano(7) correlacionou a fisiologia da fonação com as características histológicas das PPVV. Histologicamente, a PV é composta por epitélio, lâmina própria (LP) e pelo músculo vocal. A LP é estratificada em três camadas distintas de tecido conectivo, baseadas na distribuição das fibras colágenas e elásticas(8): uma superficial (CSLP), composta histologicamente por tecido conjuntivo frouxo com poucas fibras colágenas e elásticas; uma camada intermediária (CILP), rica em fibras elásticas; e a camada profunda (CPLP), com grande número de fibras elásticas e colágenas(9). O ligamento vocal é composto pelas CILP e CPLP(8,10).

Segundo a teoria *Corpo-Cobertura*(7,10), as camadas da PV são funcionalmente estratificadas em *cobertura* (epitélio e CSLP), *transição* (ligamento vocal) e *corpo* (músculo vocal). Com base nessa divisão, a cobertura, por ser mais flexível, ao oscilar sobre o corpo, possibilita a criação do movimento mucosondulatório durante a fonação.

Embora cada camada apresente características estruturais distintas, as diferenças funcionais, notadamente as propriedades reológicas, se apresentam de forma mais complexa e são pouco conhecidas(11).

A LP é a estrutura mais importante da PV porque é ela que vibra durante a fonação(12). A LP é constituída por dois componentes: um celular e uma matriz extracelular, rica em proteínas, glicosaminoglicanos, proteoglicanos, mineiras e água(13,14).

Como a distribuição desses elementos é potencialmente capaz de afetar a função fonatória, é fundamental compreender o equilíbrio normal e a interrelação entre esses componentes para que variações do estado normal possam ser identificadas.

Acredita-se que apenas os componentes extracelulares teriam papel determinante sobre as características biomecânicas da LP da PV, já que o componente celular demonstra ser bastante escasso nessa camada(15–17).

Muitas das características oscilatórias da LP da PV são determinadas pela porção proteica da matriz extracelular, composta por proteínas fibrilares e

intersticiais. As principais proteínas fibrilares da LP da PV são as fibras colágenas e elásticas(16,17).

O colágeno é o maior componente proteico da PV humana. O reconhecimento do importante papel do colágeno nas pregas vocais levou a uma série de estudos da distribuição de colágeno da lâmina própria humana(12,14,18–22). Os membros dessa família de proteínas atuam principalmente como elementos de suporte para as estruturas dos tecidos, contribuindo com a estabilidade do tecido e para a resistência à tração. Essas fibras têm grande importância na fisiologia vocal. Ao conferir resistência à tração e certa elasticidade, permitem que a PV suporte a tensão da musculatura intrínseca da laringe, balanceando a tensão na LP, durante a modulação da voz(17,19).

A elastina é uma proteína responsável pela resiliência em muitos tecidos e também possui importância reconhecida na biomecânica da LP da PV, tendo sido objeto de vários estudos(9,23,24). Acredita-se que o mau funcionamento das propriedades elásticas das pregas vocais poderia causar o dessincronismo de suas vibrações(25).

Nos estudos de laringe, vários modelos animais, de diferentes espécies, foram utilizados. Dadas as diferenças morfológicas e fisiológicas, nenhum animal emergiu como modelo ideal no estudo da laringe, seja para ensino ou pesquisa. Além disso, há grande variabilidade na metodológica e de resultados nos estudos existentes.

Embora muito se tenha estudado sobre as características histológicas da PV humana, pouco se sabe sobre essas características na PV dos animais mais utilizados em pesquisa no nosso meio. Existem variações nas propriedades biomecânicas das PPVV entre as espécies e, provavelmente, se relacionam tanto ao tamanho anatômico quanto às propriedades dos tecidos(26). Embora recursos significativos tenham sido dedicados a quantificar as propriedades biomecânicas desses tecidos, as técnicas específicas não são padronizadas(27,28).

A distribuição de colágeno e fibras elásticas na LP das PPVV em vários mamíferos tem sido comparada com a humana, mas há poucos estudos até o presente momento(24,29–32). Não há estudos sobre a distribuição de colágeno e de

fibras elásticas ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV. Logo, as fibras colágenas e elásticas devem ser melhor caracterizadas, particularmente em potenciais modelos animais.

A maioria dos estudos histológicos existentes focam na região da BL da PV. No entanto, não houve padronização quanto ao método de identificação da BL da PV nos estudos existentes. Deve-se considerar que, embora a BL seja a área mais importante para fonação, a onda mucosa se inicia da região inferior para superior, com o fluxo expiratório, e se propaga de medial para lateral. Não há estudos sobre as características histológicas da LP ao longo da secção coronal da PV. Assim, conhecer as características da PV das regiões inferiores e superiores à BL pode auxiliar no melhor entendimento da fonação.

Considerando a importância das fibras colágenas e elásticas na LP das PPVV na biomecânica vocal, e para expandir o conhecimento sobre essas proteínas na LP das PPVV de alguns dos modelos animais mais frequentemente utilizados, este estudo foi idealizado para avaliar a concentração das fibras colágenas e elásticas na LP da PV humana e de outras espécies animais e compará-las de forma padronizada, com um modelo inédito de avaliação topográfica.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1- Objetivo geral**

Avaliar a estrutura histológica da lâmina própria da prega vocal de cão, de rato, de coelho, de porco, ovina, bovina e humana quanto à distribuição das fibras colágenas e elásticas.

### **2.2 - Objetivos específicos**

2.2.1 – Descrever a concentração e distribuição das fibras colágenas e elásticas na face superior, borda livre e face inferior da lâmina própria da prega vocal das espécies estudadas.

2.2.2 – Comparar a concentração e distribuição das fibras colágenas e elásticas na face superior, borda livre e face inferior da lâmina própria da prega vocal humana com a das demais espécies estudadas.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

Durante o processo de fonação, a energia aerodinâmica gerada pelo fluxo aéreo expiratório é convertida em energia acústica. A base dessa conversão de energia é a vibração da PV. Esta vibração consiste de movimentos mediais e laterais, que produzem a onda mucosa, enquanto se propagam da região inferior para região superior das pregas vocais(6). O termo onda mucosa foi cunhado por Matsushita(33) porque os movimentos sucessivos das PPVV à fonação, seja medial ou lateralmente, se assemelhavam a ondas em um meio fluido.

O movimento ondulatório das PPVV ocorre em três fases: horizontal ou movimento medial-lateral, longitudinal ou ântero-posterior e vertical ou caudal-cranial(34–38).

O comportamento ondulatório da mucosa pode ser atribuído ao acoplamento mecânico e aerodinâmico das PPVV(39,40). A estrutura de múltiplas camadas da mucosa da PV(41), a geometria da glote, assim com as forças aerodinâmicas e biomecânicas variam consideravelmente ao longo do comprimento da PV. Mudanças da massa, tensão e elasticidade das PPVV interferem na vibração(7,39,42). Na porção média da PV, a camada superficial é mais volumosa e as camadas intermediária e profunda da LP são mais delgadas. Assim, a PV é mais maleável perto do ponto médio da sua porção membranosa(43).

A qualidade vocal depende da integridade da superfície vibratória da PV e da preservação das suas propriedades biomecânicas e viscoelásticas(44).

#### 3.1 – Histologia da prega vocal humana

Hirano, em 1974(7), foi pioneiro ao correlacionar a fisiologia da fonação com as características histológicas das pregas vocais.

Histologicamente a LP é estratificada três camadas distintas de tecido conectivo, baseadas na distribuição das fibras colágenas e elásticas(8): uma superficial (espaço de *Reinke*), composta por tecido conjuntivo frouxo, com poucas fibras colágenas e elásticas; uma camada intermediária, rica em fibras elásticas; e, uma camada profunda, com grande número de fibras elásticas fibras colágenas(9). O ligamento vocal é composto pelas camadas intermediária e profunda da LP(8,10).

A estruturação em camadas na LP da PV não está presente em todas as fases da vida.

Hirano et al.(45), em 1983, por microscopia óptica, verificaram que a PV de recém nascidos era diferente da PV de adultos. Na PV de recém-nascidos toda a LP se apresentava como uma estrutura uniforme e sem ligamento vocal e que a estrutura trilaminar da LP ocorria na puberdade.

Ishii et al.(12), em 2000, por microscopia eletrônica, verificaram que, em fetos e neonatos, a LP consistia de áreas que variavam de densidade de colágeno e fibras elásticas. Aos 10 anos de idade a LP apresentava camada bilaminar e que aos 17 anos apresentava a estrutura trilaminar.

Hartnick et al.(46), em 2005, estudaram as PPVV de indivíduos com idade variando de recém-nascidos até 18 anos de idade. Verificaram que, ao nascimento, a LP se apresentava como uma monocamada hiper celular. Aos dois meses de idade ocorreram os primeiros sinais de diferenciação no sentido de formação de estrutura bilaminar, com uma superfície menos celular e uma profunda mais rica em células. Por volta dos 7 anos de idade, a LP já se apresentava com três camadas distintas, com a camada superficial hipocelular, a camada intermediária celularmente mais densa e com sua parte mais profunda com mais colágeno e elastina e a camada profunda hipocelular. Já aos 11 a 12 anos existia o padrão clássico de uma camada superficial hipocelular, seguida por uma camada intermediária predominantemente composta por fibras de elastina e uma camada mais profunda rica em colágeno. O ligamento vocal torna-se visível na adolescência.

Nita et al.(47), em 2009, estudaram a LP de PV de fetos por microscopia óptica e eletrônica e métodos histoquímicos. Verificaram que as populações de colágeno e de fibras elásticas apresentaram padrões consistentes de distribuição entre os diferentes compartimentos da LP. Descreveram que na região central da LP as fibras de colágeno eram finas, sugestivas de colágeno tipo III, enquanto que nas regiões superficial e profunda da LP as fibras de colágeno eram grossas, sugestivas de colágeno tipo I. Relatam que na região central da LP havia densidade maior de fibras elásticas que nas regiões superficial e profunda. Concluíram que essa distribuição de fibras colágenas e elásticas na LP da PV de fetos apresentava elevado grau de organização, com padrão semelhante aos descritos nos adultos, e

que esses achados sugeririam que o desenvolvimento do ligamento vocal já tenha começado ao nascimento.

A mucosa da PV é caracterizada por epitélio de revestimento do tipo escamoso estratificado, com cerca de 42 a 100 $\mu$ m de espessura(11,29,41,48), com uma LP subjacente, com cerca de 834 a 2500 $\mu$ m(11,29,41,48). A LP é constituída por dois componentes: um celular e uma matriz extracelular rica em proteínas, glicosaminoglicanos, proteoglicanos, mineiras e água(13,14).

Os principais elementos celulares na LP são os fibroblastos. Os fibroblastos são os principais responsáveis pela manutenção, desenvolvimento e reparo da matriz extracelular dessa camada(49).

Embora cada camada apresente características estruturais distintas, as diferenças funcionais, notadamente as propriedades reológicas, se apresentam de forma mais complexa e são pouco conhecidas(11).

A LP é estrutura primordial da PV porque é ela que vibra durante a fonação(12,41).

Acredita-se que apenas os componentes extracelulares teriam papel determinante sobre as características biomecânicas da LP da PV, já que o componente celular demonstra ser bastante escasso nessa camada.(15–17)

Muitas das características oscilatórias da LP da PV são determinadas pela porção proteica da matriz extracelular, composta por proteínas fibrilares e intersticiais. As principais proteínas fibrilares da lâmina própria da PV são as fibras colágenas e elásticas(14). As proteínas intersticiais são aquelas que ocupam os espaços entre as proteínas fibrilares e os proteoglicanos e as glicoproteínas são as principais(50). Tanto as proteínas fibrilares quanto as intersticiais têm propriedades que são importantes para a fisiologia da fonação. As proteínas fibrilares são importantes para manter o contorno e formato e são projetadas para lidar com o estresse. As proteínas intersticiais parecem controlar a viscosidade do tecido, o conteúdo de água, o tamanho do tecido e o tamanho e a densidade das fibras de colágeno(14).

Proteoglicanos (PG) representam uma complexa família de moléculas compostas de um núcleo proteico ao qual cadeias laterais de glicosaminoglicanos (GAG), como dermatan sulfato, condroitin sulfato, queratan sulfato e heparan sulfato, estão conectados. Geralmente, uma determinada proteína do núcleo PG está associada a um ou mais tipos específicos de cadeias laterais. Os PG são conhecidos por regularem a adesão celular, a formação da matriz extracelular, por modularem a atividade de fatores de crescimento e por influenciarem as propriedades biomecânicas dos tecidos(51). Tanto as quantidades absolutas quanto as distribuições espaciais dos tipos de PG/GAG são importantes na manutenção da fisiologia tecidual normal(52).

Acredita-se que a morfologia e a proporção de fibras colágenas e elásticas estão entre os principais fatores que determinam as propriedades físicas de cada camada da LP(9).

Hirano, em 1981(8), descreveu os principais componentes das subcamadas da LP, destacando-se delgadas fibras colágenas na camada superficial, com 0,05 a 0,07 $\mu$ m de diâmetro e poucas fibras elásticas, fibras elásticas, com 0,5 a 1,5 $\mu$ m de diâmetro, entrelaçadas com fibras colágenas na camada intermediária e fibras colágenas densamente organizadas na camada profunda.

Em 1996, Benninger et al.(53) notaram que na camada superficial da LP havia poucas fibras elásticas e colágenas, pequeno número de fibroblastos e conteúdo relativamente alto de fibras reticulares. Notaram, também, que na camada intermediária havia maior conteúdo de matriz extracelular e de fibras colágenas e moderada quantidade fibras elásticas e fibroblastos. Apesar da difícil percepção de separação entre as camadas intermediária e profunda, perceberam uma matriz extracelular rica em fibras elásticas e colágenas e quantidade moderada de fibroblastos na camada mais profunda.

Em estudo com análise tridimensional por microscopia eletrônica, Ishii et al.(9), avaliaram o arranjo das fibras elásticas e colágenas na PV humana. Descreveram, na camada superficial da LP, conglomerados de fibras colágenas e de delicadas fibras elásticas, que se dispunham de forma retilínea ou em espiral. Já na camada intermediária, os feixes grossos de fibras colágenas e fibras elásticas se

apresentavam com trajeto longitudinal, sendo presentes, também, finas fibras elásticas em espiral. A camada profunda foi caracterizada por densos feixes de fibras colágenas e fibras elásticas em espiral.

A densidade relativa de fibras colágenas na LP da PV humana varia em relação a idade e sexo. Há aumento da densidade de colágeno da LP com o envelhecimento, especialmente em homens. Com o avançar da idade, observa-se, também, o espessamento das fibras colágenas camada profunda da LP (12,18–22,54).

O termo colágeno faz referência a uma família de proteínas da matriz extracelular. São as proteínas mais abundantes do corpo humano, representando cerca de 30% do total da massa proteica. Todas as moléculas de colágeno são caracteristicamente longas e inextensíveis e consistem de três cadeias polipeptídicas, denominadas cadeias *alfas* ( $\alpha$ ). Cada cadeia  $\alpha$  contém pelo menos um domínio composto de sequências repetidas de aminoácidos Gly-X-Y, sendo que X e Y representam qualquer outro aminoácido diferente da glicina. As cadeias  $\alpha$  torcem-se uma sobre as outras, formando uma tripla-hélice. A presença da glicina, o menor aminoácido, em cada terceira posição é essencial para a formação dessa estrutura helicoidal. Os vertebrados possuem pelo menos 27 tipos de colágeno e há 42 cadeias  $\alpha$  diferentes conhecidas, e o número de membros dessa família de proteínas está constantemente crescendo com o avanço das pesquisas(55).

O colágeno é o maior componente proteico das PPVV humanas, representando cerca de 43% do seu total(32) e ainda é pouco estudado. Os membros dessa família de proteínas servem principalmente como elementos de suporte para as estruturas dos tecidos, contribuindo para estabilidade do tecido e para a resistência à tração. Também participam da regulação da migração celular e remodelamento tissular durante o crescimento, diferenciação, morfogênese e cicatrização(55). Essas fibras têm grande importância na fisiologia vocal, pois, ao conferir resistência à tração e certa elasticidade, permitem que a PV suporte a tensão da musculatura intrínseca da laringe, balanceando a tensão na LP, durante a modulação da voz(14).

Embora todos os tipos de colágeno tenham características estruturais em comum, cada tipo apresenta características individuais que as definem, sejam elas

químicas, funcionais, morfológicas, patológicas ou a maneira com que interagem com a matriz extracelular(56).

O colágeno tipo I é o subtipo mais abundante no corpo humano. Nas PV, as maiores concentrações de colágeno tipo I encontram-se nas porções mais superficiais da LP, imediatamente abaixo do epitélio, e nas suas porções mais profundas, adjacente às fibras musculares(57,58). Acredita-se que esse tipo de colágeno seja o responsável pela força tensora, resistente a tração durante a vibração das PPVV, mantendo sua forma durante o movimento muco-ondulatório. O colágeno tipo III está distribuído por toda LP das PPVV e seu papel provavelmente está relacionado com a manutenção do arcabouço estrutural da LP(57). Colágeno I e III compreendem a maior parte do colágeno presente na LP das pregas vocais(32). Colágeno tipo IV e V estão presentes no epitélio e na membrana basal endotelial(57).

Madruga de Melo et al.(21), em 2003, descreveram a existência de uma estreita faixa de colágeno tipo I na camada superficial da LP, uma camada intermediária composta de delicada trama de colágeno tipo III e na profundidade da LP, uma rede entrelaçada, organizada e densa de fibras colágenas tipos I e III, o que o autor descreveu como aspecto tipo “cesta de vime”.

Através de métodos imuno-histoquímicos, Bühler et al.(58), estudaram a distribuição dos colágenos tipo I e III em pregas vocais humanas normais. As maiores concentrações de colágeno tipo I foram evidenciadas nas porções mais superficiais da LP, imediatamente abaixo do epitélio, e nas suas porções mais profundas, adjacente às fibras musculares. O colágeno tipo III teve sua maior concentração observada na camada profunda da LP.

As fibras elásticas, outra protagonista nas propriedades biomecânicas da LP da PV, têm sido objeto de estudos(23,24). A contribuição das fibras elásticas nas propriedades biomecânicas da LP da PV há tempos tem sido reconhecida(14,29).

A elastina é uma proteína responsável pela resiliência em muitos tecidos. Ela pode ser esticada em até cinco vezes seu comprimento inicial, *in vitro*, sem perda da resiliência. No entanto, *in vivo*, suas propriedades elásticas são limitadas pela associação com fibras colágenas. Em PV, demonstrou-se esticar em até duas

vezes em relação ao seu comprimento inicial. Acredita-se que o mau funcionamento das propriedades elásticas das PPVV poderia causar o dessincronismo de suas vibrações(25).

A elastina ocorre em três tipos, na dependência da proporção de componente elástico amorfo e elastina fibrilar (microfibrilas): elaunina, oxitalano e fibras de elastina(59). Oxitalano é composta de microfibrilas de 10 a 12nm de diâmetro. Elaunina possui essas microfibrilas e pequeno componente amorfo. Fibras de elastina possuem microfibrilas envolvendo um núcleo de componente elástico amorfo. A fibra de elastina, elastina madura ou fibra elástica, é a mais elástica dentre esses três tipos de elastina, com capacidade de ser esticada cerca de duas vezes o seu comprimento e, em seguida, retornar ao comprimento normal(60). Elaunina e oxitalano são menos elásticos e são encontrados em tecidos nos quais o estresse é maior, como a camada superficial de tendões e na cartilagem(61).

Hirano et al.(62), em 1989, notaram que as fibras elásticas na camada intermediária da LP da PV se tornam menos densas com o envelhecimento e atrofiam em homens e que tais mudanças foram menos pronunciadas em mulheres.

Sato et al.(23), em 1997, observaram que as fibras elásticas na camada superficial da LP de PV de indivíduos mais velhos degeneram, atrofiam e se fragmentam irregularmente. Também verificaram que, nos adultos jovens, as fibras elásticas estavam essencialmente alinhadas na mesma direção, paralelas a borda da PV. Eram delgadas, ramificadas e que se anastomosam para formar uma rede frouxa, com espaços entre as fibras relativamente amplos. Em sua superfície, as fibras eram lisas e com forma uniforme (cilíndricas ou elípticas) e com diâmetro de cerca de 0,5µm. Já nas pregas vocais dos indivíduos senis, as fibras elásticas corriam em várias direções, ramificadas e formando uma rede complexa. Os espaços entre as fibras elásticas eram menores que os dos adultos jovens. A superfície das fibras era áspera e as fibras pareciam variar em tamanho.

Hammond et al.(59), em 1997, estudaram as características morfológicas de dois importantes constituintes da matriz extracelular: a elastina e o ácido hialurônico, além de realizar os primeiros estudos quantitativos. Confirmaram a divisão em três camadas com concentrações diferentes de fibras elásticas: oxitalano e elaunina nas regiões mais superficiais da LP e fibras elásticas na camada

intermediária e profunda. Também descreveram uma maior concentração de ácido hialurônico na camada intermediária da LP da PV.

Ainda, segundo Hammond et al.(25), a quantidade de elastina na LP aumenta com a idade, sem diferenças significativas entre os gêneros.

As fibras elásticas e colágenas compõem o ligamento e são dispostas de maneira longitudinal de modo que sejam relativamente paralelas ao músculo tireoaritenóideo. Nesse arranjo, eles podem responder ao estresse longitudinal quando influenciados pelos músculos intrínsecos da laringe(14).

### **3.2 – Modelos animais**

Diferentes espécies animais, como cão, coelho, rato, porco, ovino, furão, veado, macaco, gato e bovino, têm sido utilizados para se estudar as mais variadas características da laringe(63–70).

Na laringologia, alguns modelos animais para pesquisa foram propostos. O cão serviu como modelo de estenose glótica posterior(71), de papilomatose laríngea recorrente(72) e de fonação *ex vivo*(73). Há modelos de cicatrização em PV(74), de estenose subglótica adquirida (75), de lesão laríngea por queimadura em coelhos(76) e de fonação evocada em coelhos(77). O rato foi utilizado como modelo de cicatrização em PV(78), assim como o porco(79).

No entanto, não há nenhum modelo que consiga reproduzir a complexa função de fonação desempenhada pela laringe humana.

Baseado em suas necessidades espécie-específicas de vocalização, há variações de faixas de frequências de fonação entre os modelos animais. Essas variações podem ser atribuídas às diferenças de comprimento, morfologia e propriedades biomecânicas de suas PV(80). Assim, a escolha e a descrição do modelo apropriado devem considerar tamanho e formato das PPVV, presença ou ausência de ligamento vocal, organização e relativa abundância dos componentes extracelulares, o grau de vocalização que o animal normalmente apresenta e requerem maior compreensão e comparação das diferenças biomecânicas(81).

### 3.3 – Estudos comparativos entre a laringe humana e a de animais

Apesar de haver número significativo de estudos em laringes utilizando-se de modelos animais, poucos são os que efetivamente comparam a laringe humana com a animal.

Zrunek et al.(82), em 1988, compararam as principais dimensões do esqueleto laríngeo humano e ovino. No geral, a maioria das medidas de ovelhas adultas foram semelhantes às humanas. As diferenças mais evidentes em relação à laringe humana foi o estreitamento da porção superior, ausência da incisura da cartilagem tireóidea e as dimensões relativamente grandes das cartilagens aritenóides em ovelhas. Concluíram que a laringe ovina como modelo experimental pode ser discutida, uma vez que as dimensões no nível glótico e subglótico foram semelhantes à humana.

Titze et al.(83), em 1989, descreveram que o cão é um modelo limitado para estudos funcionais por não apresentar ligamento vocal bem definido.

Happak et al.(84), em 1989, verificaram que as fibras musculares da laringe ovina eram menores que as humanas, que houve diferença no percentual de fibras tipo I entre as duas espécies, sendo maior no músculo cricoaritenóideo posterior humano e no cricotireóideo ovino e que o músculo vocal de ambas as espécies foi o que apresentou menor porcentagem de fibras musculares tipo I. Concluíram que as características microscópicas da musculatura laríngea ovina foram comparáveis com a humana, apesar das diferenças em tipos de fibra e composição.

Alipour et al.(85), em 1999, avaliaram os músculos cricotireóide e tireoaritenóideo de cães e compararam com os humanos e verificaram que diferem em massa, área de secção transversal e orientação de fibras, o que tornaria o estudo dessas estruturas em cães de valor limitado, por exemplo, estudos de controle de *pitch* vocal.

Por outro lado, Garrett et al.(30), em 2000, compararam a histologia e a vibração das pregas vocais de cão, porco, macaco e humano com o objetivo de determinar o modelo animal mais adequado para estudos experimentais em microcirurgia laríngea. Confeccionaram cirurgicamente *microflap* na prega vocal e

tanto o lado operado como o não operado foram examinadas histologicamente usando coloração específica para elastina, colágeno maduro e substância fundamental. Baseado nos resultados histológicos e estroboscópicos, concluíram que o cão é o modelo mais adequado para estudos em cirurgia em PV, por ser o mais adequado para laringoscopia de suspensão, pela similaridade anatômica, porque suas PV vibram de forma mais semelhante às humanas, com ondas mucosas e diferenças de fase vertical.

Jiang et al.(64), em 2001, compararam anatomia e a biomecânica das estruturas laríngeas relacionadas com a fonação do porco, cão, veado e do homem. Verificaram que, embora as PV fossem semelhantes em comprimento nessas espécies, elas diferiram quanto as outras estruturas relacionadas com a fonação. Devido ao maior número de aspectos semelhantes, como arcabouço cartilágneo, dimensão do músculo cricotireóide, mobilidade rotacional da articulação cricotireóide, estrutura, espessura e rigidez das PPVV e análise acústica, concluíram que, dentre esses animais, a laringe suína é o modelo mais adequado para pesquisa em fonação.

Kim et al.(86), em 2004, aferiram as principais dimensões das cartilagens laríngeas de ovelhas e as compararam com as humanas e caninas. Verificaram que as cartilagens cricóide, tireóide e aritenóides ovinas eram significativamente diferentes das humanas e caninas. Essas diferentes características geométricas afetariam a dimensão e direção dos músculos da laringe e resultariam em diferenças na biomecânica laríngea. A falta de um limite definido entre as PV e vestibulares fizeram questionar a ovelha como modelo de estudos sobre a biomecânica fonação. No entanto, concluíram que, se essas diferenças forem consideradas como modelo, a ovelha pode ser substituto razoável para o cão nos estudos de tópicos básicos na biomecânica das PPVV.

Knight et al.(87), em 2005, descreveram de forma detalhada a anatomia neuromuscular da laringe suína e compararam com a humana. Verificaram que a principal diferença entre a musculatura intrínseca da laringe humana e suína é a ausência do músculo aritenóideo oblíquo nessa última, enquanto as origens e inserções dos demais músculos intrínsecos da laringe suína são semelhantes aos equivalentes na laringe humana.

Alipour et al.(88), em 2008, compararam as propriedades acústicas de fonação em laringes excisadas de porco, carneiro e vaca. Descreveram uma grande variedade nas características de fonação entre essas espécies, em que a variação da frequência fundamental foi maior na laringe do porco e menor na da vaca. O intervalo de maior variação na frequência fundamental foi observado no porco e a explicação fisiológica para esse fenômeno foi atribuída à presença de duas pregas vocais oscilantes associada às características estruturais da parede da supraglote suína, que não estão presentes nos outros animais estudados. Devido à alta gama de oscilação para a laringe porco (100 a 300 Hz), o porco foi sugerido como um bom modelo para o estudo de fonação.

Kotby et al.(89), em 2012, avaliaram laringes suína, ovina e bovina e escolheram o porco como modelo para formação e aperfeiçoamento em habilidades em microcirurgia endolaríngea. Segundo esses autores, dentre as espécies estudadas, o modelo suíno apresentou dimensões semelhantes à laringe humana, PV longa com o processo vocal da aritenóide relativamente curto e por possuir ventrículo e prega vestibular. A PV suína também apresentou características histológicas (epitélio, lâmina própria e musculatura) muito semelhantes à humana, embora a LP seja composta por apenas duas camadas e não possua ligamento vocal bem definido. Já as laringes ovinas e bovinas apresentaram longo processo vocal das aritenóides e PV relativamente mais curta, além de não apresentarem ventrículos, o que, segundo os autores, tornaram essas espécies inadequadas para traçar qualquer paralelismo com o órgão humano.

Woodson(79), em 2012, comparou o plano de dissecação cirúrgico na mucosa da PV de porco com humano, assim como avaliou a cicatrização na PV suína. Descreveram que o processo de cicatrização de feridas em porcos foi semelhante ao dos seres humanos, assim como o plano de dissecação na LP. Concluiu que o porco é uma escolha lógica para o estudo da cicatriz de prega vocal, pois o tamanho da laringe e estrutura histológica da mucosa da PV do porco são parecidos com as do homem.

Estudos histológicos comparativos, da LP da prega vocal, são ainda mais escassos.

Kurita et al.(29), em 1983, fez investigação comparativa da estrutura histológica da mucosa da prega vocal de 11 diferentes espécies de mamíferos: humanos, cavalos, macacos, *guinea pig*, bovinos, ratos, cães, porcos, coelhos, carneiros e gatos. Concluíram que a estrutura histológica da LP da mucosa da PV variou significativamente entre as espécies avaliadas. Verificaram que a LP poderia ser estratificada em camadas de acordo com a distribuição e densidade dos componentes fibrosos em todas espécies estudadas, exceto uma, o gato. Humanos, cavalos, macacos, *guinea pig*, bovinos e ratos tinham três camadas na LP, enquanto cães, porcos, coelhos e ovelhas tinham duas camadas na LP e gatos tinham apenas uma camada. Verificaram que espessura da PV suína foi a que mais se assemelhou à humana e que as inserções proximais e distais da musculatura intrínseca da laringe também foram similares. Concluíram que a interpretação dos dados obtidos sobre a fonação, a partir de experimentos em animais, requer uma compreensão profunda das diferenças na estrutura da prega vocal entre humanos e animais empregados.

Garrett et al.(30), em 2000, estudaram a PV de cães, macacos e porcos e, diferentemente da estrutura em duas camadas descrita por Kurita et al.(29), descreveram que a LP da PV dos cães era composta por três camadas: a camada superficial da LP da PV era composta por uma camada de colágeno, abaixo da membrana basal, com uma faixa de elastina ao longo da borda inferior da PV, e com substância amorfa (SA) preenchendo a maior parte da camada superficial da LP; a camada intermediária da LP consistia de densa SA e elastina; e a camada profunda da LP possuía mais colágeno e menos SA. Já a LP da PV suína era composta por duas camadas, mas as camadas eram menos distintas. A camada superficial da LP suína era sobretudo substância amorfa enquanto a camada profunda era composta por colágeno, com pouca elastina. A PV dos macacos foi a mais diferente da humana e que poderia ser dividida em parte superior e inferior a partir da borda vibratória. A parte superior da LP da PV do macaco consistia de densa substância amorfa sem camadas distintas, enquanto a parte inferior dispunha de duas camadas na LP, com a superficial composta por denso colágeno e a profunda por densa substância amorfa.

Hahn et al.(31), em 2005, ao estudarem o terço médio da porção membranosa das PPVV de humanos, cães, porcos e furões, por métodos

histológicos, bioquímicos e imuno-histoquímicos, verificaram que embora os níveis de GAG sulfatados totais parecessem semelhantes entre as espécies, a comparação das distribuições indicou diferenças interespecies notáveis. A análise dos padrões de distribuição permitiu a identificação de subdivisões baseadas na microestrutura da LP de cada animal. A comparação na organização das subdivisões da LP animal com as humanas indicou diferenças interespecies significativas. Essas diferenças interespecies foram particularmente notáveis na comparação de cães, o modelo animal mais comum na pesquisa das pregas vocais, com humanos. Verificaram que as subdivisões das LP caninas geralmente não se encaixavam no arranjo laminar característico do LP da PV humana. Concluíram que a diversidade na organização microestrutural da LP da PV entre as espécies de mamíferos poderia refletir diferenças interespecies das demandas funcionais da LP.

Hahn et al.(24), em 2006, por avaliação histológica e imuno-histoquímica, verificaram que os níveis de ácido hialurônico em cão, porco e furão foram três a quatro vezes maiores que os encontrados na LP da PV humana, mas fizeram ressalva quanto à possibilidade de ser um viés pelo tempo *post-mortem* ser significativamente maior nas amostras humanas que nas amostras animais, uma vez que o ácido hialurônico degrada rapidamente nessa condição. Verificaram que, na avaliação histológica, a distribuição de elastina na LP da PV suína foi a que mais se assemelhou à distribuição de elastina na LP da PV humana. Na LP da PV humana, verificaram aumento da concentração de elastina, de forma progressiva, da região mais superficial para a mais profunda. Na LP da PV do porco, as concentrações de elastina pouco variaram ao longo da espessura da LP. Por outro lado, os perfis de distribuição de elastina na LP da PV de cães e furões foram imagens em espelho da distribuição na LP humana, ou seja, invertidas, com as concentrações de elastina diminuindo da região mais superficial para a mais profunda. Concluíram que, devido ao impacto da distribuição da elastina na função tecidual, as diferenças de distribuição de elastina observadas na LP entre humanos e cães e furões sugeriam que essas duas espécies poderiam ter limitações como modelos de estudo de LP de PV humana.

Hahn et al.(32), em 2006, ao estudarem humanos, cães, porcos e furões, por avaliação histológica e imuno-histoquímica, verificaram que o total de colágeno em relação às proteínas totais na LP da PV foi cerca de 30% em furões, 43% em

humanos, 45% em cães e de 53% em porcos. Entretanto, avaliação histológica quantitativa e relativa com *picrosirius* indicaram que a distribuição de colágeno porcino é mais semelhante à dos humanos do que as distribuições nas outras duas espécies estudadas. Na LP da PV humana, verificaram aumento da concentração de colágeno, de forma progressiva, da região mais superficial para a mais profunda. Na PV do porco, as concentrações de colágeno também foram maiores na região mais profunda da LP. Verificaram que as distribuições de colágeno na LP do cão e furão foram essencialmente imagens em espelho da distribuição em humanos, ou seja, com as concentrações de colágeno diminuindo da região mais superficial para a mais profunda. Identificaram predomínio de colágenos tipos I e III na LP de todas as espécies estudadas. Os padrões de distribuição de colágeno tipo I na LP coincidiram com os padrões de distribuição do colágeno tipo III, exceto região central da LP da PV de cão. O padrão de distribuição de colágeno tipo IV na LP apresentou a maior diferença entre as espécies. No ser humano, o colágeno tipo IV apresentou maior concentração nas regiões mais superiores da camada intermediária e profunda da LP. Já no porco, o colágeno tipo IV teve maior concentração verificada na região mais profunda da LP. No cão e furão, o colágeno tipo IV concentrou-se nas regiões mais superficiais da LP. Por causa do impacto da distribuição do colágeno nas propriedades mecânicas dos tecidos, concluíram que as diferenças marcantes na distribuição de colágeno na LP observadas em humanos *versus* cães e furões sugeriam que essas duas espécies poderiam ter limitações como modelos para o LP humana.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas (CEUA/UNICAMP – protocolo 2843-1) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da mesma Universidade (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética – CAAE – 32922314.4.0000.5404).

Estudo experimental.

### **4.1 – Obtenção das laringes**

#### **4.1.1 – Laringes humanas**

As laringes foram obtidas de cadáveres humanos submetidos à necropsia no Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). A identificação das laringes e dos dados obtidos a partir das mesmas ou de partes das mesmas seguiram os padrões de registro deste Departamento.

O histórico médico, de todos os doadores cadáveres, foi obtido pela análise de seus respectivos prontuários.

Critérios de Inclusão: idade entre 18 e 65 anos, sem distinção de gênero ou raça.

Critérios de exclusão: tratamento prévio com radioterapia, quimioterapia, uso de imunossupressores, uso de imunomoduladores, de cirurgia laríngea, doença laríngea granulomatosa, tabagismo, neoplasia benigna ou maligna ou de qualquer outra doença, terapia ou procedimento que pudesse ter alterado a micro ou macroestrutura da laringe e de seus componentes e histórico médico pessoal inacessível ou ausente.

Foram utilizadas três laringes de cadáveres humanos submetidos à necropsia no Departamento de Patologia, no Hospital de Clínicas da UNICAMP.

#### 4.1.2 – Laringes animais não humanas

Critérios de inclusão – animais adultos.

Critérios de exclusão – histórico de radioterapia, quimioterapia, uso de imunossupressores, uso de imunomoduladores, de cirurgia laríngea, doença laríngea granulomatosa, neoplasia benigna ou maligna ou de qualquer outra doença, terapia ou procedimento que possa ter alterado a micro ou macroestrutura da laringe e de seus componentes; Alterações macroscópicas das PPVV.

- Três ratos (Wistar – *Rattus norvegicus*) adultos, sem distinção de gênero, foram obtidos no Laboratório do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, provenientes de outros experimentos. As laringes foram removidas após o sacrifício realizado por biólogo treinado em experimentação animal.

- Três coelhos (*New zealand*) adultos, sem distinção de gênero, foram obtidos no Laboratório do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, provenientes de outros experimentos. As laringes foram removidas após o sacrifício realizado por biólogo treinado em experimentação animal.

- Três porcos adultos, sem distinção de gênero ou raça, foram obtidos em abatedouros comerciais.

- Três carneiros adultos, sem distinção de gênero ou raça, foram obtidos em abatedouros comerciais.

- Três bovinos adultos, sem distinção de gênero ou raça, foram obtidos em abatedouros comerciais.

- Três cães adultos, sem distinção de gênero ou raça, foram obtidos em Clínicas Veterinárias e em Laboratórios de Patologia Veterinária.

## 4.2 – Isolamento das pregas vocais

A preparação macroscópica das laringes foi realizada sob a supervisão de patologista do Departamento de Anatomia Patológica da FCM-UNICAMP.

As laringes foram excisadas através de cervicotomia vertical mediana e, em seguida, fixadas em solução tamponada de formaldeído a 10%, separadas em frascos individuais e identificadas.

A remoção do órgão do doador foi feita em monobloco, desde a base da língua até os primeiros anéis traqueais. Esse bloco foi dissecado de modo a se isolar a laringe. A laringe foi aberta na face posterior por incisão longitudinal na linha média. Na sequência, foi dividida em hemilaringes, direita e esquerda, por incisão longitudinal na linha média anterior (figuras 1 a 7).

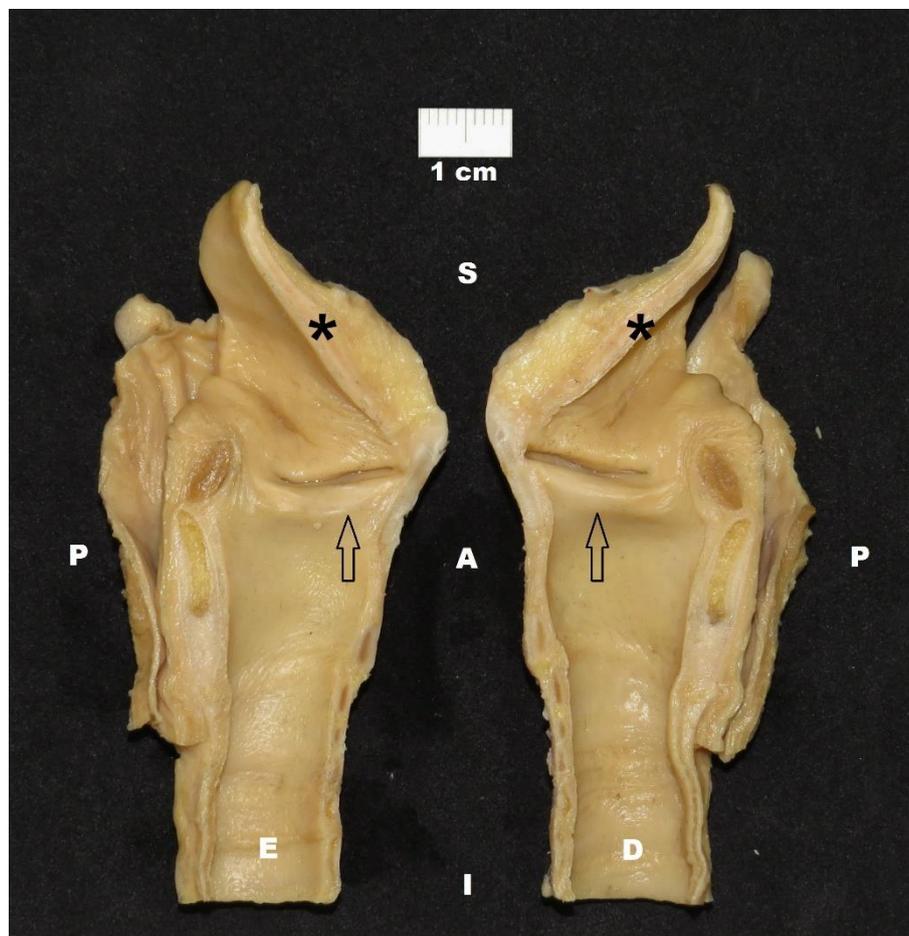


Figura 1. Laringe humana. Fotografia das hemilaringes, na vista medial. E – Hemilaringe esquerda. D – Hemilaringe direita. P – Posterior. A – Anterior. S – Superior. I – Inferior. Seta na cor preta identifica a prega vocal. Asterisco na cor preta identifica a epiglote.

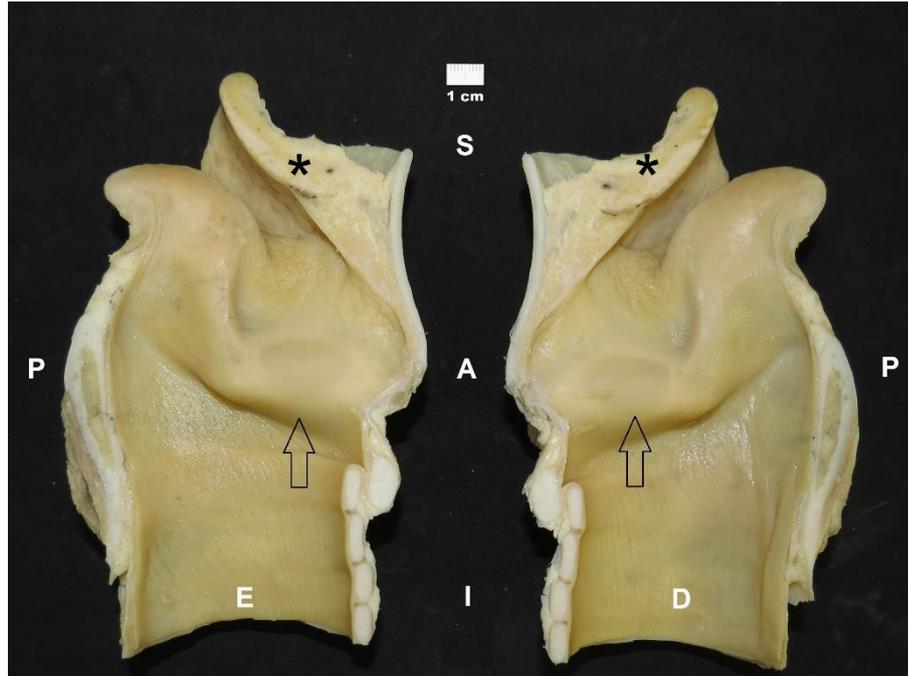


Figura 2. Laringe bovina. Fotografia das hemilaringes, na vista medial. E – Hemilaringe esquerda. D – Hemilaringe direita. P – Posterior. A – Anterior. S – Superior. I – Inferior. Seta na cor preta identifica a prega vocal. Asterisco na cor preta identifica a epiglote.

