



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO
DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

André de Carvalho Sales Peres

Efeito do envelhecimento na atrofia do músculo vocal.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre(a) em (Nome do Programa).

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Regina Helena Garcia Martins

**Botucatu
2022**

André de Carvalho Sales Peres

Efeito do envelhecimento na atrofia do músculo vocal

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre(a) em (Nome do Programa).

Orientador (a): Prof(a).Dr(a). Regina Helena Garcia Martins

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Peres, Andre de Carvalho Sales.

Efeito do envelhecimento na atrofia do músculo vocal /
Andre de Carvalho Sales Peres. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Regina Helena Garcia Martins

Capes: 40102025

1. Músculos laríngeos. 2. Distúrbios da voz. 3. Atrofia
muscular. 4. Voz - Envelhecimento. 5. Presbifonia.

Palavras-chave: Laringe; Morfometria; Músculo vocal;
Presbifonia; Voz.

Sumário

Resumo.....	5
1. Introdução.....	8
2. Objetivo.....	14
3. Casuística e Métodos.....	15
3.1 Casuística.....	15
3.2 Métodos.....	16
3.3 Análise Estatística.....	20
4. Resultados.....	21
5. Discussão.....	23
6. Conclusão.....	27
7. Referências Bibliográficas.....	28
8. Anexos.....	34
9. Apêndices.....	39

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pela dádiva da vida, pela saúde a mim concedida, pelas oportunidades oferecidas e por ter me guiado nesse caminho longo e incerto que se chama vida, com suas nuances entre alegrias e tristezas. Somente ele com sua sabedoria é capaz de entender e nos guiar por caminhos que não somos aptos a enxergar e nem capazes de entender, sempre com um propósito maior.

A minha esposa, Rafaela, que desde o início de minha jornada de estudos e preparativos para o término do curso de medicina e ingresso na residência médica, ainda no começo do namoro, me apoiou incondicionalmente, me incentivou, teve paciência e abriu mão de muitos momentos de prazer para que eu pudesse me dedicar, fez com que os meus objetivos se tornassem nossos objetivos. Sem sua ajuda jamais teria chegado até aqui. Obrigado por ser minha companheira em todos os momentos, te amo!

Aos meus pais, Arsenio e Silvia, que foram meus alicerces durante toda minha vida, sempre me apoiando, dando suporte e se fazendo presentes em cada momento, fossem eles momentos felizes ou tristes eles sempre estiveram ao meu lado e me transmitem a segurança e a certeza de que sempre conseguimos seguir em frente independente das dificuldades a serem enfrentadas. Muito obrigado por tudo!

Ao meu irmão, Matheus, meu melhor amigo e confidente, hoje colega de profissão. Graças aos seus incentivos, junto com meus pais optei por após terminar a primeira graduação seguir a medicina. Tive a oportunidade de dividir com ele momentos dos mais diversos em todas as fases de nossa vida, desde seu nascimento, passando por toda infância, adolescência e idade adulta. Tivemos a oportunidade de compartilhar desde o jardim de infância, até a faculdade e a residência médica, pois apesar de sempre cada um estar em sua fase diferente sempre estávamos juntos, seja em Bauru, Catanduva ou

Botucatu, em todas as fases de nossa jornada acadêmica/profissional. Muito obrigado pelo seu companheirismo.

A professora Dra. Regina que é uma inspiração na otorrinolaringologia, sempre muito solícita. Durante um estágio ainda em 2015, aqui no serviço de otorrinolaringologia da FMB – Unesp, fez questão de mostrar o que era a área e como ela era interessante e encantadora. Já durante a residência me apresentou um pouco do lado acadêmico da instituição e aceitou orientar este trabalho. Obrigado pela confiança.

Aos meus preceptores, que contribuíram de forma ímpar para o meu crescimento profissional, em cada dia de trabalho, cada discussão de caso, cada cirurgia foram me ajudando a crescer e a moldar o profissional que sou hoje. Obrigado!

Aos meus colegas de residência, que facilitaram minha jornada nesses três anos intensos de muito aprendizado, crescimento profissional e pessoal.

Aos funcionários do HC-FMB que fizeram parte dessa rotina e sempre solícitos facilitam nossa vida no dia a dia no trabalho no hospital, seja no ambulatório, no pronto-socorro, centro-cirúrgico ou em qualquer outro ambiente de trabalho.

Resumo

Introdução: A sarcopenia, alteração muscular com perda progressiva de massa e função que ocorre no envelhecimento, é uma condição comum em idosos e também ocorre na laringe. Na presbilaringe observa-se atrofia das pregas vocais, proeminência da apófise vocal, fenda glótica e pseudosulco. É considerada um fenômeno multifatorial, fisiológico e secundário ao processo de senescência. Entretanto, o grau de atrofia do músculo vocal nas alterações laríngeas é pouco estudado e os resultados são contraditórios.

Objetivos: Avaliar o efeito do envelhecimento no músculo tireoaritenóideo.

Metodologia: Foram analisadas 13 laringes removidas de 13 cadáveres, durante a necropsia, sendo distribuídas por faixas etárias em dois grupos: Grupo Controle - GC (n=5), entre 25 e 40 anos; Grupo Idosos- GI (n=8), igual ou acima de 70 anos. As pregas vocais direitas foram dissecadas e preparadas para estudo de microscopia eletrônica de varredura (MEV), garantindo o corte transversal na área da musculatura, para permitir as medidas dos diâmetros das fibras musculares. As imagens foram analisadas e fotografadas em diferentes aumentos. Por meio do programa ImageJ, 130 campos distintos de cada peça foram selecionados e mensuradas as áreas de secção transversal, os perímetros e os raios maior e menor das fibras musculares de ambos os grupos, para posterior análise comparativa.

Resultados: Os raios, os perímetros e as áreas das fibras musculares do músculo tireoaritenóideo do grupo de idosos (GI) foram significativamente menores do que os do grupo controle (GC).

Conclusão: O músculo tireoaritenóideo é comprometido na presbilaringe, apresentando diminuição das áreas, dos raios e dos perímetros de suas fibras musculares, correspondendo à atrofia muscular.

Palavras-chave: Laringe, voz, músculo vocal, presbifonia, morfometria, atrofia.

Abstract

Introduction: Sarcopenia, a muscle change with progressive loss of mass and function, is a common condition in the elderly and also occurs in the larynx. In the presbylarynx, there is atrophy of the vocal folds, prominence of the vocal apophysis, bowing vocal fold and pseudo sulcus. It is a physiological multifactorial phenomenon, secondary to the senescence process. However, the degree of vocal muscle atrophy in laryngeal alterations is poorly studied and the results are contradictory.

Objectives: To evaluate the effect of aging on the thyroarytenoid muscle.

Methodology: Thirteen larynxes removed from 13 cadavers were analyzed during necropsy, and were divided into two age groups: Control group – G1 (n-5), between 25 and 40 years; Elderly Group – G2 (n-8), 70 years old or older. The vocal folds were dissected and prepared for scanning electron microscopy (SEM) study, ensuring a cross-section in the musculature area to allow measurements of muscle fiber diameters. Images were analyzed and photographed at different magnifications. Through the ImageJ program, one hundred and thirty or more distinct fields of each sample was selected and the cross-sectional areas, perimeter, major axis and minor axis of the muscle fibers of both groups were measured for later comparative analysis.

Results: The cross-sectional areas, perimeter, major axis and minor axis of the thyroarytenoid muscles' fibers of the elderly group were significantly smaller than those of the control group.

Conclusion: The thyroarytenoid muscle is affected in the presbylarynx, with a reduction in the area of its muscle fibers, corresponding to muscle atrophy.

