



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

Trabalho Final do Mestrado Integrado em Medicina

Cicatrização das cordas vocais

Uma visão histológica do problema

- Artigo de Revisão -

Ano lectivo 2015/2016

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

Orientador: Dr. Marco Simão

André Encantado Faria

12761

ABSTRACT

Nowadays, dysphonia associated to vocal fold scarring is a challenge to patients and clinicians. Although there are no epidemiology statistics, it's consensual that vocal fold scarring is biggest single cause of dysphonia after vocal fold surgery. Despite of newer medical and surgical interventions, obtained results are inconsistent and suboptimal, being prevention the current best treatment. To a better approach of this issue, is therefore essential that practitioners have a good comprehension of the anatomy, and above all, of the histology of lamina propria, as well the mechanisms of the vocal fold scar, all themes that this article pretends to review.

INTRODUÇÃO

Actualmente, a disfonia associada à cicatrização das cordas vocais é um dos mais desafiantes problemas que se coloca a médicos e doentes. Embora na literatura não existam dados estatísticos sobre a incidência e prevalência desta, é consensual que a cicatrização das cordas vocais constitui a maior causa isolada de disfunção da voz após cirurgia às cordas vocais.¹ Apesar do desenvolvimento de novas intervenções médicas e cirúrgicas, os resultados obtidos são inconsistentes e subóptimos, mantendo-se a prevenção como melhor tratamento. Para uma melhor abordagem do problema é, por isso, essencial que os clínicos tenham uma boa compreensão da anatomia e, sobretudo, da histologia da lâmina própria da corda vocal, bem como da fisiopatologia do processo de cicatrização, temáticas essas que este artigo de revisão pretende explicar.

ANATOMIA E HISTOLOGIA DAS CORDAS VOCAIS

Essencialmente, a laringe humana consiste numa estrutura óssea, cartilaginosa e membranosa, revestida por mucosa.² Os músculos laríngeos controlam as posições relativas dos componentes individuais da estrutura, conferindo-lhe a dinâmica necessária para a realização das suas três funções: protecção da via aérea durante a deglutição, regulação do fluxo de ar inspirado e expirado, e fonação.³

Para efeitos clínicos é comum dividir-se a laringe em supraglote, glote e subglote. A supraglote e a subglote são revestidas unicamente por epitélio respiratório, enquanto a glote, na sua porção anterior, é por epitélio pavimentoso. A transição entre estes epitélios delimita a glote.

A glote é composta por uma porção intermembranosa ou glote anterior e por uma porção intercartilaginosa ou glote posterior.⁴

A glote anterior corresponde à verdadeira corda vocal, tendo como função a fonação. Esta une-se anteriormente à cartilagem tiroideia por via do tendão da comissura anterior e, posteriormente, à apófise vocal da cartilagem aritnóideia por via da *macula flava* posterior. A

glote posterior é responsável principalmente pela respiração e corresponde às cartilagens aritnóideias e cricoideia.

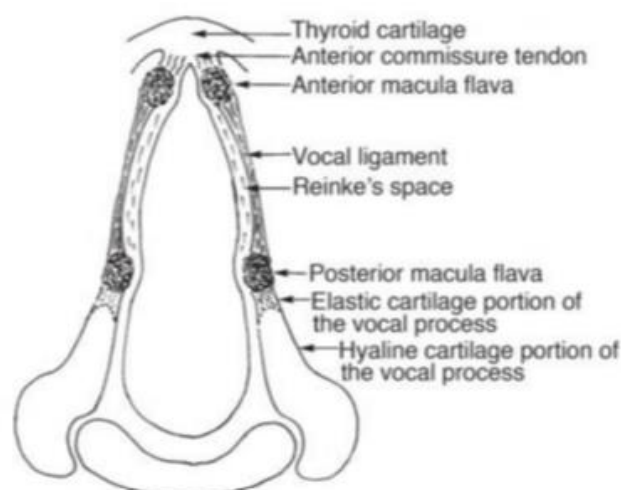


Figura 1 - Corte histológico parafrontal de laringe adulta (coloração Van Gieson)

Nele observam-se os três andares da laringe – supraglote, glote e subglote. Na corda vocal observa-se claramente o corpo da corda vocal (músculo vocal), o ligamento vocal e a capa da corda vocal (epitélio e espaço de Reinke). A teoria corpo-capa é uma forma simplificada de conceptualizar a corda vocal para explicar as suas capacidades vibratórias.