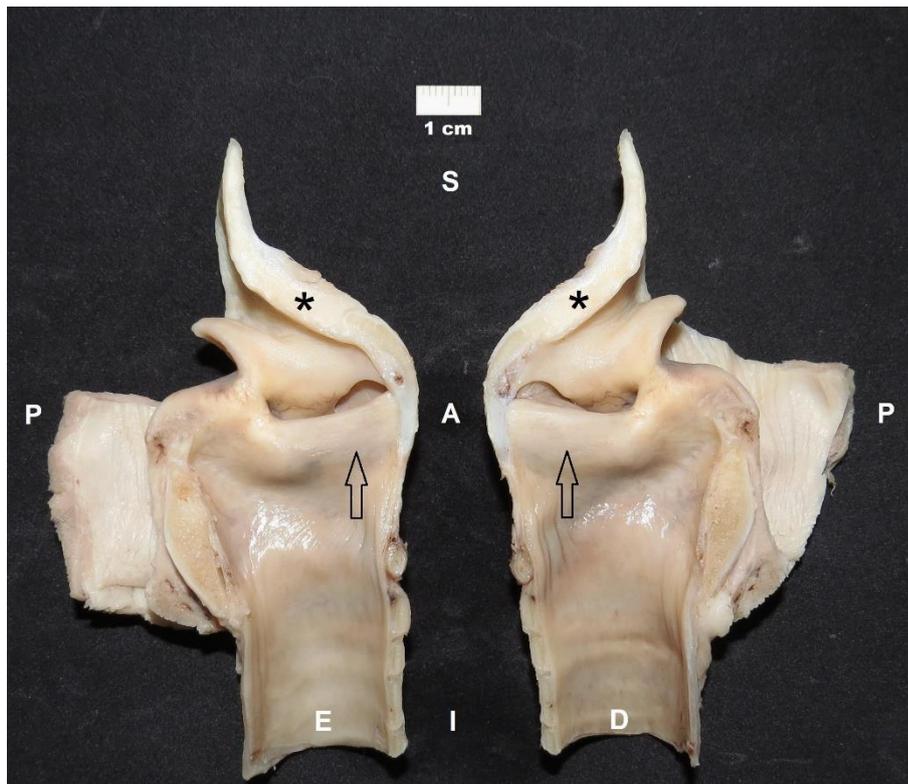


Figura 3. Laringe de cão. Fotografia das hemilaringes, na vista medial. E – Hemilaringe esquerda. D – Hemilaringe direita. P – Posterior. A – Anterior. S – Superior. I – Inferior. Seta na cor preta identifica a prega vocal. Asterisco na cor preta identifica a epiglote.



Figura 4. Laringe de coelho. Fotografia das hemilaringes, na vista medial. E – Hemilaringe esquerda. D – Hemilaringe direita. P – Posterior. A – Anterior. S – Superior. I – Inferior. Seta na cor preta identifica a prega vocal. Asterisco na cor preta identifica a epiglote.

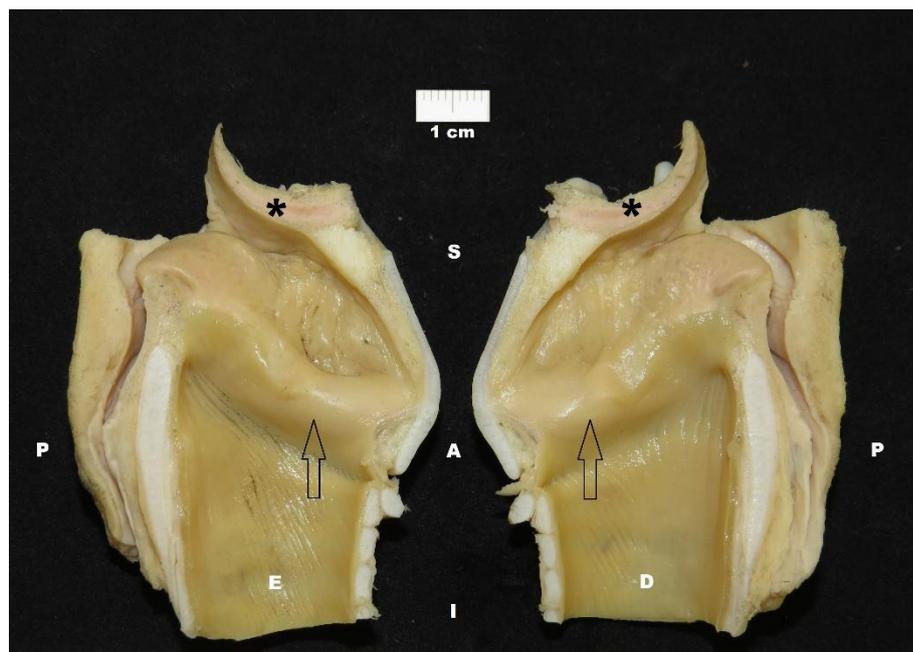


Figura 5. Laringe ovina. Fotografia das hemilaringes, na vista medial. E – Hemilaringe esquerda. D – Hemilaringe direita. P – Posterior. A – Anterior. S – Superior. I – Inferior. Seta na cor preta identifica a prega vocal. Asterisco na cor preta identifica a epiglote.

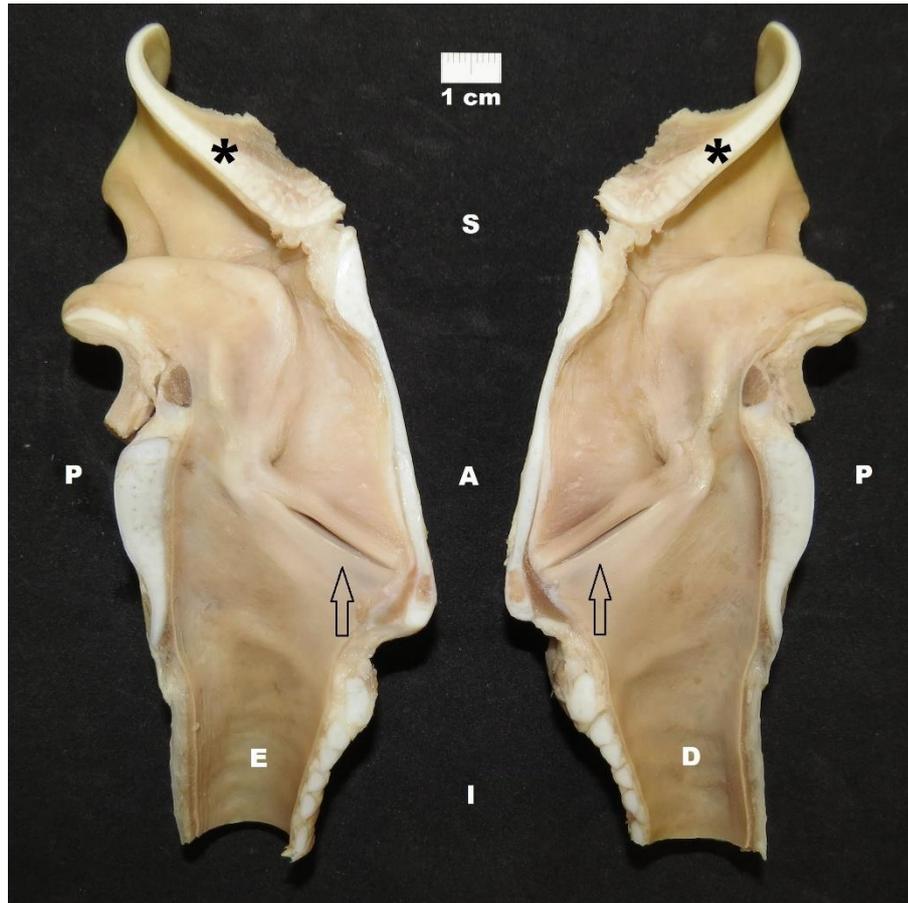


Figura 6. Laringe de porco. Fotografia das hemilaringes, na vista medial. E – Hemilaringe esquerda. D – Hemilaringe direita. P – Posterior. A – Anterior. S – Superior. I – Inferior. Seta na cor preta identifica a prega vocal. Asterisco na cor preta identifica a epiglote.

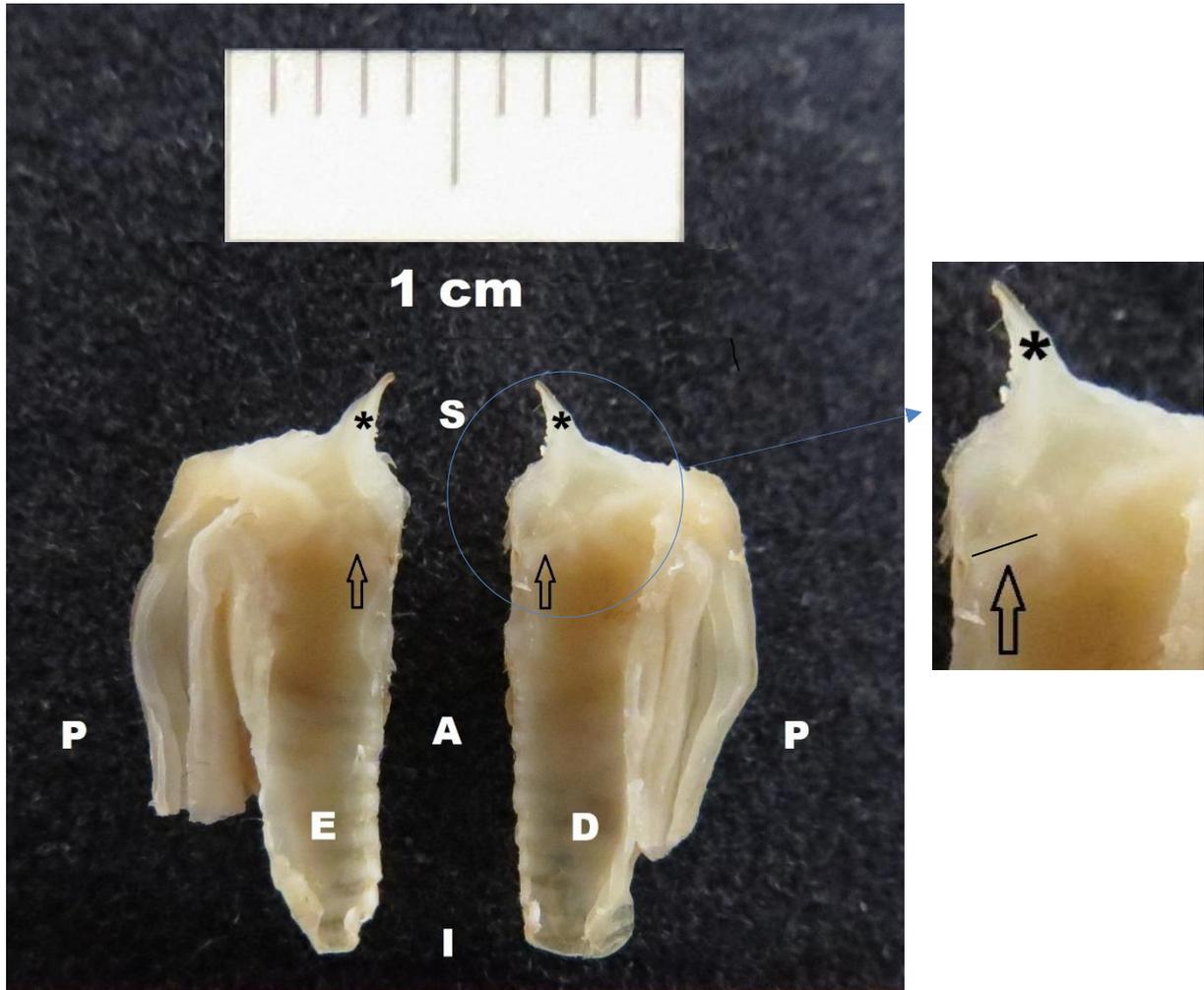


Figura 7. Laringe de rato. Fotografia das hemilaringes, na vista medial. E – Hemilaringe esquerda. D – Hemilaringe direita. P – Posterior. A – Anterior. S – Superior. I – Inferior. Seta na cor preta identifica a prega vocal. Asterisco na cor preta identifica a epiglote. Linha na cor preta destaca a prega vocal direita em imagem magnificada.

A região da borda livre da PV foi identificada e marcada com tinta nanquim para possibilitar sua localização à microscopia (figura 8).

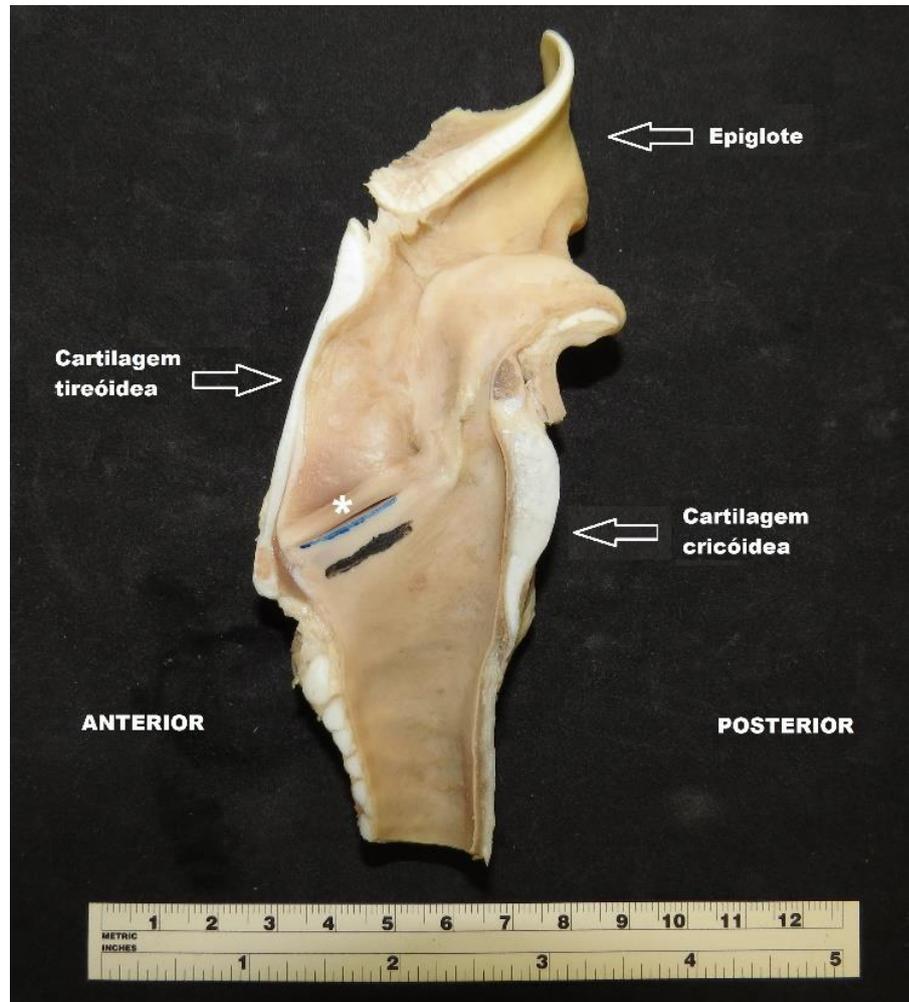


Figura 8. Hemilaringe direita de porco, na vista medial. O asterisco na cor branca representa a prega vestibular. A marcação em tinta nanquim azul representa a borda livre da prega vocal. A marcação com tinta nanquim preta representa a região inferior da prega vocal.

A porção membranosa da PV foi seccionada transversalmente por duas incisões paralelas, que permitiram a remoção do seu terço médio. (figura 9 e 10).



Figura 9. Hemilaringe direita de porco, na vista medial. A seta na cor branca indica a região que compreende o terço médio da porção membranosa da prega vocal, que, neste caso, foi removida junto com a prega vestibular.

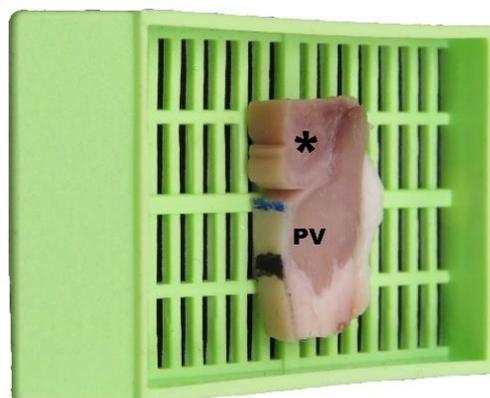


Figura 10. Secção transversal do terço médio da porção membranosa da prega vocal de porco. O asterisco na cor preta representa a prega vestibular. A borda livre da prega vocal está marcada com tinta nanquim azul e a região caudal com tinta nanquim preta. PV – Prega vocal.

### 4.3 – Preparação histológica, colorações especiais e digitalização das lâminas

Do terço médio excisado de cada PV, incluído no bloco de parafina, foram obtidas lâminas com 4 $\mu$ m de espessura. Para verificar a qualidade do material obtido, inicialmente foram confeccionadas lâminas coradas pela Hematoxilina-Eosina (HE). Uma vez aprovada pelo patologista, cortes subsequentes foram realizados e lâminas coradas pelo Tricrômico de Masson (TM) e pelo método Weigert Van Gieson (WVG) foram confeccionadas. De cada bloco, o patologista selecionou uma lâmina corada pelo TM e outra pelo WVG em condições técnicas adequadas para o estudo (figuras 11 e 12).

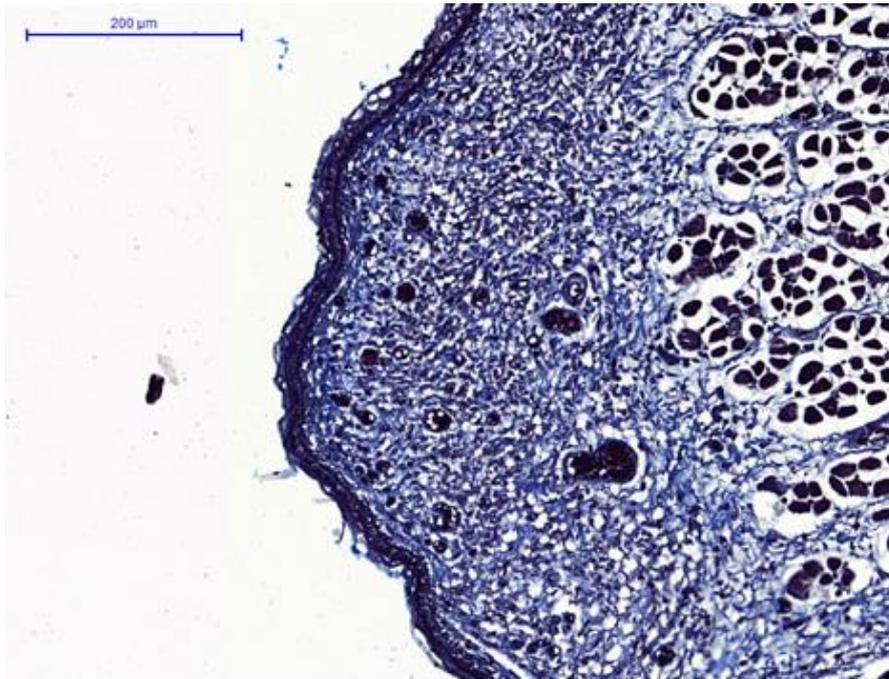


Figura 11. Corte histológico do terço médio da prega vocal de coelho corada pelo Tricrômico de Masson. As fibras colágenas estão coradas em azul. Imagem digitalizada, pronta para avaliação.

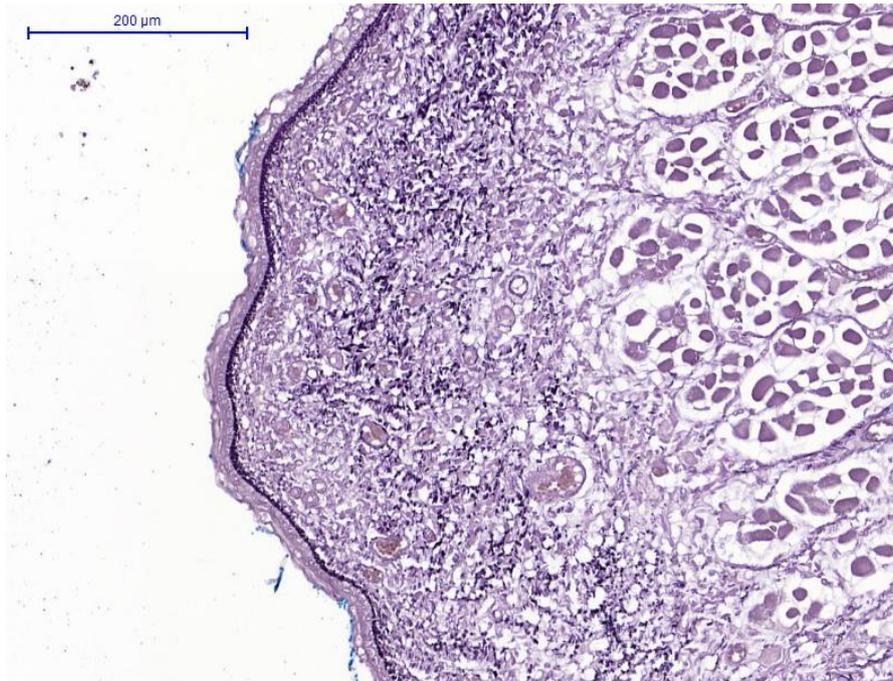


Figura 12 – Corte histológico do terço médio da prega vocal de coelho na coloração pelo método Weigert Van Gieson. As fibras elásticas estão coradas em preto. Imagem digitalizada, pronta para avaliação.

Para tornar objetiva a análise, as lâminas foram escaneadas e digitalizadas com uso do *scanner 3DHISTECH*, modelo *Panoramic MIDI®*. As lâminas digitalizadas serão analisadas pelo pesquisador, utilizando os programas *Panoramic Viewer® 1.15.3* e *HistoQuant® (3DHISTECH)*.

#### **4.4 – Áreas de estudo**

##### **4.4.1 – Segmentação da prega vocal em três áreas: face superior, borda livre e face inferior**

Foram estudadas a secção transversal do terço médio da porção membranosa da PV. A região da borda livre (BL) foi definida como a área de referência.

Devido a grande diferença de tamanho e a diversidade morfológica entre as espécies animais estudadas (figura 13), foi necessário padronizar o método de análise comparativa.

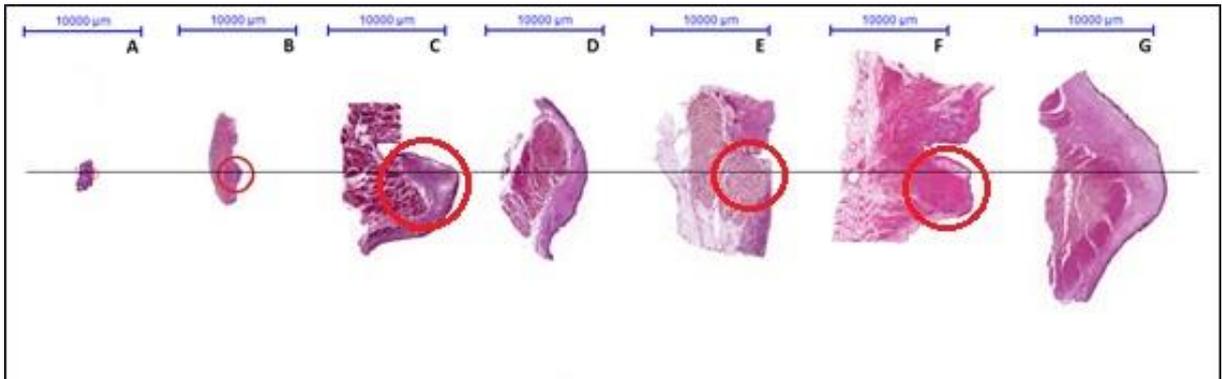


Figura 13. Comparação das dimensões das pregas vocais: A) de rato (círculo vermelho), B) de coelho (círculo vermelho), C) de cão (círculo vermelho), D) de ovino, E) de porco (círculo vermelho), F) humana (círculo vermelho) e G) bovina. As pregas vocais estão orientadas e marcadas pela linha que as une. Coloração – Hematoxilina-eosina.

A análise histológica foi iniciada com a identificação da região da borda livre da PV, marcada pela tinta nanquim azul. A região de maior convexidade da BL foi selecionada se iniciar o estudo. No intuito de identificar a região de maior convexidade, desenvolvemos um método geométrico aplicável a todas as amostras.

Para determinar a região da maior convexidade da BL da PV, foi utilizada como referência a bissetriz do ângulo formado entre uma reta que tangencia a face superior (FS) e outra reta que tangencia a face inferior (FI) da PV (figura 14) da lâmina com a coloração a ser estudada, ou seja, TM ou WVG.

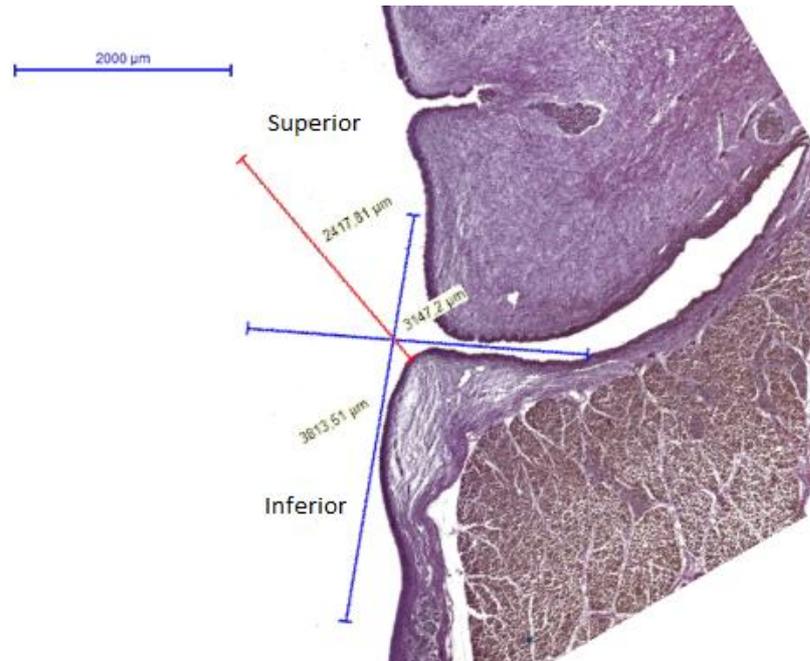


Figura 14. Representação esquemática do método de localização da região de maior convexidade da borda livre da prega vocal. As linhas azuis representam as retas que tangenciam as faces superior e inferior da prega vocal. A linha vermelha representa a bissetriz, que indica a região de maior convexidade da borda livre. Corte histológico do terço médio da prega vocal de porco. Coloração – Weigert Van Gieson.

Para padronizar a seleção da área a ser estudada na BL das PPVV em todos os animais, desenvolvemos um método geométrico aplicável a todas as amostras. Com auxílio da ferramenta do *software Panoramic Viewer*, foi aferida a distância entre a superfície do epitélio e o ponto imediatamente acima da fibra muscular mais superficial do músculo vocal, no nível da maior convexidade da borda livre da PV – linha X. Foram traçadas duas linhas paralelas a X, distando um quinto do seu comprimento (medida Y): uma no sentido cranial (Z1) e outra no caudal (Z2). De forma arbitrária, o comprimento de Y foi definido como um quinto da medida X ( $Y = X/5$ ). Dessa forma, a área de estudo denominada BL ficou restrita ao espaço entre Z1, Z2, o epitélio e músculo vocal (figura 15).

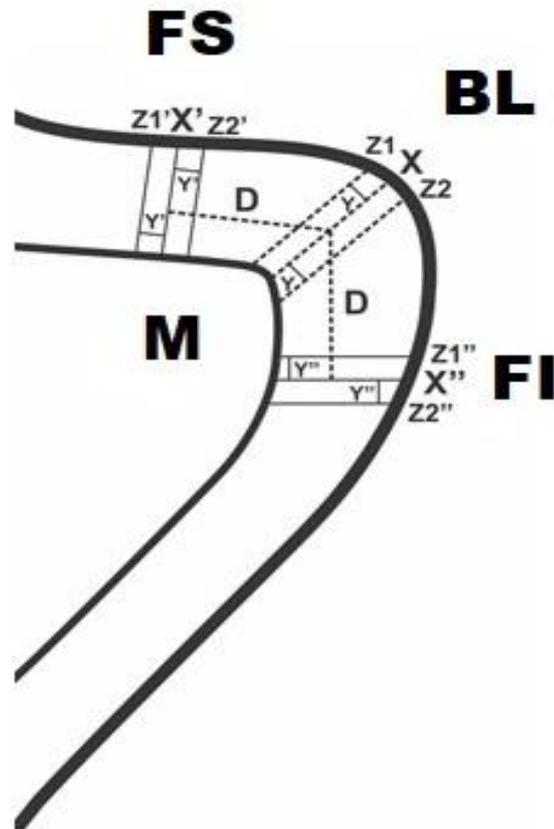


Figura 15 – Exemplo de delimitação dos segmentos selecionados para o estudo das três diferentes áreas do corte transversal da prega vocal. A área delimitada entre Z1 e Z2 compreende a borda livre (BL). A linha X representa a distância entre o limite citoplasmático da célula mais superficial do epitélio até a fibra muscular mais superficial do músculo vocal (M). Y possui um quinto do comprimento de X ( $Y=X/5$ ). A área delimitada entre Z1' e Z2' compreende a face superior (FS). A linha X' representa a distância entre o limite citoplasmático da célula mais superficial do epitélio até a fibra muscular mais superficial do músculo vocal. Y' possui um quinto do comprimento de X' ( $Y'=X'/5$ ). A área delimitada entre Z1'' e Z2'' compreende a face inferior (FI). A linha X'' representa a distância entre o limite citoplasmático da célula mais superficial do epitélio até a fibra muscular mais superficial do músculo vocal. Y'' possui um quinto do comprimento de X'' ( $Y''=X''/5$ ). D possui o mesmo comprimento de X ( $D=X$ ).

Para padronizar a seleção da área a ser estudada na FS e FI das PPVV em todos os animais, desenvolvemos um método geométrico aplicável a todas as amostras.

A partir do ponto médio de X foram traçadas duas linhas paralelas ao eixo principal do epitélio, uma no sentido caudal, com a marcação com nanquim preto como referência, e outra no cranial, que identificamos como linha D. A linha D tem o mesmo comprimento que a linha X.

Para delimitar a área de estudo na FS, foram traçadas a linha X' no limite cranial de D. A linha X' representa a distância entre o limite da superior do epitélio até a fibra muscular mais superficial. Foi traçada uma linha paralela de cada lado de X', que denominamos Z1' e Z2'. A distância entre X' e Z1' e X' e Z2" é a mesma e é representada pela linha Y', que possui um quinto do comprimento de X'. Dessa forma, a área de estudo denominada FS ficou delimitada pela linha Z1', Z2', limite superior do epitélio e as fibras musculares (figura 15).

Foi repetida a mesma metodologia para determinar área de estudo na FI, mas no sentido caudal. Assim, a área de estudo denominada FI ficou delimitada por Z1", Z2", limite superior do epitélio e as fibras musculares (figura 15).

#### **4.4.2 – Delimitação da lâmina própria**

A espessura da LP foi definida como a distância, em micrômetros, entre a membrana basal do epitélio até a fibra muscular esquelética mais superficial.

#### **4.4.3 – Subdivisão da lâmina própria em níveis**

Sabe-se que a LP da PV humana é estruturada em camadas. Para sensibilizar o método quanto à possibilidade de existência de mais de uma camada na LP das PPVV não humanas, optou-se por subdividir a LP das áreas de estudo em níveis, do mais superficial (junto ao epitélio) ao mais profundo (junto às fibras musculares). A subdivisão da LP em níveis foi realizada, arbitrariamente, dividindo-se o comprimento de X (na borda livre), X' (na face superior) e X" (na face inferior), delimitando cinco níveis de espessura semelhante: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP) (figura 9). Devido às limitações de análise dos *softwares* que foram empregados para avaliação, foram selecionadas quatro amostras de cada nível para análise. As amostras possuem dimensões semelhantes (figura 16).

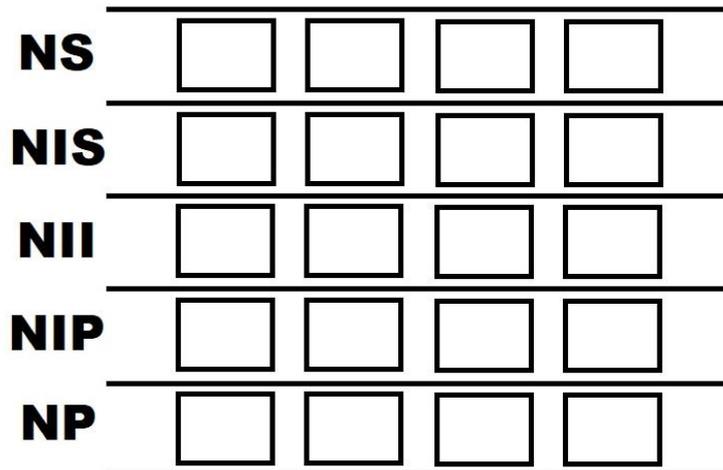


Figura 16. Representação esquemática da divisão da lâmina própria em cinco níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os retângulos representam as amostras de área selecionadas para análise. Foram selecionadas quatro amostras, de dimensões semelhantes, em cada nível.

#### 4.4.3.1 – Borda livre

Considerando a linha X como referência, na área demarcada, a LP foi subdividida em cinco níveis de espessuras semelhantes, da parte mais superficial (junto ao epitélio) até a mais profunda (junto às fibras musculares). Foram delimitadas quatro amostras, de dimensões semelhantes, em cada nível delineado, sendo duas na região superior (de X até a linha Z1) e outras duas na região inferior à linha X (até Z2) (figuras 16 e 17).

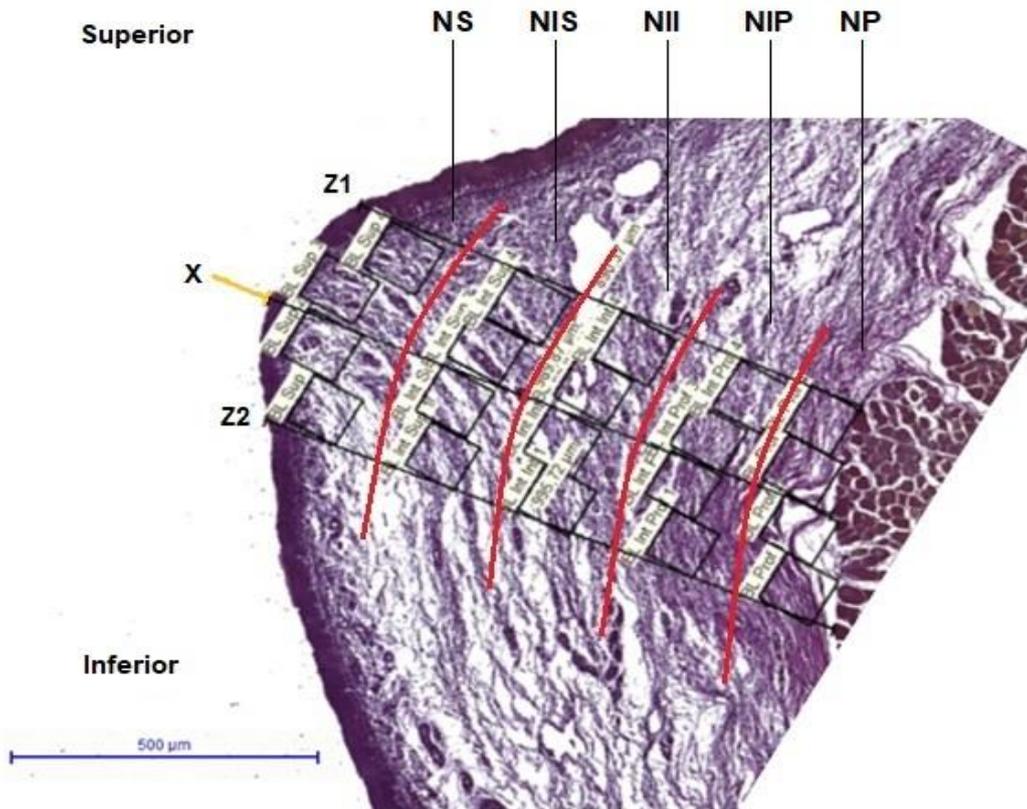


Figura 17 – Representação esquemática da demarcação dos níveis e das amostras a serem estudadas na borda livre (área delimitada entre Z1 e Z2, epitélio e fibras musculares). A linha laranja representa a bissetriz, que indica a região de maior convexidade da borda livre. A linha X representa a projeção da região da maior convexidade da borda livre na LP e foi utilizada para iniciar das demarcações das áreas de estudo. As linhas vermelhas delimitam os cinco níveis da lâmina própria: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os retângulos na cor preta delimitam as amostras de área selecionadas para análise. Foram selecionadas quatro amostras, de dimensões semelhantes, em cada nível. As etiquetas de identificação das amostras foram produzidas automaticamente pelo *software* de análise e são meramente ilustrativas. Corte histológico do terço médio da prega vocal de porco. Coloração Weigert Van Gieson.

#### 4.4.3.2 – Face superior

Considerando a linha X' como referência na área demarcada, a LP foi subdividida em 5 níveis de espessuras semelhantes, da parte mais superficial (junto ao epitélio) até a mais profunda (junto às fibras musculares). Foram delimitadas duas amostras de áreas em cada nível, de dimensões semelhantes: duas superiores (de X' até a linha Z1') e duas inferiores à linha X' (até Z2').

#### 4.4.3.3 – Face inferior

Considerando a linha X” como referência, na área demarcada, a LP foi subdividida em 5 níveis de espessuras semelhantes, da parte mais superficial (junto ao epitélio) até a mais profunda (junto às fibras musculares). Foram delimitadas quatro amostras de áreas em cada nível, de dimensões semelhantes: duas superiores (de X” até a linha Z1”) e duas inferiores à linha X” (até Z2”).

#### 4.5 – Avaliação objetiva da concentração de colágeno

Para avaliação do colágeno, foram utilizadas as lâminas coradas pelo TM. As áreas de estudo da LP das PPVV, ou seja, FS, BL e FI, foram delimitadas conforme descrito anteriormente. O TM cora o colágeno em azul.

As áreas demarcadas foram submetidas a mensuração objetiva da concentração de colágeno por meio do programa *HistoQuant*®. Este *software* faz a mensuração de áreas com base na identificação de cores (RGB – *Red Green Blue*), após o estabelecimento de um padrão ou “máscara” (*MISP - Microscope Image Segmentation Profiles*) (figura 18). Este padrão é estabelecido, com o auxílio de um patologista experiente, e testado em 10% das áreas de cada lâmina para a verificação da confiabilidade da mensuração. O programa faz o cálculo da área demarcada e a sua relação em função da área total. Assim, fornece a porcentagem de colágeno na área analisada. O resultado em porcentagem foi utilizado para permitir a comparação entre as espécies, uma vez que existe grande variabilidade de tamanho e de características morfológicas entre as espécies.

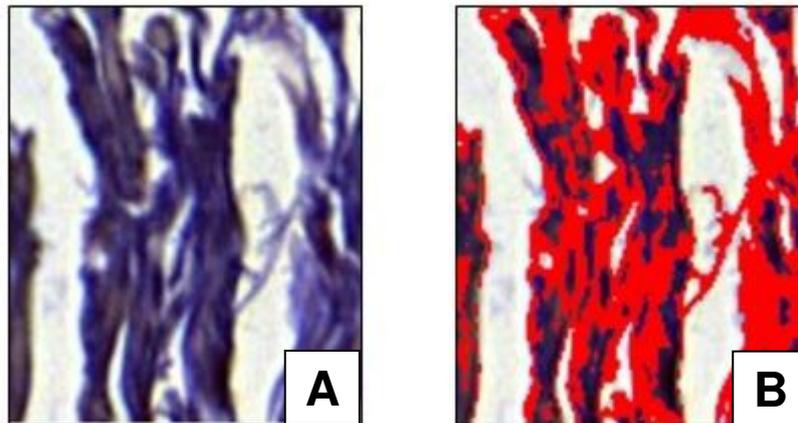


Figura 18. Exemplo de determinação do MISP, para quantificação de colágeno em uma das áreas selecionadas para avaliação. A – Área sem marcação do colágeno. B – Demarcação do colágeno em vermelho, pelo programa HistoQuant. Prega vocal de carneiro corada pelo Tricrômico de Masson.

#### **4.6 – Avaliação objetiva da concentração de fibras elásticas**

Foi aplicado o mesmo método de avaliação que o utilizado para o colágeno, no entanto, analisando-se as lâminas coradas com WVG. O WVG cora as fibras elásticas em preto.

#### **4.7 – Avaliação morfológica microscópica da lâmina própria**

##### **4.7.1 – Quanto ao colágeno**

Com auxílio do patologista, as lâminas coradas pelo TM foram avaliadas quanto à disposição e concentração das fibras colágenas na lâmina própria da PV das espécies estudadas, na FS, BL e na FI.

##### **4.7.2 – Quanto às fibras elásticas**

Com auxílio do patologista, as lâminas coradas pelo WVG foram avaliadas quanto à disposição e concentração das fibras elásticas na lâmina própria da PV das espécies estudadas, na FS, BL e na FI.

#### **4.8 – Avaliação dos resultados**

Aferimos a concentração e distribuição das fibras colágenas nas áreas demarcadas nas lâminas coradas pelo TM e a concentração e distribuição das fibras elásticas nas áreas demarcadas nas lâminas coradas pelo WVG.

A avaliação quanto à concentração de colágeno e de fibras elásticas foi feita de comparando-se: os diferentes níveis na mesma área (figura 19), os níveis equivalentes entre as três diferentes áreas da LP da PV na mesma espécie (figura 20) e os níveis e áreas da LP da PV humana com os seus equivalentes na PV dos animais estudados (figura 21).

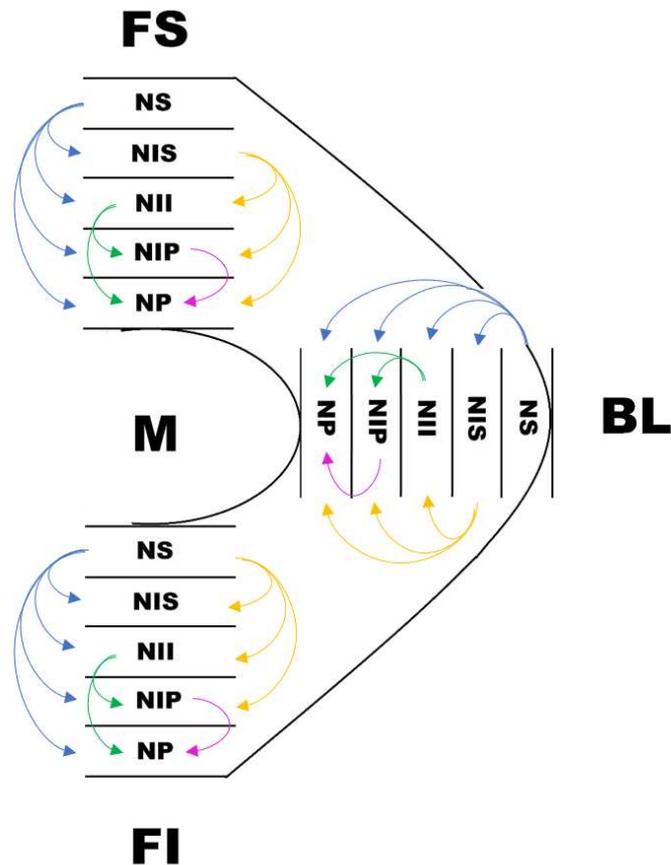


Figura 19. Representação esquemática da prega vocal, dividida em três áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). A lâmina própria de cada área foi dividida em cinco níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). As setas azuis, verdes, roxas e amarelas indicam os níveis comparados na mesma área da lâmina própria da prega vocal.