Key words: Larynx, voice, vocal muscle, presbyphonia, morphometry

1. Introdução

O envelhecimento do organismo é um processo dinâmico e progressivo, no qual há modificações estruturais em diversos órgãos. Presbifonia é a designação dada aos sintomas vocais relacionados ao envelhecimento da voz que acomete cerca de 12 a 35% dos idosos (Kendall, 2007; Moon *et al.*,2020). As alterações na voz do idoso são atribuídas, parcialmente, às modificações estruturais que ocorrem da laringe, denominada de presbilaringe. Assim, nem todo paciente idoso possui os sintomas vocais da presbifonia, mesmo quando as avaliações endoscópicas identificam alterações na laringe (Gama *et al.*,2009). A presbifonia, na prática clínica, é um diagnóstico de exclusão, visto que os pacientes idosos com sintomas vocais inicialmente devem passar por avaliação endoscópica para excluir presença de lesões como neoplasias, edema de reinke, nódulos em pregas vocais, entre outras lesões que cursam com disfonia.

O curso da presbifonia é muito variável em cada indivíduo. Em muitos, a voz se mantém com características normais, mesmo após 60 anos; em outros a voz passa a apresentar gradativamente perda de força e de potência, torna-se instável, soprosa e com diminuição de sua extensão vocal (Dejonckere e Lebacq, 2001; Pessin *et al.*, 2017)

O processo de senescência vocal acomete ambos os sexos e, mesmo em assintomáticos, as análises vocais e endoscópicas podem identificar alterações em seus registros. Kosztyla-Hojna *et al.* (2021) analisaram as vozes de 302 pacientes idosos de ambos os sexos, por meio de avaliação perceptivo-auditiva (GRBAS), análises vocais acústicas e videolaringoestroboscopia com *High Speed Digital Imagens* (HSDI). Pela escala GRBAS identificaram 230 pacientes com alterações vocais. Nas mulheres idosas identificaram discreta assimetria, aperiodicidade e redução da onda mucosa, além de insuficiência glótica posterior, indicativo de edema. Em 90% dos homens idosos havia

moderada assimetria e aperiodicidade da onda mucosa, diminuição da amplitude e insuficiência glótica da porção medial das pregas vocais, indicando atrofia de pregas vocais. Nas análises acústicas vocais observaram diminuição do Tempo Máximo de Fonação (TMF), aumento de frequência fundamental (f_0) em mulheres e diminuição em homens.

A presbifonia é um processo fisiológico que compromete todo o trato respiratório e fonatório (Kost e Sataloff, 2018). O comprometimento da função pulmonar (sistema ativador) acarreta diminuição da capacidade vital; o comprometimento do sistema neuromuscular, culmina com diminuição na condução neuromotora e em tremor, e o envolvimento do sistema muscular, resulta em atrofias musculares. Além disso, as cartilagens laríngeas hialinas adquirem diferentes graus de calcificação, as glândulas mucosas tornam hipofuncionantes, prejudicando o movimento mucocondulatório, a cobertura epitelial das pregas vocais torna-se delgada e na lâmina própria observam-se alterações estruturais expressivas como diminuição de fibras elásticas, aumento de fibras colágenas e diminuição de substância amorfa, especialmente do ácido hialurônico (Takeda *et al.*, 2000; Tomita *et al.*, 2006; Jang e Van Remmen, 2011; Branco *et al.*, 2014). As fibras colágenas não estão apenas aumentadas em densidade, mas também com distribuição alterada. Depositam-se de modo desigual em várias direções, prejudicando a maleabilidade do tecido (Hirano *et al.*, 2000; Gonçalves *et al.*, 2016). Para alguns autores o *turnover* das fibras colágenas também encontra-se prejudicado na laringe dos idosos, impedindo sua renovação e facilitando o depósito irregular das mesmas (Hirano *et al.*, 2000).

A laringe sofre influência não só da idade como também dos hormônios sexuais. No sexo masculino, a frequência fundamental da voz diminui após a adolescência, correspondendo ao período da muda vocal, sob influência dos hormônios

sexuais masculinos. Na idade adulta a voz masculina apresenta frequência fundamental aproximada entre 80 a 150Hz (Gorham-Rowan e Laures-Gore, 2006), elevando-se no idoso, acima de 65 anos, aproximadamente 35 Hz, resultado da atrofia muscular e epitelial e do enrijecimento das pregas vocais. Já no sexo feminino, a frequência fundamental se mantém por volta de 200-260 Hz até a menopausa, quando os níveis de estrógeno diminuem e os de andrógenos se elevam, o que justifica a queda da frequência fundamental em suas vozes. A partir da menopausa há uma queda de 10 a 50Hz, resultando em frequência de 150-190 Hz após os 65 anos (Dejonckere e Lebacqz, 2001; Mifune *et al.*, 2007; Bruzzi *et al.*, 2017).

Os estudos de microscopia eletrônica da laringe senil acrescentam detalhes da superfície mucosa como epitélio com junções intercelulares bem demarcadas, formando verdadeiros sulcos entre as células, aumento da descamação celular superficial e maior ondulação da superfície mucosa (Gonçalves *et al.*, 2016). Parte dessas alterações pode ser justificada pelo processo natural de envelhecimento do epitélio, onde as junções celulares perdem componentes da matriz extracelular, resultando em flacidez, descamação e retração (Hirano *et al.*, 2000). O diâmetro das fibras colágenas parece tornar-se também irregular, juntamente com a diminuição dos espaços intersticiais que as separam dos outros elementos da matriz extracelular, como glucosamina e glicosaminoglicanos (Hirano *et al.*, 2000). Há também diminuição na quantidade de fibras reticulares da lâmina própria, que corresponde a um subtipo de fibras colágenas tipo III, com diâmetros de 50 nm, responsáveis pela sustentação da membrana basal (Hirano *et al.*, 2000; Tateya *et al.*, 2007).

A sarcopenia, alteração muscular com perda de massa e função, é uma condição comum em idosos. Pode resultar de pouca atividade muscular, de carências nutricionais, desordens metabólicas ou genéticas (Nair, 2005; Jang e van Remmen, 2011).

O músculo tireoaritenóideo (TA), ou músculo vocal, parece também ser comprometido por esse processo e sua atrofia corresponde a uma importante alteração estrutural que ocorre na presbilaringe, sendo responsável por grande parte dos sintomas vocais, sem diferenciar-se entre os gêneros. Nos exames endoscópicos das pregas vocais de idosos é possível visualizar a concavidade acentuada das mesmas, tornando saliente as apófises vocais cartilaginosas, resultando em fenda glótica fusiforme (Figura 1). Tais achados expressam, não apenas o grau de atrofia do músculo TA como também as demais alterações que ocorrem em toda a cobertura mucosa das pregas vocais, incluindo a lamina própria, sendo difícil distinguir a real participação de cada uma das alterações nos achados endoscópicos.

Em estudo anterior morfométrico, realizado pelo grupo de pesquisa da orientadora desta dissertação, foram quantificados os diâmetros dos feixes musculares de pregas vocais do músculo TA de cadáveres, divididos em três faixas etárias (30 - 50, 60 - 75 e acima de 76 anos). Os diâmetros dos feixes musculares foram significativamente menores nas pregas vocais de idosos e inversamente proporcionais às faixas etárias (Martins *et al.*, 2015).