Imagem cedida pela Coleção de cortes histológicos do Professor Mário Andrea, Clínica Universitária de Otorrinolaringologia da FML

As apófises vocais formam a estrutura firme da glote e são mais flexíveis nas extremidades, o que lhes permite durante a adução e abdução, dobrarem-se nesta porção de cartilagem elástica. Contudo, como as cartilagens das apófises vocais não participam nas acções vibratórias das cordas vocais, não se consideram como parte integrante das mesmas.⁵



Histologicamente, a corda vocal adulta tem uma estrutura de 5 camadas que consiste em epitélio; camadas superficial, intermédia e profunda da lâmina própria; e músculo vocal.

Epitélio

Figura 2 - Esquema da glote

As cordas vocais estão cobertas por epitélio pavimentoso estratificado, contendo entre 6 a 7 camadas de células pavimentosas. As células das camadas basais são colunares e têm uma elevada concentração de desmossomas na junção entre células epiteliais, o que garante uma firme adesão intercelular. À medida que as camadas vão sendo mais superficiais, os desmossomas vão sendo mais escassos e as células mais pavimentosas, reflectindo uma menor actividade mitótica e menor agregação das mesmas. A camada mais superficial é composta por células pavimentosas finas, com microvilosidades e microsulcos no seu bordo apical. A lubrificação é essencial para uma normal fonação. As microvilosidades e microsulcos facilitam a dispersão e retenção de uma “capa mucosa”, produzida pelas células caliciformes presentes nos tecidos adjacentes.⁶

Membrana basal

Situada entre o epitélio e a lâmina própria subjacente, a membrana basal fornece suporte físico ao epitélio e é essencial para a reparação do epitélio.⁷

A membrana basal é constituída por 2 zonas: a lâmina lucida e a lâmina densa.

Discerníveis apenas à microscopia electrónica, a lâmina lucida visualiza-se como uma zona de baixa densidade adjacente à membrana celular, contendo apenas as porções extracelular das proteínas



Figura 3 – Corte histológico vertical da corda vocal. (coloração Elastina van Gieson)
E, epitélio; SL, camada superficial da lâmina própria; IL, camada intermédia da lâmina própria; DL, camada profunda da lâmina própria; VM, músculo vocal

transmembranares de adesão celular, sobretudo receptores de laminina e fibronectina. A lâmina densa é uma área de maior densidade de filamentos adjacente à lâmina própria. A lâmina densa contém colagénio tipo IV e lamininas.^{8,9}

Os hemidesmosomas ligam as células basais à membrana basal, enquanto as fibrilhas de ancoragem (colagénio tipo VII) “prendem” a membrana basal à lâmina própria da corda vocal.⁸

Camada superficial da lâmina própria

(Espaço de Reinke)

O espaço de Reinke é fundamental para a fonação.¹⁰ A viscoelasticidade da lâmina própria da corda vocal é um determinante major no comportamento vibratório da estrutura.¹¹ Contudo, dado estar sujeita a grande stress durante a vibração da corda vocal, é necessário que a lâmina própria possua também uma estrutura resiliente.