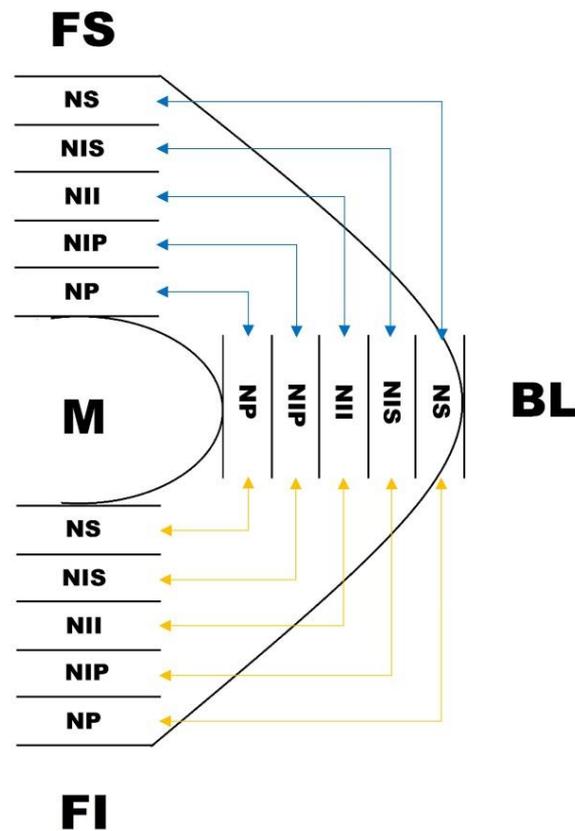


Figura 20. Representação esquemática da prega vocal, dividida em três áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). A lâmina própria de cada área foi dividida em cinco níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). As setas azuis indicam os níveis comparados entre a FS e BL. As setas amarelas indicam os níveis comparados entre a BL e FI.

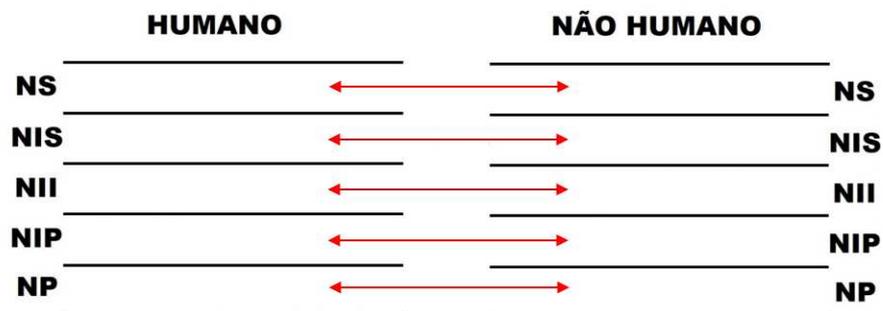


Figura 21. Representação esquemática da mesma área (face superior, borda livre ou face inferior) da lâmina própria da prega vocal humana e da não humana. A lâmina própria de cada área foi dividida em cinco níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). As setas vermelhas indicam os níveis equivalentes da lâmina própria comparados entre a prega vocal humana e a não humana.

Para avaliar se os conjuntos de dados apresentavam distribuição normal, utilizamos o teste de Teste *Shapiro-Wilk*.

Como os conjuntos de dados não apresentaram distribuição normal, utilizamos o teste não paramétrico *Wilcoxon*.

A análise estatística foi realizada com o *software SAS (SAS Institute Inc., versão 9.1.3, Cary, NC, 2002-2003)*.

Adotamos o nível de 5% de significância estatística.

A avaliação morfológica microscópica da LP quanto ao colágeno e fibras elásticas foi feita de modo descritivo.

## 5. RESULTADOS

Foram obtidas seis pregas vocais de cada espécie estudada. A partir de cada PV, foi confeccionado um bloco contendo o fragmento do terço médio de sua porção membranosa. No entanto, dois blocos de cada espécie, após serem conferidos pelo patologista, foram desprezados devido a presença de artefatos.

De cada um dos quatro blocos obtidos de cada espécie, em condições satisfatórias, foram confeccionadas duas lâminas: uma corada pelo TM e uma pelo WVG.

Assim, foram estudadas quatro lâminas coradas pelo TM e quatro lâminas coradas pelo WVG de cada espécie.

### 5.1 – Quanto à porcentagem de colágeno e fibras elásticas, por nível, na lâmina própria da prega vocal

#### 5.1.1 – Colágeno

Os resultados quanto à porcentagem que o colágeno ocupa em relação à área total analisada, nas FS, BL e FI, em cada nível analisado da LP das PPVV, estão apresentados nas tabelas 1 a 7. As tabelas foram separadas por espécie estudada.

Na LP da PV humana (tabela 1), as maiores concentrações de colágeno foram verificadas nos níveis mais profundos, em todas as áreas. A distribuição de colágeno apresentou pouca variação entre os níveis equivalentes das FS, BL e FI. Isso pode sugerir uma homogeneidade de distribuição ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV humana.

Tabela 1. Média das porcentagens de distribuição de colágeno, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal humana.

Humano	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
<b>FS</b>	16,43	8,56	20,04	11,49	21,14	12,94	34,17	16,01	28,12	13,39
<b>BL</b>	20,11	6,92	13,73	4,15	19,13	8,45	32,81	14,25	27,81	10,65
<b>FI</b>	16,36	9,36	15,90	8,16	15,85	9,64	19,59	8,54	25,99	8,49

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV bovina (tabela 2), as concentrações de colágeno apresentaram médias muito próximas em todas as áreas e níveis, diferente das maiores concentrações de colágeno verificadas nas camadas mais profundas da PV humana. Assim como na LP da PV humana, a distribuição de colágeno apresentou pouca variação entre os níveis equivalentes das FS, BL e FI.

Tabela 2. Média das porcentagens de distribuição de colágeno, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal bovina.

<b>Bovino</b>	<b>NS</b>		<b>NIS</b>		<b>NII</b>		<b>NIP</b>		<b>NP</b>	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
<b>FS</b>	13,58	8,72	16,09	6,09	18,80	9,11	22,40	8,96	19,62	9,00
<b>BL</b>	15,89	5,49	18,41	4,04	18,03	3,09	21,58	6,76	28,32	8,26
<b>FI</b>	13,38	5,40	13,35	7,04	18,35	8,46	21,24	9,28	20,56	9,58

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV de cão (tabela 3), as concentrações de colágeno apresentaram médias muito próximas em todas as áreas e níveis, diferente das maiores concentrações de colágeno identificadas nas camadas mais profundas da PV humana. Assim como na LP da PV humana, a distribuição de colágeno pouca variação entre os níveis equivalentes das FS, BL e FI.

Tabela 3. Média das porcentagens de distribuição de colágeno, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal de cão.

<b>Cão</b>	<b>NS</b>		<b>NIS</b>		<b>NII</b>		<b>NIP</b>		<b>NP</b>	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
<b>FS</b>	15,63	7,37	28,39	11,04	26,48	13,6	27,39	10,39	22,1	12,24
<b>BL</b>	17,10	8,15	16,33	7,86	10,62	5,55	20,04	6,96	20,68	7,55
<b>FI</b>	29,04	9,98	21,05	9,33	19,78	9,47	19,93	8,23	15,79	8,93

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV de coelho (tabela 4), as concentrações de colágeno apresentaram médias muito próximas em todas as áreas e níveis. Esses achados foram distintos dos verificados na LP da PV humana, que apresentaram maiores concentrações de colágeno nos níveis mais profundos.

Tabela 4. Média das porcentagens de distribuição de colágeno, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal de coelho.

Coelho	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP						
<b>FS</b>	18,77	5,35	17,06	3,87	18,04	3,46	17,39	3,26	14,75	5,68
<b>BL</b>	25,66	5,03	23,87	3,38	24,72	5,79	21,21	5,82	18,04	4,95
<b>FI</b>	15,85	5,18	21,65	9,23	20,63	7,96	21,70	10,33	19,44	8,81

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV ovina (tabela 5), as concentrações de colágeno apresentaram médias muito próximas em todas as áreas e níveis. Esses achados destoam dos verificados na LP da PV humana, onde identificamos maiores concentrações nos níveis mais profundos.

Tabela 5. Média das porcentagens de distribuição de colágeno, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal ovina.

Ovino	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
<b>FS</b>	21,01	7,18	24,41	7,01	17,02	3,41	14,55	7,18	9,90	7,19
<b>BL</b>	25,52	4,03	21,63	8,03	20,92	5,56	23,03	6,34	20,92	3,82
<b>FI</b>	29,04	4,34	29,72	12,45	24,05	7,60	19,74	6,80	19,32	5,95

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV de porco (tabela 6), as concentrações de colágeno apresentaram médias muito próximas em todas as áreas e níveis, o que difere das maiores concentrações de colágeno verificados nos níveis mais profundos da LP da PV humana.

Tabela 6. Média das porcentagens de distribuição de colágeno, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal de porco.

Porco	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
<b>FS</b>	28,86	18,42	32,54	7,69	36,89	8,12	21,26	7,32	23,8	16,53
<b>BL</b>	24,01	6,14	22,92	8,82	24,41	6,60	28,71	4,93	25,23	13,95
<b>FI</b>	26,93	8,79	21,82	6,31	32,07	15,47	27,76	13,75	24,67	11,81

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV de rato (tabela 7), assim como na LP da PV humana, as maiores concentrações de colágeno foram verificadas nos níveis mais profundos

Tabela 7. Média das porcentagens de distribuição de colágeno, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal de rato.

Rato	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP								
<b>FS</b>	14,75	8,1	18,5	11,19	21,53	9,51	23,37	10,19	30,75	10,78
<b>BL</b>	12,05	7,75	11,85	4,77	7,63	3,93	12,71	12,02	25,63	16,25
<b>FI</b>	22,12	13,98	30,87	12,9	22,69	11,90	24,31	9,88	26,32	12,46

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

### 5.1.2 – Fibras elásticas

Os resultados quanto à porcentagem que as fibras elásticas ocupam em relação à área total analisada, nas FS, BL e FI, em cada nível analisado LP das PPVV, estão apresentados nas tabelas 8 a 14. As tabelas foram separadas por espécie estudada.

Na LP da PV humana (tabela 8), as concentrações de fibras elásticas apresentaram aumento progressivo do NS para NP, em todas as áreas.

Tabela 8. Média das porcentagens de distribuição de fibras elásticas, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal humana.

Humano	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
<b>FS</b>	4,04	5,85	6,93	11,33	10,58	15,43	11,33	10,68	10,74	7,40
<b>BL</b>	2,54	2,68	3,19	2,32	6,36	4,40	13,31	10,44	19,62	12,63
<b>FI</b>	5,20	9,64	9,44	11,24	6,94	7,38	11,04	9,47	13,42	10,21

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV bovina (tabela 9), as concentrações de fibras elásticas apresentaram médias muito próximas em todas as áreas e níveis. Esses achados destoam dos verificados na LP da PV humana, onde verificamos aumento das concentrações de fibras elásticas do NS para NP.

Tabela 9. Média das porcentagens de distribuição de fibras elásticas, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal bovina.

Bovino	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP
<b>FS</b>	19,73	11,29	11,55	8,85	13,57	13,51	15,35	17,31	20,00	21,86
<b>BL</b>	19,21	11,48	7,81	4,76	6,44	4,54	5,72	4,14	14,49	15,42
<b>FI</b>	16,40	12,26	5,93	4,66	5,01	3,52	4,91	4,00	7,39	5,62

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV de cão (tabela 10), as concentrações de fibras elásticas apresentaram decréscimo do NS para NP, de forma inversa ao verificado na LP da PV humana.

Tabela 10. Média das porcentagens de distribuição de fibras elásticas, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal de cão.

Cão	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP								
<b>FS</b>	8,48	9,71	4,30	2,68	2,95	1,13	4,54	3,47	2,39	3,71
<b>BL</b>	8,76	6,38	5,69	3,44	5,71	4,35	4,78	2,92	0,89	0,62
<b>FI</b>	7,14	4,30	7,60	5,12	4,72	2,82	4,03	2,12	0,72	0,71

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV de coelho (tabela 11) houve decréscimo das concentrações de fibras elásticas do NS para o NP na FS e FI. Na BL, as maiores concentrações de fibras elásticas ocorreram nos níveis intermediários. Esses achados diferem do gradiente crescente de concentração de fibras elásticas verificado em todas as áreas da LP da PV humana, do NS para NP.

Tabela 11. Média das porcentagens de distribuição de fibras elásticas, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal de coelho.

Coelho	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP						
<b>FS</b>	20,53	15,92	17,79	21,31	15,78	14,67	10,16	12,52	3,28	4,91
<b>BL</b>	9,18	6,88	14,88	12,62	15,64	11,58	8,77	5,80	7,10	6,90
<b>FI</b>	12,12	6,73	14,42	7,11	15,30	7,69	8,02	5,74	3,13	3,43

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV de ovino (tabela 12), houve pouca variação das concentrações de fibras elásticas em todos as áreas e níveis. Esses achados divergem do gradiente crescente de concentração de fibras elásticas verificado em todas as áreas da PV humana, do NS para NP.

Tabela 12. Média das porcentagens de distribuição de fibras elásticas, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal ovina.

Ovino	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP								
<b>FS</b>	25,36	15,86	18,00	15,99	17,86	14,01	18,11	17,89	28,20	18,40
<b>BL</b>	24,47	14,31	11,65	6,91	11,05	7,65	14,72	9,21	19,28	15,77
<b>FI</b>	22,23	15,31	16,92	11,10	12,28	10,05	4,80	3,47	8,34	7,09

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na LP da PV de porco (tabela 13), houve pouca variação das concentrações de fibras elásticas em todos os níveis e áreas, diferente do gradiente crescente de concentração de fibras elásticas, do NS para o NP, verificado em todas as áreas da PV humana.

Tabela 13. Média das porcentagens de distribuição de fibras elásticas, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal de porco.

Porco	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP	Média (%)	DP						
<b>FS</b>	19,41	5,80	9,92	4,49	8,45	6,03	15,47	14,21	13,20	6,54
<b>BL</b>	12,45	5,47	7,42	4,83	9,2	2,96	11,99	3,58	18,07	5,88
<b>FI</b>	15,74	4,94	14,01	4,09	16,86	8,07	19,37	5,38	11,55	4,81

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

Na PV de rato (tabela 14), as concentrações de fibras elásticas apresentaram médias muito próximas em todas as áreas e níveis. Esses achados diferem do gradiente crescente de concentração de fibras elásticas verificado em todas as áreas da PV humana, do NS para NP.

Tabela 14. Média das porcentagens de distribuição de fibras elásticas, por nível, de cada área da lâmina própria da prega vocal de rato.

Rato	NS		NIS		NII		NIP		NP	
	Média (%)	DP								
<b>FS</b>	29,32	23,92	32,31	27,33	26,97	24,45	23,38	20,77	23,30	21,40
<b>BL</b>	11,14	8,01	11,84	15,78	8,84	14,29	9,85	10,51	11,37	12,72
<b>FI</b>	12,23	11,14	2,31	1,27	10,00	16,66	6,34	7,45	3,25	2,52

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). DP – Desvio padrão.

A tabela 15 apresenta o resumo dos resultados quanto à variação das médias das concentrações de colágeno e fibras elásticas verificados na lâmina própria das PPVV das espécies estudadas.

Tabela 15. Distribuição quanto às médias das concentrações de colágeno e fibras elásticas ao longo da espessura da lâmina própria da prega vocal, por espécie.

Espécies	COLÁGENO	FIBRAS ELÁSTICAS
<b>Humano</b>	Aumento do NS para NP	Aumento do NS para NP
<b>Bovino</b>	Pouca variação entre os níveis	Pouca variação entre os níveis
<b>Cão</b>	Pouca variação entre os níveis	Diminui do NS para NP
<b>Coelho</b>	Pouca variação entre os níveis	Variação nos níveis intermediários
<b>Ovino</b>	Pouca variação entre os níveis	Pouca variação entre os níveis
<b>Porco</b>	Pouca variação entre os níveis	Pouca variação entre os níveis
<b>Rato</b>	Aumento do NS para NP	Pouca variação entre os níveis

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP).

## 5.2 – Comparação da concentração de colágeno na lâmina própria entre a prega vocal humana e dos animais

Comparamos a porcentagem de colágeno encontrado na LP da PV humana, nos diferentes níveis e áreas, com a porcentagem encontrada nas regiões equivalentes na LP das PPVV das espécies não humanas estudadas (figura 21).

### 5.2.1 – Na face superior das pregas vocais

Os resultados obtidos, quanto à concentração de colágeno, ao compararmos os diferentes níveis na LP da FS da PV humana com os níveis equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas, encontram-se na tabela 16.

Tabela 16. Valor  $p$  da comparação, entre humano e espécies não humanas, da concentração de colágeno, por nível, na face superior da lâmina própria das pregas vocais.

<b>Humano versus</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>NS</b>	0,1968	0,0761	0,1675	0,0716	0,0568	0,5886
<b>NIS</b>	0,4446	0,0568	0,5886	0,4029	<b>0,0113</b>	0,7227
<b>NII</b>	0,8081	0,1675	0,9255	0,9851	<b>0,0027</b>	0,6409
<b>NIP</b>	0,0525	0,2591	<b>0,0322</b>	<b>0,0094</b>	<b>0,0485</b>	<b>0,0479</b>
<b>NP</b>	0,3256	0,2748	<b>0,0129</b>	<b>0,0009</b>	0,2911	0,6409

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Verificamos que, quanto à concentração de colágeno na LP da FS da PV, bovino e cão foram os que mais se assemelharam à humana. Não houve diferenças estatisticamente significantes ao compararmos as concentrações de colágeno em todos os níveis da LP da PV bovina e de cão com seus equivalentes na LP da PV humana. Os dois níveis mais profundos da LP da PV de coelho e ovino se apresentaram diferentes, quanto à concentração de colágeno, de seus equivalentes na PV humana, assim como os níveis intermediários do porco e o NIP do rato.

### 5.2.2 – Na borda livre das pregas vocais

Os resultados obtidos, quanto à concentração de colágeno, ao compararmos os diferentes níveis na LP da BL da PV humana com os níveis equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas, encontram-se na tabela 17.

Tabela 17. Valor  $p$  da comparação, entre humano e espécies não humanas, da concentração de colágeno, por nível, na borda livre da lâmina própria das pregas vocais.

<b>Humano versus</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>NS</b>	0,0896	0,3440	<b>0,0380</b>	<b>0,0485</b>	0,1370	<b>0,0103</b>
<b>NIS</b>	<b>0,0177</b>	0,5095	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0123</b>	0,1467
<b>NII</b>	0,9851	<b>0,0123</b>	0,0801	0,2654	0,0832	<b>0,0005</b>
<b>NIP</b>	0,0525	<b>0,0089</b>	<b>0,0229</b>	0,0716	0,4239	<b>0,0020</b>
<b>NP</b>	0,8081	0,0716	<b>0,0229</b>	0,2162	0,4679	0,2748

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Verificamos que houve diferenças estatisticamente significantes, em pelo menos um nível, ao compararmos as concentrações de colágeno na LP da PV humana com as aferidas nas espécies não humanas estudadas. Quanto à concentração de colágeno na LP da BL da PV, bovino e porco foram os que mais se assemelharam à humana. Bovino e no porco apresentaram apenas um nível, o NIS, com concentração de colágeno diferente do encontrado no nível equivalente na LP da PV humana. O maior número de níveis com diferenças significativas de concentração de colágeno em relação à humana foi verificado no coelho.

### 5.2.3 – Na face inferior das pregas vocais

Os resultados obtidos, quanto à concentração de colágeno, ao compararmos os diferentes níveis na LP da FI da PV humana com os níveis equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas, encontram-se na tabela 18.

Tabela 18. Valor  $p$  da comparação, entre humano e espécies não humanas, da concentração de colágeno, por nível, na face inferior da lâmina própria das pregas vocais.

<b>Humano versus</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>NS</b>	0,5025	<b>0,0049</b>	0,9255	<b>0,0012</b>	<b>0,0078</b>	0,3826
<b>NIS</b>	0,5144	0,2442	0,1675	<b>0,0059</b>	<b>0,0716</b>	0,0049
<b>NII</b>	0,6145	0,3629	0,2228	<b>0,0396</b>	<b>0,0086</b>	0,2515
<b>NIP</b>	0,4239	0,1711	0,6145	0,9255	0,1112	0,2442
<b>NP</b>	0,0863	<b>0,0162</b>	<b>0,0332</b>	<b>0,0322</b>	0,7227	0,6677

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Quanto à concentração de colágeno na LP da FI da PV, bovino e rato foram os que mais se assemelharam à humana. Verificamos que não houve diferenças estatisticamente significantes ao compararmos as concentrações das fibras elásticas em todos os níveis da LP da PV bovina e de rato com os seus níveis equivalentes na PV humana. Na LP da PV do cão, o NS e o NP apresentaram concentrações de fibras elásticas com diferenças significativas em relação aos níveis equivalentes na PV humana. No coelho, somente no NP existiu diferença significativa de concentração de fibras elásticas quando comparado ao seu equivalente na PV humana. O maior número de níveis com diferenças significativas de concentração de fibras elásticas em relação à PV humana foi identificado na LP ovina. Já a LP do porco apresentou-se com diferenças significativas de concentração de fibras elásticas nos níveis mais superficiais.

### 5.3 – Comparação da concentração de fibras elásticas na lâmina própria entre a prega vocal humana e dos animais

#### 5.3.1 – Na face superior das pregas vocais

Os resultados obtidos, quanto à concentração de fibras elásticas, ao compararmos os diferentes níveis na LP da FS da PV humana com os níveis equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas, encontram-se na tabela 19.

Tabela 19. Valor  $p$  da comparação, entre humano e espécies não humanas, da concentração de fibras elásticas, por nível, na face superior da lâmina própria das pregas vocais.

<b>Humano versus</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>NS</b>	<b>0,0002</b>	0,0525	<b>0,0008</b>	<b>0,0003</b>	<b>0,0002</b>	<b>0,0003</b>
<b>NIS</b>	<b>0,0201</b>	0,2298	<b>0,0193</b>	<b>0,0162</b>	<b>0,0162</b>	<b>0,0016</b>
<b>NII</b>	0,0716	0,6408	<b>0,0350</b>	<b>0,0322</b>	0,1279	<b>0,0162</b>
<b>NIP</b>	0,4239	0,5144	<b>0,0118</b>	0,2095	0,1552	0,0896
<b>NP</b>	0,6145	<b>0,0016</b>	<b>0,0059</b>	<b>0,0053</b>	0,3440	<b>0,2162</b>

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Verificamos que houve diferenças estatisticamente significantes, em pelo menos um nível, ao compararmos as concentrações de fibras elásticas aferidas na LP da PV humana com as das espécies não humanas. Quanto à concentração de fibras elásticas na LP da FS da PV, o cão foi o animal que mais se assemelhou à humana, com diferença significativa apenas no NP. Os dois níveis mais superficiais da LP bovina e de porco apresentaram concentrações de fibras elásticas diferentes dos aferidos nos níveis equivalentes na PV humana. Ovino e rato apresentaram a maioria dos níveis com concentrações de fibras elásticas distintas daquelas verificadas nos níveis equivalentes da LP da PV humana. O coelho, dentre as espécies estudadas, apresentou todos os níveis com concentrações de fibras elásticas diferentes daquelas verificadas nos níveis equivalentes da LP da PV humana.

### 5.3.2 – Na borda livre das pregas vocais

Os resultados obtidos, quanto à concentração de fibras elásticas, ao compararmos os diferentes níveis na LP da BL da PV humana com os níveis equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas, encontram-se na tabela 20.

Tabela 20. Valor  $p$  da comparação, entre humano e espécies não humanas, da concentração de fibras elásticas, por nível, na borda livre da lâmina própria das pregas vocais.

<b>Humano versus</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>NS</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0033</b>	<b>0,0044</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0001</b>	<b>0,0004</b>
<b>NIS</b>	<b>0,0085</b>	0,0546	<b>0,0071</b>	<b>0,0007</b>	<b>0,0065</b>	<b>0,0322</b>
<b>NII</b>	<b>0,0481</b>	0,0586	<b>0,0380</b>	0,0832	<b>0,0250</b>	0,5508
<b>NIP</b>	<b>0,0350</b>	<b>0,0086</b>	0,3256	0,3440	0,7227	0,1788
<b>NP</b>	0,2910	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0103</b>	0,8959	0,7508	0,0832

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Verificamos que houve diferenças estatisticamente significantes, em pelo menos dois níveis, ao compararmos a LP da PV humana com a LP das espécies não humanas. Quanto à concentração de fibras elásticas na LP da BL da PV, ovino e rato foram os que mais se assemelharam à humana, com diferenças significativas apenas nos dois níveis mais superficiais. Por outro lado, bovino e coelho foram os mais diferentes, com as concentrações de fibras elásticas semelhantes às presentes em seus equivalentes na LP da PV apenas no NP e NIP, respectivamente. Os níveis extremos da LP do cão apresentaram concentrações de fibras elásticas diferentes da humana.

### 5.3.3 – Na face inferior das pregas vocais

Os resultados obtidos, quanto à concentração de fibras elásticas, ao compararmos os diferentes níveis na LP da FI da PV humana com os níveis equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas, encontram-se na tabela 21.

Tabela 21. Valor  $p$  da comparação, entre humano e espécies não humanas, da concentração de fibras elásticas, por nível, na face inferior da lâmina própria das pregas vocais.

<b>Humano versus</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>NS</b>	<b>0,0015</b>	<b>0,0053</b>	<b>0,0065</b>	<b>0,0012</b>	<b>0,0036</b>	<b>0,0036</b>
<b>NIS</b>	0,9851	0,6145	0,0896	0,0568	0,0568	0,7793
<b>NII</b>	0,9553	0,9255	<b>0,0086</b>	0,0832	<b>0,0040</b>	0,5508
<b>NIP</b>	0,1235	0,1370	0,7650	0,1906	<b>0,0250</b>	0,2748
<b>NP</b>	0,1036	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0006</b>	0,1568	0,8371	<b>0,0013</b>

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Verificamos que houve diferenças estatisticamente significantes, em pelo menos um nível, ao compararmos a LP da PV humana com os das espécies não humanas. Quanto à concentração de fibras elásticas na LP da FI da PV, bovino e ovino foram os que mais se assemelharam à humana, com diferença significativa apenas no NS. Cão e rato apresentaram diferenças em relação à PV humana, quanto à concentração de fibras elásticas na LP da PV, apenas nos níveis extremos, ou seja, NS e NP. Coelho e porco apresentaram o maior número de níveis com concentrações de fibras elásticas diferentes dos encontrados na LP da FI da PV humana.

A tabela 22 apresenta o resumo dos resultados obtidos ao compararmos a concentração de colágeno e fibras elásticas nos diferentes níveis ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV humana com os níveis e áreas equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas.

Tabela 22. Comparação, quanto à concentração de colágeno e fibras elásticas, entre os níveis equivalentes da lâmina própria da face superior, borda livre e face inferior da prega vocal humana e a dos animais estudados.

	FACE SUPERIOR		BORDA LIVRE		FACE INFERIOR	
	Colágeno	Fibras elásticas	Colágeno	Fibras elásticas	Colágeno	Fibras elásticas
<b>Bovino</b>	Ø	NS e NIS	NIS	NS, NIS, NII e NIP	Ø	NS
<b>Cão</b>	Ø	NP	NII e NIP	NS, NIP e NP	NS e NP	NS e NP
<b>Coelho</b>	NIP e NP	NS, NIS, NII, NIP e NP	NS, NIS, NIP e NP	NS, NIS, NII e NP	NP	NS, NII e NP
<b>Ovino</b>	NIP e NP	NS, NIS, NII e NP	NS e NIS	NS e NIS	NS, NIS, NII e NP	NS
<b>Porco</b>	NIS, NII e NIP	NS e NIS	NIS	NS, NIS e NII	NS, NIS e NII	NS, NII e NIP
<b>Rato</b>	NIP	NS, NIS, NII e NP	NS, NII e NIP	NS e NIS	Ø	NS e NP

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os níveis destacados representam aqueles cujas concentrações de colágeno ou de fibras elásticas apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) quando comparados níveis e áreas equivalentes da lâmina própria da prega vocal humana com a dos animais estudados. Ø: Todos os níveis comparados entre a lâmina própria da prega vocal humana e da espécie não humana sem diferenças estatisticamente significantes de concentração da proteína estudada.

#### **5.4 – Comparação da concentração de colágeno e fibras elásticas entre os níveis na mesma área, por espécie**

Comparamos as concentrações de colágeno e de fibras elásticas nos diferentes níveis, na mesma área, espécie por espécie.

Verificamos que, se fossem comparadas concentrações de colágeno e de fibras elásticas apenas entre os níveis imediatamente em contiguidade, ou seja, NS e NIS, NIS e NII, NII e NIP e NIP e NP, haveria a possibilidade de que, caso houvesse mudanças progressivas e graduais na concentração dessas proteínas ao longo da profundidade da LP, não se identificassem diferenças de concentração significantes entre os níveis. Por outro lado, ao comparar todos os níveis de uma mesma área entre si (figura 19), aumenta-se a possibilidade de se identificar concentrações significativamente distintas das proteínas estudadas, mesmo que os níveis não estejam em contiguidade.

##### **5.4.1 – Quanto ao colágeno**

Os resultados obtidos quanto à comparação das concentrações de colágeno entre os níveis de uma mesma área, na mesma espécie, encontram-se nas tabelas 23 a 29. Cada espécie estudada está representada numa tabela, separadamente.

Diferenças significativas na concentração de colágeno entre os níveis na mesma área podem sugerir a presença de mais de uma camada naquela região.

Na LP da PV humana (tabela 23), verificamos que, em todas as três áreas, houve diferenças significativas quanto à concentração de colágeno ao se comparar níveis na mesma área. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de colágeno foi possível inferir a existência de ao menos duas camadas na LP da FS, BL e FI da PV humana.

Tabela 23. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal humana.

<b>Humano</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	0,6409	<b>0,0177</b>	0,9107
NS vs NII	0,4029	0,6677	0,8959
NS vs NIP	<b>0,0086</b>	<b>0,0094</b>	0,3256
NS vs NP	<b>0,0210</b>	0,0716	<b>0,0135</b>
NIS vs NII *	0,8664	0,1675	0,8081
NIS vs NIP	<b>0,0103</b>	<b>0,0009</b>	0,2442
NIS vs NP	0,1036	<b>0,0009</b>	<b>0,0154</b>
NII vs NIP*	0,1879	<b>0,0059</b>	0,2298
NII vs NP	0,1879	<b>0,0272</b>	<b>0,0177</b>
NIP vs NP*	0,2591	0,5386	0,0896

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . O asterisco indica os níveis em contiguidade.

Na LP da PV bovina (tabela 24), de forma similar ao verificado na PV humana, podemos verificar que, em todas as três áreas, houve diferenças significativas quanto à concentração de colágeno entre níveis distintos na mesma área. Considerando exclusivamente as diferenças de concentração de colágeno, os resultados sugerem a presença de ao menos duas camadas na LP em todas as três áreas estudadas da PV bovina.

Tabela 24. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal bovina.

<b>Bovino</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	0,1568	0,1906	0,9255
NS vs NII	0,1193	0,1788	0,1112
NS vs NIP	<b>0,0071</b>	<b>0,0296</b>	<b>0,0193</b>
NS vs NP	<b>0,0071</b>	<b>0,0007</b>	0,0525
NIS vs NII *	0,3533	0,7936	0,0832
NIS vs NIP	0,0716	0,3256	<b>0,0201</b>
NIS vs NP	0,4908	<b>0,0033</b>	0,0485
NII vs NIP*	0,2911	0,3440	0,5386
NII vs NP	0,8664	<b>0,0035</b>	0,6677
NIP vs NP*	0,4908	<b>0,0413</b>	0,5633

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . O asterisco indica os níveis em contiguidade.

Na LP da PV de cão (tabela 25), de forma semelhante ao verificado na humana, identificamos diferenças significativas quanto à concentração de colágeno, entre níveis distintos na mesma área, em todas as três áreas. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de colágeno, os resultados sugerem a presença de ao menos duas camadas na LP em todas as três áreas estudadas da PV de cão.

Tabela 25. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal do cão.

<b>Cão</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	<b>0,0033</b>	0,8081	0,0614
NS vs NII	<b>0,0272</b>	0,0525	<b>0,0162</b>
NS vs NIP	<b>0,0033</b>	0,3826	<b>0,0162</b>
NS vs NP	0,1036	0,2591	<b>0,0044</b>
NIS vs NII *	0,5025	0,0663	0,5508
NIS vs NIP	0,6677	0,1568	0,8081
NIS vs NP	0,2591	0,1036	0,0896
NII vs NIP*	0,7508	<b>0,0024</b>	0,9702
NII vs NP	0,4779	<b>0,0020</b>	0,3826
NIP vs NP*	0,3629	0,8959	0,2591

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . O asterisco indica os níveis em contiguidade.

Na LP da PV de coelho (tabela 26), foi possível verificar que houve diferenças significativas quanto à concentração de colágeno entre os níveis somente na BL. De forma distinta da verificada na PV humana, não houve diferenças entre as concentrações de colágeno nos diferentes níveis na LP da FS e FI da PV do coelho. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de colágeno, os resultados sugerem a presença de duas camadas na LP da BL e uma única camada na LP da FS e FI da PV de coelho.

Tabela 26. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal de coelho.

Coelho	Face superior	Borda livre	Face inferior
NS vs NIS*	0,3625	0,2591	0,0716
NS vs NII	0,8664	0,4780	0,1370
NS vs NIP	0,5386	0,0614	0,1846
NS vs NP	0,0929	0,0022	0,3533
NIS vs NII *	0,5386	0,7304	0,7508
NIS vs NIP	0,8664	0,3440	0,9553
NIS vs NP	0,1906	<b>0,0036</b>	0,4239
NII vs NIP*	0,8081	0,2849	0,8664
NII vs NP	0,0546	<b>0,0295</b>	0,5633
NIP vs NP*	0,0772	0,1279	0,6145

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . O asterisco indica os níveis em contiguidade.

Na LP da PV ovina (tabela 27), de forma semelhante ao verificado na humana, identificamos diferenças significativas quanto à concentração de colágeno, entre níveis distintos na mesma área, em todas as três áreas. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de colágeno, os resultados sugerem a presença de ao menos duas camadas na LP em todas as três áreas estudadas da PV ovina.

Tabela 27. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal ovina.

Ovino	Face superior	Borda livre	Face inferior
NS vs NIS*	0,2031	0,2298	0,5633
NS vs NII	0,0525	<b>0,0296</b>	0,1467
NS vs NIP	<b>0,0322</b>	0,2748	<b>0,0016</b>
NS vs NP	<b>0,0015</b>	<b>0,0118</b>	<b>0,0004</b>
NIS vs NII *	<b>0,0059</b>	0,9553	0,3440
NIS vs NIP	<b>0,0040</b>	0,6542	<b>0,0148</b>
NIS vs NP	<b>0,0004</b>	0,8959	<b>0,0094</b>
NII vs NIP*	0,5886	0,4793	0,0896
NII vs NP	<b>0,0044</b>	0,8371	<b>0,0380</b>
NIP vs NP*	0,0896	0,4239	0,8811

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . O asterisco indica os níveis em contiguidade.

Na LP da PV de porco (tabela 28), foi possível verificar que houve diferenças significativas quanto à concentração de colágeno entre os níveis somente na FS. De forma distinta da verificada na PV humana, não houve diferenças entre as concentrações de colágeno nos diferentes níveis na LP da BL e FI da PV do porco. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de colágeno, os resultados sugerem a presença de ao menos duas camadas na LP da FS e uma única camada na LP da BL e FI da PV de porco.

Tabela 28. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal de porco.

<b>Porco</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	0,1370	0,6950	0,1036
NS vs NII	0,0525	0,8081	0,5144
NS vs NIP	0,4239	0,0614	0,9553
NS vs NP	0,4133	0,9851	0,6677
NIS vs NII *	0,0832	0,5144	0,1152
NIS vs NIP	<b>0,0025</b>	0,0964	0,1675
NIS vs NP	<b>0,0485</b>	0,8081	0,4239
NII vs NIP*	<b>0,0006</b>	0,0772	0,6145
NII vs NP	<b>0,0250</b>	0,9255	0,2442
NIP vs NP*	0,6950	0,4239	0,5886

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . O asterisco indica os níveis em contiguidade.

Na LP da PV de rato (tabela 29), foi possível verificar diferenças significativas quanto à concentração de colágeno entre os níveis somente na FS e BL. De forma distinta da verificada na PV humana, não houve diferenças entre as concentrações de colágeno nos diferentes níveis na LP da FI da PV do rato. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de colágeno, os resultados sugerem a presença de ao menos duas camadas na LP da FS e BL e de uma única camada na LP da FI da PV de rato.

Tabela 29. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal de rato.

<b>Rato</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	0,4679	0,6409	0,0964
NS vs NII	0,0716	0,4007	0,7227
NS vs NIP	<b>0,0272</b>	0,5508	0,4908
NS vs NP	<b>0,0013</b>	<b>0,0086</b>	0,3440
NIS vs NII *	0,3826	<b>0,0148</b>	0,0964
NIS vs NIP	0,1788	0,2298	0,2031
NIS vs NP	<b>0,0113</b>	<b>0,0123</b>	0,4908
NII vs NIP*	0,6677	0,6950	0,5144
NII vs NP	<b>0,0284</b>	<b>0,0004</b>	0,4456
NIP vs NP*	0,0614	<b>0,0113</b>	0,9851

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . O asterisco indica os níveis em contiguidade.

#### 5.4.2 – Quanto às fibras elásticas

Os resultados obtidos quanto à comparação da concentração das fibras elásticas entre os níveis de uma mesma área, na mesma espécie, encontram-se nas tabelas 30 a 36. As tabelas foram separadas por espécie estudada.

Diferenças significativas na concentração de fibras elásticas entre os níveis na mesma área podem sugerir a presença de mais de uma camada naquela região.

Na LP da PV humana (tabela 30), podemos verificar que, na FS e na BL, houve diferenças significativas quanto à concentração de fibras elásticas entre níveis distintos na mesma área. Fato que não ocorreu na FI da PV humana, onde não houve diferença significativa na concentração de fibras elásticas, mesmo ao se comparar todos os níveis entre si. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de fibras elásticas, foi possível inferir a existência de ao menos duas camadas na LP da FS e da BL e uma única camada na LP da FI da PV humana.

Tabela 30. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal humana.

Humano	Face superior	Borda livre	Face inferior
NS vs NIS*	0,4025	0,3436	0,2591
NS vs NII	0,9702	<b>0,0103</b>	0,2828
NS vs NIP	0,1516	<b>0,0015</b>	0,0430
NS vs NP	<b>0,0113</b>	<b>0,0008</b>	0,0025
NIS vs NII *	0,9553	<b>0,0123</b>	0,7227
NIS vs NIP	0,2667	<b>0,0012</b>	0,4908
NIS vs NP	<b>0,0412</b>	<b>0,0008</b>	0,1193
NII vs NIP*	0,4908	0,0896	0,1906
NII vs NP	0,1370	<b>0,0177</b>	0,0485
NIP vs NP*	0,9255	0,2442	0,3826

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . Os níveis em negrito representam as comparações entre os níveis em contiguidade.

Na LP da PV bovina (tabela 31), identificamos diferenças significativas quanto à concentração de fibras elásticas, entre níveis distintos na mesma área, em todas as três áreas. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de fibras elásticas, foi possível inferir a existência de ao menos duas camadas na LP de todas as três áreas da PV bovina.

Tabela 31. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal bovina.

<b>Bovino</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	<b>0,0193</b>	<b>0,0053</b>	<b>0,0210</b>
NS vs NII	0,0832	<b>0,0013</b>	<b>0,0086</b>
NS vs NIP	0,0963	<b>0,0016</b>	<b>0,0053</b>
NS vs NP	0,2591	0,0832	<b>0,0447</b>
NIS vs NII *	0,9851	0,2442	0,8081
NIS vs NIP	0,7793	0,5385	0,4908
NIS vs NP	0,6408	0,5886	0,3256
NII vs NIP*	0,9553	0,8081	0,6677
NII vs NP	0,5385	0,1788	0,2748
NIP vs NP*	0,4237	0,1466	0,2161

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . Os níveis em negrito representam as comparações entre os níveis em contiguidade.

Na LP da PV de cão (tabela 32), verificamos diferenças significativas quanto à concentração de fibras elásticas, entre níveis distintos na mesma área, em todas as três áreas. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de fibras elásticas, foi possível inferir a existência de ao menos duas camadas na LP de todas as três áreas da PV de cão.

Tabela 32. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal de cão.

<b>Cão</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	0,3825	0,1036	0,7227
NS vs NII	0,0663	0,1193	0,1568
NS vs NIP	0,3080	<b>0,0413</b>	<b>0,0193</b>
NS vs NP	<b>0,0027</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>
NIS vs NII *	0,2161	0,8081	0,1370
NIS vs NIP	0,9553	0,5386	<b>0,0103</b>
NIS vs NP	<b>0,0078</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0001</b>
NII vs NIP*	0,2910	0,9553	0,6145
NII vs NP	<b>0,0176</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0003</b>
NIP vs NP*	<b>0,0147</b>	<b>0,0002</b>	<b>&lt;0,0001</b>

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . Os níveis em negrito representam as comparações entre os níveis em contiguidade.

Na LP da PV de coelho (tabela 33), foi possível verificar diferenças significativas quanto à concentração de fibras elásticas entre níveis distintos na mesma área, em todas as três áreas. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de fibras elásticas, foi possível inferir a existência de ao menos duas camadas na LP de todas as três áreas da PV de coelho.

Tabela 33. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal de coelho.

<b>Coelho</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	0,5386	0,3256	0,4679
NS vs NII	0,3256	0,2031	0,3629
NS vs NIP	<b>0,0176</b>	0,8959	0,0716
NS vs NP	<b>0,0004</b>	0,4029	<b>0,0010</b>
NIS vs NII *	0,8081	0,8081	0,7088
NIS vs NIP	0,1193	0,4029	<b>0,0229</b>
NIS vs NP	<b>0,0018</b>	0,0962	<b>0,003</b>
NII vs NIP*	0,1073	0,1417	<b>0,0059</b>
NII vs NP	<b>0,0018</b>	<b>0,0296</b>	<b>0,002</b>
NIP vs NP*	0,1460	0,2747	<b>0,0098</b>

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . Os níveis em negrito representam as comparações entre os níveis em contiguidade.

Na LP da PV ovina (tabela 34), verificamos que, na BL e na FI, houve diferenças significativas quanto à concentração de fibras elásticas entre níveis distintos na mesma área. Fato que não ocorreu na FS da PV ovina, onde não houve diferença significativa na concentração de fibras elásticas, mesmo ao se comparar todos os níveis entre si. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de fibras elásticas, foi possível inferir a existência de uma única camada na LP da FS e de ao menos duas camadas na LP da BL e FI da PV ovina.

Tabela 34. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal ovina.

Ovino	Face superior	Borda livre	Face inferior
NS vs NIS*	0,1906	<b>0,0135</b>	0,2748
NS vs NII	0,1788	<b>0,0059</b>	0,0772
NS vs NIP	0,1516	<b>0,0380</b>	<b>0,0012</b>
NS vs NP	0,7508	0,2911	<b>0,0193</b>
NIS vs NII *	0,7367	0,7508	0,2031
NIS vs NIP	0,8959	0,4908	<b>0,0019</b>
NIS vs NP	0,0896	0,3080	<b>0,0210</b>
NII vs NIP*	0,6145	0,1675	<b>0,0210</b>
NII vs NP	0,1036	0,2911	0,1568
NIP vs NP*	0,0772	0,8959	0,5144

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . Os níveis em negrito representam as comparações entre os níveis em contiguidade.

Na LP da PV de porco (tabela 35), identificamos diferenças significativas quanto à concentração de fibras elásticas entre níveis distintos na mesma área, em todas as três áreas. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de fibras elásticas, foi possível inferir a existência de ao menos duas camadas na LP de todas as três áreas da PV de porco.

Tabela 35. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal de porco.

<b>Porco</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	<b>0,0004</b>	<b>0,0059</b>	0,4029
NS vs NII	<b>0,0009</b>	<b>0,0447</b>	0,9255
NS vs NIP	<b>0,0296</b>	0,8081	0,0808
NS vs NP	<b>0,0086</b>	<b>0,0123</b>	<b>0,0322</b>
NIS vs NII *	0,4239	0,0663	0,4679
NIS vs NIP	0,3725	<b>0,0049</b>	<b>0,0145</b>
NIS vs NP	0,2442	<b>0,0005</b>	0,1193
NII vs NIP*	0,2095	0,0525	0,0895
NII vs NP	<b>0,0296</b>	<b>0,0004</b>	<b>0,0229</b>
NIP vs NP*	0,5386	<b>0,0053</b>	<b>0,0011</b>

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . Os níveis em negrito representam as comparações entre os níveis em contiguidade.