Para alguns autores, a degeneração muscular que ocorre na presbilaringe compromete os músculos de contração lenta (tipo I), os de contração rápida (tipo II), além do tecido conectivo adjacente de suporte, resultando em ruptura da arquitetura das fibras de mielina. Consequentemente, há perda de massa muscular, de velocidade e de força de contração, além de possíveis alterações nas junções neuromotoras, com redução na terminação da área do axônio e de alterações na arquitetura simpática, com aumento dos

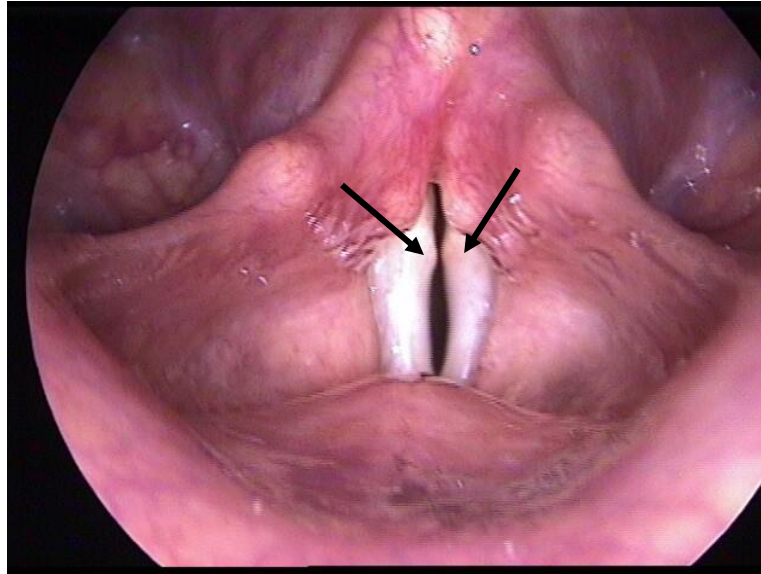


Figura 1- Exame de videolaringoscopia de paciente com presbifonia.

Destaque para a concavidade acentuada das pregas, apófises vocais cartilagosas salientes (setas) e para a fenda glótica fusiforme.

receptores pós sinápticos de acetilcolina. Parece haver também redução no número e na atividade das mitocôndrias. (Wanagat *et al.* 2001) e do fluxo sanguíneo muscular, prejudicando o fornecimento de oxigênio para os feixes musculares. Essas alterações podem resultar em atrofia do músculo vocal.

Para outros autores a redução no volume do músculo vocal em idosos não é significativa. Ziade *et al.* (2017) examinaram o comportamento do músculo TA, por meio de estudo retrospectivo de ressonância nuclear magnética (RNM) de pescoço de 40 indivíduos com idade abaixo de 65 anos e 40 indivíduos com idade acima de 65 anos. Comprimento, largura, altura e volume do músculo TA foram medidos de cada lado (direito e esquerdo), em ambos os grupos e os resultados não identificaram diferenças significativas entre os mesmos.

Saint-Victor *et al.* (2018) revisaram os prontuários médicos de 111 pacientes que haviam realizado ressonância nuclear magnética de pescoço, a fim de medir

o volume do músculo TA. Três grupos de pacientes se formaram: 18–50 anos, 51–64 anos e acima de 65 anos. Os pesquisadores não identificaram diferenças nos volumes do músculo TA entre os grupos.

Pelo exposto, percebe-se que os resultados dos estudos do músculo TA no idoso são contraditórios. A compreensão do comportamento do músculo vocal no processo de deterioração da voz com a idade é imprescindível para o desenvolvimento de propostas terapêuticas para a presbifonia, uma vez que a população idosa tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas e melhorias na qualidade de vida dessa população tem sido incentivadas cada vez mais.

2. Objetivo

Avaliar o efeito do envelhecimento no músculo tireoaritenóideo.

3. Casuística e Método

3.1 Casuística

O presente estudo foi inicialmente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Medicina Botucatu - UNESP (Parecer número 5.152.824 – Anexo I) e os familiares ou responsáveis legais dos participantes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice I).

Foram analisadas laringes removidas de cadáveres, durante necropsia, realizada no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (Unesp) realizadas no período entre junho de 2018 e junho de 2019. As laringes foram distribuídas em dois grupos, de acordo com a faixa etária: Grupo controle – G1, entre 25 e 40 anos; Grupo Idosos- G2, igual ou superior a 70 anos.

Foram incluídas apenas laringes em bom estado sem que houvesse traumatismo durante a remoção ou lesões laríngeas. Removidas em até cinco horas após o óbito. Foram incluídos apenas paciente adultos com idades entre 25 e 40 anos e superior a 70 anos.

Os critérios de exclusão foram história de sepse, intubação prolongada, lesões laríngeas, doenças infecciosas sistêmicas, doenças dermatológicas com envolvimento do tecido conjuntivo, doenças autoimunes ou distúrbios metabólicos, trauma cervical, doença do nervo periférico, Doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, distúrbios neuromotor, tabagismo ou outras causas que possam afetar as pregas vocais ou sua mucosa de cobertura e invalidar o estudo morfológico. Os prontuários médicos foram consultados para verificar as doenças anteriores. Em caso de prontuários incompletos, os familiares foram contatados para coleta de informações adicionais sobre comorbidades.

3.2. Métodos

As laringes foram removidas a fresco, com tempo máximo de cinco horas após o óbito. As pregas vocais foram cuidadosamente dissecadas e removidas (Figuras 2A e 2B). A seguir a prega vocal direita de cada peça foi preparada para o estudo de microscopia eletrônica de varredura (MEV). A prega vocal esquerda foi reservada para outro estudo com microscopia eletrônica de transmissão. Para o estudo de microscopia eletrônica de varredura as amostras foram fixadas com glutaraldeído a 2.5% durante 24 horas, lavadas em tampão de fosfato com pH 7.3, fixadas em solução de tetróxido de ósmio por 1 hora, lavadas em tampão de fosfato, desidratadas com soluções de álcool entre 75%-100% e secadas em um dispositivo (Balzers CPD-020) com dióxido de carbono líquido. Os fragmentos das pregas vocais foram montados em base de metal como cola de prata e cobertos com ouro (15nm) em um dispositivo Balzers MED-010 (Figuras 3). As amostras foram visualizadas e fotografadas em diferentes aumentos em um microscópio eletrônico de varredura (Quanta 200 FEG, FEI Company, Germany) (Figura 4).

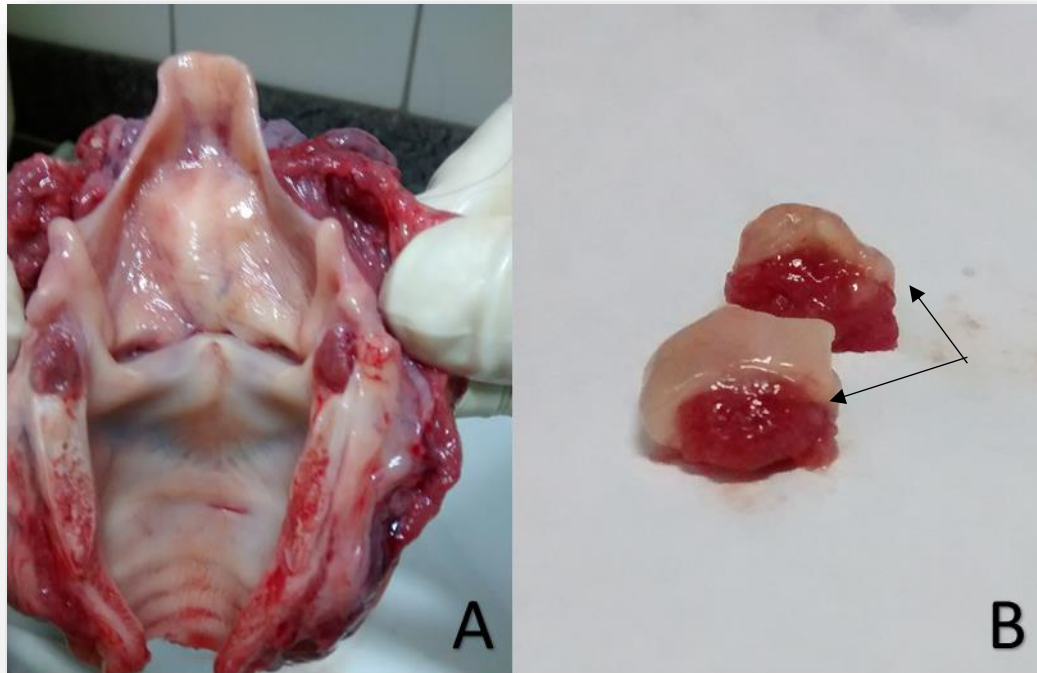


Figura 2 – (A) Laringe humana removida a fresco. (B) Pregas vocais dissecadas cuidadosamente sendo mantido corte transversal ao músculo (setas).