O espaço de Reinke é essencialmente constituído por matriz extracelular sendo parco em células. É possível de observar alguns fibroblastos dispersos na camada superficial lâmina própria da corda vocal adulta saudável.¹⁰ Em condições normais, os fibroblastos estão inactivos e quiescentes, produzindo pouca matriz extracelular.¹²

A matriz extracelular inclui proteínas, carboidratos e lípidos. Dadas as limitações histológicas para a identificação dos carboidratos e lípidos existentes na lâmina própria da corda vocal, os estudos anteriormente feitos sobre a composição da matriz extracelular contemplam apenas as proteínas, dividindo-as em proteínas intersticiais e proteínas fibróticas.¹³

As proteínas fibróticas têm uma função de suporte, constituindo o esqueleto da lâmina própria e apresentando uma grande resiliência e força tênsil. As proteínas intersticiais controlam a viscosidade do tecido, conteúdo aquoso, dimensão do tecido, e tamanho e densidade das fibras colagenosas.¹⁴

As proteínas fibróticas correspondem aos colagénios e às elastinas, que se organizam sob a forma de fibras de colagénio (colagénio tipo IV), fibras reticulares (colagénio tipo III) e fibras elásticas

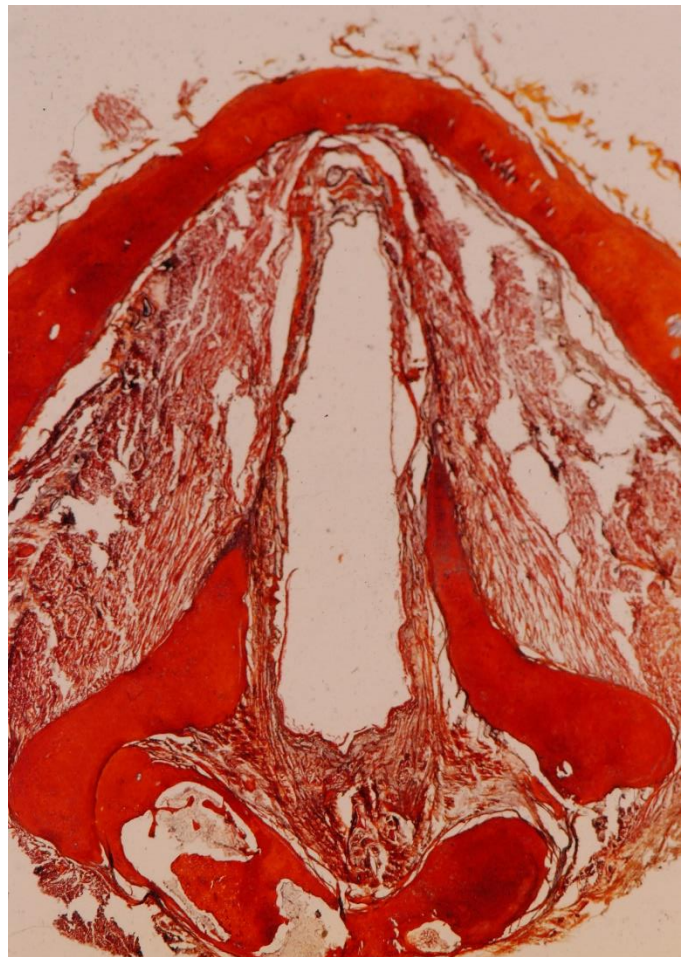


Figura 4 - Corte histológico horizontal da corda vocal (coloração hematoxilina e eosina)

(elastina). As fibras reticulares são as mais abundantes e estão presentes nas camadas superficial e intermédia da lâmina própria. Ao invés de se agruparem em feixes, as fibras reticulares formam uma intrincada rede tri-dimensional que permite a manutenção de uma estrutura estável, sem grande deformação dada a sua baixa capacidade de estiramento. As fibras reticulares localizam-se nas áreas sujeitas a maior vibração, apresentando maior concentração em redor do bordo livre da corda vocal, e sendo mais escassas nas faces superior e inferior das cordas vocais.¹⁴

Ao contrário das fibras reticulares, as fibras elásticas são as principais contribuintes para a vibração da corda vocal. Embora mais curtas, estas fibras têm a capacidade de se alongar até cerca de 2x o seu comprimento quando sujeitas a pequenas forças, retomando a sua forma original quando estas desaparecem. As fibras reticulares localizam-se principalmente na camada intermédia da lâmina própria e nas zonas mais profundas do espaço de Reinke, estando dispostas em várias direcções e interligadas entre si.¹¹⁻¹³

As proteínas intersticiais correspondem aos proteoglicanos e às glicoproteínas. Consoante a semelhança na composição dos proteoglicanos, podemos agrupá-los em grandes proteoglicanos e pequenos proteoglicanos.