Na LP da PV de rato (tabela 36), verificamos que, somente na FI, houve diferenças significativas quanto à concentração de fibras entre níveis distintos. Fato que não ocorreu na BL e na FS da PV de rato, onde não houve diferença significativa na concentração de fibras elásticas, mesmo ao se comparar todos os níveis entre si. Baseando-se exclusivamente nas diferenças de concentração de fibras elásticas, foi possível inferir a existência de uma única camada na LP da FS e BL e de ao menos duas camadas na LP da FI da PV de rato.

Tabela 36. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas entre os níveis, em cada área, na lâmina própria da prega vocal de rato.

<b>Rato</b>	<b>Face superior</b>	<b>Borda livre</b>	<b>Face inferior</b>
NS vs NIS*	0,7793	0,2031	<b>0,0020</b>
NS vs NII	0,6677	0,0716	0,3080
NS vs NIP	0,4679	0,3080	0,0568
NS vs NP	0,3080	0,2442	<b>0,0103</b>
NIS vs NII *	0,5386	0,1516	<b>0,0103</b>
NIS vs NIP	0,4239	0,6015	0,3345
NIS vs NP	0,2748	0,8371	0,3256
NII vs NIP*	0,6950	0,3167	0,2748
NII vs NP	0,7227	0,1906	<b>0,0413</b>
NIP vs NP*	0,8664	0,6409	0,6950

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ . Os níveis em negrito representam as comparações entre os níveis em contiguidade.

A tabela 37 apresenta o resumo da comparação da concentração de colágeno e fibras elásticas entre os níveis na mesma área, por espécie

Tabela 37. Comparação da concentração de colágeno e fibras elásticas entre os níveis na mesma área, por espécie.

	FACE SUPERIOR		BORDA LIVRE		FACE INFERIOR	
	Colágeno	Fibras elásticas	Colágeno	Fibras elásticas	Colágeno	Fibras elásticas
<b>Humano</b>	P	P	P	P	P	Ø
<b>Bovino</b>	P	P	P	P	P	P
<b>Cão</b>	P	P	P	P	P	P
<b>Coelho</b>	Ø	P	P	P	Ø	P
<b>Ovino</b>	P	Ø	P	P	P	P
<b>Porco</b>	P	P	Ø	P	Ø	P
<b>Rato</b>	P	Ø	P	Ø	P	P

P: Presença de níveis com concentrações estatisticamente diferentes. Ø: Níveis sem diferença de concentração estatisticamente significativa.

## 5.5 – Comparação da concentração de colágeno e fibras elásticas entre as três áreas da prega vocal, por espécie

Os resultados obtidos quanto à comparação da concentração de colágeno entre os níveis equivalentes das três diferentes áreas da LP da PV, na mesma espécie (figura 20), encontram-se nas tabelas 38 e 44. As tabelas foram separadas por espécie estudada.

### 5.5.1 – Quanto ao colágeno

Podemos verificar que, na LP da PV humana (tabela 38), não houve variação significativa quanto à concentração de colágeno ao compararmos níveis equivalentes de áreas diferentes da PV, exceto no NIP, que apresentou diferenças significativas ao compararmos BL e FI. A pouca variação da concentração de colágeno sugere que as características da LP, quanto ao colágeno, se mantêm ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV humana.

Tabela 38. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno, por nível, entre as áreas, na prega vocal humana.

Humano	FS vs BL	BL vs FI
<b>NS</b>	0,1467	0,1788
<b>NIS</b>	0,2748	0,3440
<b>NII</b>	0,9255	0,5144
<b>NIP</b>	0,8081	<b>0,0162</b>
<b>NP</b>	0,7091	0,7227

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, na LP da PV bovina (tabela 39), não houve variação significativa quanto à concentração de colágeno ao compararmos níveis equivalentes de áreas diferentes da PV, exceto no NP, que apresentou diferenças significativas ao compararmos FS e BL e BL e FI. Assim como verificado na PV humana, a pouca variação da concentração de colágeno sugere que as características da LP, quanto ao colágeno, se mantêm ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV bovina.

Tabela 39. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno, por nível, entre as áreas, na prega vocal bovina.

<b>Bovino</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,1112	0,2442
<b>NIS</b>	0,3256	0,0614
<b>NII</b>	0,6950	0,7793
<b>NIP</b>	0,8226	0,5386
<b>NP</b>	<b>0,0193</b>	<b>0,0413</b>

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, na LP da PV de cão (tabela 40), houve variação significativa nos níveis mais superficiais, quanto à concentração de colágeno, ao compararmos FS e BL e BL e FI. Houve maior variação da concentração de colágeno ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de cão, que na verificada na PV humana.

Tabela 40. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno, por nível, entre as áreas, na prega vocal de cão.

<b>Cão</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,7508	<b>0,0036</b>
<b>NIS</b>	<b>0,0053</b>	0,2031
<b>NII</b>	<b>0,0030</b>	<b>0,0094</b>
<b>NIP</b>	0,0689	0,8664
<b>NP</b>	0,8959	0,1370

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, de forma distinta ao verificado na humana, na LP da PV de coelho (tabela 41) houve variação significativa quanto à concentração de colágeno ao compararmos níveis equivalentes entre a FS e BL, exceto no NP. Também houve diferença no NS, ao compararmos BL e FI. A maior variação da concentração de colágeno ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de coelho foi verificada ao compararmos FS com BL.

Tabela 41. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno, por nível, entre as áreas, na prega vocal de coelho.

Coelho	FS vs BL	BL vs FI
<b>NS</b>	<b>0,0036</b>	<b>0,0006</b>
<b>NIS</b>	<b>0,0007</b>	0,3826
<b>NII</b>	<b>0,0027</b>	0,4585
<b>NIP</b>	<b>0,0296</b>	0,9553
<b>NP</b>	0,1112	0,8959

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Verificamos que, na LP da PV de ovino (tabela 42), houve variação significativa, quanto à concentração de colágeno, ao compararmos níveis equivalentes entre a FS e BL. Não houve variação de concentração entre BL e FI. Houve maior variação da concentração de colágeno ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de ovino, que na verificada na PV humana. Esses achados sugerem que as características da LP, quanto ao colágeno, variam ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de ovino, notadamente nos níveis mais profundos. A variação quanto à concentração de colágeno ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de ovino pareceu ocorrer de forma gradual, uma vez que se verificou diferenças entre FS e BL e não se verificou entre BL e FI.

Tabela 42. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno, por nível, entre as áreas, na prega vocal ovina.

Ovino	FS vs BL	BL vs FI
<b>NS</b>	0,0663	0,0504
<b>NIS</b>	0,3826	0,0896
<b>NII</b>	0,0663	0,2162
<b>NIP</b>	<b>0,0078</b>	0,2748
<b>NP</b>	<b>0,0006</b>	0,6677

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, na LP da PV de porco (tabela 43), houve variação significativa quanto à concentração de colágeno ao compararmos níveis equivalentes entre a FS e BL, notadamente nos níveis intermediários. Não houve variação de concentração entre BL e FI. Houve maior variação da concentração de colágeno ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de porco, que na verificada na PV humana. Esses achados sugerem que as características da LP, quanto ao colágeno, variam ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de porco, notadamente nos níveis intermediários.

Tabela 43. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno, por nível, entre as áreas, na prega vocal de porco.

<b>Porco</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,9255	0,3440
<b>NIS</b>	<b>0,0148</b>	0,7508
<b>NII</b>	<b>0,0008</b>	0,3080
<b>NIP</b>	<b>0,0078</b>	0,9553
<b>NP</b>	0,7227	0,9851

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, na LP da PV de rato (tabela 44), houve variação significativa quanto à concentração de colágeno ao compararmos níveis equivalentes entre a FS e BL e entre a BL e FI, notadamente nos níveis intermediários. Houve maior variação da concentração de colágeno ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de rato, que na verificada na PV humana.

Tabela 44. Valor  $p$  da comparação da concentração de colágeno, por nível, entre as áreas, na prega vocal de rato.

<b>Rato</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,3826	0,0525
<b>NIS</b>	0,1568	<b>0,0007</b>
<b>NII</b>	<b>0,0003</b>	<b>0,0003</b>
<b>NIP</b>	<b>0,0123</b>	<b>0,0113</b>
<b>NP</b>	0,1675	0,5264

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

### 5.5.2 – Quanto às fibras elásticas

Os resultados obtidos quanto à comparação das fibras elásticas entre os níveis equivalentes das três diferentes áreas da LP da PV, na mesma espécie, encontram-se nas tabelas 45 a 51. As tabelas foram separadas por espécie estudada.

Podemos verificar que, na LP da PV humana (tabela 45), não houve variação significativa quanto à concentração das fibras elásticas ao compararmos níveis equivalentes entre as três áreas da PV. Isso sugere que as fibras elásticas se distribuíram de forma homogênea ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV humana.

Tabela 45. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas, por nível, entre as áreas, na prega vocal humana.

<b>Humano</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,3078	0,6013
<b>NIS</b>	0,9255	0,4346
<b>NII</b>	0,2441	0,7227
<b>NIP</b>	0,3826	0,3629
<b>NP</b>	0,0663	0,2442

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, de forma semelhante à humana, na LP da PV bovina (tabela 46) não houve variação significativa quanto à concentração das fibras elásticas ao compararmos níveis equivalentes das áreas da PV. Isso sugere que as fibras elásticas se distribuíram de forma homogênea ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV bovina.

Tabela 46. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas, por nível, entre as áreas, na prega vocal bovina.

<b>Bovino</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,9553	0,5508
<b>NIS</b>	0,6145	0,1675
<b>NII</b>	0,2442	0,2591
<b>NIP</b>	0,2159	0,8664
<b>NP</b>	0,5886	0,2441

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, de forma semelhante à humana, na LP da PV de cão (tabela 47), não houve variação significativa quanto à concentração das fibras elásticas ao compararmos níveis equivalentes das áreas da PV. Isso sugere que as fibras elásticas se distribuíram de forma homogênea ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de cão.

Tabela 47. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas, por nível, entre as áreas, na prega vocal de cão.

<b>Cão</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,2442	0,4456
<b>NIS</b>	0,1788	0,1324
<b>NII</b>	0,0832	0,6950
<b>NIP</b>	0,7508	0,5633
<b>NP</b>	0,9702	0,4908

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, de forma semelhante à humana, na LP da PV de coelho (tabela 48) não houve variação significativa quanto à concentração das fibras elásticas ao compararmos níveis equivalentes das áreas da PV. Isso sugere que as fibras elásticas se distribuíram de forma homogênea ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de coelho.

Tabela 48. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas, por nível, entre as áreas, na prega vocal de coelho.

<b>Coelho</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,0716	0,1788
<b>NIS</b>	0,9553	0,7508
<b>NII</b>	0,8664	0,9255
<b>NIP</b>	0,2747	0,6408
<b>NP</b>	0,1229	0,1675

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, na LP da PV ovina (tabela 49), de forma distinta da verificada na humana, houve variação significativa quanto à concentração das fibras elásticas ao compararmos NIP e NP da BL e FI. A variação quanto à concentração de fibras elásticas ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de ovino pareceu ocorrer de, nos níveis mais profundos, forma gradual, uma vez que não se verificou diferenças entre FS e BL e se verificou entre BL e FI.

Tabela 49. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas, por nível, entre as áreas, na prega vocal ovina.

<b>Ovino</b>	<b>FS vs BL</b>	<b>BL vs FI</b>
<b>NS</b>	0,9255	0,4908
<b>NIS</b>	0,6409	0,2591
<b>NII</b>	0,2748	0,9553
<b>NIP</b>	0,6677	<b>0,0006</b>
<b>NP</b>	0,1568	<b>0,0322</b>

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, de forma distinta à humana, na LP da PV de porco (tabela 50) houve variação significativa quanto à concentração das fibras elásticas ao compararmos BL com as FS e FI. Entre FS e BL, as diferenças ficaram limitadas aos extremos de profundidade. Já entre BL e FI, somente o NS não apresentou diferenças. Esses achados podem indicar que as características da LP, quanto às fibras elásticas, variam ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de porco.

Tabela 50. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas, por nível, entre as áreas, na prega vocal de porco.

Porco	FS vs BL	BL vs FI
<b>NS</b>	<b>0,0040</b>	0,1112
<b>NIS</b>	0,1279	<b>0,0010</b>
<b>NII</b>	0,1788	<b>0,0008</b>
<b>NIP</b>	0,4908	<b>0,0022</b>
<b>NP</b>	<b>0,0322</b>	<b>0,0033</b>

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

Podemos verificar que, na LP da PV de rato (tabela 51), houve variação significativa quanto à concentração das fibras elásticas ao compararmos níveis equivalentes mais superficiais das FS e BL e no NIS entre BL e FI. Esses achados podem indicar que as características da LP, quanto às fibras elásticas, variam ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV de rato.

Tabela 51. Valor  $p$  da comparação da concentração de fibras elásticas, por nível, entre as áreas, na prega vocal de rato.

Rato	FS vs BL	BL vs FI
<b>NS</b>	<b>0,0210</b>	0,9553
<b>NIS</b>	<b>0,0135</b>	<b>0,0024</b>
<b>NII</b>	<b>0,0040</b>	0,3629
<b>NIP</b>	0,1036	0,4566
<b>NP</b>	0,1112	0,0614

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Áreas: face superior (FS), borda livre (BL) e face inferior (FI). Os resultados em negrito representam os com  $p < 0,05$ .

A tabela 52 apresenta o resumo dos resultados quanto à comparação da concentração de colágeno e de fibras elásticas entre os níveis equivalentes das três diferentes áreas da LP da PV, na mesma espécie.

Tabela 52. Comparação da concentração de colágeno e de fibras elásticas entre os níveis equivalentes das três diferentes áreas da LP da PV, na mesma espécie.

	<b>Face superior vs Borda livre</b>		<b>Borda livre vs Face inferior</b>	
	<b>Colágeno</b>	<b>Fibras elásticas</b>	<b>Colágeno</b>	<b>Fibras elásticas</b>
<b>Humano</b>	Ø	Ø	NIP	Ø
<b>Bovino</b>	NP	Ø	NP	Ø
<b>Cão</b>	NIS e NII	Ø	NS e NII	Ø
<b>Coelho</b>	NS, NIS, NII e NIP	Ø	NS	Ø
<b>Ovino</b>	NIP e NP	Ø	Ø	NIP e NP
<b>Porco</b>	NIS, NII e NIP	NS e NP	Ø	NIS, NII, NIP e NP
<b>Rato</b>	NII e NIP	NS, NIS e NII	NIS, NII e NIP	NIS

Níveis: superficial (NS), intermediário superficial (NIS), intermediário intermediário (NII), intermediário profundo (NIP) e profundo (NP). Os níveis destacados representam aqueles cujas concentrações de colágeno ou de fibras elásticas apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) quando comparadas as áreas da lâmina própria da prega vocal. Ø: Sem diferenças estatisticamente significativas de concentração da proteína estudada em todos os níveis.

## **5.6 – Quanto à morfologia microscópica**

A avaliação morfológica microscópica, quanto às características da distribuição do colágeno e fibras elásticas da LP da PV das espécies animais estudadas, foi descrita separadamente nas três áreas analisadas da PV vocal.

### **5.6.1 – Humano**

#### **5.6.1.1 – Face superior**

Verificamos a presença de três camadas distinguíveis na LP da FS da PV humana (figuras 22 e 23). Na camada superficial verificamos uma estreita faixa de colágeno (figura 24) junto ao epitélio e poucas fibras elásticas. Houve aumento da concentração de colágeno e fibras elásticas na camada intermediária. Já na camada mais profunda, foi possível verificar elevada concentração de colágeno e de fibras elásticas.

#### **5.6.1.2 – Borda livre**

A LP da BL LP da PV humana apresentou três camadas, baseada na distribuição dos seus componentes fibrosos (figuras 22 e 23). De forma distinta da verificada na FS, na camada superficial da LP da BL verificamos colágeno e fibras elásticas em baixa concentração e distribuídas de forma esparsa (figuras 25 e 26). Na camada intermediária houve aumento da concentração de colágeno e fibras elásticas. Já a camada profunda apresentou elevada concentração de colágeno e de fibras elásticas (figuras 27 a 29).

#### **5.6.1.3 – Face inferior**

Identificamos três camadas na LP da FI da PV humana (figuras 22 e 23). Assim como na FS, na camada superficial da LP da FI verificamos uma estreita faixa de colágeno junto ao epitélio e poucas fibras elásticas. Houve aumento da concentração de colágeno e fibras elásticas na camada intermediária. Na camada verificamos elevada concentração de colágeno e de fibras elásticas.

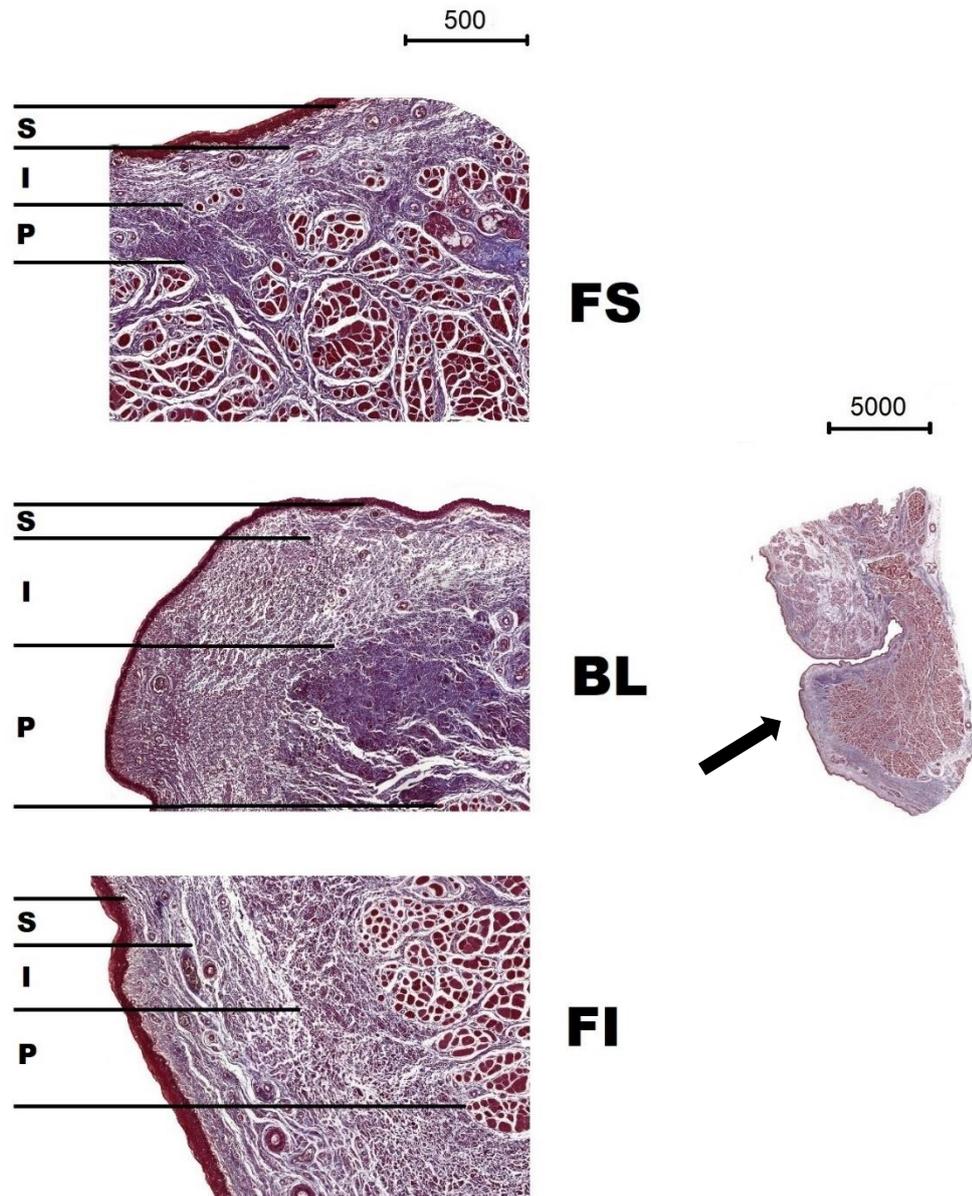


Figura 22. Prega vocal humana corada pelo Tricrômico de Masson. A seta de cor preta indica a prega vocal. Colágeno corado em azul. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. I – Camada intermediária. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

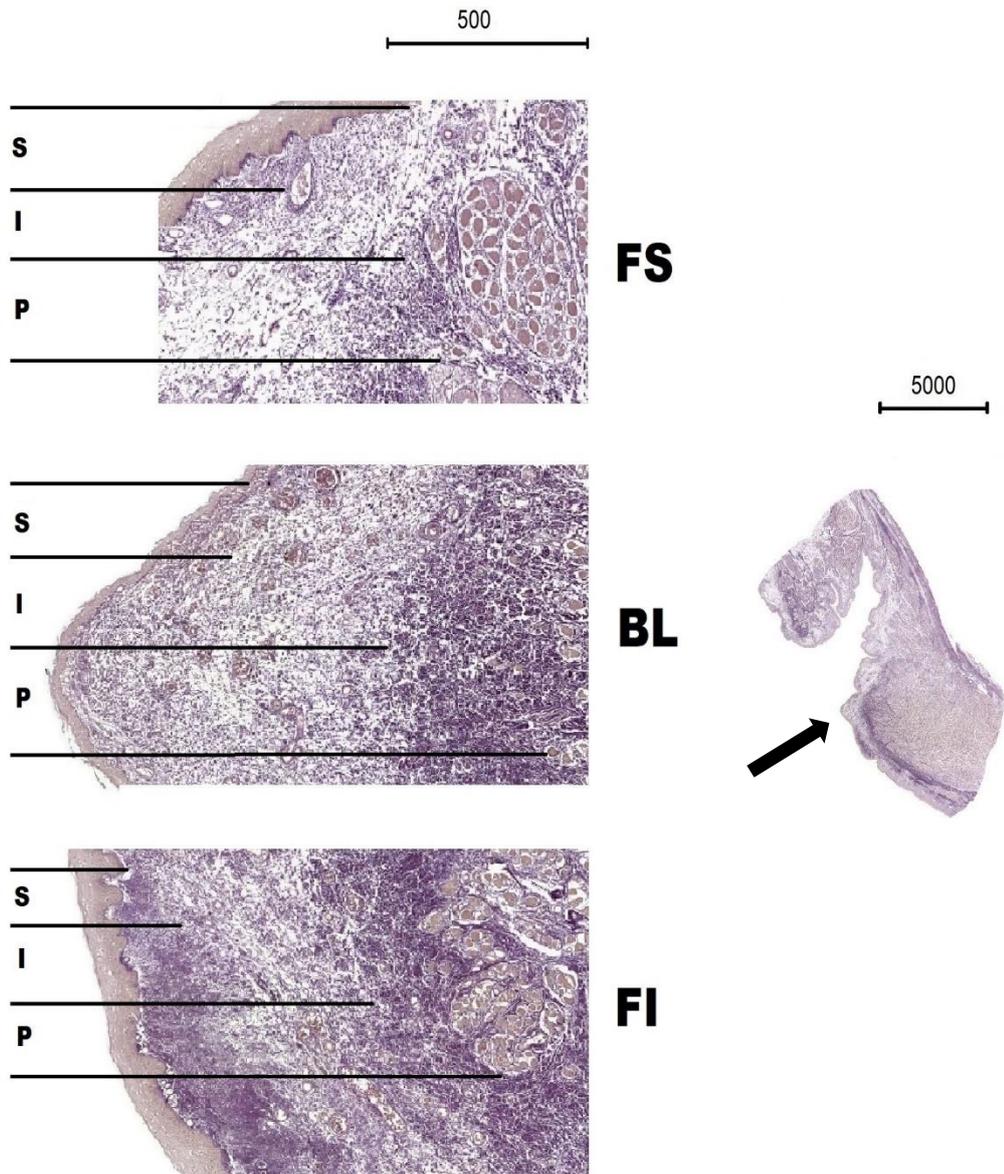


Figura 23. Prega vocal humana corada pelo método Weigert Van Gieson. A seta de cor preta indica a prega vocal. Fibras elásticas coradas em preto. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. I – Camada intermediária. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

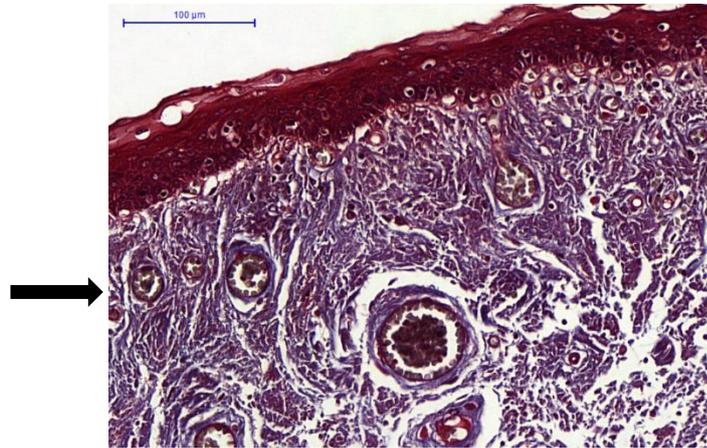


Figura 24. Prega vocal humana corada pelo Tricrômico de Masson. Face superior. Colágeno corado em azul. É possível notar estreita faixa de colágeno (seta na cor preta) na camada superficial (CS) da lâmina própria, junto ao epitélio.

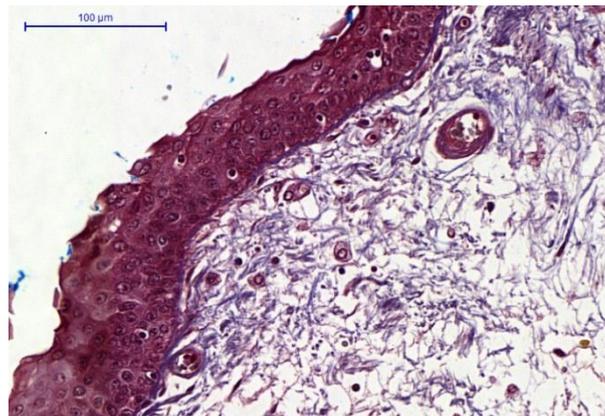


Figura 25. Prega vocal humana corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Verifica-se a baixa concentração de colágeno na camada superficial da lâmina própria.

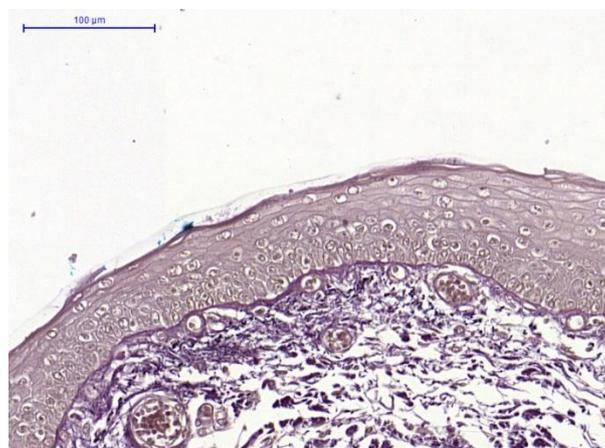


Figura 26. Prega vocal humana corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas corado em preto. Verifica-se a baixa concentração de fibras elásticas na camada superficial da lâmina própria.

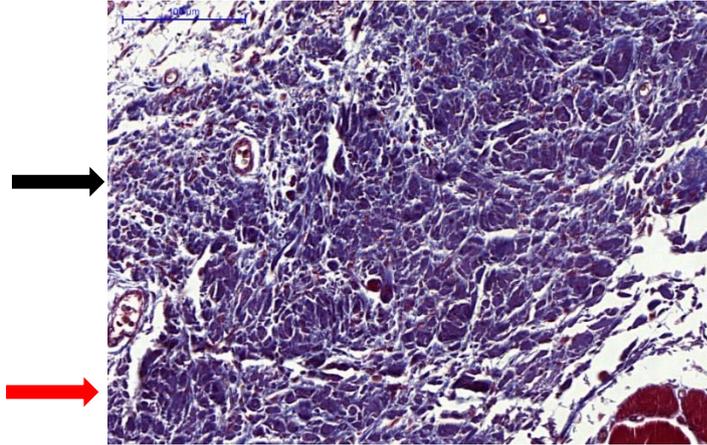


Figura 27. prega vocal humana corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Nota-se o aumento progressivo da densidade de colágeno da camada intermediária (seta na cor preta) da lâmina própria para a profunda (seta na cor vermelha).

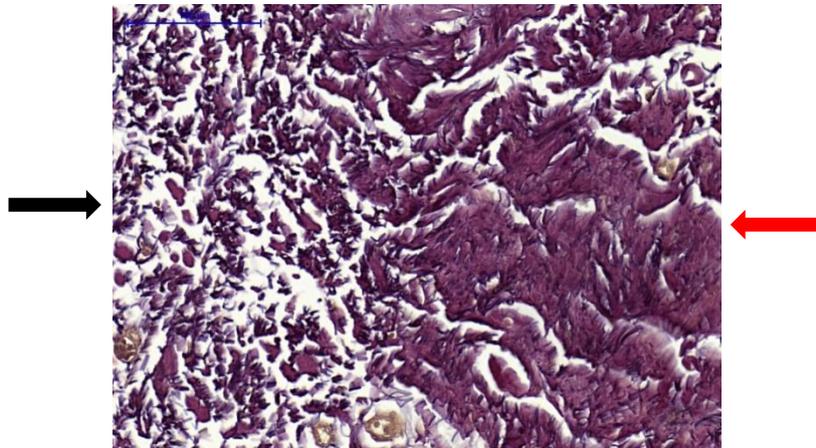


Figura 28. prega vocal humana corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras colágenas coradas em preto. Nota-se a transição da camada intermediária (seta na cor preta) da lâmina própria para a profunda (seta na cor vermelha).

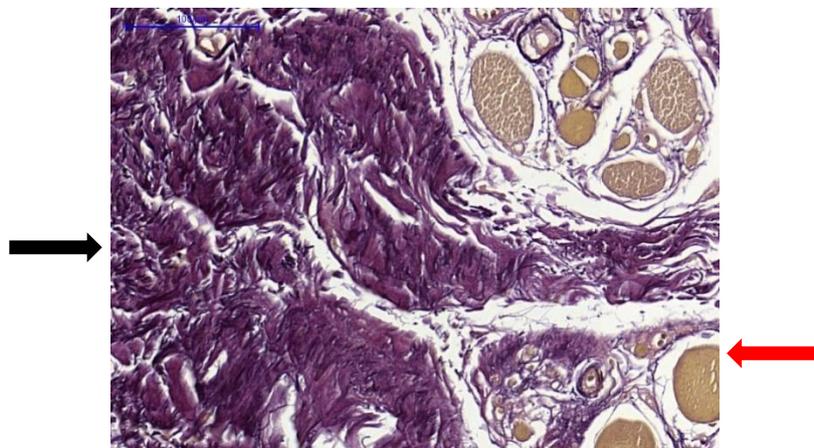


Figura 29. prega vocal humana corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Camada profunda (seta na cor preta), junto ao músculo vocal (seta na cor vermelha).

## 5.6.2 – Bovino

### 5.6.2.1 – Face superior

Verificamos a presença de três camadas na LP da FS da PV bovina (figuras 30 e 31). Na camada superficial, identificamos estreita e densa banda de colágeno e fibras elásticas. Na camada intermediária havia menos colágeno e fibras elásticas, dispostos de forma esparsa e pouco organizados. A transição da camada superficial para a intermediária se apresentou pouco evidente. Já na camada profunda, foi possível verificar uma densa concentração de colágeno, com fibras orientadas no sentido craniocaudal, assim como elevada concentração de fibras elásticas (figuras 36 e 37).

### 5.6.2.2 – Borda livre

Identificamos três camadas na LP da BL da PV bovina (figuras 30 e 31). Na camada superficial, identificamos uma estreita e densa banda de colágeno e de fibras elásticas (figuras 32 e 33). Na camada intermediária havia menos colágeno e fibras elásticas, que estavam dispostos de forma esparsa e pouco organizados. A transição da camada superficial para a intermediária se apresentou pouco nítida (figuras 34 e 35). Já na camada profunda, foi possível verificar uma densa concentração de colágeno, com fibras orientadas no sentido craniocaudal, assim como elevada concentração de fibras elásticas (figuras 36 e 37).

### 5.6.2.3 – Face inferior

A LP da PV bovina apresentou três camadas na sua FI da LP da PV (figuras 30 e 31). Na camada superficial, verificamos uma estreita e densa banda de colágeno e de fibras elásticas. Na camada intermediária havia menos colágeno e fibras elásticas, que estavam dispostos de forma esparsa e pouco organizados. A transição da camada superficial para a intermediária foi pouco evidente. Já na camada profunda, foi possível verificar uma densa concentração de colágeno, com fibras orientadas no sentido craniocaudal, assim como elevada concentração de fibras elásticas.

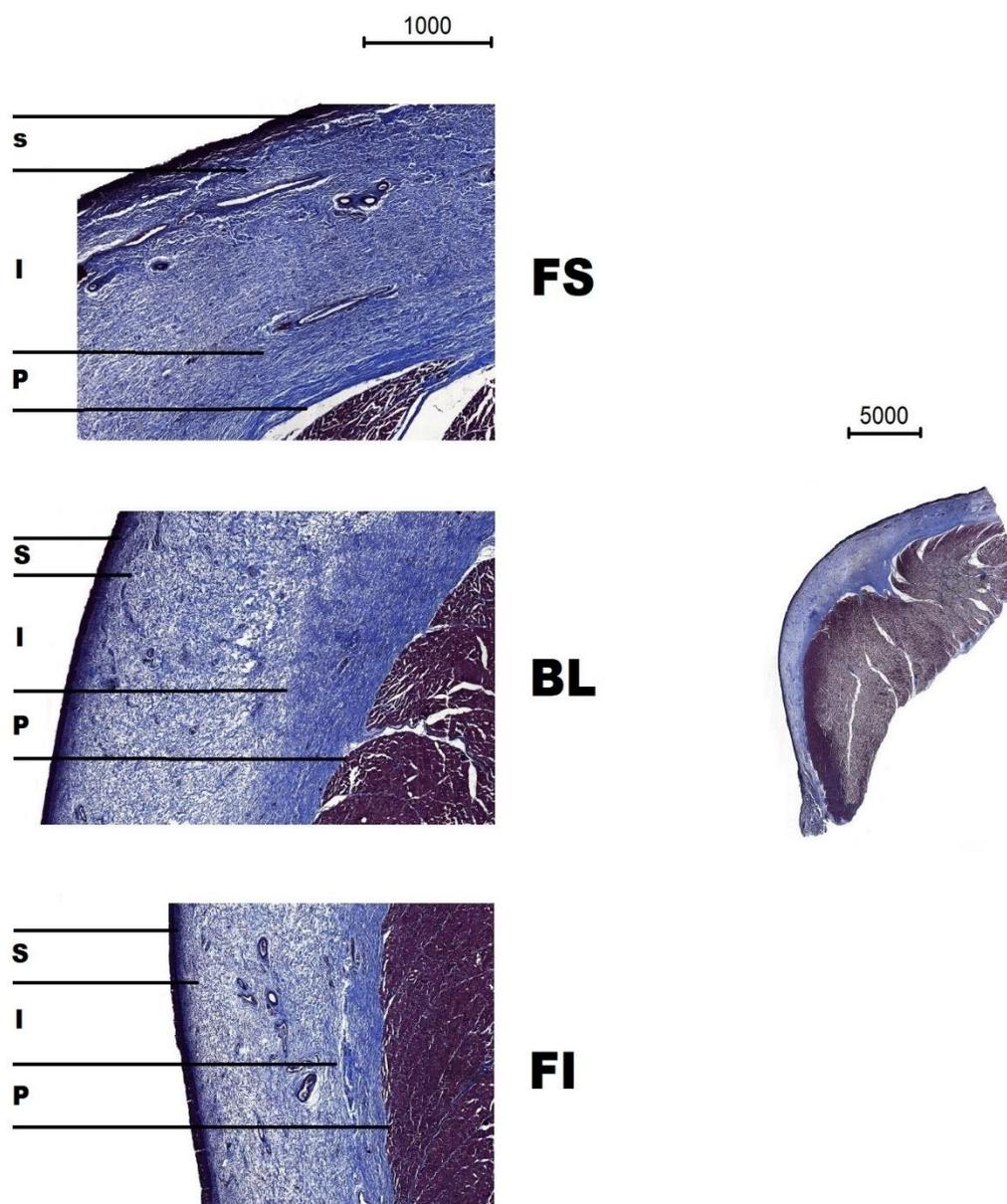


Figura 30. Prega vocal bovina corada pelo Tricrômico de Masson. Colágeno corado em azul. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. I – Camada intermediária. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

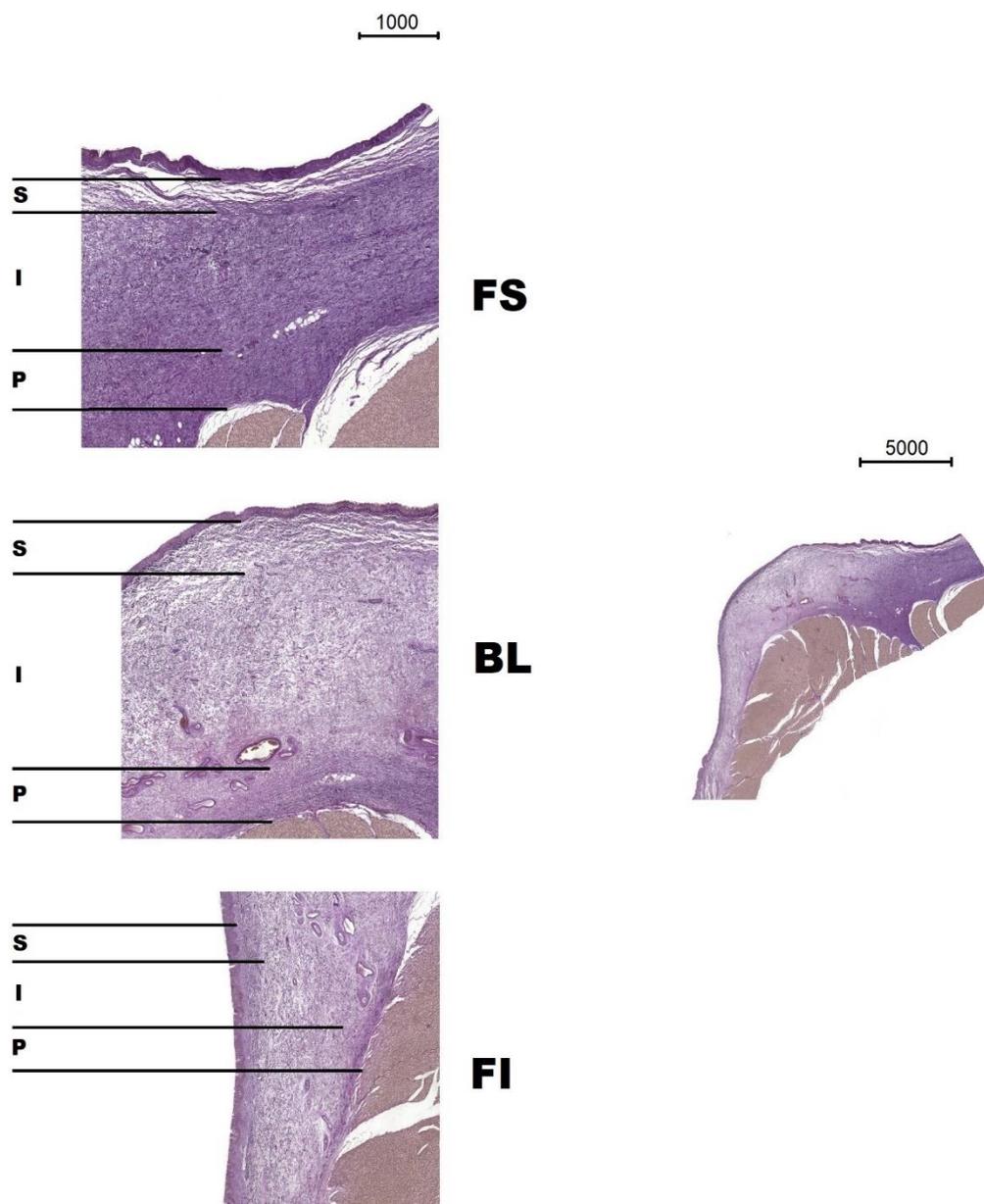


Figura 31. Prega vocal bovina corada pelo método Weigert Van Gieson. Fibras elásticas coradas em preto. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. I – Camada intermediária. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

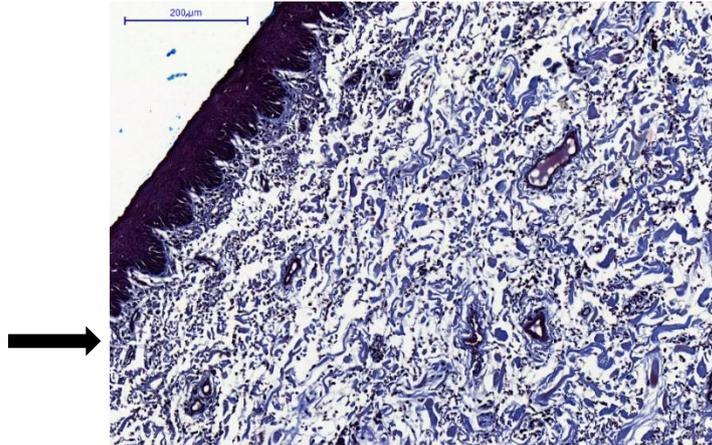


Figura 32. Prega vocal bovina corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Camada superficial da lâmina própria na borda livre. Nota-se estreita faixa de colágeno junto ao epitélio (seta na cor preta).

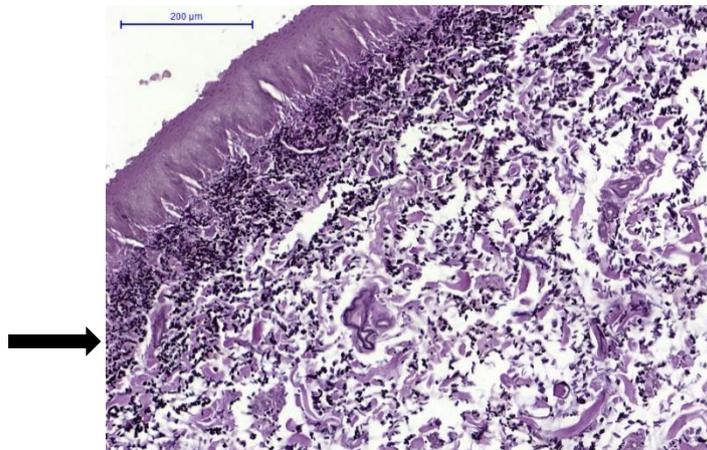


Figura 33. Prega vocal bovina corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Camada superficial da lâmina própria na borda livre. Nota-se estreita faixa de fibras elásticas junto ao epitélio (seta na cor preta).

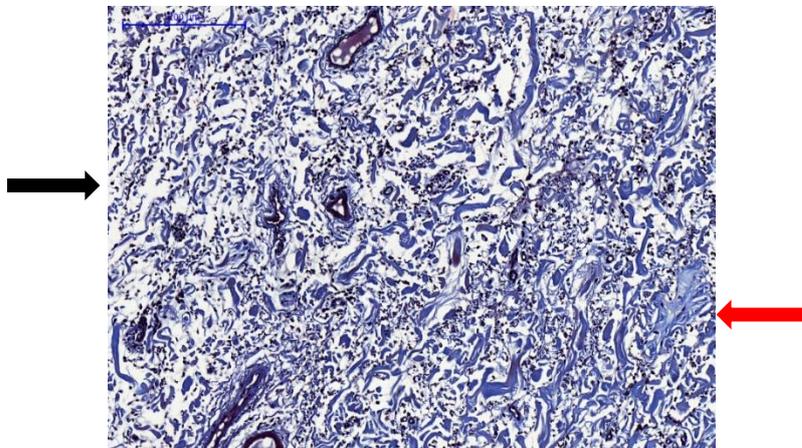


Figura 34. Prega vocal bovina corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Transição da camada superficial (seta na cor preta) da lâmina própria para a intermediária (seta na cor vermelha) ocorre de forma tênue.

