



Università degli Studi di Genova
Dottorato di Ricerca in
Biotecnologie in Medicina Traslazionale
Coordinatore: Prof. Paolo Malatesta

DOTT.SSA Marta Filauro

MATRICOLA N. 3219131

CICLO XXXV

Tutor: Prof. G. Peretti

TRANSCRANIAL MAGNETIC STIMULATION IN LARYNGEAL PARALYSIS: A SINGLE INSTITUTION EXPERIENCE

ABSTRACT

The paralysis of the vocal cords is still today a diagnostic-therapeutic challenge in the field of otolaryngology, placing doctors and voice professionals in continuous search of non-invasive therapeutic solutions to ensure patients an adequate quality of life. It can result from neurological damage or mechanical fixity of the true vocal cord. It can be monolateral or bilateral. In 96% of cases, it will be unilateral paralysis (UVFP), while only 4% will be bilateral paralysis (BVFP). The most common cause of UVFP is neoplastic lesions (35.5%). Among these, cancer that most frequently causes UVFP is lung cancer. The second cause of UVFP is represented by iatrogenic damage to the recurrent laryngeal nerve (24.6%), especially during thyroid surgery.

About 13% of UVFP are related to systemic pathologies, 6% are a consequence of laryngeal trauma, and in 14% of cases, it is impossible to identify the cause of paralysis, so they are defined as idiopathic. Long-term survival data suggest that patients with idiopathic UVFP have no change in life expectancy, with a 33% chance of progressive vocal improvement over time. Most of these patients spontaneously recover laryngeal motility in less than one year, but in a small percentage of cases, a motility recovery can be observed even after one year from the onset of symptomatology.

The neuromuscular system of the larynx can be damaged both at the motor level (efferent) and the sensory level (afferent). In clinical practice, motor damage results in a complete or partial loss of motility of one or both vocal cords, resulting in an apparent glottic asymmetry. Although the clinical evaluation allows an adequate evaluation of laryngeal motility, it is not always possible to accurately assess the cause and degree of motor disorders of the vocal cords with a videolaryngoscope alone. Neurophysiological methods, especially laryngeal electromyography

(LEMG), can help us understand the pathological condition underlying the laryngeal motor disorder. Transcranial magnetic stimulation (TMS) has recently been proposed as a non-invasive and painless tool capable of activating the motor pathways. This technology is based on magnetic stimuli that can induce a flow of current at the tissue level and, therefore, activate the excitable structures, especially the neurons of the cerebral cortex, of the spinal cord or directly the motor axons of the peripheral nervous system. The motor pathways' activation consequently generates muscle activation, where bioelectric signals can be recorded by surface or needle electromyography. TMS is currently used for the functional study of the motor pathways, allowing, for example, to target lesions of the first neuron in encephalic diseases (e.g., multiple sclerosis, stroke, amyotrophic lateral sclerosis) and spinal cord.

Used to stimulate the cerebral cortex, TMS has been shown to change neuronal excitability in the short to medium term, both excitatory and inhibitory, and to induce changes in neuronal plasticity. For example, repetitive TMS has been shown to treat the major depressive disorder. Few data exist in the literature regarding the study of the motor pathways directed to the laryngeal musculature. The study on which this thesis is based aims to set up at our laboratory a technique to evaluate the function of the motor pathways directed to the vocal muscles with the ultimate aim of objectifying lesions of the cortical-laryngeal in patients with idiopathic paralysis of the vocal muscles.

1. INTRODUZIONE

La paralisi delle corde vocali risulta ancora oggi una sfida diagnostico-terapeutica in ambito otorinolaringoiatrico ponendo medici e professionisti della voce alla continua ricerca di soluzioni terapeutiche poco invasive per potere garantire ai pazienti una qualità di vita adeguata.

Può essere la conseguenza di un danno neurologico o di una fissità meccanica della corda vocale vera. Può essere monolaterale o bilaterale. Nel 96% dei casi si tratterà di una paralisi unilaterale (UVFP), mentre solo il 4% dei casi è rappresentato dalle paralisi bilaterali (BVFP).

La più comune causa delle UVFP è rappresentata da lesioni neoplastiche (35.5%). Tra queste la neoplasia che più frequentemente causa una UVFP è il tumore al polmone. La seconda causa di UVFP è rappresentata da un danno iatrogeno al nervo laringeo ricorrente (24,6%), specialmente in corso di chirurgia tiroidea.

Circa il 13% delle UVFP sono, poi, correlate a patologie sistemiche, il 6% sono conseguenza di traumi laringei e nel 14% dei casi non è possibile identificare la causa della paralisi, per cui vengono definite come idiopatiche.[1], [2] Dati di sopravvivenza a lungo termine, suggeriscono che pazienti affetti da UVFP idiopatiche non hanno alcuna modifica nell'aspettativa di vita, con un 33% di possibilità di avere un miglioramento vocale progressivo nel tempo. La maggior parte di questi pazienti hanno un recupero spontaneo della motilità laringea in meno di 1 anno, ma in una piccola percentuale di casi si può assistere ad un recupero della motilità anche dopo 1 anno dall'insorgenza della sintomatologia. [3]

Il sistema neuromuscolare della laringe può essere danneggiato sia a livello motorio (efferente), sia a livello sensitivo (afferente). Nella pratica clinica, il danno motorio si traduce in una perdita completa o parziale della motilità di una o entrambe le corde vocali, determinando una chiara asimmetria glottica.[4] Nonostante la valutazione clinica permetta una adeguata valutazione della motilità laringea, non sempre è possibile valutare con precisione la causa ed il grado dei disordini motori delle corde vocali con la sola videolaringostroboscopia. Le metodiche neurofisiologiche tra cui soprattutto l'elettromiografia laringea (LEMG), possono aiutarci a comprendere la condizione patologica alla base del disordine motorio laringeo. La stimolazione magnetica transcranica (TMS) è stata di recente proposta come strumento non invasivo ed indolore capace di attivare le vie motorie.[5] Questa tecnologia si basa sull'utilizzo di stimoli magnetici in grado di indurre un flusso di corrente a livello tissutale e, quindi, attivare le strutture eccitabili, in particolar modo i neuroni della corteccia celebrale, del midollo spinale o direttamente gli assoni motori del sistema nervoso periferico. L'attivazione delle vie motorie conseguentemente genera attivazione della muscolatura, dove i segnali bioelettrici possono essere registrati mediante l'elettromiografia di superficie o ad ago. La TMS viene correntemente utilizzata per lo studio funzionale delle vie motorie, permettendo per esempio di obiettivare lesioni del primo neurone in patologie encefaliche (es. sclerosi multipla, ictus, sclerosi laterale amiotrofica) e del midollo spinale. Utilizzata per stimolare la corteccia cerebrale, è stata dimostrato che la TMS è in grado di modificare l'eccitabilità neuronale nel breve-medio termine sia

in senso eccitatorio che inibitorio, inducendo inoltre modificazioni della plasticità neuronale. È stato dimostrato per esempio che la TMS ripetitiva è in grado di trattare il disturbo depressivo maggiore. Esistono pochi dati in letteratura per quanto riguarda lo studio delle vie motorie dirette alla muscolatura laringea.[6], [7] Lo studio su cui si basa questa tesi ha come obiettivo impostare presso il nostro laboratorio una tecnica per valutare la funzione delle vie motorie dirette ai muscoli vocali con il fine ultimo di obiettivare lesioni delle vie cortico-laringee in pazienti con paralisi idiopatiche dei muscoli vocali.

1.1. Anatomia laringe

La laringe è un organo cavo impari e mediano che inizia facendo seguito alla faringe e continua nella trachea.

La sua struttura permette il passaggio di aria sia in inspirazione che in espirazione, l'emissione di suoni e coadiuva alla deglutizione grazie a un dispositivo di chiusura che impedisce al bolo alimentare di entrare nella trachea.

La laringe occupa una posizione mediana nella loggia dei visceri del collo, al di sotto dell'osso ioide.

La sua faccia anterolaterale contrae rapporto con i lobi laterali della ghiandola tiroide, più superficialmente si trovano i muscoli sottoioidei, le fasce superficiale e media, il platisma e la cute.

La faccia posteriore è rivolta verso la faringe introflettendone la parete anteriore. Presso i margini posteriori della laringe decorrono l'*arteria carotide comune*, la *vena giugulare* e il *nervo vago*.

L'apertura superiore della laringe stabilisce la comunicazione fra la laringe stessa e la faringe. In alto e in avanti è costituita dall'epiglottide, lateralmente dalle pieghe ariepiglottiche, posteriormente in basso dall'apice delle cartilagini aritenoidee con le cartilagini corniculate, separate dall'incisura interaritenoidea.

Per quanto riguarda la *struttura* la laringe è costituita da diversi elementi cartilaginei articolati tra loro e uniti a distanza tramite legamenti.