Os grandes proteoglicanos tendem a agregar, sendo os mais importantes os agreganos e os versicanos. Contudo, e apesar de ser um glicosaminoglicano, a molécula mais importante para a viscosidade da corda vocal é o ácido hialurónico.

O ácido hialurónico consiste numa muito longa cadeia linear heteropolissacarídea não covalentemente ligada a um núcleo proteico. Tem um elevado peso molecular ($> 10^6$), grande densidade de cargas eléctricas negativas e tende a formar uma estrutura tridimensional em “serpentina”.¹⁵ Por meio de proteínas de ligação, os agreganos ligam-se indirectamente ao ácido hialurónico, formando enormes macromoléculas – os agregados proteoglicânicos. Graças à grande densidade de polianiões, os agregados proteoglicânicos atraem água formando um género de “gel hidratado”.⁷ Uma maior concentração de ácido hialurónico significa menor viscosidade, o que facilita a fonação, visto ser necessária menos pressão para que as cordas vocais oscilem.¹⁵

A concentração de ácido hialurónico é maior na face inferior que nos bordos das cordas vocais. Esta área corresponde à região onde a onda mucosa se inicia no seu trajecto vertical.¹³

O ácido hialurónico é também muito importante na regulação da matriz extracelular; contém vários locais de ligação para factores de crescimento, nomeadamente o factor de crescimento transformante beta (TGF- β).⁷ A ligação de factores de crescimento aos proteoglicanos influencia localmente a sua agregação/dispersão, além de ter um papel fundamental na sua síntese ao regular o crescimento, proliferação e diferenciação celular.

Por exemplo, Hallen et al^{16,17} mostraram que a injeção de ácido hialurônico (dextranómeros no ácido hialurônico ou Hylan B gel) em cordas vocais de coelho induziam o crescimento de tecido colagenoso na matriz extracelular da corda vocal, aumentando a viscoelasticidade.

Os pequenos proteoglicanos ricos em leucina têm uma função predominantemente regulatória e incluem: decorinas, biglicanos e fibromodulinas.

Numa corda vocal adulta saudável, as decorinas existem em elevada concentração no espaço de Reinke, enquanto as fibromodulinas predominam nas camadas intermédia e profunda da lâmina própria. Embora não se conheçam concretamente os mecanismos envolvidos, a literatura é consensual na evidência de que concentrações mais elevadas de decorina cursam com menor taxa de agregação das fibras de colagénio e inclusivé, da síntese de colagénio.¹⁹ Com o efeito oposto, os biglicanos são verdadeiramente a antítese das decorinas. Frequentemente, a presença e distribuição destes dois proteoglicanos são inversamente proporcionais.¹³ As concentrações de biglicano são elevadas (e a de decorinas baixas) nas cicatrizes hipertróficas e imaturas, e baixas no tecido saudável e cicatrizes maduras normais. Pensa-se que o gene biglicano possa resultar de uma duplicação do gene da decorina (gene DCN).¹⁸ Embora estruturalmente semelhante às decorinas, as fibromodulinas não têm as mesmas propriedades biológicas.¹³ As fibromodulinas ligam-se e potencialmente inibem o TGF- β , que estimula a síntese de colagénio.²⁰ Paradoxalmente, as fibromodulinas têm maior concentração em torno do ligamento vocal e diminuem a sua concentração nas primeiras semanas da regeneração das cordas vocais. Gray et al (1999), justificam-no pelo provável papel na estabilização e aderência necessárias às fibras de colagénio e reticular para formar o ligamento vocal.