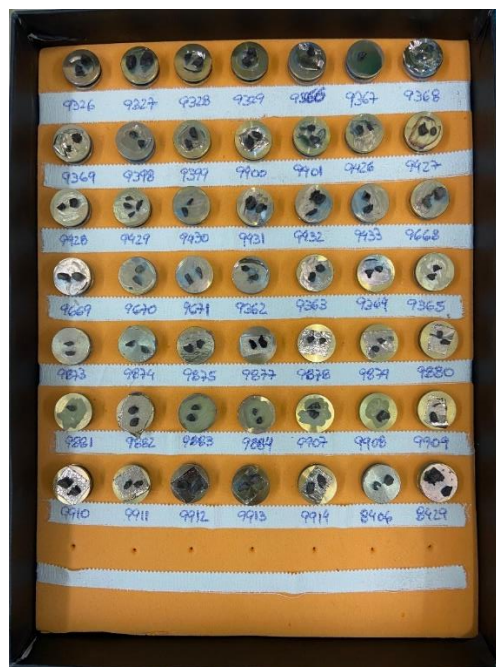


Figura 3 – Amostras metalizadas para leitura.

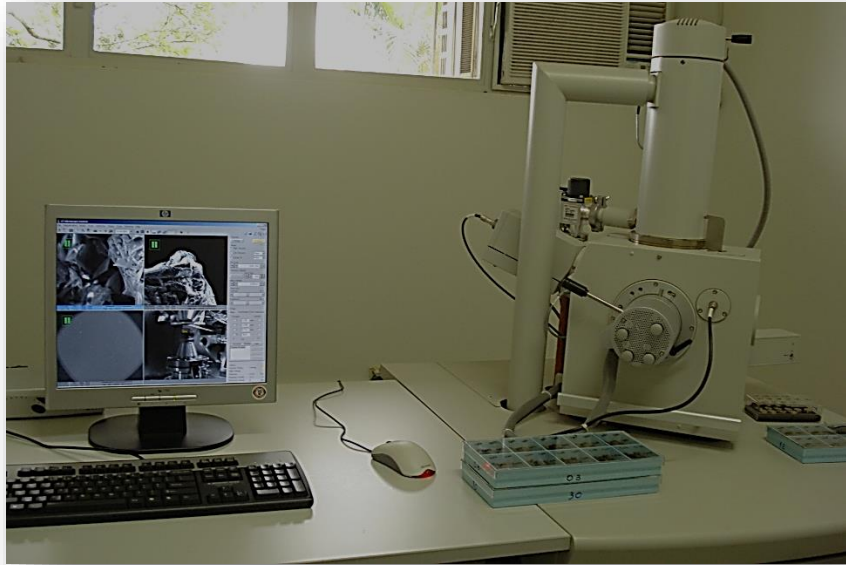


Figura 4. Microscópio eletrônico de varredura. Modelo Quanta 200 FEG, FEI, Alemanha

Foram selecionadas as imagens que estavam em total inclinação transversal anatômica, expondo perfeitamente os feixes musculares, para permitir as medidas precisas das áreas das fibras musculares das pregas vocais (Figura 5), os quais foram mensurados por meio do programa ImageJ (Figura 6), selecionando-se cento e trinta (130) ou mais campos distintos por peça. Foram mensuradas as áreas de secção transversal, o perímetro e os raios maiores e menores das fibras musculares, e comparadas entre os grupos G1 e G2.

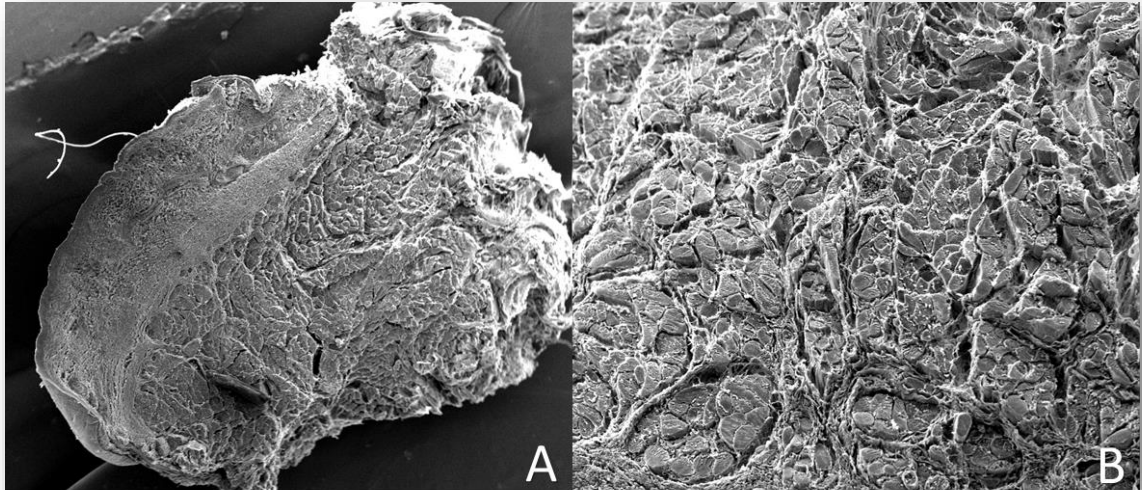


Figura 5 – A: Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um corte com total inclinação transversal anatômica (80X). B: detalhes da disposição dos feixes musculares do músculo tireoaritenóideo (300X).