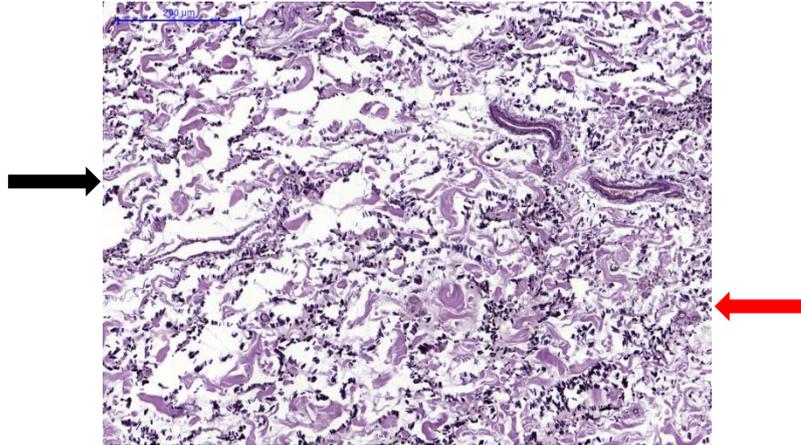


Figura 35. Prega vocal bovina corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Transição da camada superficial ocorre de forma tênue.

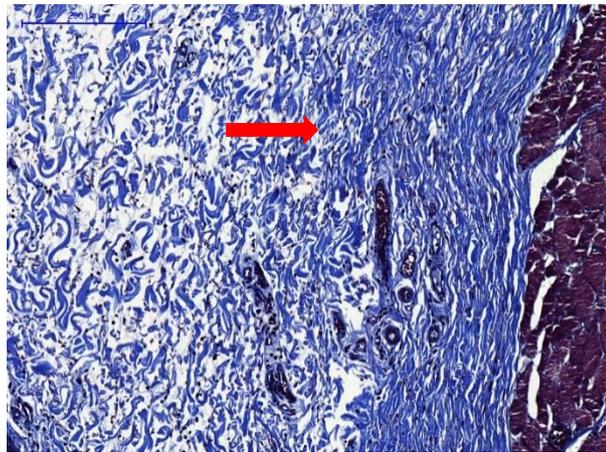


Figura 36. Prega vocal bovina corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Colágeno na camada profunda com suas fibras orientadas no sentido craniocaudal (seta na cor vermelha).

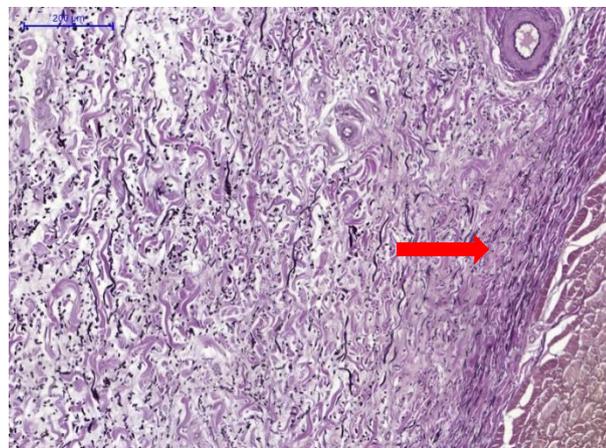


Figura 37. Prega vocal bovina corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Fibras elásticas na camada profunda orientadas no sentido craniocaudal (seta na cor vermelha).

### **5.6.3 – Cão**

#### **5.6.3.1 – Face superior**

Verificamos a presença de duas camadas na LP da FS da PV do cão (figuras 38 e 39). Na camada superficial da LP, o colágeno se apresentou de forma abundante, assim como as fibras elásticas. Já na camada profunda, foi possível verificar menor concentração de fibras elásticas e de colágeno.

#### **5.6.3.2 – Borda livre**

Há duas camadas na LP da BL da PV do cão (figuras 38 e 39). Na camada superficial da LP, o colágeno se apresentou de forma abundante e densa, assim como as fibras elásticas. Já na camada profunda, foi possível verificar menor concentração de fibras elásticas e de colágeno (figuras 40 e 41).

#### **5.6.3.3 – Face inferior**

Identificamos duas camadas na FI da LP da PV de cão (figuras 38 e 39). A camada superficial da LP apresentou-se rica em colágeno e em fibras elásticas. Já na camada profunda, foi possível verificar menor concentração de fibras elásticas e de colágeno. Foi possível verificar estreita faixa de tecido adiposo entre a camada profunda da LP e o músculo vocal.

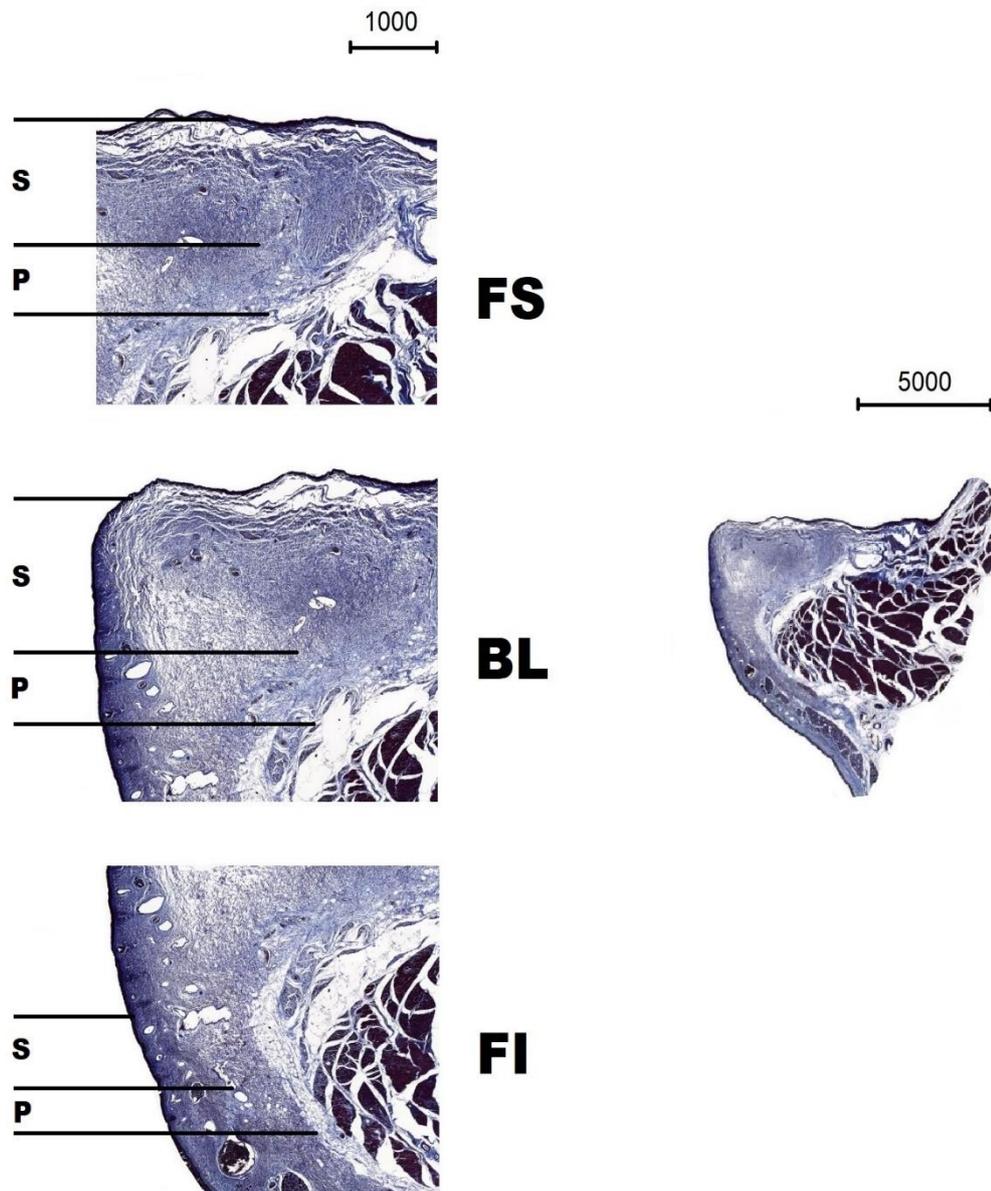


Figura 38. Prega vocal de cão corada pelo Tricrômico de Masson. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

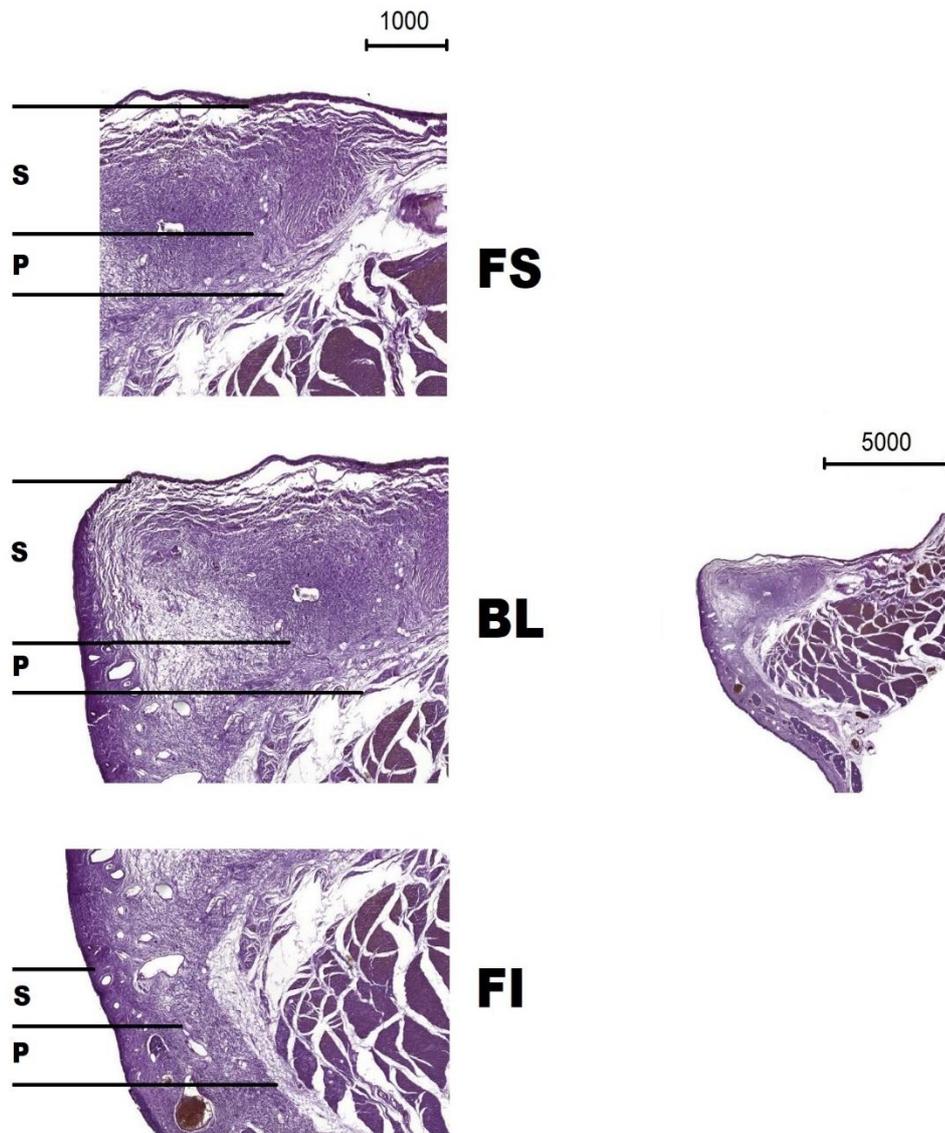


Figura 39. Prega vocal de cão corada pelo método Weigert Van Gieson. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

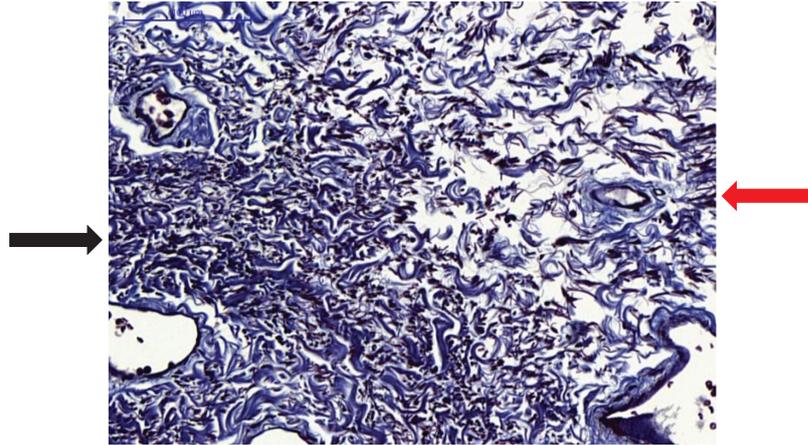


Figura 40. prega vocal cão corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Transição da camada superficial da lâmina própria, mais densa (seta na cor preta), para a profunda, menos densa (seta na cor vermelha).

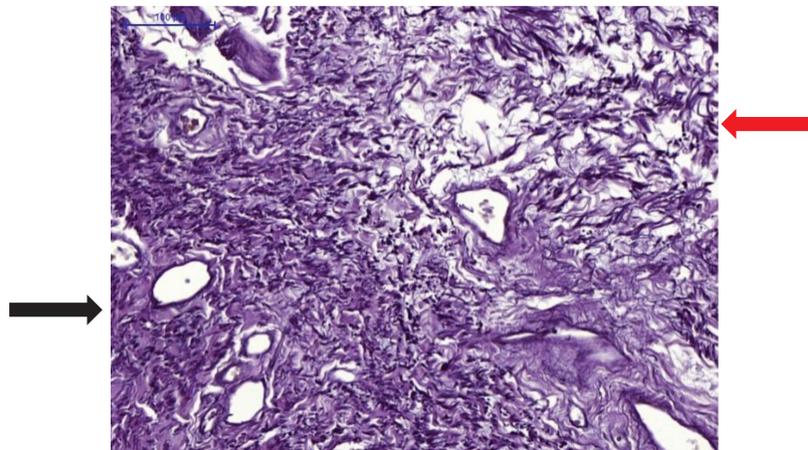


Figura 41. prega vocal de cão corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Transição da camada superficial da lâmina própria, mais densa (seta na cor preta), para a profunda, menos densa (seta na cor vermelha).

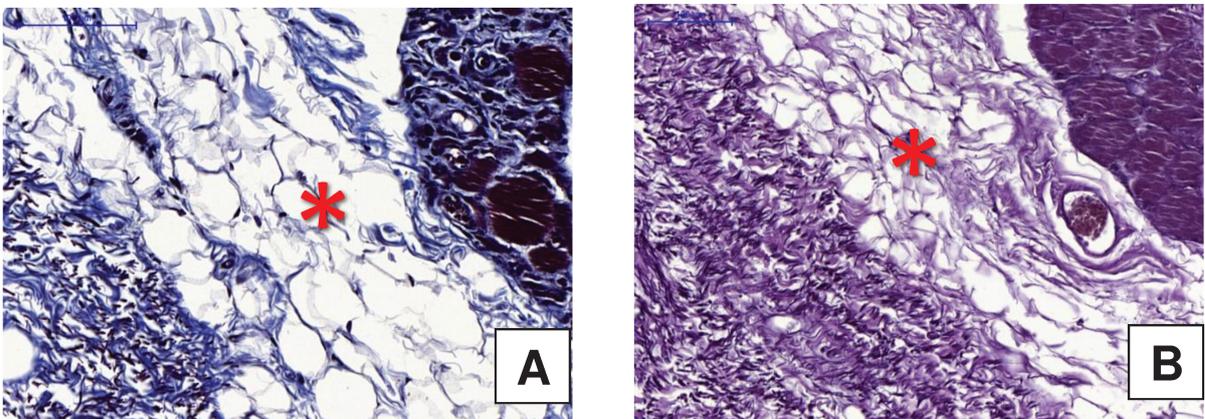


Figura 42. prega vocal de cão. Face inferior. Tecido adiposo (asterisco na cor vermelha) entre a camada profunda da lâmina própria e fibras do músculo vocal. Coloração: A – Tricrômico de Masson e B – Weigert Van Gieson.

## 5.6.4 – Coelho

### 5.6.4.1 – Face superior

Verificamos a presença de duas camadas na LP da FS da PV do coelho (figuras 43 e 44). Embora tenhamos verificado uma elevada concentração de colágeno com distribuição homogênea ao longo de toda profundidade da LP, foi possível verificar duas bandas de distribuição de fibras elásticas, que permitiram a divisão da LP em duas camadas. Na camada superficial, as fibras elásticas estavam dispostas de forma linear, em uma estreita banda, na transição da LP com o epitélio. Na camada profunda, as fibras elásticas estavam dispostas em uma banda mais larga.

### 5.6.4.2 – Borda livre

Identificamos a presença de duas camadas na LP da BL da PV do coelho (figuras 43 e 44). Assim como identificamos na FS, a concentração de colágeno mostrou-se elevada e a sua distribuição apresentou-se de forma homogênea ao longo de toda profundidade da LP (figura 45). Foi possível verificar duas bandas de distribuição de fibras elásticas, que permitiram a divisão da LP em duas camadas (figura 46). Na camada superficial, as fibras elásticas estavam dispostas de forma linear, em uma estreita banda, na transição da LP com o epitélio. Na camada profunda, as fibras elásticas estavam dispostas em uma banda mais larga.

### 5.6.4.3 – Face inferior

Há duas camadas na FI da LP da PV do coelho (figuras 43 e 44). Embora tenhamos verificado uma elevada concentração de colágeno com distribuição homogênea ao longo de toda profundidade da LP, foi possível verificar duas bandas de distribuição de fibras elásticas, que permitiram a divisão da LP em duas camadas. Na camada superficial, as fibras elásticas estavam dispostas de forma linear, em uma estreita faixa, na transição da LP com o epitélio. Na camada profunda, as fibras elásticas estavam dispostas em uma banda mais larga.

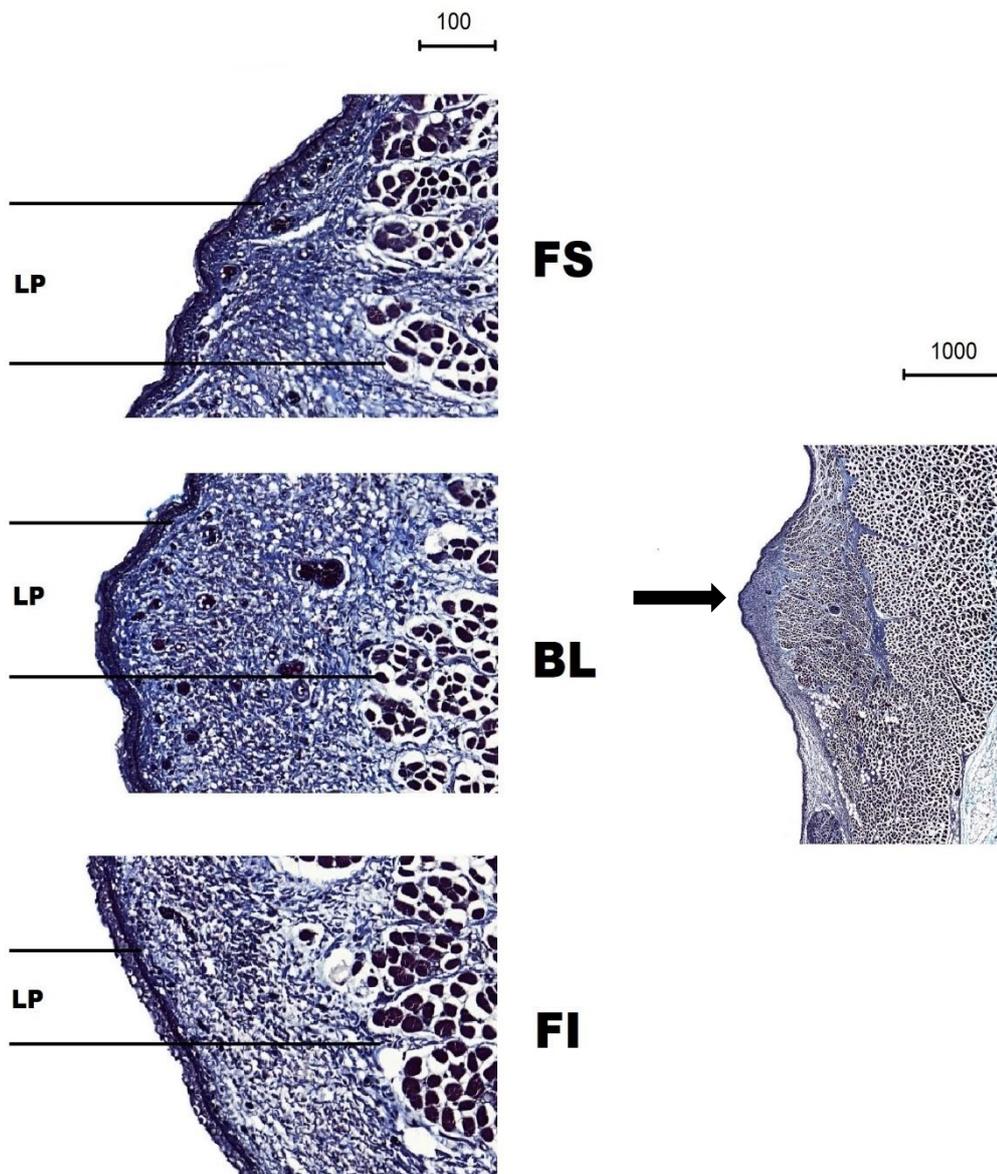


Figura 43. Prega vocal de coelho corada pelo Tricrômico de Masson. A seta na cor preta indica a prega vocal. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. LP – Lâmina própria. Não há camadas distinguíveis na LP nessa coloração. Escala em micrômetros.

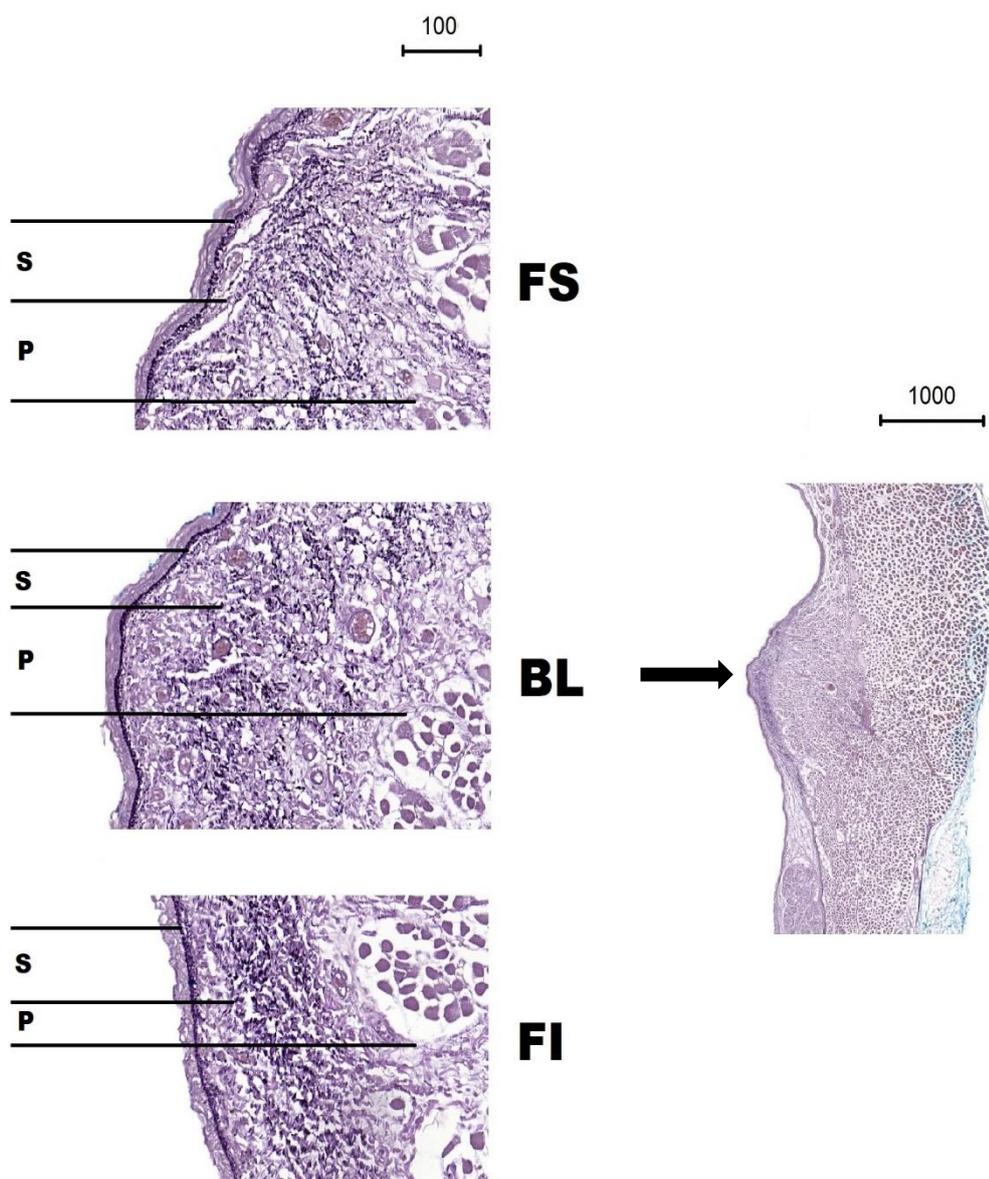


Figura 44. Prega vocal de coelho corada pelo método Weigert Van Gieson. A seta na cor preta indica a prega vocal. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

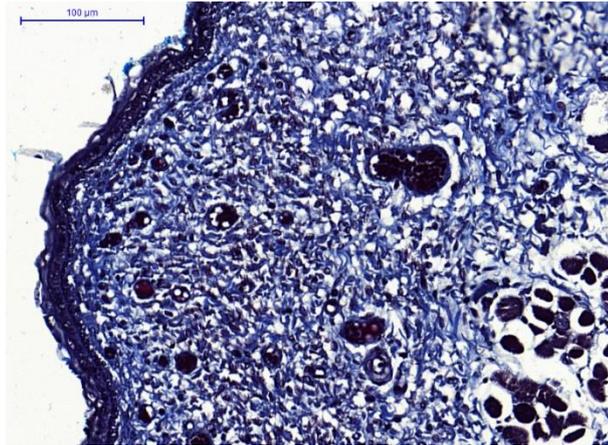


Figura 45. prega vocal de coelho corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Nota-se a distribuição homogênea do colágeno ao longo de toda espessura da lâmina própria.

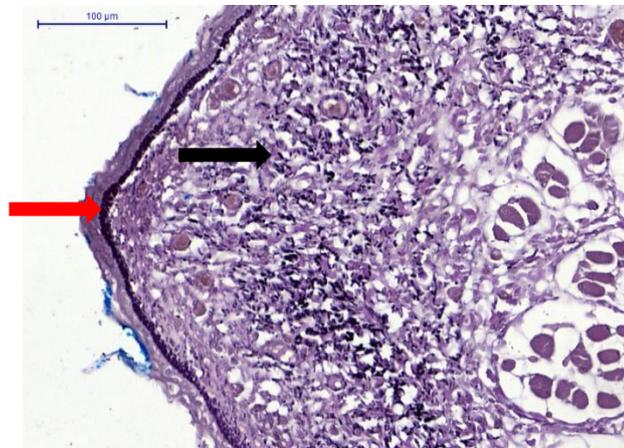


Figura 46. prega vocal de coelho corada pelo método Weigert Van Gieson. Fibras elásticas coradas em preto. Distribuição das fibras elásticas de forma organizada em duas bandas: uma superficial e linear (seta na cor vermelha), junto ao epitélio, e outra mais larga e na região mais profunda (seta na cor preta).

## 5.6.5 – Ovino

### 5.6.5.1 – Face superior

Identificamos duas camadas na LP da FS da PV ovina (figuras 47 e 48). A camada superficial pôde ser caracterizada por uma faixa rica em colágeno e fibras elásticas. Já a camada profunda apresentou-se como uma densa e organizada rede de colágeno e fibras elásticas. Na camada superficial da LP, a densidade de fibras elásticas na LP diminui à medida que se aproxima da camada profunda. Na camada profunda, a concentração de fibras elásticas voltou a ser elevada. O colágeno, na camada profunda, apresentou as fibras orientadas no sentido craniocaudal. Verificamos a presença de tecido glandular na LP dessa área.

### 5.6.5.2 – Borda livre

Verificamos a presença de duas camadas na LP da BL da PV ovina (figuras 47 e 48). A camada superficial da LP mostrou-se rica em colágeno e fibras elásticas. A camada profunda da LP pôde ser caracterizada por uma densa e mais organizada rede de colágeno e fibras elásticas. Na camada superficial, a densidade de fibras elásticas na LP diminui à medida que se aproxima da camada profunda. Na camada profunda, a concentração de fibras elásticas voltou a ser elevada. O colágeno, na camada profunda, apresentou as fibras orientadas no sentido craniocaudal (figuras de 49 a 53).

### 5.6.5.3 – Face inferior

Há duas camadas na FI da LP da PV ovina (figuras 47 e 48). A camada superficial pôde ser caracterizada por uma faixa rica em colágeno e fibras elásticas. Já a camada profunda apresentou-se como uma densa rede de colágeno e fibras elásticas. Na camada superficial, a densidade de fibras elásticas na LP diminui à medida que se aproxima da camada profunda. Na camada profunda, a concentração de fibras elásticas voltou a ser elevada. O colágeno, na camada profunda, apresentou as fibras orientadas no sentido craniocaudal. Verificamos a presença de tecido glandular na LP.

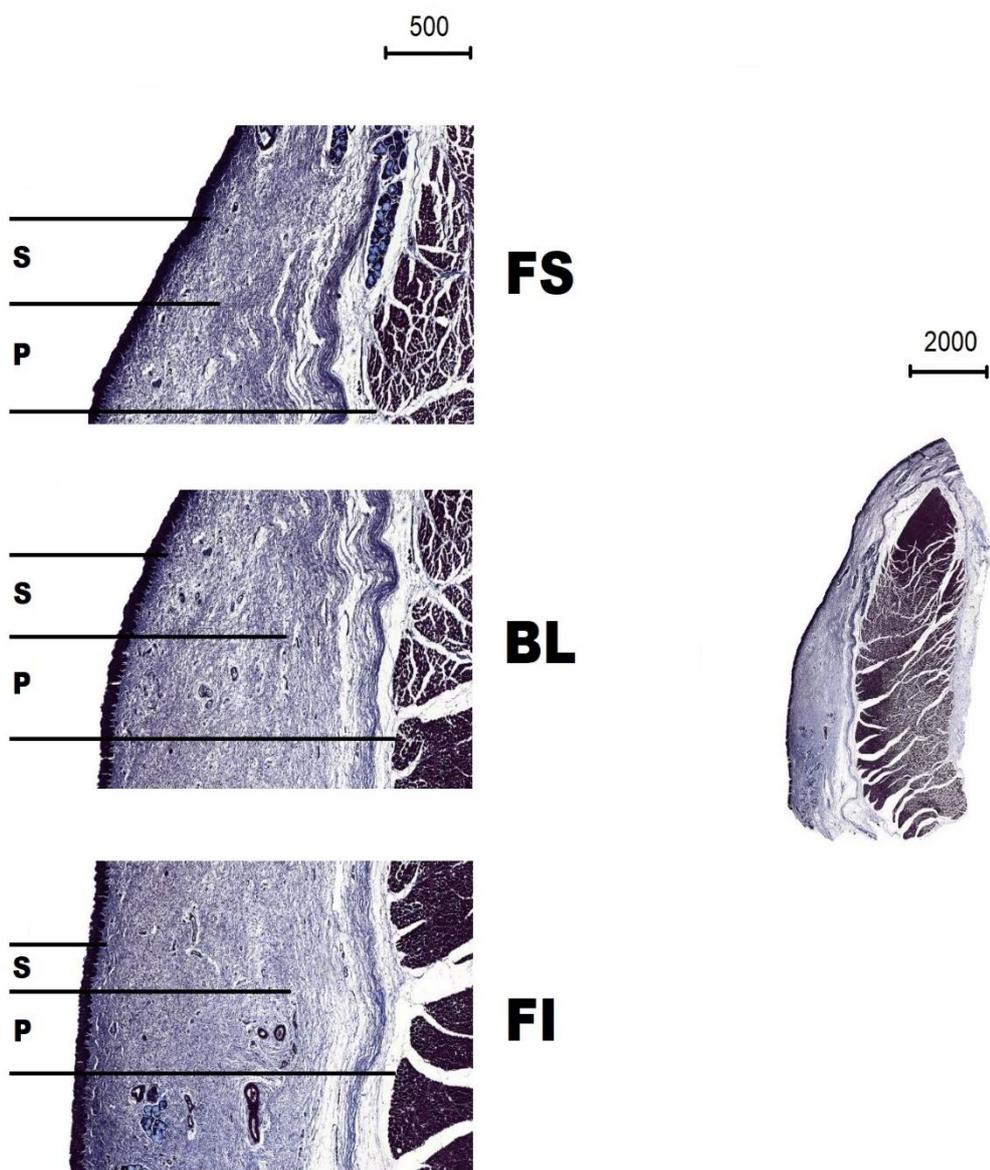


Figura 47. Prega vocal ovina corada pelo Tricrômico de Masson. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

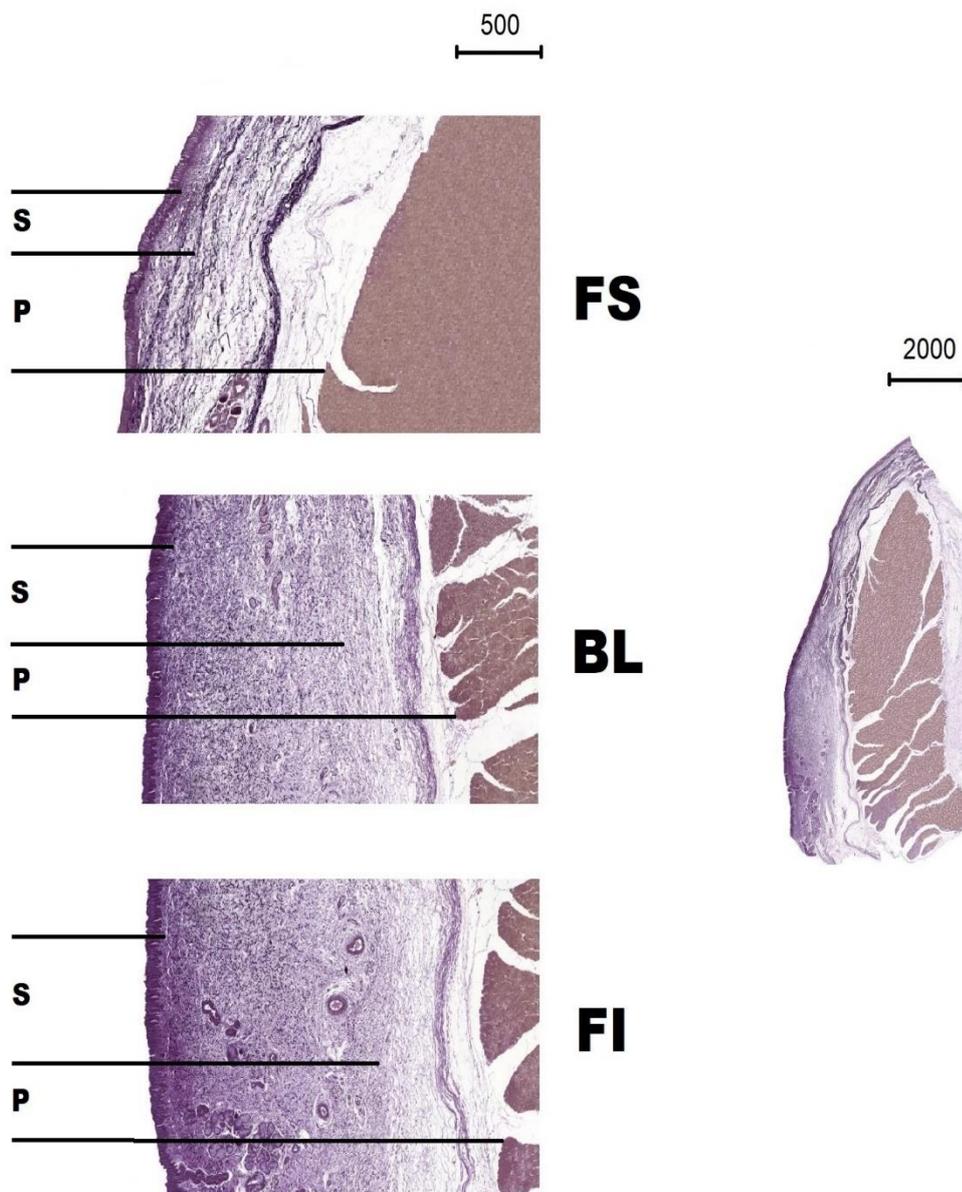


Figura 48. Prega vocal ovina corada pelo método Weigert Van Gieson. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

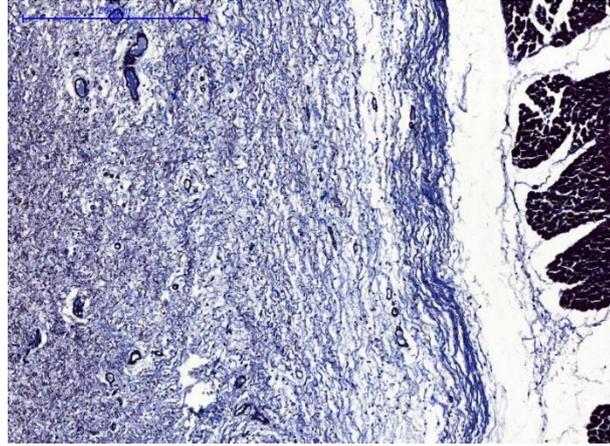


Figura 49. Prega vocal ovina corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Transição da camada superficial para a profunda.

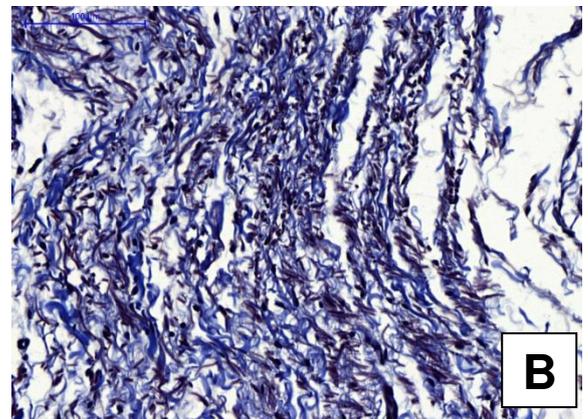
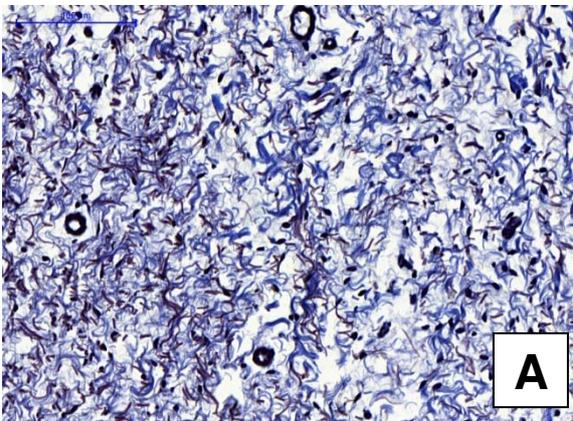


Figura 50. Prega vocal ovina corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Organização das fibras colágenas: A – camada superficial e B – camada profunda, com as fibras colágenas orientadas no sentido craniocaudal.

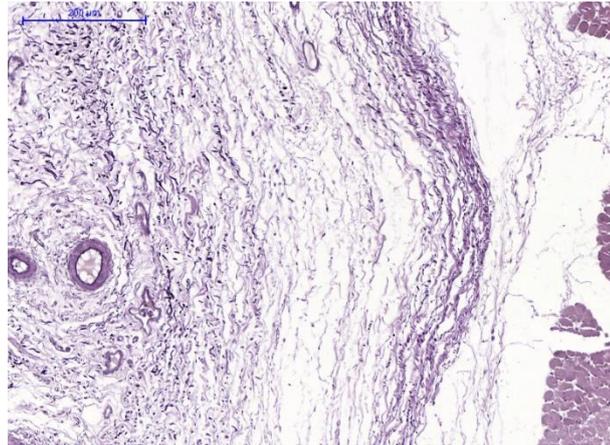


Figura 51. prega vocal ovina corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Transição da camada superficial para a profunda.

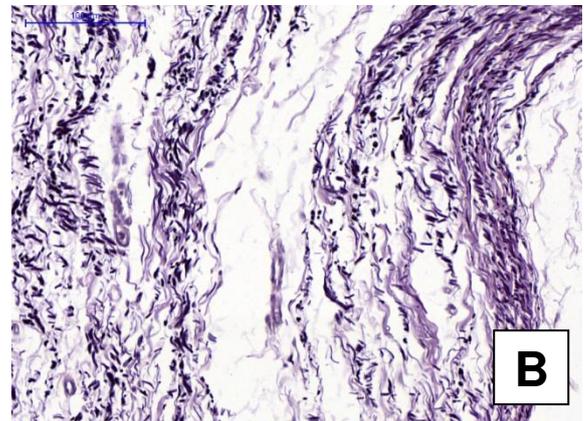
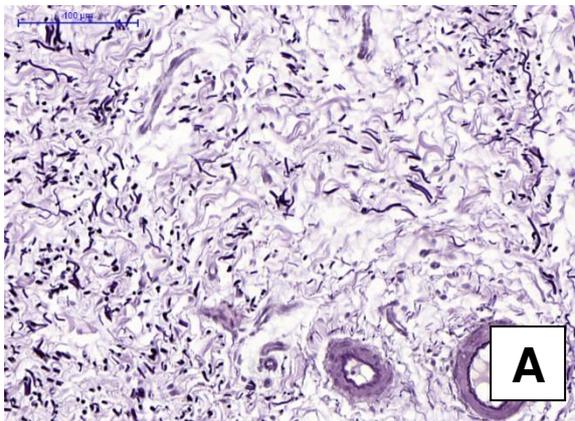


Figura 52. prega vocal ovina corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Organização das fibras colágenas: A – camada superficial e B – camada profunda.

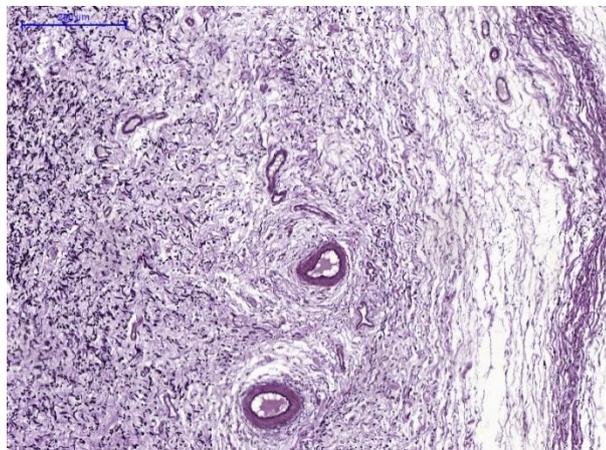


Figura 53. prega vocal ovina corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Diminuição progressiva da concentração das fibras elásticas, na camada superficial, à medida que se aproxima da camada profunda.

## 5.6.6 – Porco

### 5.6.6.1 – Face superior

Verificamos a presença de duas camadas na LP da FS da PV do porco (figuras 54 a 55). A camada superficial pôde ser caracterizada por ser rica em colágeno e fibras elásticas. A camada profunda apresentou-se como uma densa rede de colágeno e fibras elásticas. O colágeno, na camada profunda, apresentou as fibras orientadas no sentido craniocaudal, assim como a maioria das fibras elásticas.