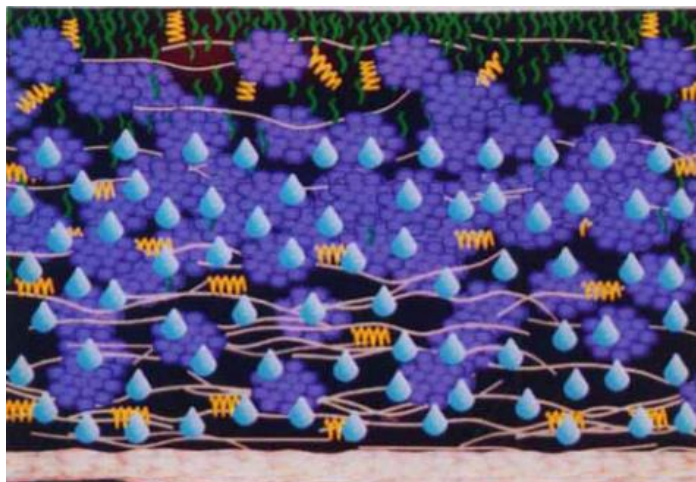


Figura 5 - Representação computadorizada da matriz extracelular da lâmina própria da corda vocal. As fibras reticulares estão representadas pelas cordas rosa; as fibras elásticas pelas estruturas tipo mola. As azuis representam as moléculas de ácido hialurônico, com as gotas a simbolizarem as moléculas de água. As decorinas estão representadas a verde.

Imagem retirada de Gray, S. et al. (1999). Vocal fold

inversamente proporcionais.¹³ As concentrações de biglicano são elevadas (e a de decorinas baixas) nas cicatrizes hipertróficas e imaturas, e baixas no tecido saudável e cicatrizes maduras normais. Pensa-se que o gene biglicano possa resultar de uma duplicação do gene da decorina (gene DCN).¹⁸ Embora estruturalmente semelhante às decorinas, as fibromodulinas não têm as mesmas propriedades biológicas.¹³ As fibromodulinas ligam-se e potencialmente inibem o TGF- β , que estimula a síntese de colagénio.²⁰ Paradoxalmente, as fibromodulinas têm maior concentração em torno do ligamento vocal e diminuem a sua concentração nas primeiras semanas da regeneração das cordas vocais. Gray et al (1999), justificam-no pelo provável papel na estabilização e aderência necessárias às fibras de colagénio e reticular para formar o ligamento vocal.

Camadas intermédia e profunda da lâmina própria

A camada intermédia é constituída essencialmente por fibras elásticas e a camada profunda por fibras de colagénio, produzidas à custa das células dendríticas das *macula flavae*. As duas camadas constituem o ligamento vocal.¹⁰ As fibras do ligamento vocal estão dispostas de forma longitudinal, paralelas ao músculo tiroarritnoideu. Esta disposição permite uma melhor resposta ao stress

longitudinal aquando da contração dos músculos intrínsecos da laringe. Embora o controlo motor da fonação seja determinado pela musculatura intrínseca da laringe, o ligamento vocal ajuda a equilibrar as tensões nas camadas adjacentes, ajuda a estabelecer a configuração geométrica das camadas que serão osciladas e é o principal responsável pela resistência ao stress na fonação mais intensa e de sons mais agudos.¹²

Vascularização das cordas vocais

Os vasos sanguíneos da mucosa das cordas vocais (arteríolas, vénulas e capilares) são únicos, na medida em que a sua estrutura foi concebida para vibrar.¹⁰

Os capilares da mucosa da corda vocal são capilares contínuos. Os capilares contínuos apenas deixam passar pequenas moléculas ($<10^4$) entre células endoteliais adjacentes.²¹ Moléculas de maiores dimensões são transportadas do lúmen para o tecido subjacente e vice-versa por múltiplas vesículas pinocíticas. Inúmeros pericitos rodeiam estes capilares da mucosa da corda vocal, projectando prolongamentos citoplasmáticos que formam “tight junctions” com as células endoteliais.²² Além de promoverem a proliferação e sobrevivência das células endoteliais, os pericitos fornecem suporte mecânico e protecção, principalmente durante a fonação. Como tal, mesmo durante vibração frequente e/ou intensa, os vasos da mucosa da corda vocal não rompem com facilidade.¹⁰ Quando lesados ou com a permeabilidade aumentada, surge o edema do espaço de Reinke.