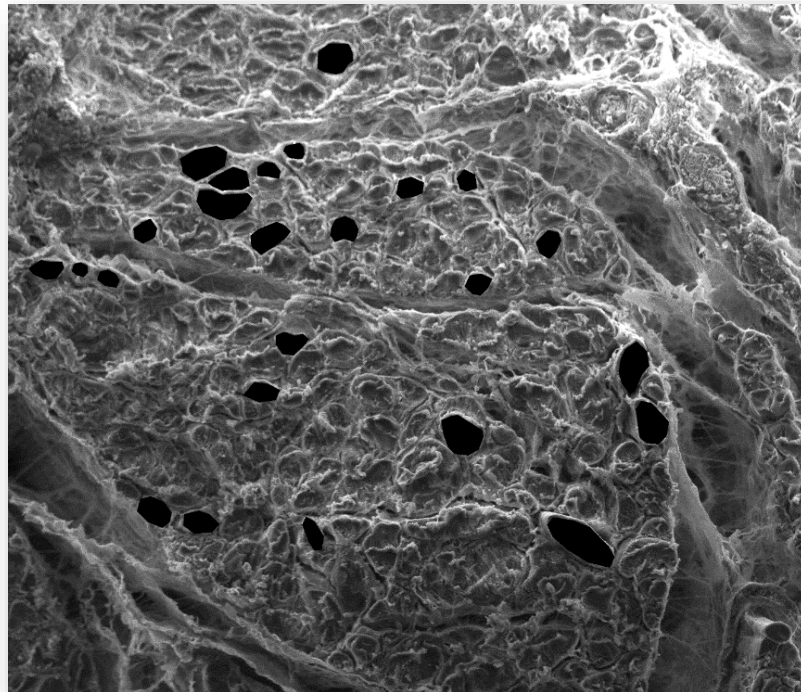


Figura 6– Feixes musculares do músculo tireoaritenóideo examinados sob microscópio eletrônico de varredura, em secção transversal anatômica, com suas áreas em preto demarcadas manualmente com o auxílio do programa Image J.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada no ambiente computacional R. Cada grupo foi inicialmente caracterizado pelas respectivas médias, desvios padrão e medianas. Estes dados apresentaram uma distribuição paramétrica. A comparação dos dados dos indivíduos dos dois grupos foi realizada pelo teste T-student para amostras independentes, devido a homogeneidade entre os grupos, avaliada pelo teste de Levene (ZAR, 2009). Todos os resultados analíticos foram discutidos considerando um nível de 5% de significância ($p < 0.05$).

4. Resultados

No período do estudo foram incluídas 13 laringes removidas de 13 cadáveres distribuídas da seguinte maneira: G-1 (grupo controle) n=5, G-2 (grupo idosos) n=8.

Os resultados das medidas das áreas, dos perímetros e dos raios maior e menor dos feixes musculares estão apresentados na tabela 1 e na figura 7. Observa-se que os valores desses parâmetros foram significativamente menores nas laringes dos idosos quando comparados aos controles.

Tabela 1. Média, desvio padrão e mediana das variáveis área, perímetro e raio dos feixes musculares do músculo tireoaritenóideo no grupo de idosos e controles.

Variável	Grupos	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	P
Área	G1- controle	5	886.3	91.89	889.8	<0.001 *
	G2- idoso	8	500.1	162.91	504.6	
Perímetro	G1- controle	5	122.2	8.97	121.5	<0.001 *
	G2- idoso	8	87.6	15.76	87.1	
Raio Maior	G1- controle	5	43.0	3.23	43.7	<0.001 *
	G2- idoso	8	31.0	5.72	30.5	
Raio Menor	G1- controle	5	25.0	1.49	24.6	0.002 *
	G2- idoso	8	19.1	3.00	19.8	

* Diferença significativa entre os grupos controle e idoso pelo teste-t-student com 5% de significância

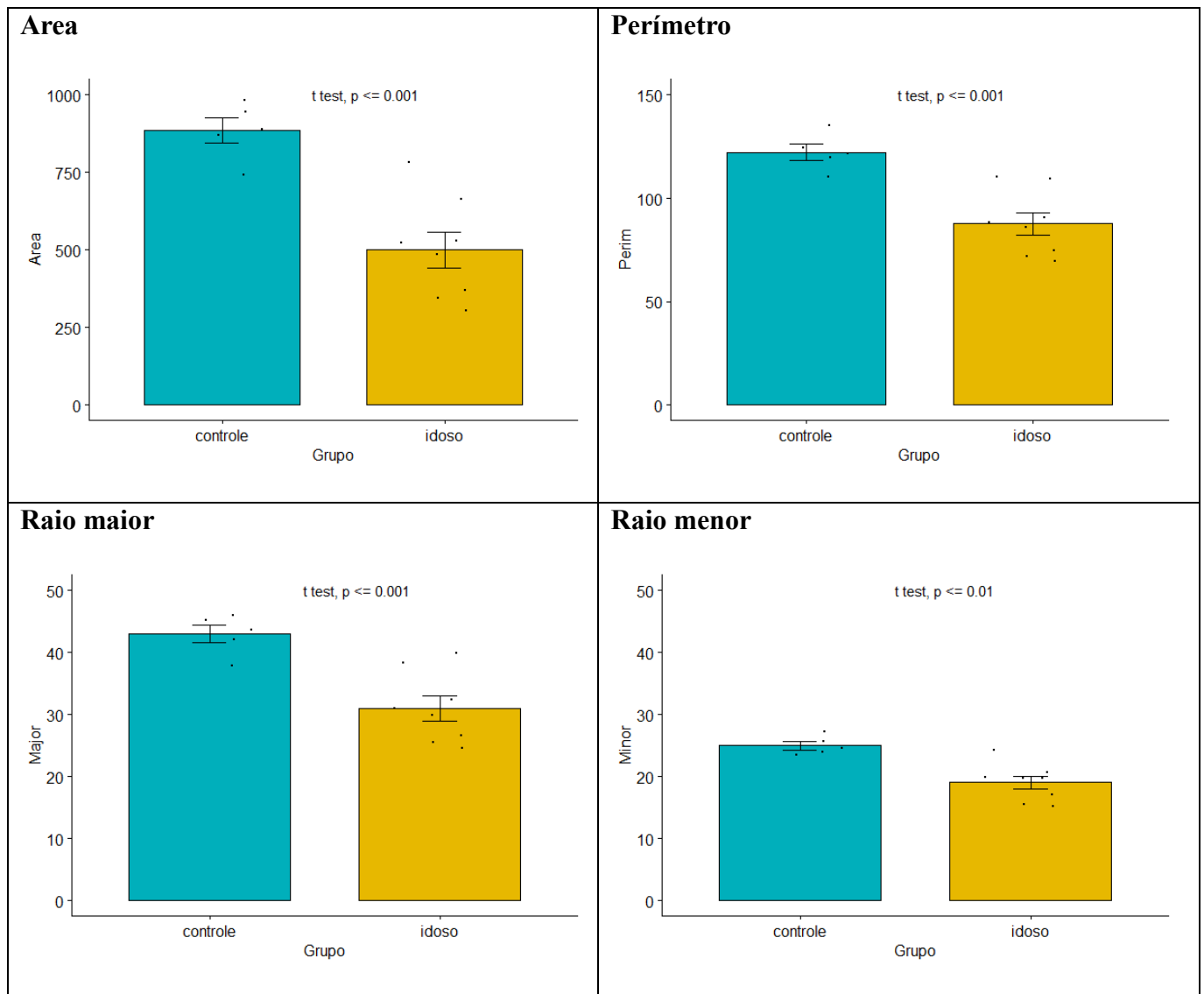


Figura 7 - Gráfico de barras das médias e erro padrão das variáveis avaliadas na laringe (Área, Perímetro, Raio Maior e Raio menor), considerando os grupos controle e idoso.

5. Discussão

Cada vez mais a população de idosos tem aumentado em todo o mundo, graças às melhorias no setor da saúde. Estima-se que atualmente, um em cada sete americanos seja idoso (Rosow e Pan, 2019). No Brasil, o último censo de 2010 indicou que a população com mais de 60 anos, correspondia a 7,5% da população. Uma prévia do censo de 2022, realizado em Paquetá, no Rio de Janeiro, mostra que quase um terço (1/3) da população local é idosa (<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/pi/paqueta.html>). Com isso, tem havido maior participação deles nas atividades sociais, profissionais e de lazer, exigindo melhorias na qualidade de vida. Neste contexto, alterações vocais podem ser um empecilho, prejudicando a comunicação e as atividades lúdicas, especialmente as esportivas e de canto.