### 5.6.6.2 – Borda livre

Identificamos duas camadas na LP da BL da PV do porco (figuras 54 a 55). A camada superficial da LP pôde ser caracterizada por ser rica em colágeno e fibras elásticas. A camada profunda apresentou-se como uma densa rede de colágeno e fibras elásticas. O colágeno, na camada profunda, apresentou as fibras orientadas no sentido craniocaudal, assim como a maioria das fibras (figuras 56 a 59).

### 5.6.6.3 – Face inferior

Verificamos a presença de duas camadas na FI da LP da PV do porco (figuras 54 a 55). A camada superficial pôde ser caracterizada por ser rica em colágeno e fibras elásticas. A camada profunda apresentou-se como uma densa rede de colágeno e fibras elásticas. O colágeno, na camada profunda, apresentou as fibras orientadas no sentido craniocaudal, assim como a maioria das fibras elásticas.

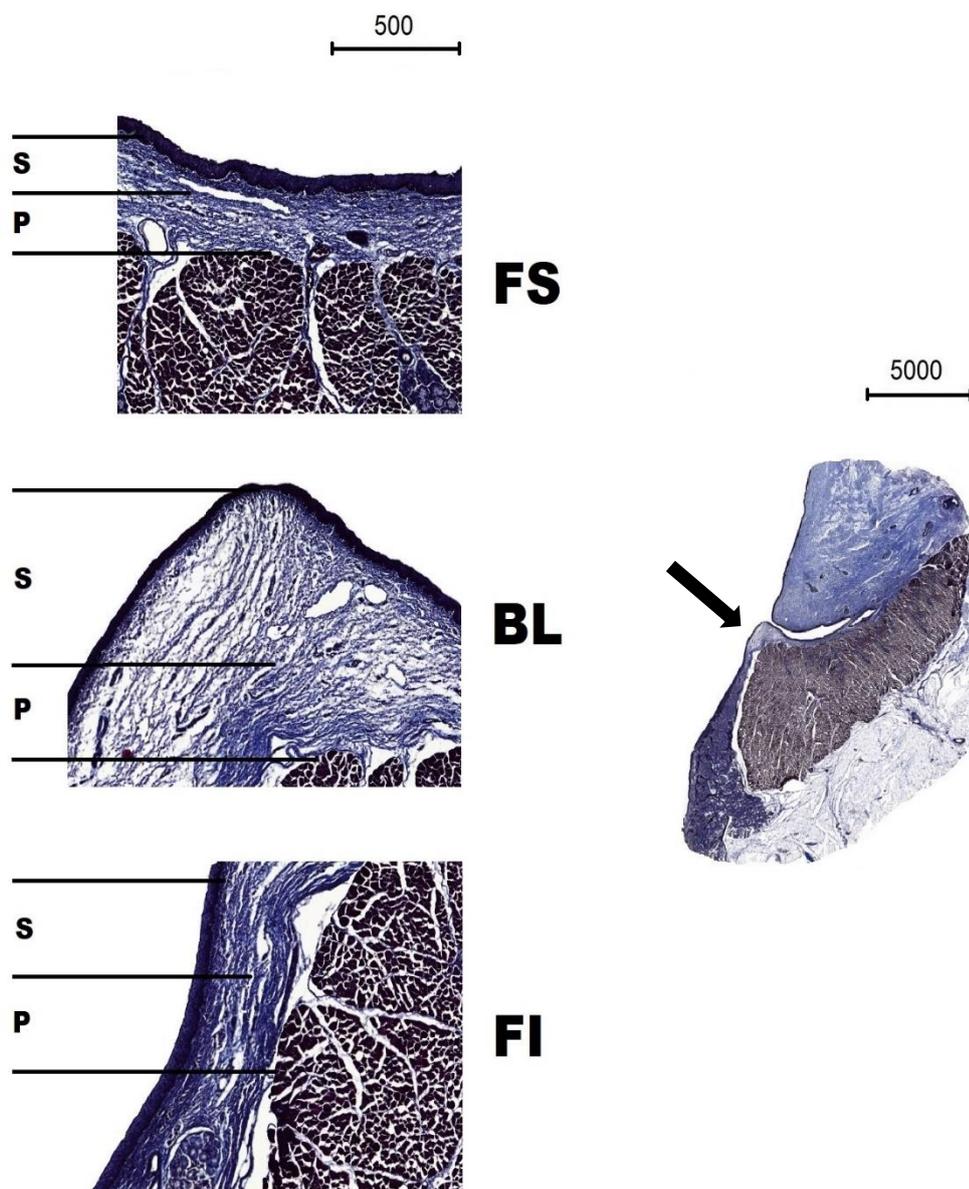


Figura 54. Prega vocal de porco corada pelo Tricrômico de Masson. A seta na cor preta indica a prega vocal. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

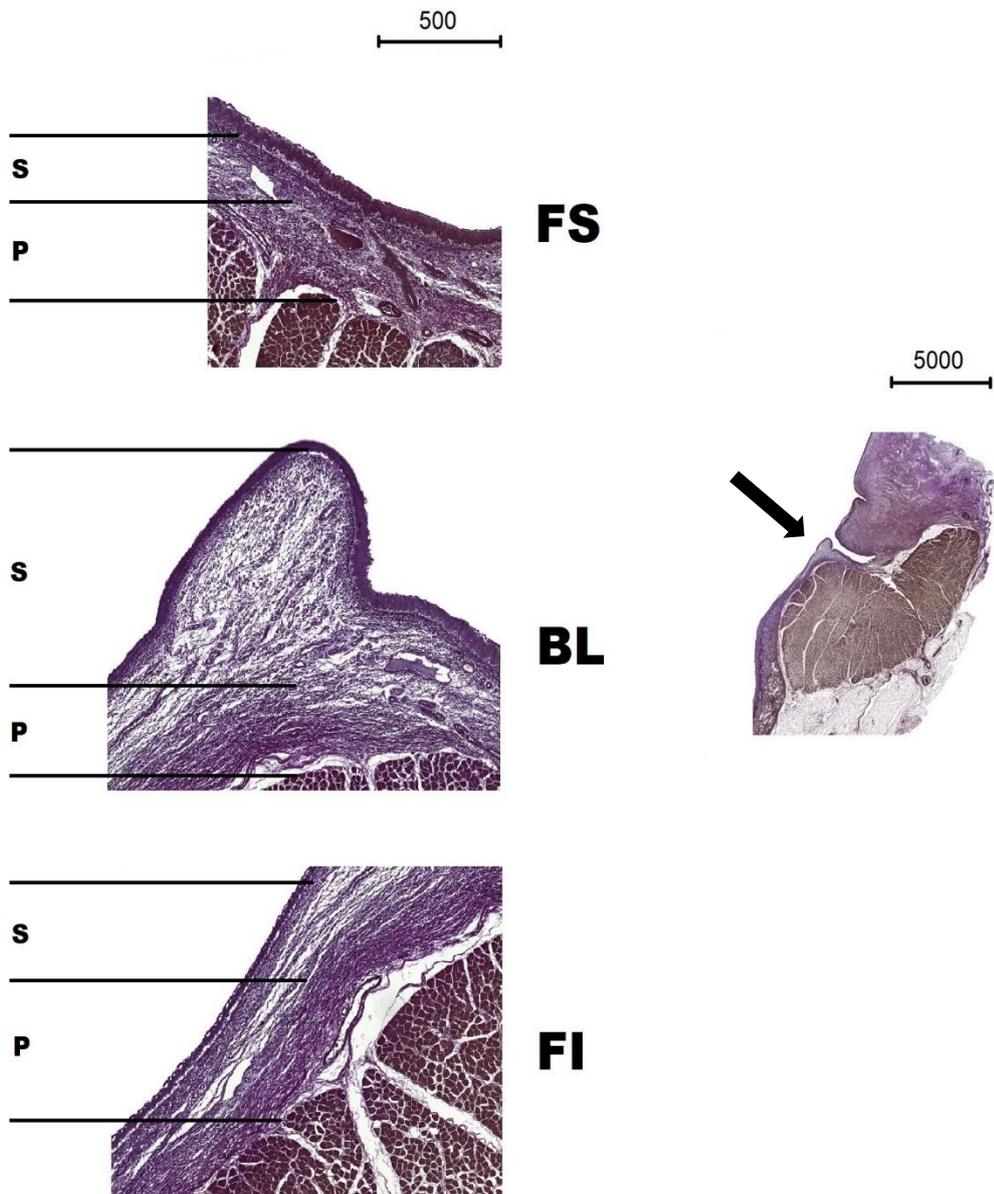


Figura 55. Prega vocal de porco corada pelo método Weigert Van Gieson. A seta na cor preta indica a prega vocal. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

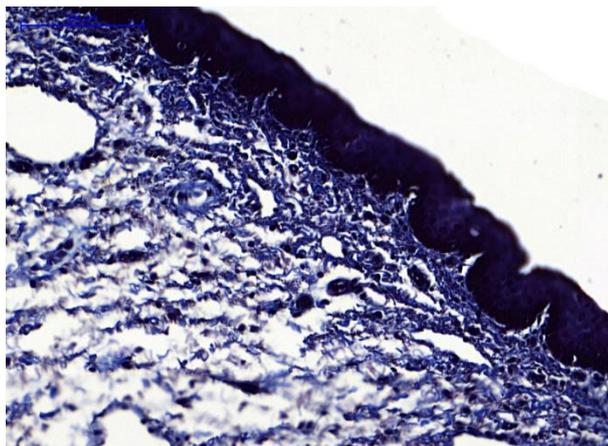


Figura 56. prega vocal de porco corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Camada superficial rica em colágeno.

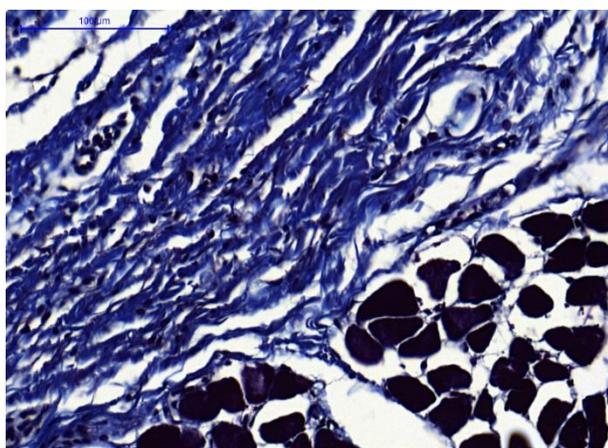


Figura 57. prega vocal de porco corada pelo Tricrômico de Masson. Borda livre. Colágeno corado em azul. Camada profunda, densa em colágeno. fibras colágenas orientadas no sentido cranio-caudal.

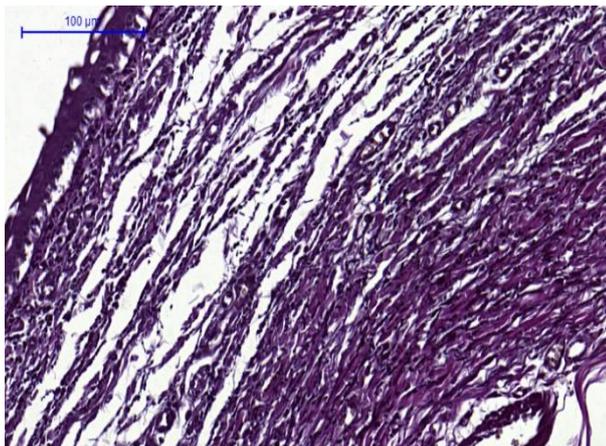


Figura 58. prega vocal de porco corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Transição da camada superficial para a profunda.

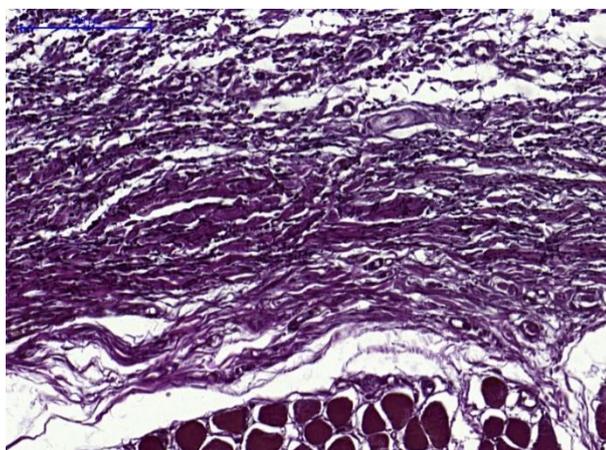


Figura 59. prega vocal de porco corada pelo método Weigert Van Gieson. Borda livre. Fibras elásticas coradas em preto. Camada profunda.

## 5.6.7 – Rato

### 5.6.7.1 – Face superior

Identificamos duas camadas na LP da FS da PV do rato (figuras 60 e 61). A camada superficial pôde ser caracterizada por ser pobre em colágeno e em fibras elásticas. O colágeno presente na camada superficial apresentou-se, em grande parte, no formato espiral. Já a camada profunda pôde ser caracterizada por ser rica em colágeno, disposto de forma organizada e compacta, e por ser rica em fibras elásticas.

### 5.6.7.2 – Borda livre

Verificamos a presença de três camadas na LP da FS da PV do rato (figuras 60 e 61). A camada superficial pôde ser caracterizada por ser muito pobre em colágeno e em fibras elásticas. A camada intermediária apresentou aumento da concentração de colágeno e de fibras elásticas. O colágeno presente na camada intermediária apresentou-se, em grande parte, no formato espiral. Já a camada profunda pôde ser caracterizada por ser rica em colágeno, disposto de forma organizada e compacta, e por ser rica em fibras elásticas. A camada intermediária da LP da BL apresentou características semelhantes à camada superficial da LP da FS.

### 5.6.7.3 – Face inferior

Há três camadas na LP da FS da PV do rato (figuras 60 e 61). A camada superficial pôde ser caracterizada por ser muito pobre em colágeno e em fibras elásticas. A camada intermediária apresentou aumento da concentração de colágeno e de fibras elásticas. O colágeno presente na camada intermediária apresentou-se, em grande parte, no formato espiral. Já a camada profunda pôde ser caracterizada por ser rica em colágeno, disposto de forma organizada e compacta, e por ser rica em fibras elásticas.

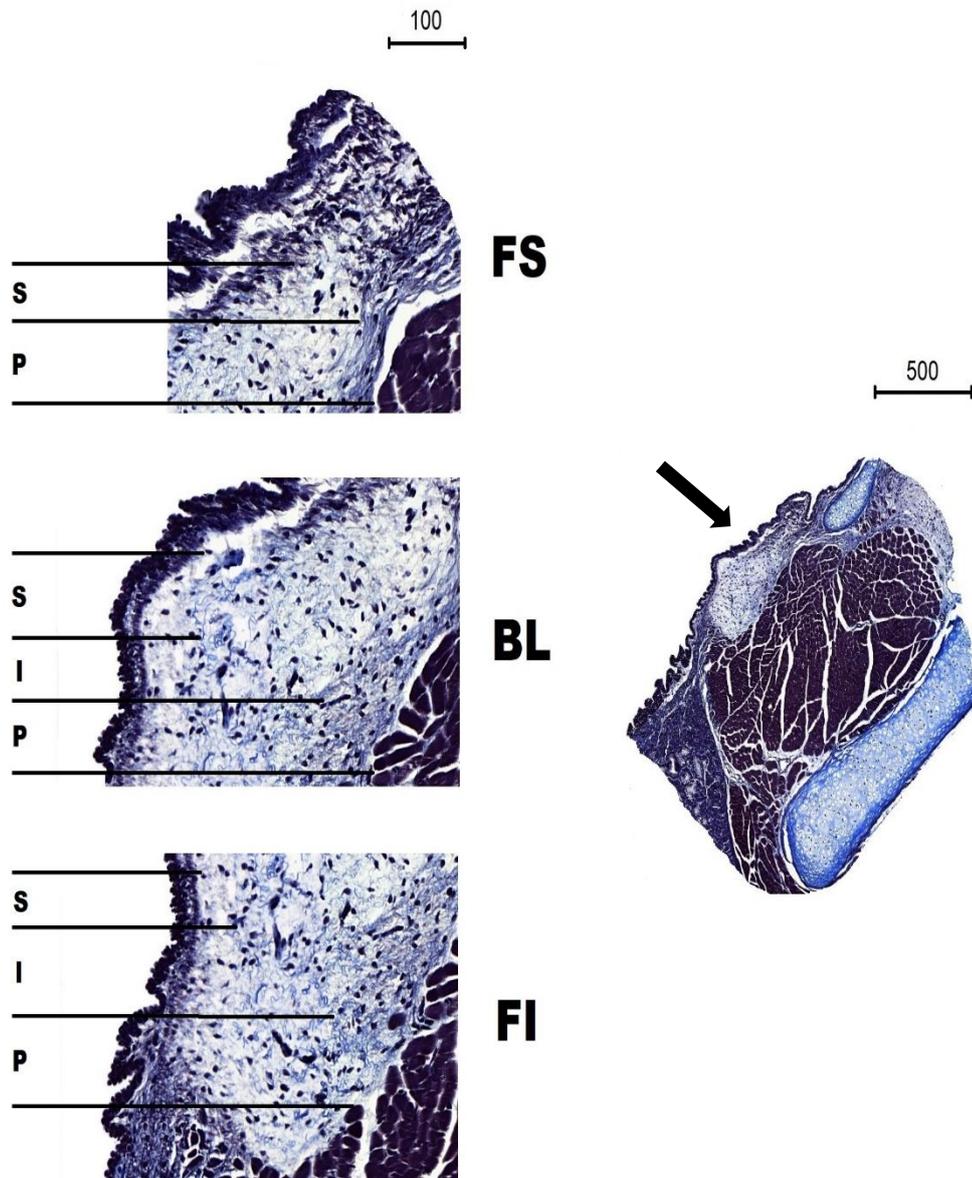


Figura 60. Prega vocal de rato corada pelo Tricrômico de Masson. A seta na cor preta indica a prega vocal. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. I – Camada intermediária. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

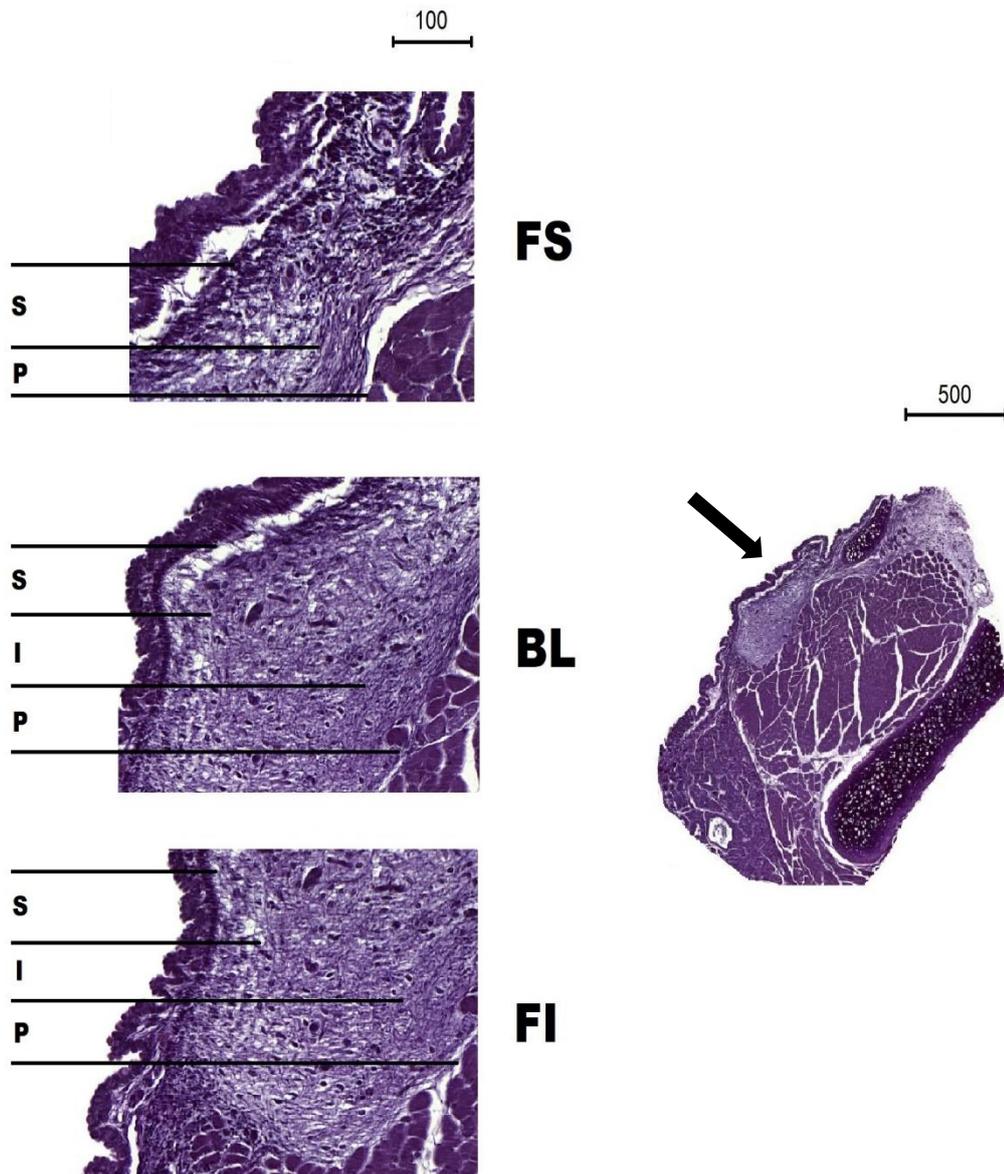


Figura 61. Prega vocal de rato corada pelo método Weigert Van Gieson. A seta na cor preta indica a prega vocal. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior. S – Camada superficial. I – Camada intermediária. P – Camada profunda. Escala em micrômetros.

## 6. DISCUSSÃO

O entendimento das características histológicas e as propriedades mecânicas da PV é condição *sine qua non* para a compreensão da biomecânica e acústica da fonação e das desordens vocais, assim como para o desenvolvimento das modalidades terapêuticas.

O modelo experimental ideal, a laringe humana *in vivo*, não é facilmente disponível e tem seu acesso limitado por questões éticas, legais e religiosas. A laringe humana *ex vivo* fornece informações sobre as estruturas anatômicas e histológicas relacionadas à produção da voz, mas apresenta limitações em estudos relacionados à fisiologia da fonação e também não é de fácil obtenção.

Modelos alternativos de estudos na laringologia, como os modelos sintéticos, têm sido úteis em pesquisa sobre a produção da voz(90–92). Modelos sintéticos auto oscilantes foram utilizados para se explorar a física da vibração das PPVV(93). Modelos membranosos, que se assemelhavam ao epitélio e à camada superficial da LP, foram utilizados para estudar os efeitos da espessura do epitélio e viscosidade da cobertura da PV(94–96). Os modelos de PV sintéticas existentes, ou são homogêneos (modelos de uma camada), ou são fabricados usando dois materiais de rigidezes diferentes (modelos de duas camadas). Esses modelos exibiram similaridades com a vibração das PPVV humanas em relação à frequência de vibração, amplitude de abertura das pregas vocais e pressão vibratória. As vantagens dos modelos sintéticos incluem reprodutibilidade, baixo custo e facilidade de parametrização. Em contrapartida, como principais desvantagens, os modelos sintéticos descritos apresentaram o fluxo aéreo anormalmente grande, não possuíam onda mucosa bem definida, a pressão necessária para iniciar a vibração foi mais alta que a verificada habitualmente na fonação humana e apresentaram, um perfil divergente durante a vibração(5,92,97–100). Embora cada vez mais presentes nos estudos, os modelos sintéticos ainda não conseguem reproduzir fidedignamente todas a complexas estruturas relacionadas à fonação.

Estudos experimentais em modelos animais, *ex vivo* e *in vivo*, ainda são fundamentais na laringologia. Eles proporcionam condições que permitem a manipulação sistemática dos parâmetros, que podem ser monitorizados e

controlados de forma independente. Também permitem estudos em condições extremas de fonação(101).

Dentre as estruturas laríngeas relacionadas à fonação, a PV possui papel fundamental, onde a LP é protagonista(12). O conhecimento das características histológicas da LP da PV é essencial para o entendimento da fonação, das desordens vocais e para o desenvolvimento das modalidades de tratamento. Como as características biomecânicas da LP da PV são determinadas principalmente pelos componentes extracelulares(15–17), notadamente as proteínas fibrilares, é fundamental a compreensão da composição e arranjo dos componentes fibrosos da LP. Essas condições ressaltam a importância do presente estudo.

São poucos os estudos comparativos entre a laringe de modelos animais e a laringe humana. Estudos histológicos comparativos de PV são ainda mais escassos. Devido à complexidade da laringe humana, nenhum animal emergiu como um modelo ideal no estudo desse órgão. Há diferenças anatômicas macroscópicas e microscópicas, fisiológicas e de demanda vocal entre as espécies. A confiabilidade dos resultados obtidos nos estudos com animais e o potencial de transposição e aplicação do conhecimento adquirido para humanos decorre da proximidade do modelo animal com as condições da laringe humana. Faz-se necessário mitigar as diferenças entre um modelo experimental ideal, como a laringe humana, e os modelos experimentais disponíveis, como os modelos animais(102). Nesse contexto, torna-se importante desenvolver estudos com metodologias padronizadas que permitam a comparação entre as espécies, como fizemos em nosso estudo. Conhecer as diferenças e as semelhanças entre as estruturas da laringe humana e as da laringe de modelos animais poderá auxiliar na escolha do modelo animal a ser utilizado. Conseqüentemente, a escolha do modelo animal mais adequado para determinada pesquisa poderá ser orientada com mais dados disponíveis sobre os mais diferentes aspectos da laringe, sejam estruturais ou fisiológicos.

A maioria dos autores não relata os motivos que os levaram a selecionar as espécies animais que utilizaram nas suas pesquisas. Tampouco comparam animais entre si para a identificação daqueles que apresentam as condições biológicas mais adequadas aos seus objetivos(11). Na escolha do modelo animal, as questões de ordem prática e operacionais são importantes e incluem tamanho dos

animais, velocidade de crescimento e de maturação sexual, instalações disponíveis, custo de aquisição e manutenção dos animais durante o período do estudo. Em alguns casos, as considerações operacionais se sobressaem e acabam por ser o principal fator considerado na seleção de um modelo animal específico(103). Deve-se ressaltar que fatores culturais e religiosos também influenciam na seleção dos animais. Selecionamos rato, coelho, porco, cão, carneiro e bovino como modelos animais nessa pesquisa por serem frequentemente utilizados em estudos experimentais ou por serem animais abundantes em nosso meio.

Classicamente a LP da PV pode ser estratificada em camadas(7–10). Embora a real importância da estrutura trilaminar da LP da PV humana ainda não esteja clara, deve-se ter em mente que, de forma geral, as diferenças microestruturais entre as camadas da LP (superficial, intermediária e profunda) das pregas vocais humanas parecem ser primariamente adaptações às demandas vibratórias da LP(10). É de se imaginar, portanto, que as subdivisões das LP dos modelos animais representem adaptações microestruturais às demandas de vocalização de cada espécie.

A estratificação da LP em camadas é baseada na distribuição e concentração de duas proteínas estruturais primárias responsáveis por fornecer elasticidade e força: fibras elásticas e colágeno, respectivamente. A distribuição dessas proteínas nas camadas da LP das PPVV parece ser espécie-específica(24,32). Devido a essa especificidade, esperam-se características vibratórias e comportamentos elásticos distintos na LP da PV de cada espécie. Essas diferenças podem ser refletidas pela diversidade de concentração dos componentes fibrosos presentes na LP da PV de cada espécie. A heterogeneidade de concentração de colágeno e das fibras elásticas na LP nas espécies foi confirmada no presente estudo.

A composição da LP da PV humana varia conforme a faixa etária e o gênero. A estrutura trilaminar da LP não está presente ao nascimento(12,46), embora o padrão de distribuição de fibras colágenas e elásticas na LP da PV já apresente elevado grau de organização mesmo em fetos(47). Com o envelhecimento, há aumento da densidade de colágeno na LP, especialmente em homens, e espessamento das fibras colágenas na CPLP da PV (12,18–22,54). Na

senescência, há aumento da quantidade de elastina na LP da PV(25). No presente estudo, utilizamos apenas animais adultos e sem distinção de gênero.

Nos estudos histológicos existentes, diferentes segmentos da PV foram utilizados. Por se tratar da principal área vibrátil durante a fonação, o segmento mais frequentemente utilizado foi o terço médio da porção membranosa da PV(24,29,32,67,104,105). Outra possibilidade de se estudar a PV seria avaliá-la no seu eixo vertical ou craniocaudal, no entanto, são poucos os estudos que utilizaram essa segmentação(106). Na maioria dos estudos, não houve padronização metodológica e nem identificação precisa de qual área, FS, BL ou FI, do terço médio da porção membranosa da PV foi avaliada. A caracterização meticulosa da região da PV estudada é imprescindível porque o próprio reconhecimento da PV em si já é difícil nos animais de pequeno porte, como coelho e rato.

Deve-se considerar que, embora a BL seja a área mais importante para fonação, a onda mucosa é ascendente, se inicia na FI e atinge a FS, com o fluxo expiratório. Também se propaga de medial para lateral(6,33,34,36–38). Não há estudos sobre as características histológicas da LP ao longo da secção coronal da PV. Pequenas distâncias a partir da BL, ao longo da secção coronal do terço médio da PV, revelaram diferenças significantes de espessura, tanto de epitélio quanto de LP(11). Conhecer as características das áreas da PV, inferiores e superiores à BL, pode auxiliar no melhor entendimento da fonação. Esse estudo foi pioneiro nessa avaliação, utilizando-se de um modelo de segmentação histológica inédito, que permitiu, de forma padronizada, a identificação e delimitação precisas da BL e de áreas na FS e FI. Desenvolver métodos padronizados é essencial para que os resultados de diferentes estudos, com diferentes modelos animais, sejam comparáveis. Para que fosse possível a avaliação de áreas específicas da LP, ou seja, FS, BL e FI, de espécies tão distintas fenotipicamente, desenvolvemos método geométrico aplicável a todas as amostras. O método inédito de segmentação utilizado, no presente estudo, permitiu delimitar e comparar áreas específicas e equivalentes da PV. Na idealização desse modelo de segmentação da PV em três áreas, BL, FS e FI, de espécies de dimensões tão diferentes como rato e coelho, cuidou-se para que os limites dessas áreas não ficassem muito próximos ou mesmo invadissem os limites anatômicos dos tecidos adjacentes à PV.

Para o estudo histológico, selecionamos TM e WVG por serem de baixo custo, facilmente acessíveis e pela experiência da equipe de pesquisa no manejo dessas colorações especiais. Embora o método WVG também permita a avaliação do colágeno, optamos por utilizar o TM para esse fim. O *software* utilizado no presente estudo faz a análise quantitativa pela leitura e avaliação dos dados baseado no padrão de cores (RGB). O colágeno corado em azul, pelo TM, apresentou maior destaque das demais estruturas histológicas adjacentes, do que quando corado em vermelho, pelo método WVG. No método WVG as fibras elásticas são coradas em preto e destacaram-se, de forma satisfatória, das demais estruturas histológicas.

Com intuito de aumentar a confiabilidade e replicabilidade do presente estudo, vários fatores técnicos foram considerados. As características dos reagentes utilizados na confecção das lâminas e das colorações histológicas podem variar de lote para lote. Para minimizar essas diferenças de coloração inerentes à própria técnica, o processamento histológico das PPVV da mesma espécie foi realizado em um mesmo momento e realizado pelo mesmo técnico, experiente nessa arte, com o mesmo lote. O controle da qualidade de todas as lâminas e a identificação das fibras elásticas e do colágeno foram realizadas com auxílio de patologista experiente. Testamos a confiabilidade do *MISP* em cada lâmina histológica, antes de submeter as áreas demarcadas para avaliação pelo *software* de quantificação.

Entre os limites do presente estudo, destacamos que, embora as fibras elásticas sejam coradas pela WVG, elaunina e oxitalano não são coradas pela maioria das colorações histológicas para elastina e somente podem ser bem caracterizadas por microscopia eletrônica(14). Há diferentes subtipos de colágeno conhecidos e a coloração utilizada para esse estudo, o TM, não os diferencia. A identificação e a descrição de elaunina e oxitalano e dos subtipos de colágeno, e o modo como se distribuem ao longo da LP das PPVV, tanto no eixo ântero-posterior quanto no craniocaudal, podem ser importantes, mas fogem ao objetivo do presente trabalho.

Ao avaliarmos separadamente colágeno e fibras elásticas, optamos por subdividir a LP em níveis, antes de denominá-las camadas, para permitir avaliação padronizada em todas as espécies, e para não haver conflito com o termo clássico.

Importante ressaltar que a definição clássica de camadas, como já discutido, faz referência às características combinadas de colágeno e fibras elásticas na LP da PV.

Qual a importância de comparar diferentes níveis na LP da mesma espécie? O intuito de subdividir a LP em um número de níveis maior que o número de camadas classicamente descritas, foi o de verificar se, de forma objetiva, seria possível confirmar as camadas classicamente descritas na literatura. Optamos por comparar todos os cinco níveis entre si, e não somente aqueles em contiguidade, porque os limites entre as camadas classicamente descritos da LP nem sempre são precisos. Mesmo histopatologistas experientes têm dificuldade de distinguir as camadas das LP da PV(107). Verificamos que, se fossem comparadas concentrações de colágeno e de fibras elásticas apenas entre os níveis imediatamente em contiguidade, ou seja, NS e NIS, NIS e NII, NII e NIP e NIP e NP, haveria a possibilidade de que mudanças graduais na concentração poderiam não ser identificadas. Comparar todos os níveis de uma mesma área entre si, aumentou a possibilidade de se identificar concentrações significativamente distintas das proteínas estudadas, mesmo que os níveis não estivessem em contiguidade. Observamos tal ocorrência, por exemplo, quando avaliamos a concentração de colágeno da FS da PV humana. Na FS da PV humana, não houve diferença significativa ao compararmos a concentração de colágeno entre os níveis em contiguidade, mas houve diferença significativa ao compararmos NS com NIP, NS com NP e NIS com NIP. A ausência de diferenças estatisticamente significativas entre níveis em contiguidade e a presença de diferenças entre níveis não contíguos, na mesma área de avaliação da PV, ocorreu em todos animais, exceto no porco, ao se avaliar colágeno. Em humano e coelho, o mesmo ocorreu quanto a avaliação das fibras elásticas.

Para permitir a comparação entre as espécies, que apresentaram grande variabilidade de tamanho e de características morfológicas, optamos por utilizar porcentagem de área que cada componente fibroso estudado ocupava em relação à área total analisada. Uma vez que as fibras, tanto colágenas quanto elásticas, possuem arranjo espacial tridimensional na LP da PV, não seria possível calcular, com o método utilizado, a densidade desses componentes fibrosos de forma absoluta, ou seja, número de fibras por área analisada.

Os elevados valores de desvio-padrão encontrados, ao analisarmos as médias de concentração nos diferentes níveis nas áreas de estudo, refletiram a heterogeneidade distribuição percentual de colágeno e fibras elásticas nas amostras. Isso dificultou a interpretação dos resultados.

Na LP da PV humana, verificamos gradiente com aumento das concentrações de colágeno e de fibras elásticas à medida que se aproximou das fibras do músculo vocal, ou seja, de superficial para profundo (tabela 15). Na BL da PV humana isso já era conhecido(8–10,29) e foi confirmado em nosso estudo. Verificamos que o gradiente de concentração dessas proteínas, com aumento progressivo dos níveis mais superficiais para os mais profundos, também ocorreu na FS e FI. A LP da PV de rato foi a que mais apresentou semelhanças com a humana nesse aspecto. Na LP de rato, assim como na humana, houve gradiente crescente de concentração de colágeno, de superficial para profundo, em todas as áreas. No entanto, a concentração de fibras elásticas apresentou pouca variação tanto ao longo da profundidade da LP, quanto no eixo craniocaudal. Na LP bovina, de porco e ovina, as concentrações de colágeno e de fibras elásticas apresentaram pouca variação, tanto ao longo da profundidade da LP, quanto no eixo craniocaudal. A LP de rato foi a que mais apresentou diferenças com a humana nesse aspecto. Na LP de cão, a concentração de colágeno apresentou pouca variação, tanto ao longo da profundidade da LP, quanto no eixo craniocaudal. De forma oposta à verificada na LP da PV humana, a concentração de fibras elásticas na LP de cão diminuiu de superficial para profundo. Na LP de coelho a concentração de colágeno apresentou pouca variação, tanto ao longo da profundidade da LP, quanto no eixo craniocaudal. Já a concentração de fibras elásticas oscilou de superficial para profundo, mas a concentração de fibras elásticas nos níveis se manteve com pouca variação ao longo do eixo craniocaudal.

Ao compararmos os diferentes níveis da FS, BL e FI da LP da PV humana, quanto à concentração de colágeno, com seus equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas, verificamos que espécie bovina foi a que mais apresentou semelhanças com a humana. A LP da PV bovina apresentou concentrações de colágeno semelhantes às presentes em todos os níveis da FS, na grande maioria dos níveis da BL e em todos os níveis da FI. Por outro lado, a LP da PV de porco na FS, a de coelho na BL e a ovina na FI, foram as que apresentaram o maior número de níveis com diferenças significativas de concentração de colágeno em relação às áreas equivalentes da PV humana.

Ao compararmos os diferentes níveis da FS, BL e FI da LP da PV humana, quanto à concentração de fibras elásticas, com seus equivalentes na PV das espécies não humanas estudadas, verificamos que não foi possível identificar uma única espécie que mais tenha apresentado semelhanças com a humana no conjunto de todas as áreas estudadas. Na FS, a LP da PV de cão foi a que apresentou o maior número de níveis semelhantes à humana, quanto às concentrações de fibras elásticas, enquanto que na BL foram a LP ovina e de rato e, na FI, a LP bovina e ovina. Em contrapartida, a LP da PV de coelho na FS, a de coelho e bovina na BL e a de coelho e de porco na FI, foram as que apresentaram o maior número de níveis com diferenças significativas de concentração de fibras elásticas em relação às áreas equivalentes da PV humana. Ao considerar, tanto as concentrações de colágeno, quanto de fibras elásticas, a LP da PV bovina foi a que mais apresentou maior número de níveis com concentrações semelhantes às verificadas na LP da PV humana, e a LP da PV de coelho foi a que apresentou o maior número de níveis com diferenças significativas.

Ao compararmos a concentração de colágeno e de fibras elásticas entre níveis equivalentes, ao longo do eixo craniocaudal da LP da PV na mesma espécie, a PV bovina foi a que mais se assemelhou à humana. Tanto a PV humana, quanto a bovina, apresentaram pouca variação de concentração de colágeno e de fibras elásticas entre os níveis equivalentes, ao longo do eixo craniocaudal, nas diferentes áreas estudadas. No cão, verificamos diferenças significativas das concentrações de colágeno nos níveis mais superficiais da LP da PV entre FS e BL e entre BL e FI, enquanto não houve diferença das concentrações de fibras elásticas entre essas áreas. No coelho, identificamos diferenças significativas das concentrações de

colágeno em todos os níveis, exceto no NP, da LP da PV entre FS e BL e diferença apenas no NS entre BL e FI. Não houve diferença entre as concentrações de fibras elásticas entre essas áreas na LP da PV de coelho. Na LP da PV ovina, notamos diferenças significativas entre as concentrações de colágeno nos níveis equivalentes mais profundos da FS e BL, enquanto não houve diferenças entre os níveis equivalentes da BL e FI. De forma inversa, quanto à concentração de fibras elásticas, não verificamos diferenças entre FS e BL, mas verificamos diferenças entre concentrações de fibras elásticas nos níveis equivalentes mais profundos da BL e FI da LP da PV ovina. Na LP da PV do porco, verificamos diferenças significativas entre as concentrações de colágeno nos níveis intermediários equivalentes da FS e BL, enquanto não houve diferenças entre os níveis equivalentes da BL e FI. Quanto à concentração de fibras elásticas na LP da PV do porco, verificamos diferenças entre níveis equivalentes, tanto entre a FS e BL, quanto entre a BL e FI da LP da PV do porco. A LP da PV do rato apresentou as maiores diferenças em relação à humana, quanto à variação de colágeno e fibras elásticas, ao longo dos níveis equivalentes no eixo craniocaudal da PV. Na LP do rato identificamos diferenças significativas de concentração de colágeno entre os níveis intermediários equivalentes da FS e BL e da BL e FI. A LP da PV do rato também apresentou diferenças de concentração de fibras elásticas nos níveis equivalentes mais superficiais, tanto entre FS e BL, quanto entre BL e FI.

Comparando-se objetivamente os níveis, na mesma área e na mesma espécie, quanto à concentração de colágeno e fibras elásticas, foi possível inferir a existência de regiões ao longo da profundidade da LP com concentrações distinguíveis, que poderiam corresponder às camadas classicamente descritas na LP da PV de todos os animais estudados. Na LP da BL da PV humana verificamos três regiões distintas, com base na variação da concentração de colágeno e das fibras elásticas, mesmo número de camadas descrito na literatura. Em contrapartida, na LP da BL do porco não houve diferença quanto à concentração de colágeno ao longo de toda profundidade da LP nessa área, e na literatura é descrito a presença de duas camadas nessa área(29). Esses achados podem ser explicados, em parte, ao analisarmos a morfologia microscópica das amostras. Embora a concentração de colágeno e de fibras elásticas possa ser estatisticamente semelhante entre alguns níveis da mesma área, a morfologia das fibras ou seu arranjo espacial, paralelas ou

perpendiculares ao eixo principal da PV, podem ser diferentes entre as regiões da LP e determinar a existência de camadas distintas. Embora não tenha sido verificada diferença de concentração de colágeno entre os níveis da LP da BL de PV de porco, foi possível verificar a presença de uma camada superficial com as fibras colágenas orientadas em sentido distinto do colágeno presente na camada profunda, onde as fibras colágenas que se dispuseram no sentido craniocaudal. Por outro lado, diferenças estatisticamente significantes de concentração dessas proteínas entre níveis da mesma área, que poderiam sugerir a presença de camadas distintas, não foram, necessariamente, verificadas em todos os animais ao se analisar a morfologia microscópica. Houve diferenças significativas de concentração de colágeno entre níveis da BL da PV de coelho, que poderiam sugerir a presença de camadas distintas, mas que não foram verificadas na avaliação morfológica microscópica, onde verificamos o colágeno distribuído de forma uniforme ao longo de toda profundidade da LP. Tal fato pode ser explicado pela metodologia de seleção das áreas a serem estudadas. Os limites entre as camadas da LP nem sempre são nítidos. As variações da concentração de colágeno foram discretas para avaliação microscópica morfológica e não permitiram identificar diferenças ao longo da espessura da LP da PV, mas foram suficientes para estatisticamente serem significantes. Áreas de transição de camadas podem ter sido selecionadas, assim como regiões que abrangiam mais de uma camada. Esses achados reforçam a importância de se utilizar de forma complementar, à análise da morfologia microscópica, métodos objetivos.

Há poucos estudos sobre a concentração e distribuição de colágeno e fibras elásticas na LP da PV(24,29,30,32), que comparem humanos e espécies animais não humanas. Foram realizados estudando-se a BL da PV (29,30), ainda que não bem definida metodologicamente. Não há estudos que avaliem a LP da PV ao longo de seu plano coronal. Os achados, tanto semelhantes quanto diferentes, entre o presente estudo e os existentes foram resumidos no quadro 1.

Para a descrição da avaliação morfológica microscópica, doravante passamos a utilizar o termo camada no sentido classicamente adotado.