Le cartilagini che costituiscono la laringe possono essere impari (c. tiroide, c. cricoide ed epiglottide) o pari (c. aritenoidi). A queste cartilagini principali si aggiungono piccole cartilagini accessorie che sono le cartilagini corniculate, le cartilagini cuneiformi e altre cartilagini minori. (*figura 1*)

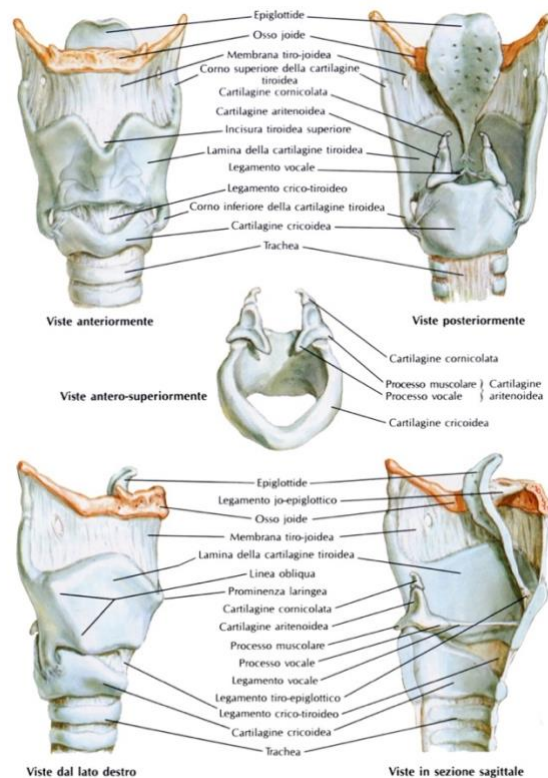


Figura 1. Cartilagini laringee

La *cartilagine tiroide* si trova nella parte anteriore, laterale e superiore della laringe. Ha la forma di uno scudo composto da due lamine quadrilatera verticali che, fondendosi sulla linea mediana, danno origine alla prominenza laringea detta pomo d'Adamo. A livello della faccia anteriore di ogni lamina si presenta una cresta che la percorre in linea obliqua partendo dal tubercolo tiroideo superiore, posto posteriormente in alto, e arriva al tubercolo tiroideo inferiore, anteriormente e in basso. La regione posta anteriormente a questa cresta è ricoperta dal *muscolo tiroioideo*, quella posteriore dai muscoli *sternocleidomastoideo* e *costrittore inferiore della faringe*.

Il margine posteriore continua con due prolungamenti, uno superiore (corno tiroideo superiore) e uno inferiore (corno tiroideo inferiore).

La *cartilagine cricoide* è posta inferiormente alla cartilagine tiroide e al di sopra del primo anello tracheale. È l'elemento fondamentale sulla quale si articola tutta la struttura della laringe. Ha la forma di un anello con castone (o lamina) rivolto posteriormente. Sulla superficie esterne, nel punto in cui l'arco continua con la lamina, si trovano due sporgenze, le faccette articolari tiroidee, che si articolano con la cartilagine tiroide. La lamina è percorsa da un rilievo verticale mediano. Il margine superiore dell'arco dà attacco alla *membrana cricotiroidea*; a livello della lamina sono, invece, presenti due faccette articolari per le cartilagini aritenoidi.

Le *cartilagini aritenoidi* sono poste nella parte superiore e posteriore della laringe e si articolano con la cartilagine aritenoide. In ognuna delle cartilagini aritenoidi si distinguono una base, tre facce e un apice. La base è rappresentata dall'articolazione cricoaritenoidea. In prossimità di essa originano due prolungamenti detti processi muscolari che danno attacco al muscolo cricoaritenoideo e al *legamento vocale*. La faccia posteriore corrisponde al muscolo aritenoideo trasverso. La faccia anterolaterale dà attacco al *legamento ventricolare* e al *muscolo vocale*. L'apice si articola con la *cartilagine corniculata*.

La *cartilagine epiglottide* è posta sopra la cartilagine tiroide e forma lo scheletro di una piega rivestita di mucosa che separa la radice della lingua dalla cavità laringea. Ha la forma di una foglia ovalare, con il picciuolo unito, per mezzo di un legamento, alla faccia interna dell'angolo della cartilagine tiroide. Allo stato di riposo è posta in posizione obliqua dal basso verso l'alto e dall'avanti in dietro. Sulla faccia posteriore a livello del picciuolo prende attacco il *legamento tiroepiglottico*. Sui margini laterali del contorno della struttura cartilaginea prendono attacco le *pieghe ariepiglottiche*.

L'epiglottide funziona come una piega valvolare che si abbassa a chiudere l'adito durante la deglutizione.

Per quanto riguarda le *articolazioni* principali sono presenti le articolazioni cricotiroidee, le articolazioni cricoaritenoidee e le articolazioni aricorniculate.

Le articolazioni *cricotiroidee* mettono in rapporto le faccette articolari poste sull'arco della cartilagine cricoide con le faccette articolari dei corni inferiori della cartilagine tiroide; le articolazioni *cricoaritenoidee* mettono in rapporto per mezzo delle faccette articolari la cartilagine cricoide con la cartilagine aritenoide; infine, le articolazioni *aricorniculate* si presentano tra l'apice delle cartilagini aritenoidi e la base delle cartilagini corniculate.

Subito sotto alla mucosa sono stese le membrane elastiche quadrangolari e le membrane della parte media e inferiore della laringe.

Le *membrane quadrangolari* si estendono dai margini laterali dell'epiglottide alla faccia mediale delle cartilagini aritenoidi e corniculate e danno forma al *legamento ariepiglottico* e il *legamento ventricolare*.

Le *membrane elastiche della parte media della laringe* delimitano un diverticolo tappezzato di mucosa chiamato ventricolo laringeo di Morgagni.

Le *membrane elastiche della parete inferiore della laringe* costituiscono il cono elastico che si inserisce sulla circonferenza superiore dell'anello della cartilagine cricoide. Risale verso l'alto e si restringe a cono appiattendosi, poi, in due lamine destra e sinistra, che terminano con un margine superiore libero e convergono verso la linea mediana. Tali lamine anteriormente si fissano alla faccia interna della cartilagine tiroide, mentre posteriormente raggiungono il processo vocale della cartilagine aritenoide. Da questa struttura prende forma il *legamento vocale* che assieme al muscolo vocale costituiscono la corda vocale vera.

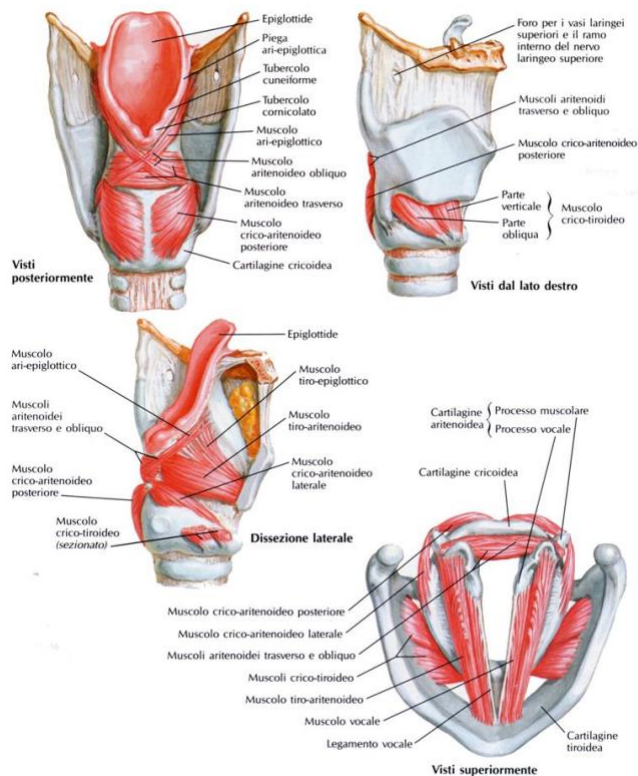


Figura 2. Struttura della laringe

I muscoli della laringe vengono distinti in muscoli estrinseci (m. sternotiroideo, m. tiroioideo, m. stilofaringeo, m. faringopalatino e m. costrittore della faringe) e muscoli intrinseci che a loro volta possono essere distinti in muscoli deputati alla fonazione e muscoli deputati alla respirazione.

Il *muscolo cricotiroideo* è un muscolo fonatore posto tra l'arco cricoideo e il margine inferiore della cartilagine cricoide. È denominato anche *muscolo tensore delle corde vocali* in quanto se azionato tende e allunga i legamenti vocali.