Os sintomas vocais relacionados à presbifonia estão presentes em 15 a 35% dos idosos e muitos deles procuram os profissionais de saúde a fim de conhecer as medidas terapêuticas mais eficazes. Dentre estas, destaca-se o preenchimento com ácido hialurônico, tendo como objetivo expandir a prega vocal atrofica e reduzir assim o *gap* entre as pregas vocais. Sabe-se, no entanto, que o procedimento não é definitivo e requer novas injeções após alguns meses (Damrose e Berke, 2003). Outra terapia proposta bastante empregada é a fonoterapia. Assim, os estudos que envolvem a presbilaringe tentam desvendar detalhes estruturais que nos permitam conhecer melhor os eventos fisiológicos que ocorrem com o envelhecimento da laringe e propor novas medidas terapêuticas.

No presente estudo nós constatamos menores medidas das áreas, perímetros e raios dos feixes musculares do músculo TA em idosos, confirmando os resultados registrados por nosso grupo de pesquisa em estudo morfométrico anterior, indicativo de atrofia muscular (Martins *et al.*, 2015). Os resultados obtidos deste estudo

indicaram diferença expressiva dos diâmetros das fibras musculares entre o grupo controle e os grupos de idosos. Entretanto, esses resultados não são unânimes entre os pesquisadores. O comportamento exato do músculo vocal no processo de senescência ainda é controverso. Kersing e Jennekens (2004) descrevem apenas perda de fibras musculares tipo I. Para Sato e Tauchi (1982) há perda de fibras dos tipo I e II, porém as dimensões finais do feixe muscular podem estar aumentadas (Thomas *et al.*, 2008). Os estudos do volume do músculo vocal realizados por meio de medidas utilizando Ressonância Nuclear Magnética corroboram esses achados. Nesses estudos de imagem os autores não observaram diferenças significativas do volume muscular das laringes de idosos, quando comparados às dos jovens (Ziade *et al.*, 2017; Saint-Victor *et al.*, 2018). Uma possível explicação seria a hipertrofia compensatória que deve ocorrer nas fibras musculares remanescentes, uma vez que as pregas vocais não permanecem hipofuncionantes durante longos períodos e estão em constante atividade contrátil. Segundo alguns autores, como o músculo TA é constantemente solicitado durante a fonação, respiração e tosse, parece que o processo de sarcopenia não é tão intenso na laringe como no resto do organismo, salvo em casos de desnutrição (Malmgren *et al.*, 2001; Mallick *et al.*, 2019).

Diversos autores demonstraram as alterações laríngeas relacionadas ao processo de senescência como atrofia do epitélio, atrofia do músculo TA, glândulas hipofuncionantes, produção aumentada de fibras colágenas na lamina própria e diminuição de elastina e de ácido hialurônico. Porém não se sabe se os sintomas vocais seriam atribuídos principalmente às alterações que ocorrem na matriz extracelular da lâmina própria ou à atrofia muscular. (Sato *et al.*, 2002; Pontes *et al.*, 2006; Ohno *et al.*, 2009; Roberts *et al.*, 2011).

Outra interessante observação feita pelos pesquisadores é que o processo de atrofia dos músculos intrínsecos da laringe não ocorre uniformemente. Nishida *et al.* (2013) compararam o número e o diâmetro das fibras musculares intrínsecas da laringe, por meio da análise da composição de proteína contrátil, e de aparelhos subneurais em ratos *Wister* (adultos e idosos). Constataram diminuição significativa no diâmetro e no número de fibras do músculo cricotireoideo e uma diminuição no número, mas não o diâmetro das fibras do músculo TA, sem haver qualquer alteração nas fibras do músculo cricoaritenóideo posterior. Esses achados demonstram também a vulnerabilidade do músculo cricotireoideo nesse processo.

Se considerarmos que o grau de atrofia muscular da laringe está diretamente relacionado ao grau de incompetência glótica, podemos supor que quanto maior o *gap* entre as pregas vocais, maior seriam os sintomas vocais. McGarey *et al.* (2021) realizaram medidas do *gap* entre as pregas vocais, durante imagens de laringostroboscopia de pacientes idosos. Utilizaram para essas medidas o *software* ImageJ e constataram que pacientes com presbifonia apresentavam os maiores *gaps* nas imagens, bem como maior fase de abertura glótica. Porém não evidenciaram relação direta entre a dimensão do *gap* e os sintomas vocais, identificados por meio do questionário VHI-10.

Como vimos, o tema “presbifonia” é bastante abrangente, e há inúmeras dúvidas em sua fisiopatologia, até hoje não completamente desvendadas. Neste estudo demonstramos a atrofia dos feixes musculares em laringes de idosos. Entretanto, parece que o grau de alterações estruturais anatômicas que ocorre na presbilaringe pode não corresponder exatamente à gravidade da deterioração vocal. Pacientes com atrofia de músculo vocal pode não apresentar sintomas relevantes. Uma possível justificativa seria a habilidade da musculatura das pregas vocais e da banda ventricular em desenvolver

mecanismos compensatórios durante a fonação capazes de minimizar os sintomas. Supõem-se que tais habilidades sejam individuais, manifestando-se de forma diferente em cada indivíduo, sendo importante, sempre que possível, confrontar os achados clínicos com os endoscópicos.

Como este trabalho foi realizado através da análise de fragmentos das pregas vocais *post mortem*, não foi possível realizar avaliação vocal desses pacientes, ou seja, é possível que nem todos os pacientes do grupo idoso apresentassem presbifonia. Sendo essa a maior limitação deste estudo.

Este estudo contribui para o conhecimento da fisiopatologia do envelhecimento demonstrando, através da avaliação do músculo vocal com microscopia eletrônica de varredura, que durante o processo do envelhecimento há atrofia neste músculo. A partir destes resultados é possível compreender melhor as alterações estruturais da parte muscular das pregas vocais e assim propor novos estudos e terapias mais efetivas para que a população idosa com presbifonia possa ter melhor qualidade de vida.

6. Conclusão

Neste estudo identificamos diminuição das áreas, dos raios e dos perímetros dos feixes musculares do músculo tireoaritenóideo em idosos, indicativo de atrofia muscular.

7. Referências bibliográficas

Branco A, Rodrigues SA, Fabro AT, Fonseca-Alves CE, Martins RH. Hyaluronic acid behavior in the lamina propria of the larynx with advancing age. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014;151(4):652-6. doi: 10.1177/0194599814544673.

Bruzzi C, Salsi D, Minghetti D, Negri M, Casolino D, Sessa M. Presbyphonia. *Acta Bio Medica Atenei Parm.* 2017; 88, 6–10. doi: 10.23750/abm.v88i1.5266.

Censo 2022: teste realizado em Paquetá, no Rio, mostra que quase 1/3 da população local é idosa. G1, 2021. Disponível em: <<https://g1.globo.com/economia/noticia/2021/10/16/censo-2022-teste-realizado-em-paqueta-no-rio-mostra-que-quase-13-da-populacao-local-e-idosa.ghtml>>. Acesso em 28 de nov. de 2021.

Damrose EJ, Berke GS. Advances in the management of glottic insufficiency. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;11(6):480-4. doi: 10.1097/00020840-200312000-00013.

Dejonckere PH, Lebacqz J. Plasticity of voice quality: a prognostic factor for outcome of voice therapy? *J Voice.* 2001;15(2):251-6. doi: 10.1016/S0892-1997(01)00025-X.

Gama AC, Alves CF, Cerceau Jda S, Teixeira LC. Correlation between acoustic-perceptual data and voice-related quality of life in elderly women. *Pro Fono.* 2009;21(2):125-30. doi: 10.1590/s0104-56872009000200007.

Gonçalves TM, dos Santos DC, Pessin ABB, Martins RHG. Scanning Electron Microscopy of the Presbylarynx. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2016; 154(6), 1073–1078. doi:10.1177/0194599816637081.