CICATRIZAÇÃO

De uma forma geral, considera-se uma cicatriz como a substituição de tecido normal por tecido fibrótico. Uma corda vocal cicatrizada caracteriza-se assim por uma anormal deposição de proteínas fibróticas durante o processo inflamatório/regeneração da corda vocal, que leva a um aumento da rigidez da mucosa e diminuição da propagação das ondas durante a fonação.²³

As causas para a cicatrização das cordas vocais são diversas, estando listadas na tabela 1 as mais frequentes.

Embora existam alguns estudos em cordas vocais humanas, a maior parte do conhecimento actual deriva da investigação animal. Zapater et al examinaram biópsias de cordas vocais humanas que haviam sido submetidas a cordectomia, notando infiltração de colagénio em todas as camadas da lâmina própria. Hirano et al,²³ corroboraram esta evidência acrescentado que além das fibras desorganizadas de colagénio, também existiam alterações nos restantes componentes da matriz extracelular. Estas alterações correlacionavam-se directamente com a gravidade da lesão: cordectomias subepiteliais apresentavam aumento ligeiro das fibras de colagénio, com preservação dos níveis de decorina e fibronectina e da organização das fibras elásticas, enquanto cordectomias mais profundas tinham elevada concentração de fibras de colagénio organizadas em espessos feixes, desorganização de fibras elásticas e diminuição dos níveis de decorinas.

Um outro estudo, mas com vista à investigação dos fibroblastos das cordas vocais cicatrizadas foi realizado por Thibeault²⁴. Embora morfológicamente os fibroblastos das cordas vocais cicatrizadas (sVFF) fossem idênticos aos fibroblastos das cordas vocais saudáveis (nVFF), fenotipicamente e genotipicamente eram diferentes. Os sVFF tinham aumento da expressão da α -SMA, MMP-3 e MMP-9 e do mRNA da fibronectina face aos nVFF. A α -SMA é uma proteína contráctil presente nos miofibroblastos, o que significa que alguns fibroblastos se diferenciaram neste subtipo celular. A diferença entre ambos reside na presença de um maior aparelho contráctil dos miofibroblastos, que lhes permite migrarem para o local da lesão, em resposta a quimiocinas. Os miofibroblastos possuem feixes de microfilamentos que terminam na superfície celular num complexo de adesão especializado

Tabela 1 – Causas de cicatrização da corda vocal

Traumática

Trauma brusco (com ou sem fractura)

Lesão penetrante

Neoplásica

Carcinoma da corda vocal

Radioterapia prévia

Cirurgia prévia

Iatrogénica

Injecção Teflon prévia

Cirurgia imprudente

Entubação endotraqueal prolongada

Entubação nasogástrica prolongada

Traqueostomia

Inflamatória

Doença do refluxo gastroesofágico/
/laringofaríngeo

Inalação (térmica) aguda

Artrite reumatóide

Policondrite recidivante

Laringotraqueíte bacteriana

Outra infecção aguda necrotizante

Doenças granulomatosas crónicas

Outras

Sulcus vocalis

Malformações congénitas

Lesão rádica

Corda vocal quástica

– o fibronexo. Este complexo faz a ponte entre os microfilamentos internos do miofibroblasto com o domínio extracelular da fibronectina, funcionando como um mecanismo contráctil que permite às células gerarem força na matriz extracelular, diminuindo o seu volume. A força contráctil é mantida ao longo do tempo e reforçada com a deposição de colagénio. Tal como os fibroblastos, também os miofibroblastos produzem proteínas fibróticas e intersticiais, citocinas e factores de crescimento, nomeadamente metaloproteinases, TGF- β e IL-1 β . Diferentes subtipos de metaloproteinases são expressas em estadios distintos do processo de regeneração da corda vocal. As MMP-1, MMP-3 e MMP-8 estão implicadas na degradação aguda dos componentes da matriz extracelular e a MMP-9 na fase de *remodelling* da regeneração da corda vocal.²⁵⁻²⁷

Tal como referido, a maior parte do conhecimento deriva de modelo animais. Hansen e Thibeault²⁰ realizaram uma revisão sistemática dos estudos realizados referente à cicatrização das cordas vocais em modelos animais. Uma vez que este artigo não o pretende citar, aconselha-se a leitura do artigo supracitado para aprofundamento do conhecimento nesta matéria.