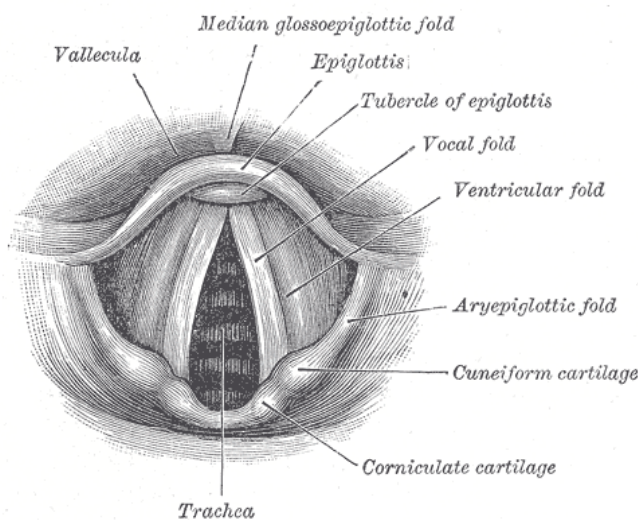
Altri muscoli fonatori sono il *muscolo cricoaritenoideo laterale* di forma triangolare che si tende dal margine superiore dell'arco cricoideo al processo muscolare dell'aritenoide e contraendosi ne deriva un avvicinamento delle corde vocali con costrizione della rima glottidea; e il *muscolo tiroaritenoideo*

che origina dalla faccia posteriore della lamina tiroidea e si inserisce sul margine laterale, nella fossa oblunga e sul processo vocale della cartilagine aritenoide.

Il *muscolo cricoaritenideo posteriore* consente la respirazione. Ha forma triangolare e i suoi fasci originano dalla fossa della lamina della cartilagine cricoide e si inseriscono nel processo muscolare della cartilagine aritenoide, contraendosi permette l'allontanamento dei processi vocali dilatando la rima glottidea.

Il *muscolo aritenoideo obliquo*, *aritenoideo trasverso* e *ariepiglottico* rappresentano i restanti muscoli intrinseci respiratori della laringe. In particolare, il muscolo ariepiglottico concorre a chiudere l'adito laringeo avvicinando le pieghe ariepiglottiche e traendo in basso l'epiglottide stessa.

L'*adito della laringe* (fig. 3) ha una forma ad ovale con l'asse maggiore diretto in senso sagittale e obliquo dall'alto verso il basso. È delimitato anteriormente dal margine libero della cartilagine



epiglottide, latero-posteriormente da due pieghe della mucosa chiamate *pieghe ariepiglottiche* che convergono posteriormente sulla linea mediana, delimitando una fessura verticale detta *incisura aritenoidea*. L'orifizio della laringe normalmente rimane aperto tranne che nel momento della deglutizione dove si chiude temporaneamente grazie alla contrazione dei muscoli costrittori che agiscono sull'epiglottide e sui legamenti ioepiglottico e

glossoepiglottico, e all'abbassamento delle cartilagini laringee.

Figura 3. Adito della laringe

La cavità della laringe si presenta, nella sua parte media, come una fessura sagittale per la presenza di due rilievi orizzontali che sono le *pieghe ventricolari* (superiori) e le *pieghe vocali* (inferiori). Queste strutture delimitano tre spazi della cavità laringea: il *vestibolo laringeo*, il *segmento medio* e il *segmento inferiore*

A livello del segmento medio sono presenti due rilievi orizzontali da ciascun lato diretti dall'avanti in dietro, quello superiore è la piega ventricolare quella inferiore è la piega vocale. Tra queste due strutture si trova una fessura che immette in un diverticolo detto *ventricolo di Morgagni*.

Le pieghe ventricolari sono anche dette *corde vocali false* e delimitano la rima del vestibolo. Le pieghe vocali sono le *corde vocali vere* tese dall'angolo della cartilagine tiroide fino al processo vocale delle cartilagini aritenoidi. Il margine libero di ciascuna corda sporge verso la cavità laringea e delimita, con quella controlaterale, la *rima della glottide*. L'ampiezza e la forma di quest'ultima struttura variano secondo il sesso e gli individui e, nello stesso individuo, in rapporto alle diverse fasi della respirazione e della fonazione.

La *vascolarizzazione* della laringe è garantita da tre arterie laringee (superiore, inferiore e posteriore) che sono rami collaterali delle arterie tiroidee superiore e inferiore che, a loro volta, originano rispettivamente dall'arteria carotide esterna e dal tronco tireocervicale.

La laringe è innervata dal *nervo vago* un nervo misto composto da tutte e quattro le componenti delle fibre nervose. In particolare, il vago è responsabile dell'innervazione motrice somatica e sensitiva viscerale della laringe.

Per quanto riguarda le fibre motrici somatiche originano dai motoneuroni del nucleo ambiguo, posto all'interno del bulbo, e innervano la muscolatura striata intrinseca dell'organo. Le fibre sensitive viscerali sono responsabili dell'innervazione della mucosa della laringe e originano dal ganglio nodoso, posto a livello del foro lacero posteriore.

Il nervo vago può essere figurativamente suddiviso in tre segmenti basandosi sul suo decorso: il segmento cervicale, il segmento toracico e il segmento addominale.

Il segmento cervicale, a livello dello spazio laterofaringeo retrostiliano, si dirige verso il basso e leggermente obliquo in avanti. Decorre vicino all'arteria carotide interna e alla vena giugulare avvolto da una guaina connettivale comune con le suddette strutture, formando il *fascio vascolonervoso del*

collo che attraversa verticalmente la loggia carotidea. Alla base del collo il nervo vago di destra si pone anteriormente all'arteria succlavia emettendo il nervo laringeo ricorrente di destra che forma un'ansa passando sotto all'arteria succlavia dall'avanti in dietro. Il nervo vago di sinistra decorre tra l'arteria carotide comune e l'arteria succlavia.

A livello del segmento toracico, il nervo vago di sinistra, incrociato l'arco dell'aorta sulla faccia anterolaterale, emette il nervo laringeo ricorrente di sinistra.

La prosecuzione di entrambi i nervi a livello toracico e a livello addominale non ha rapporti con la laringe.

I principali rami collaterali che, quindi, innervano la laringe sono il *nervo laringeo superiore* e il *nervo laringeo ricorrente (inferiore)*.

Il nervo laringeo superiore si stacca dal ganglio nodoso e si divide in due rami a livello dell'osso ioide. Il ramo esterno fornisce fibre motrici al muscolo cricotiroideo e fibre sensitive alla mucosa della regione glottica e sottoglottica. Il ramo interno contiene solo fibre sensitive per poi anastomizzarsi con il nervo laringeo inferiore.

I due nervi laringei inferiori si differenziano per il loro decorso. Quello di sinistra si stacca dal nervo vago, contorna ad ansa la superficie concava dell'aorta e risale dirigendosi verso la laringe; quello controlaterale forma un'ansa intorno alla succlavia prima di dirigersi anch'esso verso la laringe. I nervi ricorrenti passano posteriormente ai lobi laterali della tiroide, incrociando a questo livello l'arteria tiroidea inferiore; infine penetrano nella laringe, dove si dividono in un ramo anteriore e uno posteriore che si distribuiscono ai muscoli intrinseci della laringe, eccetto che al muscolo cricotiroideo.

1.1.1. Fonazione

La fonazione è una funzione complessa caratterizzata dall'interazione di più strutture (a livello polmonare, laringeo e di tutto l'apparato risonatore sovrastante). L'origine della voce si ha a livello dello sfintere glottico che si trova posto in un punto critico delle strutture preposte alla respirazione.

La produzione della voce è, dunque, garantita dal mantice respiratorio (pleura, strutture broncopolmonari, muscolatura cervicale, toracica, diaframmatica e addominale) che consente la

creazione di un flusso espiratorio con una pressione glottica variabile che condiziona l'intensità della voce.

Un'altra struttura fondamentale che contribuisce alla fonazione è lo sfintere glottico. La sua struttura permette, infatti, la vibrazione delle corde vocali in espirazione. Regolando la tensione delle corde vocali, azione permessa dai muscoli intrinseci fonatori della laringe, sarà possibile modificare il *pitch* (sensazione di tonalità) vocale. L'*intensità acustica* prodotta deriva dall'ampiezza della vibrazione delle corde vocali ed è correlata con la pressione sottoglottica.

Infine, la cavità di risonanza (*vocal tract*), rappresentata dalle strutture sopraglottiche, conferisce alla voce una tipicità timbrica che consente di differenziare un soggetto da un altro e di generare i principali fonemi. Infatti, le labbra, le guance, i processi alveolo-dentali, i seni nasali, il palato duro e molle, la mandibola, l'osso ioide e la parte posteriore della laringe sono strutture facenti parte del vocal tract che permettono l'articolazione dei suoni agendo come valvole che arrestano, rallentano o liberano l'aria espirata.

Oltre alle sopracitate strutture è doveroso tenere conto che la capacità di parlare è influenzata soprattutto dalle competenze del sistema nervoso centrale a livello troncoencefalico e limbico, dal sistema uditivo e da fattori miscelanei come le posture, la costellazione ormonale ed eventuali patologie laringee o del vocal tract.