Gorham-Rowan MM, Laures-Gore J. Acoustic-perceptual correlates of voice quality in elderly men and women. *J Commun Disord*. 2006;39(3):171-84. doi: 10.1016/j.jcomdis.2005.11.005.

Hirano M, Sato K, Nakashima T. Fibroblasts in geriatric vocal fold mucosa. *Acta Otolaryngol*. 2000;120(2):336-40. doi: 10.1080/000164800750001215.

Jang YC, Van Remmen H. Age-associated alterations of the neuromuscular junction. *Exp Gerontol*. 2011;46(2-3):193-8. doi: 10.1016/j.exger.2010.08.029.

Kendall K. Presbyphonia: a review. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007; 15:137–140.

Kersing W, Jennekens FG. Age-related changes in human thyroarytenoid muscles: a histological and histochemical study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2004;261(7):386-92. doi: 10.1007/s00405-003-0702-z.

Kost KM, Sataloff RT. Voice Disorders in the Elderly. *Clin Geriatr Med*. 2018;34(2):191-203. doi: 10.1016/j.cger.2018.01.010.

Kosztyła-Hojna B, Zdrojkowski M, Duchnowska E. Presbyphonia as an Individual Process of Voice Change. *J Voice*. 2021;22:S0892-1997(21)00001-1. doi: 10.1016/j.jvoice.2020.12.046.

Mallick AS, Garas G, and McGlashan J. Presbylaryngis: a state-of-the-art review. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019;27:168–177 doi:10.1097/MOO.0000000000000540.

Malmgren LT, Jones CE, Bookman LM. Muscle fiber and satellite cell apoptosis in the aging human thyroarytenoid muscle: a stereological study with confocal laser scanning microscopy. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2001;125(1):34-9. doi: 10.1067/mhn.2001.116449.

Martins RH, Benito Pessin AB, Nassib DJ, Branco A, Rodrigues SA, Matheus SM Aging voice and the laryngeal muscle atrophy. *Laryngoscope*. 2015; 125(11):2518-21. doi: 10.1002/lary.25398.

McGarey PO Jr, Bitar R, Hughes CK, Hodson N, Harris EA, Dominguez LM, Dion GR, Simpson CB. Correlation of glottic gap and voice impairment in presbyphonia. *Laryngoscope*. 2021;131(7):1594-1598. doi: 10.1002/lary.29068.

Mifune E, Justino VSS, Camargo Z, Gregio F. Acoustic analysis of aging voice: fundamental frequency characterization. *Rev CEFAC* 2007; 9:238–247. doi:10.1590/S1516-18462007000200013.

Moon S, Park J, Yang S. The effects of therapeutic singing on vocal functions of the elderly: a study on Korean elderly. *J Voice*. 2020; 14:S0892-1997(20)30233-2. doi: 10.1016/j.jvoice.2020.06.007.

Nair KS. Aging muscle. *Am J Clin Nutr*. 2005;81(5):953-63. doi: 10.1093/ajcn/81.5.953.

Nishida, N., Taguchi, A., Motoyoshi, K., Hyodo, M., Gyo, K., & Desaki, J. Age-related changes in rat intrinsic laryngeal muscles: analysis of muscle fibers, muscle fiber proteins, and subneural apparatuses. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol*, 2013; 270(3), 975–984. doi:10.1007/s00405-012-2231-0.

Ohno T, Hirano S, Rousseau B. Age-associated changes in the expression and deposition of vocal fold collagen and hyaluronan. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2009;118(10):735-41. doi: 10.1177/000348940911801009.

Pessin AB, Tavares EL, Gramuglia AC, de Carvalho LR, Martins RH. Voice and ageing: clinical, endoscopic and acoustic investigation. *Clin Otolaryngol*. 2017;42(2):330-335. doi: 10.1111/coa.12725.

Pontes P, Yamasaki R, Behlau M. Morphological and functional aspects of the senile larynx. *Folia Phoniatr Logop*. 2006;58(3):151-8. doi: 10.1159/000091729.

Roberts T, Morton R, Al-Ali S. Microstructure of the vocal fold in elderly humans. *Clin Anat*. 2011;24(5):544-51. doi: 10.1002/ca.21114.

Rosow DE, Pan DR. Presbyphonia and Minimal Glottic Insufficiency. *Otolaryngol Clin North Am.* 2019;52(4):617-625. doi: 10.1016/j.otc.2019.03.005.

Saint-Victor S, Barbarite E, Sidani C, Bhatia R, Rosow DE. Volumetric analysis of vocal fold atrophy via magnetic resonance imaging. *J Laryngol Otol.* 2018;132(9):822-826. doi: 10.1017/S0022215118001573.

Sato K, Hirano M, Nakashima T. Age-related changes of collagenous fibers in the human vocal fold mucosa. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2002;111(1):15-20. doi: 10.1177/000348940211100103.

Sato T, Tauchi H. Age changes in human vocal muscle. *Mech Ageing Dev.* 1982;18(1):67-74. doi: 10.1016/0047-6374(82)90031-8.

Takeda N, Thomas GR, Ludlow CL. Aging effects on motor units in the human thyroarytenoid muscle. *Laryngoscope.* 2000;110(6):1018-25. doi: 10.1097/00005537-200006000-00025.

Tateya T, Tateya I, Bless DM. Immuno-scanning electron microscopy of collagen types I and III in human vocal fold lamina propria. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2007;116(2):156-9. doi: 10.1177/000348940711600212.

Thomas LB, Harrison AL, Stemple JC. Aging thyroarytenoid and limb skeletal muscle: lessons in contrast. *J Voice.* 2008;22(4):430-50. doi: 10.1016/j.jvoice.2006.11.006.

Tomita H, Nakashima T, Maeda A, Umeno H, Sato K. Age related changes in the distribution of laryngeal glands in the human adult larynx. *Auris Nasus Larynx*. 2006;33(3):289-94. doi: 10.1016/j.anl.2006.01.001.

Wanagat J, Cao Z, Pathare P, Aiken JM. Mitochondrial DNA deletion mutations colocalize with segmental electron transport system abnormalities, muscle fiber atrophy, fiber splitting, and oxidative damage in sarcopenia. *FASEB J*. 2001;15(2):322-32. doi: 10.1096/fj.00-0320com.

Zar JH. *Biostatistical analysis*. 5th ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall; 2009.

Ziade G, Semaan S, Ghulmiyyah J, Kasti M, Hamdan ALH. Structural and Anatomic Laryngeal Measurements in Geriatric Population Using MRI. *J Voice*. 2017;31(3):359-362. doi: 10.1016/j.jvoice.2016.06.008.