Quadro 1. Comparação, do presente estudo com os existentes, quanto à lâmina própria da prega vocal.								
		<b>Humano</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>Presente estudo</b>	<b>FS</b>	LP – 3 camadas <b>CSLP</b> : banda de col e fe <b>CILP</b> : col esparso e rico em fe <b>CPLP</b> : densa concentração de col e fe	LP – 3 camadas <b>CSLP</b> : banda de col e fe <b>CILP</b> : col e fe esparsos <b>CPLP</b> : rica em col e fe – sentido craniocaudal	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : col e fe concentrados e organizados <b>CPLP</b> : col e fe menos concentrados	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : estreita banda de fe. <b>CPLP</b> : larga banda de fe. Distribuição homogênea de col em toda LP	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : rica em col e fe, menos organizados <b>CPLP</b> : rica em col e fe – sentido craniocaudal	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : rica em col e fe, menos organizados <b>CPLP</b> : rica em COL e FE – sentido craniocaudal.	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : col e fe, esparsos <b>CPLP</b> : densa em col e fe, organizados
	<b>BL</b>	LP – 3 camadas <b>CSLP</b> : COL e FE esparsos <b>CILP</b> : COL esparso e rico em FE <b>CPLP</b> : densa concentração de COL e FE	LP – 3 camadas <b>CSLP</b> : banda de col e fe <b>CILP</b> : col e fe esparsos <b>CPLP</b> : rica em col e fe – sentido craniocaudal	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : col e fe concentrados e organizados <b>CPLP</b> : col e fe menos concentrados	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : estreita banda de fe. <b>CPLP</b> : larga banda de fe. Distribuição homogênea de col em toda LP	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : rica em col e fe, menos organizados <b>CPLP</b> : rica em col e fe – sentido craniocaudal	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : rica em col e fe, menos organizados <b>CPLP</b> : rica em COL e FE – sentido craniocaudal.	LP – 3 camadas <b>CSLP</b> : muito pobre em col e fe <b>CILP</b> : col e fe, esparsos <b>CPLP</b> : densa em col e fe, organizados
	<b>FI</b>	LP – 3 camadas <b>CSLP</b> : banda de col e fe <b>CILP</b> : col esparso e rico em fe <b>CPLP</b> : densa concentração de col e fe	LP – 3 camadas <b>CSLP</b> : banda de col e fe <b>CILP</b> : col e fe esparsos <b>CPLP</b> : rica em col e fe – sentido craniocaudal	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : col e fe concentrados e organizados <b>CPLP</b> : col e fe menos concentrados. Tecido adiposo sob col e fe	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : estreita banda de fe. <b>CPLP</b> : larga banda de fe. Distribuição homogênea de col em toda LP	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : rica em col e fe, menos organizados <b>CPLP</b> : rica em col e fe – sentido craniocaudal	LP – 2 camadas <b>CSLP</b> : rica em COL e FE <b>CPLP</b> : rica em COL e FE – sentido craniocaudal.	LP – 3 camadas <b>CSLP</b> : muito pobre em COL e FE <b>CILP</b> : col e fe, esparsos <b>CPLP</b> : densa em col e fe, organizados

col – Colágeno. fe – Fibras elásticas. LP – Lâmina própria. CSLP – Camada superficial da lâmina própria. CILP – Camada intermediária da lâmina própria. CPLP – Camada profunda da lâmina própria. ZMB – Zona da membrana basal. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior.

Quadro 1. Comparação, do presente estudo com os existentes, quanto à lâmina própria da prega vocal.

	<b>Humano</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>Kurita et al. (1983)</b>	LP – 3 camadas <b>CSLP:</b> pobre em componentes fibrosos <b>CILP:</b> fe abundantes <b>CPLP:</b> rico em col	LP – 3 camadas <b>CSLP:</b> rica em col e fe <b>CILP:</b> pobre em componentes fibrosos <b>CPLP:</b> rico em col – orientado no sentido craniocaudal	LP – 2 camadas <b>CSLP:</b> rica em col e fe <b>CPLP:</b> componentes fibrosos menos densos	LP – 2 camadas <b>CSLP:</b> pobre em componentes fibrosos <b>CPLP:</b> rica em col e fe	LP – 2 camadas <b>CSLP:</b> rica em componentes fibrosos <b>CPLP:</b> col e fe mais densos	LP – 2 camadas <b>CSLP:</b> pobre em componentes fibrosos <b>CPLP:</b> predomínio de col e poucas fe	LP – 3 camadas <b>CSLP:</b> pobre em componentes fibrosos <b>CILP:</b> limite pouco nítido com a CSLP e nítido com a CPLP <b>CPLP:</b> rico em col e fe
<b>Garrett et al. (2000)</b>	LP – 3 camadas <b>CSLP:</b> predomínio de substância amorfa <b>CILP:</b> densa substância amorfa e elastina <b>CPLP:</b> predomínio de col	Não avaliado	LP – 3 camadas <b>CSLP:</b> col junto à zmb; faixa de elastina e substância amorfa <b>CILP:</b> densa substância amorfa e elastina <b>CPLP:</b> predomínio de col; alguma substância amorfa	Não avaliado	Não avaliado	LP – 2 camadas <b>CSLP:</b> predomínio de substância amorfa <b>CPLP:</b> predomínio de col pouca elastina	Não avaliado

col – Colágeno. fe – Fibras elásticas. LP – Lâmina própria. CSLP – Camada superficial da lâmina própria. CILP – Camada intermediária da lâmina própria. CPLP – Camada profunda da lâmina própria. zmb – Zona da membrana basal. FS – Face superior. BL – Borda livre. FI – Face inferior.

À avaliação morfológica microscópica verificamos a estruturação da LP em camadas, quanto ao colágeno e fibras elásticas, em ao longo de todo eixo craniocaudal da PV, ou seja, na FS, BL e FI, de todas as espécies animais estudadas.

Em concordância com Kurita et al.(29), verificamos o mesmo número de camadas na LP da BL da PV, com base na distribuição de colágeno e fibras elásticas, de todas as espécies estudadas. Garrett et al.(30) descreveram a LP da PV de cão com três camadas na LP na BL da PV, com a CSLP e CILP com predomínio de elastina e a CPLP com predomínio de colágeno. Assim como Kurita et al.(29), verificamos a presença de duas camadas na LP da BL da PV de cão, com a CSLP rica em colágeno e fibras elásticas e a CPLP com menor concentração dessas proteínas. Ainda sobre a BL da PV, notamos distribuição homogênea de colágeno ao longo de toda espessura da LP de coelho nessa área, enquanto Kurita et al.(29) descreveram que a CSLP dessa espécie era pobre e a CPLP era rica em componentes fibrosos. No coelho, em nosso estudo, somente foi possível definir a estrutura em duas camadas da LP devido a distribuição das fibras elásticas em duas bandas.

O estudo morfológico microscópico das FS e FI da LP da PV das espécies animais estudadas, quanto ao colágeno e fibras elásticas, permitiram identificar as semelhanças e diferenças dessas áreas com a BL. O número de camadas na LP manteve-se o mesmo ao longo do eixo craniocaudal de todas as espécies, exceto no rato. No rato, verificamos duas camadas na LP da FS e três na LP da BL e FI. Identificamos grande quantidade de tecido glandular apenas na LP da FS e FI da PV ovina e é possível que esse tecido glandular possa interferir nos estudos de fonação realizados nessa espécie. No coelho, a distribuição de colágeno apresentou-se homogênea em toda espessura da LP e talvez isso possa interferir nos estudos sobre a fonação. Na PV humana, verificamos uma estreita banda de colágeno junto ao epitélio na CSLP da FS e na FI, o que não ocorreu na BL. Essas diferenças morfológicas quanto ao colágeno na CSLP entre a BL e as FS e FI devem ser consideradas nos estudos de fonação.

Em concordância com os resultados obtidos por Hahn et al.(32), verificamos aumento progressivo da concentração de colágeno dos níveis

superficiais para os profundos, na LP da PV humana, em todas as áreas estudadas. Verificamos pouca variação quanto à concentração de colágeno nos diferentes níveis da LP do porco. Em contrapartida, verificamos o gradiente decrescente de colágeno descrito por Hahn et al.(32), da região superficial para profunda da LP, somente na FI da LP do cão. Na FS e BL da PV de cão, em nosso estudo, as concentrações de colágeno mantiveram-se semelhantes em todos os níveis.

Verificamos aumento progressivo da concentração de fibras elásticas dos níveis superficiais para os profundos em todas as áreas estudadas da LP da PV humana. Identificamos pouca variação quanto à concentração de colágeno nos diferentes níveis da LP do porco. De forma semelhante, também identificamos gradiente decrescente de fibras elásticas, da região superficial para profunda da LP, em todas as áreas da LP da PV de cão. Esses achados estão em concordância com os descritos por Hahn et al.(24).

Os achados, tanto semelhantes quanto diferentes, entre o presente estudo e os existentes foram resumidos no quadro 2.

Quadro 2. Comparação, do presente estudo com os existentes, quanto à lâmina própria da prega vocal.

	<b>Humano</b>	<b>Bovino</b>	<b>Cão</b>	<b>Coelho</b>	<b>Ovino</b>	<b>Porco</b>	<b>Rato</b>
<b>Presente estudo</b>	Aumento da concentração de col e de fe de superficial para profundo na LP	Elevada concentração de col e de fe nos extremos da espessura da LP	Redução da concentração de col e de fe de superficial para profundo na LP	Ausência de variação na concentração de col e presença de duas bandas de elevada concentração de fe na LP	Aumento da concentração de col e de fe de superficial para profundo na LP	Aumento da concentração de col e de fe de superficial para profundo na LP	Aumento da concentração de col e de fe de superficial para profundo na LP
<b>Hahn et al. (2006)</b>	Aumento da concentração de col e de fe de superficial para profundo na LP	Não avaliado	Redução da concentração de col e de fe de superficial para profundo na LP	Não avaliado	Não avaliado	Aumento da concentração de col de superficial para profundo e pouca variação na concentração de fe na LP	Não avaliado

col – Colágeno. fe – Fibras elásticas. LP – Lâmina própria.

## 7. CONCLUSÕES

Há três camadas na lâmina própria da prega vocal humana e bovina. Há duas camadas na lâmina própria de cão, coelho, ovino e de porco. Na lâmina própria da prega vocal de rato, há duas camadas na face superior e três camadas na borda livre e face inferior.

O número de camadas manteve-se o mesmo ao longo do eixo craniocaudal da lâmina própria da prega vocal de todas as espécies animais, exceto no rato.

Nenhuma espécie animal reproduziu as mesmas condições histológicas na lâmina própria da prega vocal humana quanto à concentração e distribuição de colágeno e de fibras elásticas.

## 8. REFERÊNCIAS

1. Ramig LO, Verdolini K. Treatment efficacy: voice disorders. *J Speech, Lang Hear Res.* 1998;41(1):101–16.
2. Verdolini K, Ramig LO. Review: occupational risks for voice problems. *Logoped Phoniatr Vocol.* 2001;26(1):37–46.
3. Titze IR. Voice training and therapy with a semi-occluded vocal tract: rationale and scientific underpinnings. *J Speech Lang Hear Res.* 2006;49(2):448–59.
4. Kotby MN, Fadly E, Madkour O, Barakah M, Khidr A, Alloush T, et al. Electromyography and neurography in neurolaryngology. *J Voice.* 1992;6(2):159–87.
5. Murray PR, Thomson SL. Vibratory responses of synthetic, self-oscillating vocal fold models. *J Acoust Soc Am.* 2012 Nov;132(5):3428–38.
6. Krausert CR, Olszewski AE, Taylor LN, McMurray JS, Dailey SH, Jiang JJ. Mucosal wave measurement and visualization techniques. *J Voice.* 2011;25(4):395–405.
7. Hirano M. Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variations. *Folia Phoniatr (Basel).* 1974;26(2):89–94.
8. Hirano M. Structure of the vocal fold in normal and disease states: an anatomical and physical studies. *ASHA Reports.* 1981;11:11–30.
9. Ishii K, Zhai WG, Akita M, Hirose H. Ultrastructure of the lamina propria of the human vocal fold. *Acta Otolaryngol.* 1996;116(5):778–82.
10. Hirano M, Kakita Y. Cover-body theory of vocal fold vibration. In: Daniloff R, editor. *Speech science--recent advances.* San diego: College-Hill Press; 1985. p. 1–46.
11. Muranaka EB. Comparação interespécies da espessura do epitélio e da lâmina própria das pregas vocais [dissertação] Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas; 2015.

12. Ishii K, Yamashita K, Akita M, Hirose H. Age-related development of the arrangement of connective tissue fibers in the lamina propria of the human vocal fold. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2000;109(11):1055–64.
13. Gray SD, Pignatari SS HP. Morphologic ultrastructure of anchoring fibers in normal vocal fold basement membrane zone. *J Voice*. 1994;8(1):48–52.
14. Gray SD, Alipour F, Titze IR, Hammond TH. Biomechanical and histologic observations of vocal fold fibrous proteins. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2000;109(1):77–85.
15. Gray S, Titze I. Histologic investigation of hyperphonated canine vocal cords. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1988 Jul 29;97(4):381–8.
16. Gray SD, Titze IR, Chan R, Hammond TH. Vocal fold proteoglycans and their influence on biomechanics. *Laryngoscope*. 1999;109(6):845–54.
17. Gray SD. Cellular physiology of the vocal folds. *Otolaryngol Clin North Am*. 2000 Aug;33(4):679–98.
18. Sato K. Reticular fibers in the vocal fold mucosa. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1998 Dec 29;107(12):1023–8.
19. Hammond TH, Gray SD, Butler JE. Age- and gender-related collagen distribution in human vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2000 Oct 29;109(10):913–20.
20. Sato K, Hirano M, Nakashima T. Age-related changes of collagenous fibers in the human vocal fold mucosa. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2002 Jan 29;111(1):15–20.
21. Madruga de Melo EC, Lemos M, Ximenes Filho JA, Sennes LU, Saldiva PHN, Tsuji DH. Distribution of collagen in the lamina propria of the human vocal fold. *Laryngoscope*. 2003 Dec;113(12):2187–91.
22. Rapoport SK, Menier J, Grant N. Voice changes in the elderly. *Otolaryngol Clin North Am*. 2018 Aug;51(4):759–68.

23. Sato K, Hirano M. Age-related changes of elastic fibers in the superficial layer of the lamina propria of vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1997 Jan 29;106(1):44–8.
24. Hahn MS, Kobler JB, Starcher BC, Zeitels SM, Langer R. Quantitative and comparative studies of the vocal fold extracellular matrix. I: Elastic fibers and hyaluronic acid. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2006 Feb;115(2):156–64.
25. Hammond TH, Gray SD, Butler J, Zhou R, Hammond E. Age- and gender-related elastin distribution changes in human vocal folds. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998;119(4):314–22.
26. Dion GR, Lavoie J, Coelho P, Amin MR, Branski RC. Automated indentation mapping of vocal fold structure and cover properties across species. *Laryngoscope*. 2019 Jan;129(1):E26–31.
27. Miri AK. Mechanical Characterization of vocal fold tissue: a review study. *J Voice*. 2014 Nov;28(6):657–67.
28. Dion GR, Jeswani S, Roof S, Fritz M, Coelho PG, Sobieraj M, et al. Functional assessment of the ex vivo vocal folds through biomechanical testing: A review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016;64:444–53.
29. Kurita S, Nagata K, Hirano M. A comparative study of the layer structure of the vocal fold. In: *Vocal Fold Physiology: Contemporary Research and Clinical Issues*. San diego: College Hill Press; 1983. p. 3–21.
30. Garrett CG, Coleman JR, Reinisch L. Comparative histology and vibration of the vocal folds: implications for experimental studies in microlaryngeal surgery. *Laryngoscope*. 2000;110(5 Pt 1):814–24.
31. Hahn MS, Kobler JB, Zeitels SM, Langer R. Midmembranous vocal fold lamina propria proteoglycans across selected species. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2005 Jun;114(6):451–62.
32. Hahn MS, Kobler JB, Zeitels SM, Langer R. Quantitative and comparative studies of the vocal fold extracellular matrix II: collagen. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2006 Mar;115(3):225–32.

33. Matsushita H. The vibratory mode of the vocal folds in the excised larynx. *Folia Phoniatr Logop.* 1975;27(1):7–18.
34. Anastaplo S. Synchronized videostroboscopic and electroglottographic. *Acoust Soc Am.* 1988;83(May 1988):1883–90.
35. Doellinger M, Berry DA, Berke GS. A quantitative study of the medial surface dynamics of an in vivo canine vocal fold during phonation. *Laryngoscope.* 2005;115(9):1646–54.
36. Boessenecker A, Berry D, Lohscheller J, Eysholdt U, Döllinger M. Mucosal wave properties of a human vocal fold. *Acta Acust.* 2007;93(9):815–823.
37. Orlikoff RF, Golla ME, Deliyski DD. Analysis of longitudinal phase differences in vocal-fold vibration using synchronous high-speed videoendoscopy and electroglottography. *J Voice.* 2012;26(6).
38. Yang A, Berry D a., Kaltenbacher M, Döllinger M. Three-dimensional biomechanical properties of human vocal folds: Parameter optimization of a numerical model to match in vitro dynamics. *J Acoust Soc Am.* 2012;131(2):1378.
39. van den Berg J. Myoelastic-aerodynamic theory of voice production. *J Speech Hear Res.* 1958 Sep;1(3):227–44.
40. Zhang Z, Neubauer J, Berry DA. Aerodynamically and acoustically driven modes of vibration in a physical model of the vocal folds. *J Acoust Soc Am.* 2006;120(5 Pt 1):2841–9.
41. Hirano M. Phonosurgery: Basic and clinical investigations. *Otol.* 1975;21:239–442.
42. Berke GS, Gerratt BR. Laryngeal biomechanics: an overview of mucosal wave mechanics. *J Voice.* 1993 Jun;7(2):123–8.
43. Hirano M, Kurita S, Nakashima T. The structure of the vocal folds. In: Stevens K, Hirano M, editors. *Vocal Fold Physiology.* Tokyo: University of Tokyo Press; 1981. p. 33–41.

44. Hirano S. Current treatment of vocal fold scarring. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005 Jun;13(3):143–7.
45. Hirano M, Kurita S, Nakashima T. Growth, development, and aging of human vocal folds. In: Bless D, Abbs J, editors. *Vocal Fold Physiology: Contemporary Research and Clinical Issues.* San diego: College-Hill Press; 1983. p. 23–43.
46. Hartnick CJ, Rehbar R, Prasad V. Development and maturation of the pediatric human vocal fold lamina propria. *Laryngoscope.* 2005;115(1):4–15.
47. Nita LM, Battlehner CN, Ferreira MA, Imamura R, Sennes LU, Caldini EG, et al. The presence of a vocal ligament in fetuses: a histochemical and ultrastructural study. *J Anat.* 2009 Dec;215(6):692–7.
48. Li N. Current understanding and future directions for vocal fold mechanobiology. *J Cytol Mol Biol.* 2013;1(1):1–9.
49. Chen X, Thibeault S. Characteristics of age-related changes in cultured human vocal fold fibroblasts. *Laryngoscope.* 2008;118(9):1700–4.
50. Pawlak AS, Hammond E, Hammond T, Gray SD. Immunocytochemical study of proteoglycans in vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1996;105(1):6–11.
51. Iozzo R V. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annu Rev Biochem.* 1998;67(1):609–52.
52. Poole AR. Proteoglycans in health and disease: structures and functions. *Biochem J.* 1986 May 15;236(1):1–14.
53. Benninger MS, Alessi D, Archer S, Bastian R, Ford C, Koufman J, et al. Vocal fold scarring: current concepts and management. *Otolaryngol - Head Neck Surg.* 1996;115(5):474–82.
54. Ximenes Filho JA, Madruga de Melo EC, Carneiro C de G, Tsuji DH, Sennes LU. Correlation between height and vocal folds dimensions. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2003;69(36):371–4.

55. Myllyharju J. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. *Trends Genet.* 2004 Jan;20(1):33–43.
56. Montes GS. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. *Cell Biol Int.* 1996;20(1):15–27.
57. Tateya T, Tateya I, Bless DM. Collagen subtypes in human vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2006 Jun;115(6):469–76.
58. Bühler RB, Sennes LU, Tsuji DH, Mauad T, Ferraz da Silva L, Saldiva PN. Collagen type I, collagen type III, and versican in vocal fold lamina propria. *Arch Otolaryngol Neck Surg.* 2011 Jun 20;137(6):604.
59. Hammond TH, Zhou R, Hammond EH, Pawlak A, Gray SD. The intermediate layer: a morphologic study of the elastin and hyaluronic acid constituents of normal human vocal folds. *J Voice.* 1997 Mar;11(1):59–66.
60. Porto LC, Chevallier M, Peyrol S, Guerret S, Grimaud J-A. Elastin in human, baboon, and mouse liver: An immunohistochemical and immunoelectron microscopic study. *Anat Rec.* 1990 Dec;228(4):392–404.
61. Ferreira, Jr. JMC, Caldini EG, Montes GS. Distribution of elastic system fibers in the peripheral nerves of mammals. *Cells Tissues Organs.* 1987;130(2):168–73.
62. Hirano M, Kurita S, Sakaguchi S. Ageing of the vibratory tissue of human vocal folds. *Acta Otolaryngol.* 1989;107(5–6):428–33.
63. Zhao R, Cai Y, Wang H. Pathological changes of hyperphonated cat vocal folds. *Auris Nasus Larynx.* 1991;18(1):55–9.
64. Jiang JJ, Raviv JR, Hanson DG. Comparison of the phonation-related structures among pig, dog, white-tailed deer, and human larynges. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2001 Dec;110(12):1120–5.
65. Riede T. Elasticity and stress relaxation of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) vocal folds. *J Exp Biol.* 2010 Sep;213(Pt 17):2924–32.

66. Alipour F, Jaiswal S, Vigmostad S. Vocal fold elasticity in the pig, sheep, and cow larynges. *J Voice*. 2011 Mar;25(2):130–6.
67. Maunsell RCK, De Freitas LL, Altemani A, Crespo AN. Histologic comparison of vocal fold microflap healing with sutures and glue. *Laryngoscope*. 2013;123(7):1709–16.
68. Suzuki R, Kawai Y, Tsuji T, Hiwatashi N, Kishimoto Y, Tateya I, et al. Prevention of vocal fold scarring by local application of basic fibroblast growth factor in a rat vocal fold injury model. *Laryngoscope*. 2017 Feb;127(2):E67–74.
69. Carvalho EGB, Pauna HF, Machado AJ, Nicola EMD, Altemani AMAM, Crespo AN. Evaluation of the grafted fascia in the vocal fold of dogs: a histologic study. *J Voice*. 2017 Sep;31(5):605–9.
70. Kobler JB, Tynan MA, Zeitels SM, Liss AS, Gianatasio MT, Morin AA, et al. Lubricin/proteoglycan 4 detected in vocal folds of humans and five other mammals. *Laryngoscope*. 2019 Jan 6;129(7):229–37.
71. Courey MS, Bryant GL, Ossoff RH. Posterior glottic stenosis: a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1998 Oct;107(10 Pt 1):839–46.
72. Jahan-Parwar B, Chhetri DK, Hart S, Bhuta S, Berke GS. Development of a canine model for recurrent respiratory papillomatosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2003 Dec;112(12):1011–3.
73. Howard NS, Mendelsohn AH, Berke GS. Development of the ex vivo laryngeal model of phonation. *Laryngoscope*. 2015 Jun;125(6):1414–9.
74. Rousseau B, Hirano S, Chan RW, Welham N V, Thibeault SL, Ford CN, et al. Characterization of chronic vocal fold scarring in a rabbit model. *J Voice*. 2004;18(1):116–24.
75. Roh J, Lee Y-W, Park HT. Subglottic wound healing in a new rabbit model of acquired subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2006 Aug 29;115(8):611–6.

76. Dion GR, Teng S, Bing R, Hiwatashi N, Amin MR, Branski RC. Development of an in vivo model of laryngeal burn injury. *Laryngoscope*. 2017 Jan;127(1):186–90.
77. Ge PJ, French LC, Ohno T, Zealear DL, Rousseau B. Model of evoked rabbit phonation. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2009;118(1):51–5.
78. Tateya T, Tateya I, Sohn JH, Bless DM. Histological study of acute vocal fold injury in a rat model. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2006;115(4):285–92.
79. Woodson G. Developing a porcine model for study of vocal fold scar. *J Voice*. 2012;26(6):706–10.
80. Riede T, Lingle S, Hunter EJ, Titze IR. Cervids with different vocal behavior demonstrate different viscoelastic properties of their vocal folds. *J Morphol*. 2010;271(1):1–11.
81. Alipour F, Jaiswal S. Glottal airflow resistance in excised pig, sheep, and cow Larynges. *J Voice*. 2009 Jan;23(1):40–50.
82. Zrunek M, Happak W, Hermann M, Streinzer W. Comparative anatomy of human and sheep laryngeal skeleton. *Acta Otolaryngol*. 1988;105(1–2):155–62.
83. Titze IR. On the relation between subglottal pressure and fundamental frequency in phonation. *J Acoust Soc Am*. 1989;85(2):901–6.
84. Happak W, Zrunek M, Pechmann U, Streinzer W. Comparative histochemistry of human and sheep laryngeal muscles. *Acta Otolaryngol*. 1989;107(3–4):283–8.
85. Alipour F, Cox KA, Titze IR, Alipour F, Titze IR. Geometric structure of the human and canine cricothyroid and thyroarytenoid muscles for biomechanical applications. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1999 Dec;108(12):1151–8.
86. Kim MJ, Hunter EJ, Titze IR. Comparison of human, canine, and ovine laryngeal dimensions. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2004 Jan;113(1):60–8.

87. Knight MJ, McDonald SE, Birchall MA. Intrinsic muscles and distribution of the recurrent laryngeal nerve in the pig larynx. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2005;262(4):281–5.
88. Alipour F, Jaiswal S. Phonatory characteristics of excised pig, sheep, and cow larynges. *J Acoust Soc Am*. 2008 Jun;123(6):4572–81.
89. Kotby MN, Wahba HA, Kamal E, El-Makhzangy AMN, Bahaa N. Animal model for training and improvement of the surgical skills in endolaryngeal microsurgery. *J Voice*. 2012 May;26(3):351–7.
90. Spencer M, Siegmund T, Mongeau L. Determination of superior surface strains and stresses, and vocal fold contact pressure in a synthetic larynx model using digital image correlation. *J Acoust Soc Am*. 2008;123(2):1089–103.
91. Neubauer J, Zhang Z, Miraghaie R, Berry DA. Coherent structures of the near field flow in a self-oscillating physical model of the vocal folds. *J Acoust Soc Am*. 2007;121(2):1102–18.
92. Popolo PS, Titze IR. Qualification of a quantitative laryngeal imaging system using videostroboscopy and videokymography. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2008 Jun;117(6):404–12.
93. Kniesburges S, L. Thomson S, Barney A, Triep M, Sidlof P, Horacek J, et al. In vitro experimental investigation of voice production. *Curr Bioinform*. 2011 Sep 1;6(3):305–22.
94. Titze IR, Schmidt SS, Titze MR. Phonation threshold pressure in a physical model of the vocal fold mucosa. *J Acoust Soc Am*. 1995 May;97(5):3080–4.
95. Chan RW, Titze IR, Titze MR. Further studies of phonation threshold pressure in a physical model of the vocal fold mucosa. *J Acoust Soc Am*. 1997 Jun;101(6):3722–7.
96. Chan RW, Titze IR. Dependence of phonation threshold pressure on vocal tract acoustics and vocal fold tissue mechanics. *J Acoust Soc Am*. 2006 Apr;119(4):2351–62.

97. Drechsel JS, Thomson SL. Influence of supraglottal structures on the glottal jet exiting a two-layer synthetic, self-oscillating vocal fold model. *J Acoust Soc Am*. 2008 Jun;123(6):4434–45.
98. Pickup BA, Thomson SL. Influence of asymmetric stiffness on the structural and aerodynamic response of synthetic vocal fold models. *J Biomech*. 2009;42(14):2219–25.
99. Pickup BA, Thomson SL. Flow-induced vibratory response of idealized versus magnetic resonance imaging-based synthetic vocal fold models. *J Acoust Soc Am*. 2010;128(3):EL124.
100. Murray PR, Thomson SL, Smith ME. A synthetic, self-oscillating vocal fold model platform for studying augmentation injection. *J Voice*. 2014 Mar;28(2):133–43.
101. Awan SN, Novaleski CK, Rousseau B. Nonlinear analyses of elicited modal, raised, and pressed rabbit phonation. *J Voice*. 2014;28(5):538–47.
102. Regner MF, Robitaille MJ, Jiang JJ. Interspecies comparison of mucosal wave properties using high-speed digital imaging. *Laryngoscope*. 2010;120(6):1188–94.
103. Bless DM, Welham N V. Characterization of vocal fold scar formation, prophylaxis, and treatment using animal models. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010 Dec;18(6):481–6.
104. Hoffman MR, Glab R, Gunderson M, Maytag a. L, Yang DT, Jiang JJ, et al. Functional and histological evaluation following canine vocal fold reconstruction using composite thyroid ala perichondrium flaps. *Otolaryngol -- Head Neck Surg*. 2015;153(1):79–87.
105. Ximenes Filho JA, Tsuji DH, do Nascimento PHS, Sennes LU. Histologic changes in human vocal folds correlated with aging: a histomorphometric study. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2003;112(10):894–8.

106. Lebl MDA, Martins JRM, Nader HB, Simões MDJ, De Biase N. Concentration and distribution of hyaluronic acid in human vocal folds. *Laryngoscope*. 2007 Apr;117(4):595–9.
107. Infusino SA, Ojha S, Maurer R, Sadow PM, Faquin WC, Hartnick CJ. The utility of histopathology in identifying structural differences among layers of the lamina propria. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2013 Oct;77(10):1651–4.

## 9. APÊNDICE

### 9.1 – Tabelas: áreas demarcadas em relação a área total de cada amostra

#### HUMANO

##### MASSON

##### NÍVEL SUPERFICIAL

	FS	BL	FI
A1a1	0,105	0,2611	0,1449
A1a2	0,326	0,1514	0,0674
A1a3	0,1214	0,0794	0,1936
A1a4	0,1952	0,1965	0,3569
A2a1	0,1189	0,2812	0,1119
A2a2	0,2357	0,1445	0,0257
A2a3	0,0726	0,1166	0,1787
A2a4	0,1646	0,2324	0,2329
A3a1	0,0666	0,2846	0,1071
A3a2	0,373	0,2718	0,0534
A3a3	0,124	0,111	0,2245
A3a4	0,1625	0,2335	0,3127
A4a1	0,0813	0,2123	0,1124
A4a2	0,2246	0,3079	0,062
A4a3	0,1017	0,1277	0,1629
A4a4	0,1558	0,2066	0,2715

##### WEIGERT VAN GIESON

##### NÍVEL SUPERFICIAL

	FS	BL	FI
A1a1	0,0007	0,0003	0,0015
A1a2	0,2278	0,0589	0,2036
A1a3	0,0148	0,0632	0,0032
A1a4	0,003	0,001	0,0027
A2a1	0,0193	0,0015	0,001
A2a2	0,0711	0,0558	0,2539
A2a3	0,0057	0,038	0,0053
A2a4	0,0045	0,0008	0,0111
A3a1	0,0122	0,001	0,0156
A3a2	0,1259	0,0326	0,0112
A3a3	0,042	0,0705	0,0042
A3a4	0,001	0,0006	0,0005
A4a1	0,0115	0,0006	0,013
A4a2	0,0452	0,0249	0,2918
A4a3	0,0576	0,0566	0,0023
A4a4	0,0046	0,0008	0,0103

##### NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL

	FS	BL	FI
A1a1	0,1393	0,1034	0,1811
A1a2	0,0538	0,0653	0,0257
A1a3	0,2736	0,1771	0,1846
A1a4	0,3587	0,1506	0,2623
A2a1	0,1947	0,1342	0,1291
A2a2	0,0576	0,0691	0,0581
A2a3	0,2596	0,1861	0,1836
A2a4	0,3263	0,1579	0,2449
A3a1	0,0996	0,145	0,1209
A3a2	0,0549	0,0705	0,0312
A3a3	0,2598	0,1365	0,1638
A3a4	0,3764	0,1272	0,248
A4a1	0,0941	0,1921	0,2128
A4a2	0,0639	0,12	0,0383
A4a3	0,2707	0,1676	0,1812
A4a4	0,3243	0,1944	0,2786

##### NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL

	FS	BL	FI
A1a1	0,0093	0,0009	0,0013
A1a2	0,0738	0,0262	0,3553
A1a3	0,018	0,0549	0,0892
A1a4	0,0005	0,0377	0,0081
A2a1	0,0019	0,0028	0,0039
A2a2	0,0469	0,0577	0,2296
A2a3	0,3681	0,0262	0,0808
A2a4	0,003	0,0359	0,0174
A3a1	0,0015	0,0034	0,0009
A3a2	0,1316	0,0317	0,2703
A3a3	0,0321	0,0411	0,1339
A3a4	0,0042	0,0364	0,007
A4a1	0,0052	0,001	0,0016
A4a2	0,0695	0,0258	0,2337
A4a3	0,3396	0,0916	0,0728
A4a4	0,003	0,0363	0,005

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO  
INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1438	0,144	0,1374
A1a2	0,0979	0,0885	0,0142
A1a3	0,2709	0,2699	0,209
A1a4	0,3392	0,3084	0,2756
A2a1	0,1354	0,1752	0,1605
A2a2	0,1174	0,0842	0,0248
A2a3	0,4498	0,1749	0,1857
A2a4	0,519	0,2299	0,2637
A3a1	0,1115	0,1061	0,153
A3a2	0,0768	0,0915	0,0176
A3a3	0,2597	0,2773	0,1747
A3a4	0,2551	0,2494	0,3088
A4a1	0,1159	0,1178	0,1288
A4a2	0,0688	0,124	0,0187
A4a3	0,1738	0,2775	0,1713
A4a4	0,2476	0,3428	0,2937

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO  
INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,001	0,0022	0,0037
A1a2	0,024	0,0602	0,0692
A1a3	0,406	0,045	0,2115
A1a4	0,0029	0,1438	0,0107
A2a1	0,0079	0,0425	0,0015
A2a2	0,0939	0,0581	0,1085
A2a3	0,3061	0,0945	0,178
A2a4	0,0026	0,0884	0,0167
A3a1	0,0002	0,0119	0,0004
A3a2	0,0426	0,0599	0,0524
A3a3	0,3071	0,0408	0,1005
A3a4	0,0048	0,1692	0,0077
A4a1	0,0002	0,0053	0,0003
A4a2	0,0523	0,0552	0,1199
A4a3	0,4394	0,0561	0,2073
A4a4	0,002	0,0848	0,0222

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1075	0,1495	0,1853
A1a2	0,4574	0,4313	0,0594
A1a3	0,4219	0,3194	0,2001
A1a4	0,4492	0,3242	0,2802
A2a1	0,1149	0,2095	0,2423
A2a2	0,4435	0,3712	0,0597
A2a3	0,497	0,3094	0,1877
A2a4	0,4583	0,329	0,2921
A3a1	0,089	0,1322	0,2218
A3a2	0,5372	0,5467	0,1108
A3a3	0,3683	0,288	0,1823
A3a4	0,3781	0,186	0,3276
A4a1	0,1058	0,1325	0,1808
A4a2	0,5476	0,5587	0,0865
A4a3	0,1993	0,5805	0,1717
A4a4	0,293	0,3823	0,3466

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0019	0,0515	0,0005
A1a2	0,1487	0,1432	0,1386
A1a3	0,26	0,1921	0,1917
A1a4	0,0008	0,0342	0,0357
A2a1	0,0032	0,0651	0,0237
A2a2	0,2597	0,1796	0,1565
A2a3	0,2648	0,3664	0,2644
A2a4	0,0163	0,0557	0,0295
A3a1	0,003	0,0633	0,0007
A3a2	0,1894	0,1414	0,2037
A3a3	0,2293	0,1575	0,2709
A3a4	0,0107	0,0564	0,0502
A4a1	0,0243	0,0176	0,0082
A4a2	0,192	0,2154	0,1243
A4a3	0,1837	0,3496	0,2246
A4a4	0,0247	0,0404	0,0426

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0829	0,1429	0,419
A1a2	0,4716	0,3336	0,2308
A1a3	0,3542	0,3248	0,1899
A1a4	0,2258	0,1845	0,2275
A2a1	0,0882	0,1463	0,4275
A2a2	0,3624	0,3144	0,248
A2a3	0,3383	0,3617	0,1619
A2a4	0,2603	0,2568	0,2749
A3a1	0,1263	0,1582	0,3196
A3a2	0,5279	0,4543	0,2436
A3a3	0,2785	0,3858	0,1447
A3a4	0,2767	0,3822	0,2479
A4a1	0,1153	0,1706	0,3805
A4a2	0,4748	0,449	0,2125
A4a3	0,2098	0,1917	0,1547
A4a4	0,3074	0,1932	0,2769

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0634	0,1967	0,0842
A1a2	0,2043	0,2107	0,236
A1a3	0,1225	0,3168	0,1153
A1a4	0,0182	0,0474	0,0851
A2a1	0,0947	0,1635	0,0575
A2a2	0,1767	0,3086	0,284
A2a3	0,111	0,3437	0,1162
A2a4	0,0255	0,0346	0,0557
A3a1	0,0781	0,0551	0,0214
A3a2	0,2503	0,2018	0,3357
A3a3	0,0622	0,3862	0,1319
A3a4	0,0012	0,0382	0,0427
A4a1	0,1374	0,1522	0,0629
A4a2	0,2022	0,2689	0,3118
A4a3	0,159	0,3919	0,1929
A4a4	0,0111	0,0221	0,0133

**BOVINO****MASSON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2907	0,176	0,2204
A1a2	0,0711	0,2616	0,1193
A1a3	0,0774	0,1363	0,0995
A1a4	0,1228	0,0804	0,0525
A2a1	0,2203	0,1916	0,1844
A2a2	0,0499	0,2253	0,124
A2a3	0,0687	0,1322	0,1449
A2a4	0,1396	0,1041	0,0463
A3a1	0,3623	0,1359	0,2367
A3a2	0,124	0,2281	0,1341
A3a3	0,0603	0,1307	0,1232
A3a4	0,08	0,1149	0,0753
A4a1	0,2103	0,1797	0,2013
A4a2	0,0712	0,2414	0,1267
A4a3	0,1159	0,1021	0,1585
A4a4	0,1088	0,1026	0,0946

**WEIGERT VAN GIESON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0958	0,0695	0,0372
A1a2	0,1052	0,1204	0,1847
A1a3	0,2834	0,2525	0,1204
A1a4	0,3656	0,3129	0,3708
A2a1	0,0879	0,0236	0,0239
A2a2	0,0975	0,1252	0,1416
A2a3	0,3374	0,2504	0,1336
A2a4	0,3056	0,2887	0,3041
A3a1	0,0906	0,1102	0,0351
A3a2	0,072	0,1177	0,1246
A3a3	0,2628	0,2171	0,1084
A3a4	0,394	0,3769	0,3631
A4a1	0,0618	0,068	0,0188
A4a2	0,1271	0,0843	0,0703
A4a3	0,2382	0,2404	0,2082
A4a4	0,2313	0,4165	0,3786

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2613	0,2183	0,246
A1a2	0,1198	0,2149	0,0726
A1a3	0,1684	0,131	0,1619
A1a4	0,1	0,1671	0,0797
A2a1	0,2424	0,1754	0,1967
A2a2	0,1568	0,1477	0,0653
A2a3	0,149	0,1557	0,2358
A2a4	0,0734	0,2181	0,0633
A3a1	0,186	0,2489	0,2297
A3a2	0,1187	0,1675	0,0773
A3a3	0,1722	0,1376	0,13
A3a4	0,0675	0,2089	0,0548
A4a1	0,2254	0,2232	0,2143
A4a2	0,2478	0,1237	0,0763
A4a3	0,1977	0,1581	0,1724
A4a4	0,0892	0,2509	0,0608

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0469	0,0084	0,0078
A1a2	0,0336	0,0783	0,0603
A1a3	0,1324	0,0649	0,039
A1a4	0,2029	0,1881	0,1354
A2a1	0,0614	0,0104	0,0022
A2a2	0,0241	0,108	0,0682
A2a3	0,1769	0,067	0,053
A2a4	0,2222	0,1675	0,1385
A3a1	0,0479	0,0242	0,0054
A3a2	0,0491	0,0734	0,0574
A3a3	0,1075	0,0733	0,0352
A3a4	0,2291	0,0899	0,1324
A4a1	0,0479	0,0324	0,0028
A4a2	0,0586	0,0818	0,0393
A4a3	0,0728	0,0909	0,0512
A4a4	0,3346	0,0912	0,1203

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2929	0,1567	0,2864
A1a2	0,12	0,213	0,0742
A1a3	0,2428	0,1891	0,2525
A1a4	0,0604	0,1973	0,1348
A2a1	0,3463	0,1771	0,268
A2a2	0,1722	0,1969	0,065
A2a3	0,2378	0,1966	0,2149
A2a4	0,0799	0,2025	0,1119
A3a1	0,2759	0,1846	0,3042
A3a2	0,1289	0,2111	0,0827
A3a3	0,2262	0,1387	0,2455
A3a4	0,0462	0,191	0,1526
A4a1	0,2807	0,2273	0,2868
A4a2	0,169	0,1205	0,0639
A4a3	0,2542	0,1237	0,2344
A4a4	0,0761	0,1594	0,1589

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0284	0,0194	0,0086
A1a2	0,0603	0,0488	0,0419
A1a3	0,1077	0,0631	0,0442
A1a4	0,3255	0,1212	0,0955
A2a1	0,0402	0,0148	0,0066
A2a2	0,0374	0,0517	0,0589
A2a3	0,1157	0,0582	0,0358
A2a4	0,2811	0,1923	0,1343
A3a1	0,0129	0,0234	0,0118
A3a2	0,0857	0,0522	0,0408
A3a3	0,092	0,0527	0,0562
A3a4	0,3967	0,0845	0,0914
A4a1	0,0117	0,0125	0,012
A4a2	0,0943	0,0461	0,0325
A4a3	0,0524	0,0691	0,0416
A4a4	0,4292	0,1201	0,089

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3336	0,3518	0,2478
A1a2	0,1815	0,1555	0,0507
A1a3	0,2662	0,1825	0,234
A1a4	0,1562	0,1597	0,1961
A2a1	0,3696	0,3585	0,2984
A2a2	0,1419	0,1522	0,0571
A2a3	0,2724	0,2084	0,2775
A2a4	0,179	0,1605	0,2015
A3a1	0,3339	0,3167	0,3488
A3a2	0,1513	0,1954	0,0882
A3a3	0,3087	0,1897	0,2618
A3a4	0,0815	0,1815	0,2375
A4a1	0,3399	0,2608	0,3424
A4a2	0,1334	0,147	0,0773
A4a3	0,2099	0,2129	0,2488
A4a4	0,1265	0,2199	0,2319

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0142	0,024	0,0076
A1a2	0,0194	0,024	0,0289
A1a3	0,0567	0,0793	0,0456
A1a4	0,3972	0,0853	0,1169
A2a1	0,0194	0,0181	0,0007
A2a2	0,0767	0,0177	0,0313
A2a3	0,0535	0,0975	0,0256
A2a4	0,4197	0,1023	0,1075
A3a1	0,0207	0,0177	0,0203
A3a2	0,1028	0,0158	0,0256
A3a3	0,054	0,0929	0,0598
A3a4	0,4685	0,0924	0,1333
A4a1	0,024	0,0137	0,0063
A4a2	0,1585	0,0116	0,0268
A4a3	0,076	0,0821	0,0721
A4a4	0,4946	0,14	0,0778

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3455	0,3426	0,3948
A1a2	0,163	0,1966	0,0989
A1a3	0,1656	0,2589	0,1654
A1a4	0,1101	0,3545	0,2136
A2a1	0,3456	0,3817	0,3408
A2a2	0,1817	0,1528	0,0858
A2a3	0,1764	0,2338	0,1491
A2a4	0,1455	0,3259	0,1874
A3a1	0,3104	0,3625	0,2905
A3a2	0,1508	0,16	0,0955
A3a3	0,1905	0,271	0,2127
A3a4	0,0847	0,3183	0,1953
A4a1	0,375	0,4125	0,3805
A4a2	0,1437	0,1487	0,108
A4a3	0,1323	0,2677	0,1583
A4a4	0,1188	0,3447	0,2145