Cause di paralisi delle corde vocali

La paralisi delle corde vocali è dovuta nella maggior parte dei casi ad un danno a carico del nervo laringeo ricorrente, che causa immobilità della corda vocale. Il nervo laringeo superiore può anche non essere coinvolto, e questo spiega la possibile assenza di alterazioni della sensibilità. Il termine *paralisi* indica una completa denervazione delle corde vocali con una assenza di attività motoria, evidenziabile tramite una EMG. Il termine *paresi* invece indica la presenza di una certa attività motoria residua, circostanza che si verifica nella maggior parte dei casi.[8]

La paralisi unilaterale della laringe causa una *insufficienza glottica*, ovvero un'incompleta chiusura della glottide, con compromissione della fonazione e della funzione protettiva delle vie aeree. Il grado di alterazione funzionale dipende dalla causa dell'insufficienza e dalle alterazioni morfo-funzionali che provoca. Oltre alla paralisi dell'emilaringe, altre possibili cause di insufficienza glottica sono l'atrofia delle corde vocali ed esiti post-cordectomia.

L'origine della paralisi laringea può essere classificata a seconda del sito della lesione in: centrale (corticale, cortico-bulbare, bulbare), periferica (nervo vago e nervo laringeo inferiore o ricorrente) e neuromuscolare (giunzione neuromuscolare).[9]

Le patologie a carico del sistema nervoso centrale possono causare paralisi laringea uni- o bilaterale. Le patologie che più comunemente causano una *paralisi laringea centrale* sono:

- Encefalite virale
- Tumori dell'encefalo e del tronco encefalico
- Ictus ischemico e emorragico
- Trauma cranico
- SLA
- Sclerosi multipla
- Sindromi parkinsoniane
- Siringobulbia
- Malformazione di Arnold-Chiari
- Sindrome di Wallenberg
- Atrofia muscolare spinale
- Neuropatia ipomielinizzante congenita
- Sindrome post-polio
- Malattia di Charcot-Marie-Tooth

Le *paralisi periferiche* sono le più frequenti e sono dovute all'interessamento del nervo vago o del nervo laringeo inferiore.

Le cause di paralisi periferica sono molteplici e comprendono:

- Intervento chirurgico
- Neoplasie extralaringee
- Infezioni
- Traumi non chirurgici
- Compressione o stiramento
- Intubazione oro-tracheale
- Idiopatica

Il danno nervoso in corso di intervento chirurgico può essere dovuto a un'interruzione totale o parziale delle fibre nervose, danno termico, stiramento, compressione o compromissione vascolare. Da un punto di vista temporale la paralisi può essere permanente o transitoria. La possibilità di recupero dipende principalmente dall'entità del danno. La paralisi laringea iatrogena può essere una complicanza di diversi interventi chirurgici, tra cui:

- Tiroidectomia, in particolare se associata a dissezione del comparto linfonodale centrale (VI livello sec. Robbins)
- Paratiroidectomia
- Endoarteriectomia carotidea
- Approcci anteriori alla colonna cervicale
- Chirurgia della base-cranio
- Chirurgia della regione cervicale
- Chirurgia tracheale
- Chirurgia esofagea
- Chirurgia del mediastino superiore e del polmone
- Chirurgia dell'arco aortico

Nell'ambito della chirurgia tiroidea la letteratura riporta un'incidenza di paralisi permanente che va dallo 0.5 al 2.4%; mentre l'incidenza delle paralisi transitorie va dal 2.6 al 5.9%. [8] Fattori che aumentano il rischio di danno del nervo laringeo ricorrente sono: precedenti interventi chirurgici o irradiazione, infiammazione o neoplasia. Alcuni autori utilizzano sistematicamente il monitoraggio intraoperatorio della funzione del nervo come procedura per ridurre il rischio e l'incidenza di paralisi permanente del nervo laringeo inferiore. Secondo uno studio di Randal e colleghi, l'utilizzo di questa tecnica ha una sensibilità del 75% e una specificità del 92,2%. [10]

Durante l'intervento di endoarterectomia carotidea il danno del nervo vago può essere causato dallo stiramento, dall'interruzione dell'apporto ematico o dal clampaggio del nervo stesso. L'incidenza di paralisi riportata in letteratura si aggira intorno al 2-6%. [11]

Gli approcci anteriori alla colonna cervicale possono provocare paralisi laringea tramite lo stiramento del nervo laringeo ricorrente. Nella maggior parte dei casi viene danneggiato il nervo destro per il caratteristico decorso anatomico. L'incidenza di questa complicanza è descritta in letteratura con una percentuale che varia dal 3 al 6% [12] con un recupero della funzione laringea di circa l'80% a 1 anno dal danno.

La paralisi laringea dovuta a intubazione è relativamente comune, con una percentuale riportata in letteratura del 7-11%. [9] In questa circostanza il danno nervoso è dovuto alla compressione della branca anteriore del nervo laringeo ricorrente ad opera del tubo endotracheale.

I tumori extra-laringei che più frequentemente possono causare paralisi laringea sono quelli del polmone, del mediastino, della tiroide e dell'esofago. Più raramente la paralisi può derivare da uno schwannoma del nervo vago.

La paralisi laringea iatrogena può verificarsi anche in corso di trattamenti non chirurgici, come la radioterapia, che può provocare fibrosi e perdita della vascolarizzazione peri-nervosa.

In una percentuale rilevante dei casi, riportata in letteratura tra il 10 e il 27%, non si riesce a risalire alla causa della paralisi, che pertanto viene definita idiopatica.

La paralisi laringea dovuta a infezioni virali è meno studiata in letteratura e molto spesso è inclusa nelle paralisi idiopatiche. Il motivo principale è legato alla difficoltà nella determinazione dell'eziologia virale, in quanto la positività sierologica non è necessariamente evidenza di un interessamento neurale. I virus principalmente coinvolti sono: herpes simplex virus, varicella-zoster virus, Epstein-Barr virus, influenza virus. Il cytomegalovirus invece causa più spesso paralisi nei pazienti con HIV. [13]

Tra le cause di paralisi laringea dovute a interessamento della giunzione neuromuscolare la causa più importante è la miastenia gravis.

Manifestazioni cliniche

La paralisi unilaterale delle corde vocali si manifesta clinicamente con una *disfonia* di entità variabile caratterizzata da raucedine. La voce appare tipicamente soffiata, di intensità ridotta, rauca e con una riduzione del tempo fonatorio massimo.[8], [9] Il paziente inoltre lamenta affaticamento durante l'uso prolungato della voce, specialmente in ambienti sfavorevoli come gli ambienti affollati. Il grado di disfonia dipende da vari fattori, tra cui la posizione della corda vocale paralizzata (mediana, paramediana, intermedia, laterale), il livello in rapporto alla corda controlaterale e il trofismo, da cui dipende il profilo della corda (curvo o lineare).

In caso di danno del nervo vago, oltre ai sintomi della paralisi ricorrente, sono presenti anche sintomi dovuti al danno del nervo laringeo superiore, come la perdita delle alte tonalità vocali e un aumentato rischio di penetrazione/aspirazione.

Al momento dell'insorgenza della paralisi il paziente può lamentare aspirazione di saliva e una lieve disfagia, soprattutto per i liquidi: questi sintomi, tuttavia, tendono a scomparire nel corso del tempo per la comparsa di meccanismi di compenso.

Anche la disfonia nella maggior parte dei casi tende a diminuire, grazie alla compensazione dell'emilaringe controlaterale.

In alcuni pazienti, soprattutto di sesso maschile, la voce può col tempo diventare più forte e di tonalità bassa come conseguenza di una iperfunzione sopraglottica; in altri pazienti, soprattutto di sesso femminile la voce può assumere una tonalità più alta; tale condizione è stata definita con il termine di "falsetto paralitico" ed è dovuta ad una contrazione compensatoria del muscolo cricotiroideo ipsilaterale, che rimane innervato in caso di paralisi esclusiva del nervo laringeo ricorrente.

Il motivo per cui in corso di paralisi unilaterale della corda vocale la muscolatura laringea può mantenere il trofismo è riconducibile alla *reinnervazione sincinetica*. La sincinesia, definita come la contrazione sincrona di muscoli che normalmente non si contraggono insieme, è il risultato di una rigenerazione aberrante dei nervi motori in seguito ad un danno. Il nervo laringeo ricorrente contiene fibre per i muscoli adduttori e abduttori; dopo un danno si può verificare una reinnervazione cross assonale che determina la contrazione simultanea di tali muscoli. Questo comporta una compromissione della motilità della corda vocale ma permette il mantenimento del trofismo muscolare.

Secondo Crumley[14] la sincinesia laringea può essere classificata in quattro tipi: di cui la tipo I è definita "sincinesia favorevole" e la tipo II, III e IV "sincinesie sfavorevoli":

- Tipo I: corde vocali immobili o leggermente mobili, nessun disturbo respiratorio e buona qualità della voce; la corda vocale è in posizione mediana o paramediana e trofica

- Tipo II “sincinesia sfavorevole”: nessun disturbo respiratorio e compromissione della voce moderata o severa; si verificano degli improvvisi spasmi delle corde vocali e/o delle aritenoidi e/o delle false corde vocali
- Tipo III: iperadduzione della corda vocale soprattutto durante l’inspirazione; la voce è normale, ma si verifica una riduzione dello spazio respiratorio con possibile lieve dispnea, soprattutto durante l’attività fisica
- Tipo IV: iperabduzione della corda vocale con voce soffiata o afonia; possibili aspirazioni

Se la sincinesia è presente, alcuni autori preferiscono definire l’immobilità dell’emilaringe utilizzando il termine “compromissione della motilità”, piuttosto che il termine “paralisi”.