Resumidamente, Hansen e Thibeault concluem que as fases iniciais da cicatrização caracterizam-se por níveis elevados de pró-colagénio, sendo gradualmente substituídas por colagénio organizado em fibras espessas. Rousseau²⁸ estudou a cicatrização das cordas vocais de coelhos, observando a presença de uma infiltração celular massiva 3 dias após a lesão, com uma grande síntese de ácido hialurónico ao 5º dia e a presença de fibras de colagénio ao 7º dia. Segundo Hansen e Thibeault²⁰ tanto os estudos em modelos de coelho como de cão, convergem ao apresentarem aos 2 meses pós-lesionais, níveis de pró-colagénio (percursor do colagénio) e fibronectina aumentados, com diminuição dos níveis de ácido hialurónico, decorina e fibromodulina. Após 6 meses, a densidade de colagénio encontrava-se significativamente aumentada, com fibras organizadas em feixes espessos, tendo o pró-colagénio e elastina voltado aos níveis pré-lesionais. Estes dados também foram corroborados em modelos suínos, verificando-se que nas fases iniciais do processo de cicatrização, a deposição de colagénio ao dia 10 pós-lesional era dispersa, passando só a organizarem em feixes de fibras por volta do dia 15.

CONCLUSÃO

Para um tratamento mais eficaz das cordas vocais cicatrizadas e da disфония que delas resulta, é necessário uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos de regeneração subjacentes. Enquanto o conhecimento da histologia normal das cordas vocais humanas encontra-se consolidado nos diversos estudos realizados durante os últimos anos, a investigação dos mecanismos de regeneração tem sido obtido sobretudo à custa dos modelos animais de cordas vocais, pelo que é necessário que estudos futuros corroborem estas alterações nas cordas vocais humanas. O presente artigo pretendeu dar uma visão histológica das cordas vocais humanas, correlacionada com aspectos moleculares, visto serem estes os aspectos alterados na corda vocal cicatrizada. A disфония resultante apenas será corrigida, se as propriedades da corda vocal forem restabelecidas. O tratamento eficaz dependerá por isso da cooperação entre a investigação molecular e os laringologistas.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao professor Óscar Dias, pela prontidão e enorme disponibilidade com que sempre apresentou. Foi graças ao seu apoio constante e motivação dada que este trabalho foi possível de concluir.

À D. Aldina Oliveira pela compreensão e ajuda em toda a burocracia relacionada com a execução da tese, bem como pelo apoio que sempre me demonstrou.

E aos meus pais e irmão pela paciência, carinho e apoio incondicional ao longo dos últimos seis anos, e por me terem proporcionado a realização de um sonho e o atingir de uma meta tão esperada: concluir o curso de Medicina.