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0177	0,0232	0,0081
A1a2	0,1481	0,0623	0,0411
A1a3	0,0637	0,0951	0,0777
A1a4	0,5416	0,3648	0,1772
A2a1	0,0194	0,0215	0,0127
A2a2	0,088	0,0658	0,0636
A2a3	0,0871	0,0972	0,09
A2a4	0,5122	0,3191	0,1501
A3a1	0,0229	0,0215	0,0096
A3a2	0,1781	0,0502	0,0367
A3a3	0,0637	0,0824	0,0701
A3a4	0,589	0,4076	0,1257
A4a1	0,0187	0,0169	0,0154
A4a2	0,1457	0,0981	0,046
A4a3	0,074	0,0811	0,0747
A4a4	0,6296	0,5113	0,1843

**CÃO****MASSON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1742	0,2431	0,3509
A1a2	0,2897	0,2838	0,4401
A1a3	0,1319	0,1278	0,1911
A1a4	0,0605	0,065	0,3174
A2a1	0,1627	0,2356	0,2946
A2a2	0,2612	0,3071	0,4147
A2a3	0,1046	0,1263	0,0949
A2a4	0,1266	0,0962	0,2498
A3a1	0,1853	0,1781	0,3824
A3a2	0,1419	0,2464	0,4015
A3a3	0,0928	0,0943	0,1854
A3a4	0,0666	0,0715	0,2618
A4a1	0,2689	0,1522	0,279
A4a2	0,2556	0,2739	0,3812
A4a3	0,0981	0,0592	0,1287
A4a4	0,0816	0,1762	0,2741

**WEIGERT VAN GIESON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2316	0,1414	0,1413
A1a2	0,0104	0,0895	0,0337
A1a3	0,096	0,0622	0,0482
A1a4	0,055	0,0609	0,048
A2a1	0,1203	0,2044	0,1267
A2a2	0,0092	0,0431	0,0404
A2a3	0,0395	0,0327	0,0519
A2a4	0,0161	0,0539	0,0705
A3a1	0,3848	0,2484	0,1213
A3a2	0,0163	0,0196	0,0214
A3a3	0,0661	0,0424	0,0404
A3a4	0,0404	0,0425	0,0452
A4a1	0,1566	0,1587	0,1743
A4a2	0,0241	0,0732	0,0703
A4a3	0,0502	0,0541	0,0559
A4a4	0,0407	0,0742	0,0528

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3297	0,1353	0,3322
A1a2	0,4058	0,2371	0,2824
A1a3	0,1539	0,0695	0,1016
A1a4	0,2267	0,176	0,1237
A2a1	0,3266	0,1524	0,2718
A2a2	0,4392	0,2153	0,395
A2a3	0,1956	0,0877	0,1263
A2a4	0,1375	0,1517	0,1513
A3a1	0,3702	0,142	0,2121
A3a2	0,3669	0,3671	0,3215
A3a3	0,1855	0,0788	0,0958
A3a4	0,1624	0,1946	0,1135
A4a1	0,3465	0,1023	0,2079
A4a2	0,4723	0,2857	0,3028
A4a3	0,1273	0,0956	0,1199
A4a4	0,2967	0,1229	0,2108

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0897	0,115	0,122
A1a2	0,0373	0,0245	0,0373
A1a3	0,0163	0,0293	0,0522
A1a4	0,0407	0,0411	0,068
A2a1	0,1156	0,1058	0,1468
A2a2	0,0297	0,0285	0,0489
A2a3	0,0209	0,0505	0,0643
A2a4	0,0277	0,0444	0,0698
A3a1	0,0761	0,1224	0,2224
A3a2	0,0308	0,0187	0,0487
A3a3	0,0276	0,0441	0,0567
A3a4	0,0383	0,0321	0,0547
A4a1	0,0452	0,1115	0,1263
A4a2	0,0198	0,0332	0,0189
A4a3	0,025	0,0493	0,0503
A4a4	0,0476	0,0592	0,0285

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO  
INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3111	0,1146	0,2443
A1a2	0,4961	0,1089	0,3777
A1a3	0,1511	0,0401	0,0854
A1a4	0,1599	0,1721	0,1977
A2a1	0,3598	0,0657	0,2142
A2a2	0,4315	0,168	0,2629
A2a3	0,174	0,039	0,057
A2a4	0,1647	0,164	0,2029
A3a1	0,2822	0,0859	0,2674
A3a2	0,4834	0,0751	0,3796
A3a3	0,1468	0,0271	0,084
A3a4	0,1254	0,1825	0,1783
A4a1	0,3058	0,1014	0,2408
A4a2	0,4313	0,1427	0,1672
A4a3	0,1273	0,0272	0,1016
A4a4	0,0865	0,1854	0,1045

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO  
INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0388	0,1253	0,01
A1a2	0,0264	0,0198	0,0201
A1a3	0,0164	0,0445	0,0816
A1a4	0,0237	0,0148	0,0366
A2a1	0,0478	0,1817	0,0084
A2a2	0,027	0,0219	0,0133
A2a3	0,0264	0,0692	0,0863
A2a4	0,0234	0,0343	0,0325
A3a1	0,0299	0,0888	0,0644
A3a2	0,0443	0,0347	0,0334
A3a3	0,0086	0,0652	0,0768
A3a4	0,0239	0,0296	0,0551
A4a1	0,0393	0,0829	0,1052
A4a2	0,0477	0,0313	0,0268
A4a3	0,0144	0,0465	0,0561
A4a4	0,0341	0,0232	0,0492

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,28	0,186	0,1749
A1a2	0,4615	0,2388	0,2551
A1a3	0,1385	0,1202	0,0829
A1a4	0,2642	0,2282	0,2176
A2a1	0,3224	0,1709	0,1713
A2a2	0,4592	0,2996	0,3008
A2a3	0,1329	0,0909	0,0847
A2a4	0,3148	0,2771	0,1793
A3a1	0,2755	0,1511	0,2443
A3a2	0,4036	0,2378	0,332
A3a3	0,1712	0,0909	0,0932
A3a4	0,2162	0,2651	0,1524
A4a1	0,2728	0,173	0,2265
A4a2	0,3453	0,2755	0,351
A4a3	0,1795	0,1184	0,1042
A4a4	0,1459	0,2842	0,22

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1312	0,0869	0,0467
A1a2	0,0365	0,019	0,0134
A1a3	0,0371	0,0559	0,0882
A1a4	0,0017	0,0374	0,0273
A2a1	0,119	0,1146	0,081
A2a2	0,0222	0,025	0,0232
A2a3	0,0385	0,0484	0,0486
A2a4	0,009	0,0372	0,0328
A3a1	0,0609	0,0457	0,0375
A3a2	0,0438	0,0235	0,0179
A3a3	0,0355	0,0613	0,0468
A3a4	0,0152	0,0359	0,0265
A4a1	0,0684	0,1014	0,0414
A4a2	0,0472	0,0308	0,0169
A4a3	0,0428	0,0057	0,0633
A4a4	0,0177	0,0353	0,0336

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3131	0,1669	0,0678
A1a2	0,4046	0,2962	0,1949
A1a3	0,1253	0,0907	0,1053
A1a4	0,1268	0,227	0,2687
A2a1	0,3349	0,1941	0,0403
A2a2	0,4281	0,3043	0,1102
A2a3	0,1156	0,1168	0,042
A2a4	0,1113	0,1683	0,3233
A3a1	0,2551	0,1766	0,0736
A3a2	0,3361	0,3031	0,2792
A3a3	0,1115	0,1287	0,1074
A3a4	0,1342	0,2104	0,2518
A4a1	0,1949	0,1786	0,087
A4a2	0,3841	0,3663	0,1982
A4a3	0,0859	0,1383	0,1419
A4a4	0,0756	0,2425	0,2362

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0601	0,0076	0,0086
A1a2	0,0005	0,008	0,0001
A1a3	0,011	0,0131	0,0126
A1a4	0,0045	0,007	0,0006
A2a1	0,036	0,0013	0,0133
A2a2	0,0032	0,0049	0,0002
A2a3	0,0064	0,0032	0,0144
A2a4	0,0021	0,0236	0,0012
A3a1	0,0946	0,0018	0,0245
A3a2	0,0045	0,0076	0,0006
A3a3	0,0079	0,0044	0,0137
A3a4	0,009	0,0117	0,0019
A4a1	0,1299	0,0104	0,0113
A4a2	0,0017	0,0067	0,0008
A4a3	0,0079	0,0082	0,0089
A4a4	0,0037	0,0225	0,0022

**COELHO****MASSON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2198	0,3023	0,121
A1a2	0,2296	0,3084	0,143
A1a3	0,2735	0,2436	0,2078
A1a4	0,1435	0,1941	0,0785
A2a1	0,1804	0,3281	0,0971
A2a2	0,2829	0,2884	0,1524
A2a3	0,2293	0,1946	0,1598
A2a4	0,1028	0,2562	0,1
A3a1	0,1516	0,2847	0,2266
A3a2	0,1685	0,3087	0,2326
A3a3	0,2423	0,1843	0,1797
A3a4	0,1341	0,2172	0,091
A4a1	0,1432	0,3232	0,2258
A4a2	0,1697	0,2574	0,2178
A4a3	0,216	0,1742	0,1838
A4a4	0,1162	0,2414	0,1195

**WEIGERT VAN GIESON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2387	0,0499	0,1211
A1a2	0,4524	0,1449	0,2629
A1a3	0,1041	0,1289	0,1785
A1a4	0,1067	0,0431	0,1533
A2a1	0,01987	0,0365	0,1473
A2a2	0,3474	0,1603	0,224
A2a3	0,037	0,0433	0,0063
A2a4	0,1066	0,0909	0,0837
A3a1	0,48	0,0254	0,1385
A3a2	0,4635	0,1253	0,181
A3a3	0,0461	0,2888	0,1166
A3a4	0,1232	0,0181	0,0702
A4a1	0,2273	0,0478	0,0685
A4a2	0,3667	0,1464	0,0995
A4a3	0,082	0,0756	0,0285
A4a4	0,0829	0,0435	0,059

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1886	0,2111	0,3086
A1a2	0,1873	0,3061	0,3353
A1a3	0,2286	0,2653	0,1646
A1a4	0,1405	0,2508	0,1403
A2a1	0,157	0,2947	0,2433
A2a2	0,2181	0,2143	0,2887
A2a3	0,2259	0,1927	0,0991
A2a4	0,1418	0,2393	0,19
A3a1	0,163	0,2698	0,3893
A3a2	0,1243	0,236	0,3276
A3a3	0,1926	0,2053	0,1509
A3a4	0,1415	0,2563	0,1682
A4a1	0,1059	0,1818	0,231
A4a2	0,182	0,2505	0,2477
A4a3	0,2159	0,2159	0,0515
A4a4	0,1171	0,2308	0,1289

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1803	0,3275	0,1498
A1a2	0,2811	0,2154	0,2026
A1a3	0,0529	0,017	0,0363
A1a4	0,2369	0,0586	0,0565
A2a1	0,1202	0,3672	0,2179
A2a2	0,936	0,0982	0,2066
A2a3	0,1334	0,0644	0,244
A2a4	0,1144	0,0049	0,0566
A3a1	0,04	0,1502	0,2648
A3a2	0,1997	0,3359	0,1763
A3a3	0,0788	0,0015	0,1423
A3a4	0,0608	0,1263	0,1316
A4a1	0,0089	0,3253	0,1403
A4a2	0,2696	0,2043	0,1668
A4a3	0,0026	0,0275	0,0592
A4a4	0,1313	0,0564	0,0563

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1725	0,2175	0,2655
A1a2	0,2057	0,2635	0,3326
A1a3	0,2413	0,2305	0,1364
A1a4	0,1629	0,2771	0,1605
A2a1	0,2033	0,2892	0,298
A2a2	0,2346	0,2608	0,3233
A2a3	0,2446	0,0992	0,1341
A2a4	0,158	0,3161	0,1898
A3a1	0,187	0,1967	0,1377
A3a2	0,1485	0,2775	0,298
A3a3	0,1602	0,1384	0,1238
A3a4	0,1298	0,2727	0,1784
A4a1	0,1627	0,2553	0,2017
A4a2	0,1378	0,316	0,2834
A4a3	0,1733	0,255	0,0657
A4a4	0,1657	0,2908	0,1732

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1007	0,2734	0,1807
A1a2	0,4491	0,2864	0,1482
A1a3	0,0585	0,0651	0,2599
A1a4	0,1087	0,1378	0,1012
A2a1	0,0944	0,2872	0,1049
A2a2	0,2778	0,0876	0,2173
A2a3	0,0586	0,0521	0,2717
A2a4	0,0452	0,0096	0,0834
A3a1	0,0294	0,3804	0,2765
A3a2	0,4878	0,246	0,2539
A3a3	0,0154	0,0829	0,0808
A3a4	0,1513	0,1298	0,0543
A4a1	0,0649	0,2901	0,1201
A4a2	0,3194	0,1391	0,0665
A4a3	0,0284	0,0235	0,1498
A4a4	0,2349	0,0121	0,0789

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1815	0,2144	0,3445
A1a2	0,1831	0,2926	0,3863
A1a3	0,1892	0,1514	0,1092
A1a4	0,1894	0,2452	0,1838
A2a1	0,2189	0,2205	0,2651
A2a2	0,202	0,254	0,3556
A2a3	0,1493	0,0959	0,0973
A2a4	0,156	0,2494	0,1076
A3a1	0,1515	0,2694	0,3141
A3a2	0,1306	0,2419	0,3229
A3a3	0,2023	0,1642	0,0817
A3a4	0,1713	0,2291	0,1409
A4a1	0,1208	0,2849	0,2697
A4a2	0,2136	0,1445	0,2236
A4a3	0,211	0,1139	0,0876
A4a4	0,1125	0,2227	0,1835

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0333	0,0657	0,0502
A1a2	0,3104	0,0432	0,1348
A1a3	0,0532	0,0874	0,0445
A1a4	0,0015	0,0086	0,0471
A2a1	0,0818	0,136	0,0653
A2a2	0,2536	0,1525	0,2356
A2a3	0,0649	0,1103	0,0194
A2a4	0,0548	0,0129	0,0214
A3a1	0,039	0,1181	0,0621
A3a2	0,3373	0,2345	0,1603
A3a3	0,0064	0,0352	0,0783
A3a4	0,0318	0,0636	0,0217
A4a1	0,0076	0,0235	0,1322
A4a2	0,3477	0,0791	0,0968
A4a3	0,0015	0,0961	0,0754
A4a4	0,001	0,136	0,0383

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1606	0,2264	0,2481
A1a2	0,1166	0,1692	0,3155
A1a3	0,1302	0,1352	0,1533
A1a4	0,1097	0,2243	0,1418
A2a1	0,1432	0,2858	0,0813
A2a2	0,2199	0,2042	0,2898
A2a3	0,1884	0,1177	0,1282
A2a4	0,1469	0,2226	0,1347
A3a1	0,1753	0,1733	0,2596
A3a2	0,175	0,1644	0,4109
A3a3	0,1263	0,1182	0,0863
A3a4	0,1202	0,1841	0,143
A4a1	0,0824	0,1261	0,2068
A4a2	0,1602	0,1983	0,2237
A4a3	0,0214	0,1055	0,1242
A4a4	0,2852	0,2321	0,1635

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0352	0,0759	0,1029
A1a2	0,088	0,1888	0,0781
A1a3	0,0015	0,0063	0,00166
A1a4	0,0065	0,0024	0,0258
A2a1	0,0422	0,0702	0,0298
A2a2	0,1891	0,2396	0,0183
A2a3	0,0025	0,0531	0,002
A2a4	0,0015	0,0015	0,0285
A3a1	0,0707	0,1062	0,0098
A3a2	0,0641	0,1154	0,0703
A3a3	0,0015	0,0528	0,00155
A3a4	0,0003	0,0017	0,0046
A4a1	0,007	0,052	0,0975
A4a2	0,0101	0,1387	0,0217
A4a3	0,0017	0,0291	0,001
A4a4	0,0031	0,0015	0,0068

**OVINO****MASSON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2373	0,3053	0,3676
A1a2	0,2247	0,2378	0,3338
A1a3	0,212	0,275	0,2371
A1a4	0,0873	0,2208	0,2671
A2a1	0,3696	0,2838	0,3285
A2a2	0,2835	0,2585	0,325
A2a3	0,2805	0,2747	0,2882
A2a4	0,1317	0,2178	0,2621
A3a1	0,2266	0,3076	0,2838
A3a2	0,1685	0,2234	0,3405
A3a3	0,212	0,2786	0,2527
A3a4	0,088	0,1874	0,2108
A4a1	0,2665	0,3218	0,3261
A4a2	0,2124	0,2068	0,3209
A4a3	0,2176	0,2813	0,2535
A4a4	0,1439	0,2037	0,2499

**WEIGERT VAN GIESON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2929	0,1545	0,1132
A1a2	0,0263	0,0753	0,0593
A1a3	0,5185	0,3326	0,4234
A1a4	0,3978	0,5304	0,3798
A2a1	0,1745	0,1517	0,1185
A2a2	0,0503	0,0746	0,063
A2a3	0,1362	0,2917	0,2305
A2a4	0,5161	0,3241	0,2713
A3a1	0,2415	0,154	0,1233
A3a2	0,0579	0,0798	0,0046
A3a3	0,3867	0,4423	0,3857
A3a4	0,3734	0,4818	0,4376
A4a1	0,1931	0,1686	0,0859
A4a2	0,0795	0,115	0,074
A4a3	0,2124	0,289	0,3502
A4a4	0,4009	0,2493	0,4357

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2034	0,2727	0,5482
A1a2	0,2583	0,1516	0,167
A1a3	0,3163	0,3166	0,2824
A1a4	0,1746	0,1232	0,2879
A2a1	0,2384	0,3007	0,5854
A2a2	0,2357	0,1522	0,1572
A2a3	0,356	0,286	0,3111
A2a4	0,127	0,114	0,3002
A3a1	0,2624	0,3371	0,3941
A3a2	0,2219	0,1187	0,1727
A3a3	0,2918	0,2654	0,2442
A3a4	0,172	0,1627	0,2767
A4a1	0,3849	0,3213	0,3939
A4a2	0,2338	0,1204	0,1529
A4a3	0,2872	0,2308	0,2564
A4a4	0,1421	0,1881	0,2262

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0496	0,0398	0,1157
A1a2	0,034	0,07	0,0418
A1a3	0,2339	0,1548	0,2326
A1a4	0,421	0,1249	0,3504
A2a1	0,0906	0,031	0,1149
A2a2	0,0194	0,0761	0,0409
A2a3	0,2057	0,2192	0,1744
A2a4	0,4944	0,1478	0,3533
A3a1	0,0539	0,0442	0,0696
A3a2	0,0034	0,1327	0,0578
A3a3	0,115	0,2873	0,1928
A3a4	0,3394	0,1547	0,2501
A4a1	0,1133	0,0314	0,1131
A4a2	0,0071	0,0821	0,0272
A4a3	0,2872	0,1589	0,2233
A4a4	0,4117	0,1085	0,349

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO  
INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1946	0,2563	0,298
A1a2	0,1551	0,1599	0,1139
A1a3	0,1908	0,2303	0,2637
A1a4	0,1519	0,1589	0,2878
A2a1	0,1897	0,2503	0,3104
A2a2	0,1499	0,1539	0,1382
A2a3	0,2426	0,2889	0,2763
A2a4	0,1571	0,1697	0,2664
A3a1	0,096	0,3148	0,2787
A3a2	0,1634	0,1597	0,1002
A3a3	0,1753	0,221	0,2557
A3a4	0,1406	0,1586	0,3127
A4a1	0,2082	0,3021	0,2677
A4a2	0,1255	0,167	0,1035
A4a3	0,1975	0,1951	0,2536
A4a4	0,186	0,1608	0,3226

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO  
INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0906	0,0899	0,0289
A1a2	0,0341	0,0722	0,0446
A1a3	0,2323	0,0535	0,1029
A1a4	0,4304	0,2469	0,3146
A2a1	0,0727	0,0653	0,0632
A2a2	0,0483	0,0474	0,0338
A2a3	0,373	0,1207	0,0956
A2a4	0,3434	0,1766	0,1545
A3a1	0,1282	0,063	0,0774
A3a2	0,0505	0,0357	0,0309
A3a3	0,0492	0,059	0,1446
A3a4	0,262	0,2992	0,3358
A4a1	0,1216	0,0839	0,0659
A4a2	0,042	0,0404	0,0285
A4a3	0,1542	0,117	0,159
A4a4	0,425	0,1972	0,2852

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1736	0,339	0,2646
A1a2	0,2077	0,158	0,0952
A1a3	0,1457	0,2461	0,2391
A1a4	0,0346	0,2088	0,1621
A2a1	0,2172	0,3296	0,2766
A2a2	0,2255	0,1187	0,1345
A2a3	0,1247	0,2755	0,2374
A2a4	0,0364	0,2071	0,1383
A3a1	0,1583	0,257	0,3175
A3a2	0,209	0,1463	0,1335
A3a3	0,1455	0,2383	0,2375
A3a4	0,0323	0,2147	0,1785
A4a1	0,1469	0,3157	0,2811
A4a2	0,239	0,1586	0,0928
A4a3	0,2012	0,2597	0,2181
A4a4	0,0318	0,2121	0,1523

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,084	0,0672	0,052
A1a2	0,0225	0,085	0,0359
A1a3	0,171	0,1254	0,0753
A1a4	0,4295	0,2425	0,0201
A2a1	0,1423	0,0585	0,032
A2a2	0,0068	0,1459	0,0418
A2a3	0,2308	0,1719	0,0567
A2a4	0,3926	0,2552	0,0227
A3a1	0,0317	0,1071	0,0134
A3a2	0,0243	0,0992	0,034
A3a3	0,1931	0,104	0,134
A3a4	0,3625	0,2363	0,0347
A4a1	0,0273	0,0409	0,0323
A4a2	0,0527	0,0693	0,0421
A4a3	0,0885	0,1457	0,1267
A4a4	0,6374	0,4014	0,0137

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0626	0,2141	0,238
A1a2	0,0255	0,2153	0,2277
A1a3	0,1674	0,2436	0,223
A1a4	0,098	0,195	0,0916
A2a1	0,1345	0,1678	0,1469
A2a2	0,0541	0,2165	0,2866
A2a3	0,2049	0,2289	0,283
A2a4	0,092	0,212	0,0838
A3a1	0,0247	0,2722	0,2101
A3a2	0,0457	0,2264	0,1426
A3a3	0,2891	0,2208	0,2391
A3a4	0,037	0,1915	0,1426
A4a1	0,084	0,1253	0,1432
A4a2	0,0284	0,1398	0,2026
A4a3	0,1533	0,2664	0,2277
A4a4	0,0829	0,2119	0,2036

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2843	0,0369	0,0316
A1a2	0,0958	0,0444	0,0139
A1a3	0,5822	0,3089	0,1395
A1a4	0,1239	0,4776	0,1379
A2a1	0,294	0,0671	0,0219
A2a2	0,143	0,0887	0,0191
A2a3	0,3622	0,2065	0,1275
A2a4	0,2031	0,3656	0,1505
A3a1	0,3051	0,0376	0,0119
A3a2	0,0365	0,1693	0,0283
A3a3	0,6415	0,1169	0,112
A3a4	0,1248	0,4904	0,0487
A4a1	0,441	0,0289	0,0375
A4a2	0,1006	0,0866	0,0193
A4a3	0,5672	0,1609	0,2193
A4a4	0,2069	0,3979	0,2162

**PORCO****MASSON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1905	0,2921	0,397
A1a2	0,4652	0,2699	0,3954
A1a3	0,1084	0,292	0,1695
A1a4	0,2951	0,2445	0,1586
A2a1	0,272	0,2075	0,306
A2a2	0,5794	0,225	0,2499
A2a3	0,1328	0,2209	0,2248
A2a4	0,1843	0,2438	0,3401
A3a1	0,204	0,2244	0,3592
A3a2	0,6052	0,3364	0,3665
A3a3	0,0555	0,1995	0,1255
A3a4	0,1763	0,1624	0,1939
A4a1	0,3113	0,0725	0,28
A4a2	0,6521	0,295	0,318
A4a3	0,0818	0,3038	0,15
A4a4	0,3039	0,2521	0,275

**WEIGERT VAN GIESON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3515	0,245	0,1735
A1a2	0,2317	0,1346	0,2171
A1a3	0,1771	0,1323	0,2596
A1a4	0,1243	0,1628	0,1297
A2a1	0,1934	0,0752	0,1142
A2a2	0,1909	0,1124	0,1078
A2a3	0,1629	0,0876	0,1837
A2a4	0,1042	0,0661	0,0919
A3a1	0,1725	0,2375	0,2342
A3a2	0,2847	0,1311	0,1362
A3a3	0,186	0,1254	0,1013
A3a4	0,1727	0,122	0,199
A4a1	0,2119	0,108	0,1534
A4a2	0,134	0,1102	0,1004
A4a3	0,1984	0,1222	0,1676
A4a4	0,2101	0,0196	0,1492

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3083	0,1388	0,2554
A1a2	0,3396	0,1393	0,2666
A1a3	0,3394	0,3148	0,1554
A1a4	0,2791	0,1337	0,128
A2a1	0,201	0,1053	0,3335
A2a2	0,4297	0,153	0,1911
A2a3	0,3806	0,3539	0,2587
A2a4	0,3425	0,1939	0,1367
A3a1	0,434	0,1194	0,1416
A3a2	0,3519	0,2005	0,2608
A3a3	0,2206	0,2851	0,3067
A3a4	0,3161	0,3294	0,2816
A4a1	0,2458	0,2427	0,2085
A4a2	0,4819	0,2844	0,1497
A4a3	0,2425	0,3636	0,2343
A4a4	0,2943	0,3096	0,1839

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1616	0,0533	0,1981
A1a2	0,1236	0,1294	0,0837
A1a3	0,1162	0,083	0,1442
A1a4	0,1747	0,0449	0,1537
A2a1	0,0665	0,0131	0,1187
A2a2	0,1386	0,0717	0,1216
A2a3	0,1183	0,0966	0,1567
A2a4	0,0876	0,0221	0,1477
A3a1	0,1059	0,0798	0,078
A3a2	0,1477	0,0261	0,0866
A3a3	0,0491	0,0927	0,1274
A3a4	0,0392	0,0623	0,1547
A4a1	0,1257	0,0524	0,2187
A4a2	0,0276	0,0637	0,1026
A4a3	0,0588	0,0721	0,1447
A4a4	0,0468	0,2245	0,205

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2408	0,1954	0,4197
A1a2	0,3523	0,2181	0,4542
A1a3	0,3453	0,3273	0,205
A1a4	0,4796	0,1547	0,1927
A2a1	0,1721	0,1792	0,2721
A2a2	0,4188	0,1448	0,5104
A2a3	0,4504	0,3693	0,1911
A2a4	0,5187	0,2942	0,2558
A3a1	0,325	0,2214	0,4124
A3a2	0,4083	0,1864	0,5533
A3a3	0,3431	0,3032	0,1764
A3a4	0,3555	0,2661	0,2295
A4a1	0,3769	0,2027	0,3328
A4a2	0,3993	0,2213	0,6496
A4a3	0,3702	0,3277	0,1313
A4a4	0,3464	0,2941	0,1455

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1259	0,116	0,3947
A1a2	0,0776	0,0935	0,1754
A1a3	0,0681	0,0816	0,1228
A1a4	0,1636	0,0445	0,1303
A2a1	0,0691	0,0956	0,1135
A2a2	0,0278	0,1173	0,1293
A2a3	0,0155	0,0396	0,0529
A2a4	0,0545	0,092	0,1449
A3a1	0,2013	0,0774	0,3092
A3a2	0,0204	0,0886	0,1169
A3a3	0,0156	0,0711	0,1091
A3a4	0,1144	0,1128	0,2007
A4a1	0,0602	0,1721	0,2096
A4a2	0,0672	0,0949	0,1293
A4a3	0,0601	0,0946	0,165
A4a4	0,2109	0,0811	0,1947

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1897	0,3543	0,2419
A1a2	0,2483	0,3437	0,3799
A1a3	0,2459	0,2609	0,0576
A1a4	0,1253	0,3183	0,2922
A2a1	0,3049	0,2909	0,335
A2a2	0,381	0,3214	0,4731
A2a3	0,2128	0,2378	0,0571
A2a4	0,1619	0,2804	0,2927
A3a1	0,174	0,2198	0,2646
A3a2	0,1788	0,3595	0,4656
A3a3	0,2481	0,2035	0,1372
A3a4	0,1155	0,3479	0,1637
A4a1	0,0791	0,2534	0,3034
A4a2	0,2752	0,2993	0,5002
A4a3	0,2379	0,2235	0,115
A4a4	0,2239	0,2799	0,3625

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,43	0,1427	0,2438
A1a2	0,1125	0,1123	0,217
A1a3	0,121	0,0696	0,1081
A1a4	0,1132	0,1368	0,2038
A2a1	0,3809	0,1681	0,2864
A2a2	0,0848	0,1259	0,2495
A2a3	0,0762	0,1015	0,1295
A2a4	0,1165	0,0562	0,1304
A3a1	0,4258	0,1811	0,163
A3a2	0,0397	0,1161	0,1451
A3a3	0,0958	0,0761	0,2689
A3a4	0,0156	0,1444	0,1546
A4a1	0,3299	0,1363	0,202
A4a2	0,0394	0,1093	0,1397
A4a3	0,0799	0,0781	0,2238
A4a4	0,0133	0,1642	0,2342

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0501	0,1617	0,334
A1a2	0,5274	0,4993	0,4219
A1a3	0,0997	0,1317	0,0539
A1a4	0,2289	0,2487	0,3013
A2a1	0,0654	0,216	0,2193
A2a2	0,5615	0,4433	0,409
A2a3	0,089	0,0914	0,0651
A2a4	0,204	0,3199	0,1838
A3a1	0,2151	0,1816	0,3599
A3a2	0,4673	0,4153	0,2863
A3a3	0,1267	0,0911	0,1439
A3a4	0,211	0,3003	0,1986
A4a1	0,1242	0,0948	0,3183
A4a2	0,4359	0,3805	0,3902
A4a3	0,1002	0,0617	0,1085
A4a4	0,3025	0,4	0,1531

**NÍVEL PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3047	0,3082	0,1014
A1a2	0,1478	0,2061	0,1708
A1a3	0,0786	0,1775	0,1223
A1a4	0,2324	0,1405	0,108
A2a1	0,193	0,2516	0,0498
A2a2	0,1138	0,2095	0,1124
A2a3	0,096	0,1788	0,1138
A2a4	0,1415	0,055	0,084
A3a1	0,1091	0,1858	0,1267
A3a2	0,0275	0,1389	0,1305
A3a3	0,1401	0,1292	0,1281
A3a4	0,1617	0,1992	0,0908
A4a1	0,0834	0,2151	0,088
A4a2	0,0911	0,1725	0,2529
A4a3	0,1174	0,0966	0,1376
A4a4	0,0741	0,2261	0,0309

**RATO****MASSON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1403	0,2361	0,3909
A1a2	0,2272	0,1374	0,0372
A1a3	0,1274	0,0159	0,2544
A1a4	0,1482	0,0658	0,1019
A2a1	0,1275	0,2296	0,4581
A2a2	0,3216	0,0697	0,107
A2a3	0,0899	0,0528	0,156
A2a4	0,0921	0,0728	0,0958
A3a1	0,2215	0,2916	0,2492
A3a2	0,1869	0,1027	0,0606
A3a3	0,0972	0,0246	0,2123
A3a4	0,0633	0,1093	0,1149
A4a1	0,1248	0,1882	0,5104
A4a2	0,2996	0,1479	0,2735
A4a3	0,0353	0,0656	0,354
A4a4	0,0567	0,1177	0,1626

**WEIGERT VAN GIESON****NÍVEL SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,0993	0,1158	0,3037
A1a2	0,2538	0,0785	0,2358
A1a3	0,07	0,0288	0,0272
A1a4	0,68	0,1675	0,3778
A2a1	0,3365	0,0748	0,0329
A2a2	0,2899	0,071	0,0231
A2a3	0,32	0,0713	0,0678
A2a4	0,4664	0,0828	0,1091
A3a1	0,0888	0,13	0,0948
A3a2	0,1111	0,0815	0,0092
A3a3	0,0675	0,0648	0,0479
A3a4	0,6047	0,2344	0,133
A4a1	0,1163	0,3076	0,0838
A4a2	0,2826	0,0174	0,0225
A4a3	0,0394	0,0285	0,1028
A4a4	0,8641	0,2269	0,2848

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,3194	0,067	0,2301
A1a2	0,3729	0,1047	0,3758
A1a3	0,1355	0,1032	0,3911
A1a4	0,1427	0,1296	0,1924
A2a1	0,2173	0,2549	0,403
A2a2	0,4212	0,0749	0,302
A2a3	0,1876	0,0503	0,5137
A2a4	0,144	0,1387	0,1454
A3a1	0,287	0,1618	0,1067
A3a2	0,2492	0,0668	0,3787
A3a3	0,0514	0,1571	0,3741
A3a4	0,087	0,1024	0,3675
A4a1	0,0997	0,1523	0,3148
A4a2	0,1229	0,1096	0,5253
A4a3	0,0505	0,1095	0,2388
A4a4	0,0712	0,1131	0,08

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO SUPERFICIAL**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1746	0,0153	0,0207
A1a2	0,359	0,0249	0,011
A1a3	0,0179	0,0357	0,0312
A1a4	0,6941	0,1793	0,0046
A2a1	0,0803	0,0536	0,0265
A2a2	0,3061	0,0684	0,0115
A2a3	0,0381	0,0528	0,0178
A2a4	0,4738	0,1545	0,0178
A3a1	0,1389	0,0307	0,0239
A3a2	0,231	0,0417	0,013
A3a3	0,0578	0,0436	0,0524
A3a4	0,9513	0,4549	0,0433
A4a1	0,3323	0,0571	0,021
A4a2	0,3887	0,0962	0,0083
A4a3	0,1265	0,0112	0,0333
A4a4	0,7996	0,5747	0,0337

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO  
INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,213	0,1459	0,2508
A1a2	0,4002	0,0561	0,5117
A1a3	0,0825	0,0582	0,0648
A1a4	0,1812	0,073	0,1954
A2a1	0,2678	0,1077	0,2333
A2a2	0,3817	0,0346	0,4425
A2a3	0,142	0,106	0,2654
A2a4	0,1954	0,0842	0,1374
A3a1	0,2407	0,1613	0,129
A3a2	0,248	0,0469	0,2531
A3a3	0,0902	0,0839	0,1015
A3a4	0,103	0,0996	0,1618
A4a1	0,3117	0,0236	0,2991
A4a2	0,2905	0,0595	0,3175
A4a3	0,1199	0,0632	0,1162
A4a4	0,1776	0,0174	0,1503

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO  
INTERMEDIÁRIO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,1124	0,1141	0,0368
A1a2	0,3069	0,0053	0,0089
A1a3	0,0337	0,0091	0,0378
A1a4	0,2711	0,1177	0,116
A2a1	0,2367	0,101	0,0258
A2a2	0,2471	0,0092	0,0167
A2a3	0,0438	0,0078	0,0311
A2a4	0,5964	0,5729	0,0658
A3a1	0,1253	0,0953	0,0977
A3a2	0,1371	0,006	0,087
A3a3	0,0222	0,0099	0,1015
A3a4	0,8386	0,0417	0,731
A4a1	0,263	0,0038	0,0498
A4a2	0,1993	0,0468	0,0084
A4a3	0,1028	0,0031	0,0978
A4a4	0,7787	0,2706	0,0885

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,2858	0,3789	0,3748
A1a2	0,3878	0,0216	0,2439
A1a3	0,1085	0,184	0,2617
A1a4	0,0752	0,0556	0,1723
A2a1	0,19	0,3435	0,2309
A2a2	0,3883	0,0373	0,3914
A2a3	0,2195	0,1093	0,1536
A2a4	0,0995	0,0186	0,1967
A3a1	0,2967	0,2023	0,462
A3a2	0,4093	0,0481	0,326
A3a3	0,1697	0,0865	0,052
A3a4	0,1575	0,0383	0,1991
A4a1	0,2789	0,3372	0,2089
A4a2	0,284	0,0772	0,2422
A4a3	0,2278	0,0618	0,1732
A4a4	0,1603	0,0333	0,2016

**NÍVEL INTERMEDIÁRIO PROFUNDO**

	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,152	0,0339	0,011
A1a2	0,3511	0,0902	0,0299
A1a3	0,004	0,0069	0,0546
A1a4	0,499	0,3758	0,0064
A2a1	0,0527	0,0496	0,0102
A2a2	0,1438	0,0092	0,0175
A2a3	0,017	0,0112	0,0438
A2a4	0,401	0,2483	0,1618
A3a1	0,0881	0,0217	0,2505
A3a2	0,3968	0,0559	0,0085
A3a3	0,006	0,0098	0,0746
A3a4	0,4492	0,1725	0,0178
A4a1	0,0352	0,1153	0,2102
A4a2	0,3894	0,1691	0,0027
A4a3	0,0786	0,0024	0,0813
A4a4	0,6775	0,2042	0,0339

<b>NÍVEL PROFUNDO</b>				<b>NÍVEL PROFUNDO</b>			
	<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>		<b>FS</b>	<b>BL</b>	<b>FI</b>
A1a1	0,4127	0,575	0,1502	A1a1	0,2138	0,0647	0,031
A1a2	0,2804	0,0876	0,4757	A1a2	0,306	0,0235	0,0287
A1a3	0,3309	0,2309	0,2814	A1a3	0,003	0,0052	0,0135
A1a4	0,1118	0,1501	0,2241	A1a4	0,6133	0,3865	0,0264
A2a1	0,4415	0,2812	0,351	A2a1	0,1054	0,1208	0,0278
A2a2	0,4946	0,0916	0,4187	A2a2	0,352	0,0421	0,0201
A2a3	0,3016	0,2984	0,1413	A2a3	0,0568	0,0211	0,0777
A2a4	0,2096	0,1209	0,1546	A2a4	0,58	0,3158	0,034
A3a1	0,1736	0,4674	0,1745	A3a1	0,0146	0,0321	0,0345
A3a2	0,2918	0,0922	0,4025	A3a2	0,3357	0,0637	0,039
A3a3	0,3163	0,3042	0,2004	A3a3	0,0477	0,0182	0,108
A3a4	0,1954	0,1378	0,0922	A3a4	0,275	0,351	0,0041
A4a1	0,2652	0,6195	0,4098	A4a1	0,0514	0,0506	0,0197
A4a2	0,4615	0,1488	0,4216	A4a2	0,6393	0,0667	0,0081
A4a3	0,2266	0,2739	0,1458	A4a3	0,068	0,0142	0,0198
A4a4	0,4061	0,2215	0,168	A4a4	0,0653	0,2429	0,0277

FS: face superior

BL: borda livre

FI: face inferior

A1-4: prega vocal de 1 a 4, de cada espécie

a1-4: amostras de 1 a 4, por nível

Valores obtidos: área que cada proteína ocupa em relação à área total de cada amostra

## 10. ANEXOS

### 10.1 – Comitê de ética em pesquisa

FACULDADE DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS - UNICAMP  
(CAMPUS CAMPINAS)



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** MODELOS ANIMAIS EM LARINGE

**Pesquisador:** ÉDER BARBOSA MURANAKA

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 32922314.4.0000.5404

**Instituição Proponente:** Hospital de Clínicas da UNICAMP

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 735.446

**Data da Relatoria:** 22/07/2014

##### Apresentação do Projeto:

Embora alguns modelos já tenham sido descritos, atualmente ainda não se conhece nenhum, seja sintético ou animal, que preencha todos os critérios para assumir o papel de modelo padrão-ouro em estudos de laringe. Os estudos são importantes para a aquisição de conhecimento em anatomia, fisiologia, na reprodução de doenças, para a avaliação dos diferentes tipos de tratamentos clínico-farmacológicos e, também, no desenvolvimento, aprimoramento e treinamento de técnicas cirúrgicas. Sabendo que a laringe humana possui características ímpares, e que, dificilmente uma única espécie animal será capaz de preencher todos os requisitos de similaridade em condições controladas inerentes aos trabalhos experimentais, o presente trabalho tem por objetivo avaliar anatômica e histologicamente diferentes modelos laríngeos animais e compará-los com a laringe humana.

##### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Avaliar e comparar a estratificação da prega vocal e a proporção de seus principais componentes;
- Avaliar e comparar as principais estruturas e marcos anatômicos e suas medidas e proporções.

##### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos relatados no Projeto. Quanto aos benefícios, eles podem propiciar padronização de

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

**Bairro:** Barão Geraldo

**CEP:** 13.083-887

**UF:** SP

**Município:** CAMPINAS

**Telefone:** (19)3521-8936

**Fax:** (19)3521-7187

**E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS - UNICAMP  
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 735.446

estrategiarias e subsídios sólidos para estudos subsequentes de laringe humana, tendo como base ontologia de modelos animais como referencia para estudo estrutura ou função específica.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de estudo acadêmico para dissertação de mestrado, no qual pretende-se comparar a laringe humana de doador cadáver com os equivalentes anatômicos de sete espécies animais, a saber: cão e gato: vaca, porco e carneiro; rato e coelho. O projeto já foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UNICAMP) - protocolo número 2843-1. Para o material humano-laringe-, serão seguidos os seguintes critérios:

Critérios de Inclusão:

doador cadáver com idade entre 18 e 65 anos.

Critério de Exclusão:

Histórico pessoal de radioterapia, quimioterapia, uso de imunossuppressores, uso de imunomoduladores, de cirurgia laríngea, doença laríngea granulomatosa, neoplasia (benigna ou maligna) ou de qualquer outra doença, terapia ou procedimento que possa ter alterado a micro e/ou macro-estrutura da laringe e de seus componentes Histórico mórbido/médico pessoal inacessível ou ausente.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Foram apresentados:

- Folha de rosto devidamente assinada pelo pesquisador principal e pelo superintendente do Hospital de Clínicas da UNICAMP, como instituição proponente.
- Projeto detalhado em todos os seus itens e 2 anexos: 1- Certificado de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no uso de animais da UNICAMP; 2- Carta de autorização para uso do material biológico humano sob guarda e acondicionamento do Departamento de Anatomia Patológica da FCM-UNICAMP.
- Formulário de informações básicas do projeto, contendo cronograma e orçamento compatíveis com a proposta do estudo. Neste documento, pesquisador solicita dispensa de aplicação de Termo de Consentimento livre e Esclarecido (TCLE), por se tratar de material biológico advindo da necropsia de rotina, para a qual todos os sujeitos submetidos a necropsia já tem autorização por escrito da família ou responsável legal, expressa em termo padrão obrigatório do próprio Departamento de Anatomia Patológica.
- Projeto detalhado contendo, em sua página inicial, considerações acerca dos aspectos éticos do projeto e também o pedido de dispensa de TCLE, com as devidas justificativas quais foram aceitas por esta relatoria.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887  
UF: SP Município: CAMPINAS  
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS  
MÉDICAS - UNICAMP  
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 735.446

**Recomendações:**

--

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto aprovado com dispensa de apresentação de TCLE.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

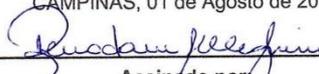
Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

- Cabe ao pesquisador desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado, elaborar e apresentar os relatórios parciais e final, bem como encaminhar os resultados para publicação com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto (Resolução 466/2012 CNS/MS). Os relatórios deverão ser enviados através da Plataforma Brasil- ícone Notificação.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo deverão ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada (com destaque) e suas justificativas. As modificações deverão ter parecer de aprovação prévia deste CEP.

CAMPINAS, 01 de Agosto de 2014

  
Assinado por:  
**Fátima Aparecida Bottcher Luiz**  
(Coordenador)



**Dra. Renata Maria dos Santos Celeghini**  
Coordenadora de Comitê de Ética em Pesquisa  
PRP / UNICAMP  
Matrícula: 28700-9

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

## 10.2 – Comissão de ética no uso de animais



UNICAMP



CEUA/Unicamp

### Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/Unicamp

#### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto "**Modelos Animais em Laringe**" (protocolo nº **2843-1**), sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Agrício Nubiato Crespo / Éder Barbosa Muranaka**, está de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotados pela **Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL)** e com a legislação vigente, **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, e o **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP - em **24 de setembro de 2012**.

Campinas, 24 de setembro de 2012.

Prof. Dra. Ana Maria A. Guaraldo  
Presidente

Fátima Alonso  
Secretária Executiva