Diagnosi e valutazione dell'insufficienza glottica

Nel paziente che presenta un quadro clinico compatibile con una paralisi unilaterale delle corde vocali ma la cui causa non è riconoscibile, è indicata l'esecuzione di un dettagliato work-up diagnostico.[15] È raccomandato eseguire una tomografia computerizzata della regione cervicale e del torace per esaminare l'intero decorso del nervo laringeo ricorrente. Si può considerare inoltre il ricorso alla risonanza magnetica, nel caso in cui si sospetti una lesione della base cranica o intracranica. L'*elettromiografia* viene utilizzata per valutare l'attività spontanea e volontaria dei muscoli laringei. Tale esame può essere utilizzato per differenziare una paralisi dovuta ad un danno del nervo vago da una dovuta ad un danno del nervo laringeo ricorrente, in quanto la funzione cricotiroidea è conservata in caso di danno esclusivo del nervo laringeo ricorrente. Un'importante applicazione dell'elettromiografia è la valutazione prognostica del paziente: l'evidenza di una denervazione completa rende il recupero estremamente improbabile. Inoltre l'elettromiografia consente di differenziare una immobilità di origine neurologica (paralisi propriamente detta), da una di origine meccanica come dislocazione aritenoidea, fissazione dell'articolazione crico-aritenoidea o stenosi glottica posteriore.

La valutazione del paziente con insufficienza glottica deve essere eseguita sia pre-operatoriamente che post-trattamento.

Le indagini cliniche e strumentali più importanti secondo la European Laryngological Society (ELS)[15] comprendono:

- Stroboscopia laringea
- Valutazione percettiva della disfonia
- Analisi spettrale della voce
- Self-assessment del grado di disfonia da parte del paziente

Laringostroboscopia

La laringostroboscopia (Fig. 7) è un esame semi oggettivo in quanto dipende dall'esperienza dell'esaminatore. Nei pazienti con paralisi unilaterale delle corde vocali il parametro più importante da valutare è la *posizione* della corda vocale fissa: nel caso in cui sia fissa in posizione mediana o paramediana solitamente per ottenere un miglioramento significativo della voce è sufficiente la logopedia; se invece si trova in posizione intermedia o laterale è spesso necessaria la medializzazione della corda vocale.



Figura 4. Laringostroboscopia in un paziente con paralisi unilaterale della corda vocale destra, fissa in posizione paramediana (da SPRINGER Injection Laryngoplasty, © Springer 2015)

Valutazione percettiva della disfonia

Per la valutazione percettiva della disfonia si usa la scala GIRBAS[15], che valuta sei parametri vocali assegnando a ciascuno di essi un punteggio da 0 a 3 a seconda della severità. I parametri valutati sono:

- Grado globale di disfonia (G)
- Grado di instabilità della voce (I)
- Grado di raucedine della voce (R)
- Grado di voce soffiata (B: breathiness)
- Grado di astenia della voce (A)
- Grado di voce pressata (S)

La valutazione percettiva della disfonia è una valutazione soggettiva dell'esaminatore: per ottenere dei valori più precisi e per avere la possibilità di compararli è consigliato eseguire tale valutazione in modo collegiale.

Analisi spettrale della voce

L'analisi spettrale della voce comprende sia valutazioni oggettive che semioggettive.

Le *indagini oggettive* comprendono l'analisi acustica multiparametrica, gli indici aerodinamici (tempo fonatorio massimo) e il fonetogramma.

L'analisi acustica multiparametrica può essere eseguita con diversi software. Il più diffuso e utilizzato è l'MDVP.[16] Questo software analizza i tre secondi centrali di una vocale /a/ mantenuta ad un'intensità e una frequenza costante. Il grafico ottenuto contiene undici parametri acustici, che sono il Jitt, vFO, Shim, vAm, NHR, VTI, SPI, FTRI, ATRI, DVB, DSH (Fig. 8).

- 1) *Jitt* - jitter percentuale (v. n. 1,04%). È la variabilità relativa media a breve termine, di periodo in periodo, del periodo fondamentale. È un indice di irregolarità della vibrazione glottica ed è correlato percettivamente alla voce rauca;
- 2) *vfo* - variazione della frequenza fondamentale (v.n. > 1,10). È la variabilità relativa a medio-lungo termine, di periodo in periodo, del periodo fondamentale. È un indice della capacità di mantenere la voce intonata alla stessa nota durante i 3 secondi del vocalizzo;
- 3) *Shim* - shimmer percentuale (v. n.>1,04%). È la variabilità relativa media a breve termine, periodo per periodo, dell'ampiezza da picco a picco. È un indice di irregolarità della vibrazione glottica ed è correlata percettivamente alla voce soffiata e rauca;
- 4) *vAm* – variazione dell'Ampiezza a medio-lungo termine (v.n. > 8,28). È la variabilità relativa media a medio-lungo termine, periodo per periodo, dell'ampiezza da picco a picco. È un indice della capacità di mantenere costante la pressione sottoglottica durante i 3 secondi del vocalizzo;
- 5) *NHR* - Noise to Harmonic Ratio: rapporto rumore/armoniche (v. n.<0,19). È il rapporto medio fra le componenti di energia spettrale disarmonica (rumore) nella banda 1.500- 4.500 Hz e le componenti di energia spettrale armonica nella banda 70-4.500 Hz. Costituisce una valutazione globale della presenza di rumore nella gamma di frequenze medio-basse;
- 6) *VTI* - Voice Turbulence Index: indice di turbolenza della voce (v. n >0,061). È il rapporto medio fra le componenti di rumore nella banda 2.800-5.800 Hz e le componenti armoniche nella banda 70-4.500 Hz. Il rumore di alta frequenza è correlato alla turbolenza dovuta ad una incompleta chiusura glottica ed è un correlato acustico della “voce soffiata”;
- 7) *SPI* - Soft Phoniation Index: indice di fonazione “sommessa” (v. n.<14,12). È il rapporto medio tra le componenti di energia spettrale armonica di bassa frequenza (70-1.600 Hz) e quella di alta frequenza (1.600-4.500 Hz). Quanto più la forza di adduzione delle corde vocali

è grande, tanto più il valore di SPI è basso, poiché è maggiore la ricchezza di armoniche di alta frequenza;

- 8) *FTRI* - Fo Tremor Intensity Index: indice di profondità del tremore di frequenza (v. n. > 0,95%). È il rapporto percentuale tra il tasso di modulazione periodica della Fo e la Fo media;
- 9) *ATRI* - Amplitude Tremor Intensity Index: indice di profondità del tremore di ampiezza (v. n. sp. 4,37%). È il rapporto percentuale tra il tasso dell'ampiezza di picco e l'ampiezza di picco media;
- 10) *DVB* - Degree of Voice Breaks: grado di rotture della voce (v. n. 0%). È il rapporto percentuale tra la durata totale degli intervalli di interruzione della sonorità e quella dell'intero campione;
- 11) *DSH* - Degree of SubHarmonics): grado di diplofonia (v. n. 0%). È un indice della ricorrenza percentuale di componenti sub-armoniche su tutto il campione di voce.

L'indice quantitativo aerodinamico più importante è il *tempo fonatorio massimo*, che normalmente ha un valore > 10 s. Tale parametro consiste nel tempo massimo espresso in secondi in cui il paziente riesce a produrre la vocale /a/ ad un'intensità e una frequenza costante. Si fa riferimento al risultato migliore di tre tentativi. In base al valore ottenuto, la severità della compromissione aerodinamica può essere:

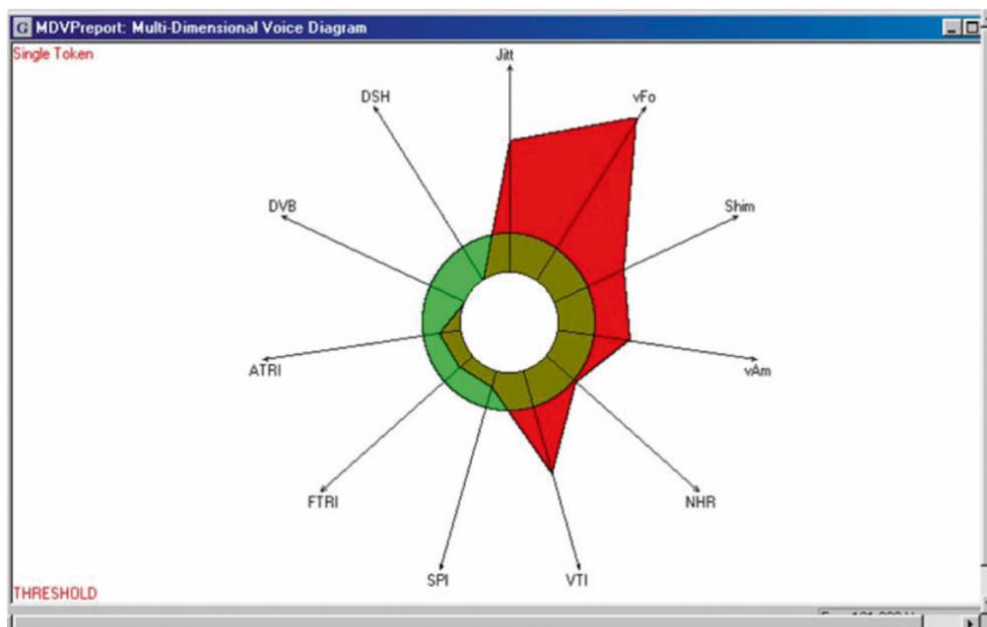


Figura 5. Grafico MDVP a forma di stella in paziente con paralisi unilaterale della corda vocale sinistra. I parametri acustici ottenuti per la vocale /a/ sono inclusi nell'area rossa. L'area verde comprende i valori normali (da SPRINGER Injection Laryngoplasty, © Springer 2015)

- Leggermente alterata: 8-10 s

- Moderatamente alterata: 5-7 s
- Gravemente alterata: <5 s

Il fonetogramma è in grafico in cui sono riportati i valori della frequenza fondamentale della voce (in Hz) sull'asse delle X, mentre sull'asse delle Y sono riportati i valori dell'intensità (in dB SPL) per i vari Fo prodotti (Fig. 9).

Al paziente viene richiesto di pronunciare una sirena ascendente e discendente con la vocale /a/, partendo dalla nota più bassa che è in grado di produrre. Il test è ripetuto tre volte e ogni volta il software acquisisce nuove informazioni per produrre il fonogramma.

La valutazione semioggettiva nell'analisi spettrale della voce consiste nella spettroscopia, un esame che mostra in una scala di grigi la struttura armonica di un campione di voce; rappresentato dalla vocale /a/ e dalla parola /aiuole/, che contiene le cinque vocali. Tra i vari metodi per eseguire la spettroscopia, il più utilizzato è lo spettrogramma, che mostra i cambiamenti nel tempo in energia e distribuzione delle frequenze, mostrando l'energia di ogni frequenza in una scala di grigi o di colori. I valori della frequenza di vibrazione glottica (in Hz) sono riportati sull'asse delle Y mentre il tempo (in s) viene riportato sull'asse delle X. La frequenza fondamentale e le seguenti armoniche sono rappresentate da linee più o meno scure a seconda dell'intensità della voce.

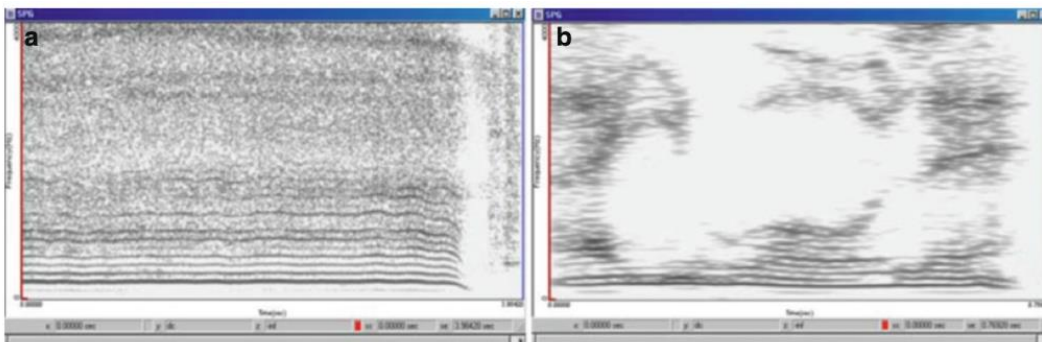


Figura 9. Spettrogramma 0-4000 Hz della vocale /a/ (a) e della parola /aiuola/ (b) in un paziente con paralisi della corda vocale sinistra (da SPRINGER Injection Laryngoplasty, © Springer 2015)

Un *parametro oggettivo* che può risultare utile nella valutazione dell'insufficienza glottica è il quoziente fonatorio, un indice aerodinamico ottenuto dal rapporto tra la capacità vitale e il tempo fonatorio massimo (v.n. 120-190 ml/s). Tuttavia, per il calcolo di tale rapporto è necessaria l'esecuzione di una spirometria, che limita la sua applicazione di routine.

Self-assessment della disfonia

L'autovalutazione del paziente del grado di disfonia è una valutazione soggettiva che si basa sulla compilazione di appositi questionari. Tale valutazione è di fondamentale importanza per conoscere

il grado di soddisfazione del paziente in relazione al trattamento eseguito, sia esso medico, foniatico o chirurgico.

Tra i questionari più utilizzati riconosciamo il *Voice Handicap Index* (VHI)[17], [18], che nella sua versione completa è costituito da 30 domande, le quali possono essere suddivise in tre gruppi:

- Impatto dei problemi di voce sulle attività quotidiane
- Impatti psicologico
- Percezione delle caratteristiche della voce

Per ogni domanda il paziente deve rispondere con un punteggio da 0 a 4, dove 0 significa “mai” e 4 “sempre”.

Nella pratica clinica spesso si ricorre ad una versione semplificata del VHI, il *VHI-10*, che è costituito da dieci domande (Fig. 10). Il VHI, nella sua forma ridotta o completa, dovrebbe essere somministrata al paziente durante la prima visita e durante il follow-up.

Voice Handicap Index-10 (VHI-10)						
1	La mia voce rende difficile farmi sentire dalla gente	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
2	La gente ha difficoltà a capirmi in una stanza rumorosa	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
3	Le mie difficoltà vocali restringono la mia vita personale e sociale	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
4	Mi sento escluso/a dalle conversazioni a causa della mia voce	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
5	Il mio problema di voce mi causa perdita di entrate economiche	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
6	Sento che devo fare sforzo per produrre la voce	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
7	La chiarezza della mia voce è imprevedibile	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
8	Il mio problema di voce mi disturba	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
9	La mia voce mi fa sentire disabile	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
10	La gente mi chiede “cosa c'è che non va nella tua voce?”	Mai	Quasi Mai	Qualche Volta	Quasi Sempre	Sempre
Punteggio: _____		0	1	2	3	4

Figura 10. Voice Handicap Index-10

Opzioni terapeutiche delle paralisi monolaterali

I principali obiettivi del trattamento della paralisi unilaterale delle corde vocali sono la riduzione dell'incompetenza glottica e il miglioramento della qualità della voce senza medializzare eccessivamente la corda paralitica provocando dispnea.

È ormai consolidata l'idea secondo la quale la ripresa della funzionalità laringea sia frequente nel caso in cui il nervo non sia lesionato. Anche in caso di lesione, non è escludibile che una

reinnervazione spontanea possa avvenire; per questo motivo è sempre meglio attendere almeno un anno dall'esordio della sintomatologia prima di offrire al paziente un trattamento chirurgico definitivo. Una possibile opzione terapeutica "ponte", in attesa dell'eventuale trattamento definitivo, potrebbe essere l'infiltrazione glottica di sostanze riassorbibili come l'acido ialuronico, anche in regime ambulatoriale, coadiuvato dalla riabilitazione logopedica.

Le opzioni terapeutiche comprendono:

1. *Laringoplastica iniettiva*. Prevede l'iniezione di materiali differenti con lo scopo di medializzare la corda vocale paralitica;
2. *Medializzazione esterna*. Prevede l'applicazione di materiale sintetico all'esterno della corda vocale tramite un intervento chirurgico. Anche in questo caso l'obiettivo è la medializzazione della corda vocale;
3. *Reinnervazione unilaterale non selettiva*.

Medializzazione esterna (tiroplastica non iniettiva)

La tiroplastica è una tecnica fonochirurgica che ha l'obiettivo di migliorare la qualità della voce alterando la struttura della cartilagine tiroide, in modo da modificare la posizione o la lunghezza delle corde vocali.

Isshiki [19]e colleghi hanno descritto quattro tipologie di tiroplastica:

- Tipo I: medializzazione della corda vocale.
- Tipo II: lateralizzazione della corda vocale.
- Tipo III: rilassamento (accorciamento) della corda vocale.
- Tipo IV: stretching (allungamento) della corda vocale.

La tiroplastica di medializzazione (Fig. 11) è attualmente considerata da molti la procedura di scelta per la gestione della paralisi unilaterale delle corde vocali. L'obiettivo di questa procedura non è il ripristino dell'anatomia della regione ma il miglioramento della qualità fonatoria.