FACULDADE DE MEDICINA DE
BOTUCATU -UNESP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo de microscopia eletrônica de transmissão e varredura de pregas vocais de idosos

Pesquisador: Tatiana Maria Goncalves

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 13242413.1.0000.5411

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu ((HCFMB))

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 211.190

Data da Relatoria: 04/03/2013

Apresentação do Projeto:

O envelhecimento do organismo se estende às estruturas da laringe, caracterizando a presbifonia. O grau de deterioração vocal do idoso depende de fatores individuais, de doenças respiratórias e sistêmicas, do estado geral nutricional, de hábitos e vícios, entre outros fatores. A voz do idoso tende a se tornar mais baixa, fraca, trêmula e soproza. Muitos deles queixam-se de dificuldade na fala e no canto, frente à diminuição da extensão vocal. Os homens apresentam aumento da frequência fundamental, tornando a voz mais aguda; já as mulheres apresentam timbre vocal mais grave. Quase todos os parâmetros vocais acústicos encontram-se comprometidos. Na última década diversos autores desvendaram muitas dessas alterações que incluem calcificação das cartilagens laringeas, diminuição das glândulas mucosas, alteração no controle neuromotor e atrofia epitelial e da lamina própria. Nesta última é descrita ainda aumento no número das fibras colágenas em todas as camadas, diminuição das fibras elásticas e do ácido hialurônico. A maioria dos estudos relacionados à presbifonia aborda aspectos histopatológicos e imunohistoquímicos. Poucos deles realizaram microscopia eletrônica de varredura e de transmissão da laringe senil, os quais acrescentarão informações importantes nessa linha de

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br

pesquisa.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a densidade e proporção de fibras colágenas e elásticas na lamina própria além do exame detalhado da cobertura epitelial através de microscopia eletrônica de varredura. Analisar por microscopia de transmissão a ultraestrutura dos fibroblastos, principal célula da lamina própria, e tentar desvendar os motivos pelos quais essas células passam a produzir anormalmente fibras colágenas, tornando as pregas vocais dos idosos mais rígidas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não se aplica

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está bem estruturado e constam as declarações exigidas por este CEP. Apesar disso, não apresenta um cálculo amostral e cita apenas análises descritivas para os dados coletados

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os autores solicitam dispensa do TCLE por se tratar de um estudo em que seria difícil encontrar os responsáveis pelo material a ser utilizados. Em todo caso, é apresentado um TCLE para o caso de contatos com possíveis responsáveis, que é claro e descreve os objetivos do estudo. Os demais termos estão incluídos.

Recomendações:

Recomenda-se aprovação do presente projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Por decisão de colegiado ficou decidido que a solicitação de dispensa de aplicação do TCLE não foi aprovado, portanto somente poderão ser inclusos neste projeto os familiares que assinarem o TCLE.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

APROVADO COM A SEGUINTE CONDIÇÃO: SOLICITAÇÃO DE DISPENSA DE APLICAÇÃO DO TCLE - NEGADA. SOMENTE PODERÃO SER INCLUSOS NESTE PROTOCOLO OS FAMILIARES QUE ASSINAREM O TCLE.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

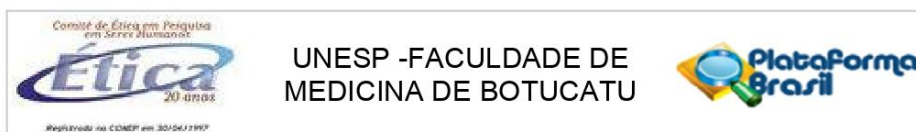
UF: SP

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo de microscopia eletrônica de transmissão e varredura de pregas vocais de idosos

Pesquisador: Tatiana Maria Goncalves

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 13242413.1.0000.5411

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.152.824

Apresentação do Projeto:

As informações apresentadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa.

Trata a presente emenda de solicitação de inclusão de pesquisador no presente projeto de pesquisa.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a solicitação de inclusão de pesquisador o presente projeto de pesquisa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Já avaliados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora envia carta em que vem por meio deste solicitar a inclusão na Pesquisa intitulada: "Estudo de microscopia eletrônica de transmissão e varredura de pregas vocais de idosos" do pesquisador André de Carvalho Sales Peres, CPF: 328846368-70, lembrando que o pesquisador já faz parte da equipe da pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Já avaliados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise em REUNIÃO ORDINÁRIA, o Colegiado deliberou APROVAÇÃO da EMENDA

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior **CEP:** 18.618-970
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609 **E-mail:** cep@fmb.unesp.br

Continuação do Parecer: 5.152.824

apresentada.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado, em REUNIÃO ORDINÁRIA do Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP, realizada em 06/12/2021, a EMENDA apresentada encontra-se APROVADA.

Ao final da execução da pesquisa, o Pesquisador deverá enviar o Relatório Final de Atividades, na forma de Notificação, via Plataforma Brasil.

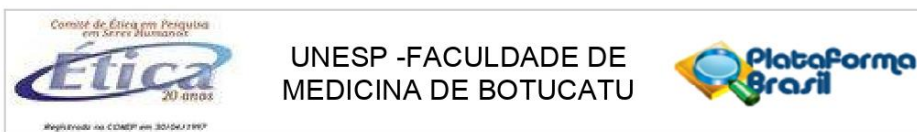
Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa FMB/UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_759387 E1.pdf	10/11/2021 11:26:36		Aceito
Outros	Justificativa_inclusao_pesquisador_Andre.pdf	10/11/2021 11:17:51	Regina Helena Garcia Martins	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo de Consentimento Livre eEsclarecido para familiares.doc	19/02/2013 17:57:12		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo de Consentimento Livre eEsclarecido para familiares grupo controle.doc	19/02/2013 17:56:53		Aceito
Outros	dispensa TCLE.jpg	19/02/2013 17:27:54		Aceito
Outros	decl_resolucao(2).jpg	18/02/2013 17:16:03		Aceito
Outros	decl_patologia(1).jpg	18/02/2013 17:11:44		Aceito
Outros	decl_chefe depto.jpg	18/02/2013 17:06:37		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto projeto idoso.jpg	14/02/2013 16:00:09		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto comite.doc	07/02/2013 17:20:02		Aceito

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior **CEP:** 18.618-970
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609 **E-mail:** cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 5.152.824

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 08 de Dezembro de 2021

Assinado por:
Trajano Sardenberg
(Coordenador(a))

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior **CEP:** 18.618-970
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609 **E-mail:** cep@fmb.unesp.br

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Estudo de microscopia eletrônica de transmissão e varredura de pregas vocais de idosos

Estamos realizando um projeto de pesquisa com a finalidade de avaliar as alterações ocorridas nas pregas vocais de indivíduos idosos. Com este estudo, procuraremos identificar as principais alterações que ocorrem em indivíduos com mais de 75 anos, para que medidas terapêuticas possam ser futuramente aplicadas e desenvolvidas. Para esta finalidade será realizado estudo microscópico das pregas vocais removidas rotineiramente durante o processo de necropsia de pacientes do departamento de Patologia. O estudo incluirá peças de laringe de cadáveres idosos, idade acima de 75 anos. Convidamos e solicitamos sua colaboração no sentido de autorizar o estudo do material obtido na necropsia de seu familiar. Os resultados obtidos neste estudo serão publicados nas revistas médicas de nossa especialidade, entretanto em nenhum momento os dados de identificação de seu familiar serão expostos. O Sr (a) poderá desistir ou se recusar a autorizar a inclusão de seu familiar no projeto a qualquer momento, mesmo tendo inicialmente aceito. Se o Sr (a) tiver alguma dúvida adicional, poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição através do telefone (14) 3880-1608 ou 3880-1609. Este documento será elaborado em duas vias, uma será entregue ao participante e outra ficará com o pesquisador.

Termo de consentimento livre e esclarecido direcionado aos familiares

Tendo sido informado sobre o projeto de pesquisa acima relacionado de autoria da médica Tatiana Maria Goncalves, sob orientação da Prof^a Dr^a Regina Helena Garcia Martins, autorizo a utilização das peças da laringe de meu familiar previamente removidas durante a necropsia para esse estudo, bem como a publicação em revistas científicas dos resultados encontrados.

Familiar

Dr^a Regina Helena Garcia Martins

Dr^a Tatiana M. Goncalves

Dra Regina Helena Garcia Martins.medica otorrinolaringologista. Rua: Prof. Rafael Laurindo, 496 – Jd Paraíso – Botucatu – Fone: 3815-1563.
rmartins@fmb.unesp.com.br

Dra Tatiana M. Goncalves.medica otorrinolaringologista Rua:Rua Campos Sales 750, AP 22, Centro – Botucatu – Fone: 81612002
tati_unesp@hotmail.com