BIBLIOGRAFIA

1. Woo P, Casper J, Colton R, Brewer D. Diagnosis and treatment of persistent dysphonia after laryngeal surgery: a retrospective analysis of 62 patients. *Laryngoscope*. 1994; 104:1084–1091
2. Rouvière H, Delmas A. “II. Aparato respiratório. Laringe” *Anatomía Humana. Descriptiva, Topográfica y Funcional*. 11ª edición. Masson S.A. Barcelona (2005) pp 511-537
3. Sasaki CT, Isaacson G. Dynamic anatomy of the larynx. *Problems Anesth*. 1988; 2:163-174
4. Hirano M, Kurita S, Kiyokawa K, Sato K. Posterior glottis: morphological study in excised human larynges. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986; 95: 576-582
5. Rubin J, Sataloff R, Korovin G. “Anatomy of the human larynx” *Diagnosis and Treatment of Voice Disorders*. 4th Edition. Plural Publishing San Diego (2014) 31-48
6. Tillmann B, Pietzsch-Rohrschneider I, Huenges H. The human vocal cord surface. *Cell and Tissue Research*. 1977; 185: 279-283
7. Ross M, Pawlina W. “Epithelial Tissue: The basal domain na its specializations in cell-to-extracelular matrix adhesion” *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology*. 6th Edition. LWW. Baltimore (2011) 134-146
8. Gray S, Hirano M, Sato K. Molecular and celular structure of vocal fold tissue. In: Titze IR, ed. *Vocal Fold Physiology*. San Diego. Singular Publishing (1993) 1-35
9. Noordzij J, Ossoff R. Anatomy and physiology of the larynx. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2006; 39: 1-10
10. Rubin J, Sataloff R, Korovin G. “Functional fine structures of the human vocal fold mucosa” *Diagnosis and Treatment of Voice Disorders*. 4th Edition. Plural Publishing San Diego (2014) 49-58
11. Hirano M, Sato K, Nakashima T. Fibroblasts in human vocal fold mucosa. *Acta Otolaryngol*. 1999; 119: 271-276
12. Gray D, Titze I, Alipour F, Hammond T. Biomechanical and histologic observations of vocal fold fibrous proteins. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000; 109:77-85
13. Gray D, Titze I, Chan R, Hammond T. Vocal fold proteoglycans and their influence on biomechanics. *The Laryngoscope* 1999; 109:845-854
14. Sato K. Reticular fibers in the vocal fold mucosa. *Ann Otol Rhin Laryng* 1998; 107:1023-1028
15. Chan R, Gray D, Titze I. The importance of hyaluronic acid in vocal fold biomechanics *Otolaryngology – Head and Neck Surgery* 2001; 124:607-616
16. Hallen L, Dahlqvist A, Laurent C. Dextranomers in hyaluronan (DiHA): a promising substance in treating vocal cord insufficiency. *Laryngoscope* 1998; 108:393-397
17. Hallen L, Johansson C, Laurent C. Cross-linked hyaluronan (Hylan B Gel): a new injectable remedy for treatment of vocal fold insufficiency, an animal study. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 1999; 119:107-111
18. <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=DCN> (consultado a 20-04-2016)
19. Dourte L, et al. Influence of decorin on the mechanical, compositional, and structural properties of the mouse patellar tendo. *Journal of Biomechanical Engineering*. 2012 031005:1-8
20. Hansen K, Thibeault S. Current understanding and review of the literature: vocal fold scarring. *Journal of Voice* 2006 20:110-120
21. Ross M, Pawlina W. “Cardiovascular system: Capillaries and Veins” *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology*. 6th Edition. LWW. Baltimore (2011) 421-425
22. Sato K, Hirano M. Fine three-dimensional structure of pericytes in the vocal fold mucosa. *Ann Otol Rhin Laryng* 1997; 106: 490-494

23. Hirano S et al. Histologic characterization of human scarred vocal folds. *Journal of Voice* 2007; 23: 399-407
24. Thibeault S, Hayer S, Jetté M. Characterization of human vocal fold fibroblasts derived from chronic scar. *Laryngoscope*. 2013; 123(3): 738–745
25. Warner, R. et al. Matrix metalloproteinases in acute inflammation: induction of MMP-3 and MMP-9 in fibroblasts and epithelial cells following exposure to pro-inflammatory mediators in vitro. *Experimental and Molecular Pathology*. 2004; 76: 189-195
26. Mallur P, Branski R, Amin M. 532-Nanometer potassium titanyl phosphate (KTP) laser-induced expression of selective matrix metalloproteinases (MMP) in the rat larynx. *Laryngoscope*. 2011; 121:320–324
27. Baum J, Duffy HS. Fibroblasts and Myofibroblasts: What are we talking about? *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2011; 57(4):376-379.
28. Rousseau B, Hirano S, Chan R, Welham N, Thibeault S, Ford C, et al. Characterization of chronic vocal fold scarring in a rabbit model. *Journal of Voice*. 2004; 18:116–124.