Tale procedura presenta diversi vantaggi, in quanto può essere eseguita in anestesia locale, è potenzialmente reversibile e preserva l'integrità strutturale delle corde vocali. I principali svantaggi sono la difficoltà di esecuzione, la necessità di dover ricorrere ad un intervento chirurgico, la possibile dislocazione/esposizione della protesi e la possibile limitazione alla medializzazione della glottide posteriore. I principali fattori che influenzano l'outcome di una tiroplastica di medializzazione sono la dimensione, la forma, il posizionamento dell'impianto e la durata dell'intervento chirurgico, che svolge un ruolo chiave.

I materiali utilizzabili sono molteplici, tra i principali sistemi troviamo gli impianti Montgomery (composti di silastic e disponibili in diverse forme e dimensioni), gli impianti VoCoM (costituiti di idrossiapatite) e gli impianti Gore-Tex.

L'intervento viene eseguito in anestesia locale con il paziente posto in posizione supina. Si esegue un'incisione paramediana orizzontale a livello della lamina tiroide; in seguito si effettua un'incisione di circa 5 cm nel platisma, esponendo la prominenza laringea e il bordo inferiore della cartilagine tiroide. Lo step successivo prevede la creazione della finestra cartilaginea operativa, al cui interno verrà posizionata la protesi. Con il posizionamento della protesi, una porzione della cartilagine tiroide viene mobilizzata e medializzata, producendo una medializzazione della corda vocale omolaterale. Per determinare la posizione ottimale viene chiesto al paziente di fonare mentre il chirurgo muove l'impianto nei quattro quadranti della finestra. Nella scelta della protesi, è suggerito utilizzare la protesi più grande possibile che permette di ottenere un'ottima qualità della voce.

I risultati della tiroplastica di medializzazione sono solitamente ottimi. La qualità della voce migliora notevolmente, soprattutto in termini di raucedine e voce soffiata. Il tempo fonatorio medio aumenta da 4,6 secondi a 15, e l'ampiezza della voce aumenta anch'essa significativamente.

Le possibili complicanze sono la penetrazione della mucosa endolaringea, l'infezione della ferita, la condrite, la migrazione o l'estrusione dell'impianto e l'ostruzione delle vie aeree. Quest'ultima complicanza è quella potenzialmente più pericolosa; per questo motivo è necessaria l'osservazione del paziente nella notte successiva all'intervento. Per prevenire la penetrazione della mucosa endolaringea, prima del posizionamento dell'impianto il chirurgo deve ricercare eventuali perdite di aria riempiendo la ferita con soluzione salina mentre il paziente fona. Se è presente una comunicazione con le vie aeree si ha una perdita di aria e la procedura deve essere terminata senza il posizionamento dell'impianto.

Le complicanze nel complesso si verificano in meno del 3% dei casi; la chiusura incompleta della glottide invece si verifica in circa il 10-15% dei casi, e può essere trattata con una tiroplastica di revisione, laringoplastica iniettiva, procedure di reinnervazione o di adduzione dell'aritenoido. [8]

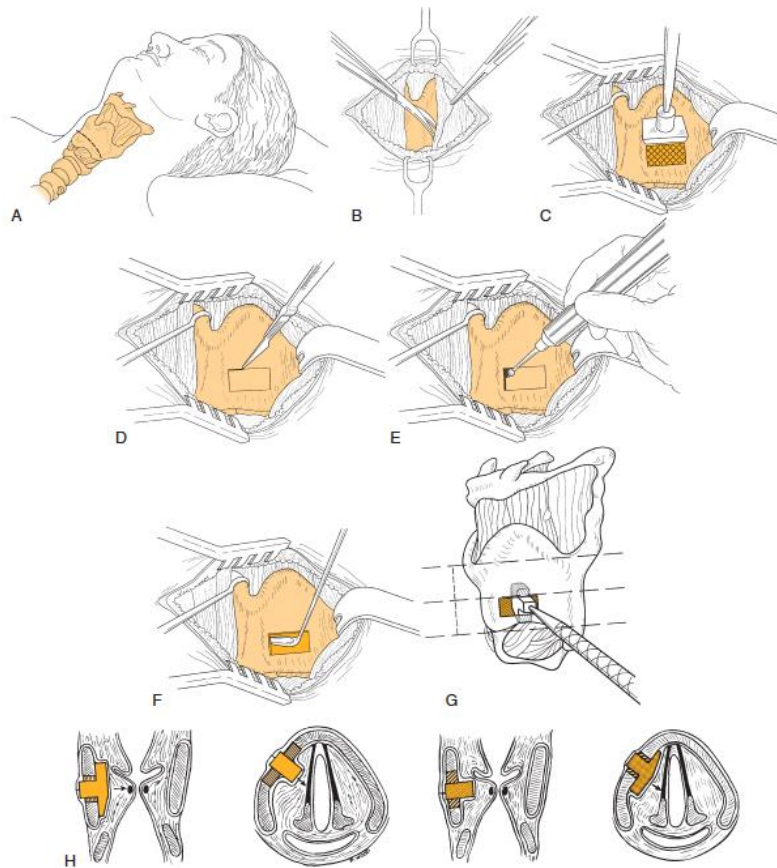


Figura 11. Tiroplastica di medializzazione, procedura chirurgica (da Cummings Otolaryngology - Head and Neck Surgery, © Elsevier 2020)

Laringoplastica iniettiva

La laringoplastica iniettiva è una procedura chirurgica che si avvale di materiali iniettivi, organici o di sintesi, per migliorare o ripristinare la competenza glottica tramite un incremento volumetrico e/o la medializzazione delle strutture anatomiche nel sito di iniezione.[20]

I principali vantaggi di questa procedura risiedono nella velocità e nella semplicità con cui può essere eseguita: personale esperto può eseguire questi interventi in anestesia locale; tuttavia spesso si preferisce ricorrere ad un'anestesia generale.

Gli aspetti più problematici sono la scelta del materiale, che deve combinare tollerabilità e caratteristiche biomeccaniche compatibili con la funzione delle corde vocali, e la stabilità nel tempo.

Il primo tentativo di laringoplastica risale al 1911, quando Brüning ha utilizzato come materiale la paraffina, che è stata presto abbandonata per le sue complicanze (paraffinomi ed emboli).

La laringoplastica iniettiva può essere eseguita *ambulatorialmente* (per via transcutanea, transorale o transnasale) o in anestesia generale tramite *microlaringoscopia*. A seconda del tipo di intervento effettuato vengono scelti dei materiali differenti.

Scelta del materiale

La scelta del materiale da usare non è semplice. Le caratteristiche del mezzo ideale sono le seguenti:

- Biocompatibile e inerte
- Facile da preparare e da usare
- Poco costoso
- Duraturo e resistente al riassorbimento e alla migrazione
- In grado di mantenere le proprietà visco-elastiche della corda vocale post-iniezione

I materiali utilizzati possono essere suddivisi in tre categorie: riassorbibili, lentamente/parzialmente riassorbibili e non riassorbibili. Tra i materiali riassorbibili il più utilizzato è l'acido ialuronico, tra quelli parzialmente/lentamente riassorbibili troviamo il grasso autologo e il calcio idrossiapatite (Radiess®); infine tra quelli non riassorbibili il più utilizzato è il polidimetilsilossano (Vox implants®).[20]

Acido ialuronico

L'acido ialuronico è un glicosaminoglicano ad alto peso molecolare che agisce principalmente come componente strutturale; ha anche una funzione lubrificante, proteggendo per esempio le cartilagini articolari dallo stress causato dallo sfregamento. Nei mammiferi è presente in alte concentrazioni nel corpo vitreo, nel liquido sinoviale, nello spazio intercellulare dell'epidermide e nel derma. Negli ultimi anni ha sollevato grande interesse per le sue proprietà viscoelastiche, che sono molto simili a quelle della corda vocale umana. Infine, è stato anche osservato come l'acido ialuronico svolga un ruolo chiave nel processo di guarigione conseguente al danno di una corda vocale. [21]Per confermare la sua importanza sono stati condotti numerosi studi su animali che hanno dimostrato come la concentrazione di questa sostanza sia molto aumentata nello stadio acuto della cicatrizzazione.

In passato l'acido ialuronico era estratto dalle piume dei galli, che ne contengono una elevata quantità. Tale procedura risultava ovviamente molto costosa e difficoltosa. Attualmente, l'acido ialuronico è estratto dagli streptococchi di tipo A e C, che sono in grado di produrre acido ialuronico per proteggersi dalla reazione immunitaria dell'ospite. Nonostante questo apparente

vantaggio in termini di patogenicità, solo poche specie hanno acquisito la capacità di produrre l'acido ialuronico, come ad esempio lo *Streptococcus equisimilis*, lo *S. pyogenes* e lo *S. uberis*. Il motivo per cui così poche specie batteriche sono in grado di produrlo è da ricondurre all'importante spesa energetica che comporta la produzione di tale composto e alla deprivazione per il batterio del precursore dello zucchero, con conseguente inibizione della sintesi della parete cellulare. A livello industriale l'acido ialuronico è stato prodotto tramite la fermentazione di streptococchi di gruppo C fin dagli anni '80. Attualmente, l'ingegneria genetica ha notevolmente velocizzato la produzione di acido ialuronico e i progressi futuri dell'ingegneria metabolica potrebbero ulteriormente migliorare la produzione di tale sostanza.

La caratteristica principale dell'acido ialuronico è quella di avere *breve durata di effetto*. Questo è da un lato un aspetto positivo poiché può essere iniettata tranquillamente in regime ambulatoriale e come "terapia ponte" in attesa del trattamento definitivo; dall'altro richiede frequenti trattamenti.

Grasso autologo

Il grasso autologo è uno dei materiali più utilizzati nella laringoplastica iniettiva. Il tessuto adiposo non deve essere considerato unicamente come una riserva energetica, ma come un organo vitale. Lo stroma vascolare del tessuto adiposo, infatti, contiene una popolazione di cellule staminali pluripotenti, che permettono la rigenerazione del tessuto adiposo una volta iniettato.[22], [23] Questo materiale viene utilizzato principalmente negli interventi eseguiti con anestesia generale. La procedura di prelievo e iniezione ha subito dei cambiamenti nel corso degli anni. Attualmente, in Italia è molto utilizzata la procedura proposta da Coleman, con qualche modifica. Per prelevare il tessuto adiposo dal paziente bisogna innanzitutto somministrare un'adeguata dose di una soluzione costituita da anestetico e vasocostrittore. La preparazione di tale soluzione prevede la rimozione da una bottiglia di salina da 100 cc di 20 cc di salina e dell'introduzione di due fiale da 10 cc di lidocaina 2%, mezza fiala con 1 cc di adrenalina 1/1000 e 3 cc di soluzione acquosa di bicarbonato di sodio. Questa soluzione riempie due siringhe da 20 cc con luer-lock, in cui viene inserito un ago



Figura 62. Liposuzione eseguita nella regione periombelicale inferiore (da SPRINGER Injection Laryngoplasty, © Springer 2015)

(calibro 22 G, lunghezza 8 cm). L'ago viene poi inserito a livello del bordo inferiore dell'ombelico e 30-40 cc di soluzione vengono iniettati nel tessuto sottocutaneo periombelicale. Per ottenere una sufficiente anestesia e vasocostrizione è necessario attendere circa 20 minuti prima di procedere alla liposuzione. La liposuzione viene effettuata utilizzando una siringa da 10 cc con un luer-lock in cui viene inserito un ago più piccolo del precedente (calibro 14G, lunghezza 8 cm). L'ago viene successivamente inserito nella regione precedentemente anestetizzata (Fig. 12).

La liposuzione viene effettuata con dei movimenti rapidi in senso cranio-caudale; due siringhe vengono riempite con tessuto adiposo sottocutaneo, mischiato a sangue e alla soluzione di anestetico e vasocostrittore. Successivamente le due siringhe vengono inserite in una centrifuga e



Figura 73. Strati dell'agoaspirato in seguito a centrifugazione (da SPRINGER Injection Laryngoplasty, © Springer 2015)

viene eseguita una centrifugazione per tre minuti a 3000 rpm, per separare il tessuto adiposo dal siero e dai globuli rossi. Tenendo in mano la siringa in verticale si possono riconoscere tre strati che sono, dall'alto verso il basso: la componente oleosa che origina dalla lisi degli adipociti, gli adipociti vitali e la componente acquosa, che contiene la componente cellulare del sangue e l'anestetico locale (Fig. 13).

Gli strati superiore e inferiore vengono rimossi, lasciando solo quello costituito da adipociti vitali. Durante la procedura è fondamentale evitare il contatto tra il grasso e l'aria, che causerebbe l'ossidazione del tessuto adiposo compromettendone la stabilità.

Dopo aver prelevato il tessuto adiposo, è indicato applicare del ghiaccio sulla cute nella sede del prelievo, in modo da facilitare l'emostasi e prevenire la formazione di ematomi.

L'iniezione di tessuto adiposo deve essere fatta "in eccesso", iniettando il doppio della quantità di materiale richiesta per la correzione dell'insufficienza glottica in quanto ci si aspetta che dopo pochi mesi venga riassorbito circa il 30-50% del materiale iniettato.

Data la presenza di cellule staminali all'interno del tessuto adiposo ci si è domandati se tali cellule ne permettessero la rigenerazione una volta che il materiale era stato iniettato nell'ospite. Uno studio eseguito sfruttando la risonanza magnetica ha dimostrato come il tessuto adiposo autologo possa sopravvivere al trapianto nella corda vocale e che, nonostante si verifichi un riassorbimento di entità variabile, la forma della corda vocale è mantenuta grazie al tessuto fibroso e ai microlipociti

che sostituiscono le cellule di grasso che vengono gradualmente riassorbite. Risulta tuttavia molto difficile quantificare il volume di grasso che rimane in sede dopo l'impianto, in quanto i piccoli globuli di grasso hanno dimensioni inferiori alla risoluzione della risonanza magnetica.[24]

Tra le possibili complicanze di questa procedura bisogna menzionare l'ematoma sottocutaneo nel sito di prelievo del grasso e la disfonia, che può apparire nelle prime ore dopo la procedura a causa della formazione di un edema della glottide; per prevenire questa condizione al termine dell'iniezione si somministrano dei corticosteroidi per via endovenosa, che devono essere successivamente proseguiti per bocca i 2-3 giorni successivi. Un'altra possibile complicanza è l'infezione del sito di prelievo del grasso; tale complicanza può essere evitata tramite la somministrazione di antibiotici 1-2 ore prima della procedura. Questa terapia va poi proseguita per 5 giorni.

Calcio idrossiapatite: Radiesse®

Il Radiesse® è un impianto semi-solido e completamente biodegradabile. La sua semi-solidità è creata tramite la sospensione del calcio idrossiapatite in un carrier, costituito essenzialmente da acqua e glicerina. L'iniezione di tale sostanza viene generalmente effettuata nelle procedure ambulatoriali, spesso con approccio transcartilagineo (Fig. 14).

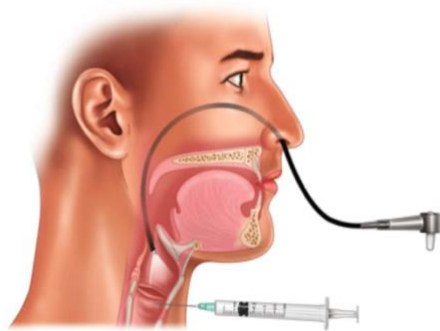


Figura 8. Laringoplastica iniettiva con approccio transcartilagineo (da SPRINGER Injection Laryngoplasty, © Springer 2015)

Polidimetilsilossano (VOX implants®)

Vox implants® consiste in una sospensione di granuli solidi di un elastomero di polidimetilsilossano sospesi in un idrogel di polivinilpirrolidone, che ha le funzioni di diluente e di carrier.

Dato che è un materiale molto stabile, il suo utilizzo è riservato ai casi di paralisi irreversibile delle corde vocali. È uno dei materiali più utilizzati nei trattamenti iniettivi eseguiti sotto anestesia generale.[20]

Procedure chirurgiche (in anestesia generale)

La laringoplastica iniettiva può essere eseguita in sala operatoria tramite *microlaringoscopia*, una procedura chirurgica mininvasiva che prevede l'utilizzo di un microscopio intraoperatorio per eseguire delle procedure fonochirurgiche.

Il corretto posizionamento del paziente è fondamentale per ottenere una buona intubazione ed esposizione della laringe: il paziente viene posizionato in decubito dorsale, con una testiera mobile lievemente elevata per permettere al paziente di assumere la posizione "Boyce-Jackson", nota anche come posizione "sniffing". Questa posizione è caratterizzata da una leggera flessione del collo sul torace e dall'estensione della testa sul collo (Fig. 15).



Figura 95. Posizionamento del paziente (da SPRINGER Injection Laryngoplasty, © Springer 2015)

I materiali iniettabili sono molteplici e differiscono a secondo della tipologia di intervento: negli interventi in anestesia generale si preferisce utilizzare materiali di durata maggiore come il grasso autologo o il Vox implant.

Il punto di iniezione sulla corda vocale (Fig. 16) dipende dal materiale utilizzato: nel caso in cui venga utilizzato il grasso autologo il sito di iniezione preferenziale è il punto tra il terzo mediale e il terzo posteriore, nella porzione laterale del muscolo tiroaritinoideo. Per gli impianti di idrossiapatite invece il punto di iniezione è laterale al processo vocale. Dopo l'iniezione il materiale deve essere distribuito in modo tale da ottenere un profilo rettilineo. Una valutazione endoscopica della deglutizione è essenziale per individuare il più adeguato sito di iniezione.

I vantaggi della microlaringoscopia diretta includono la possibilità di sfruttare una visione tridimensionale del sito operativo, un elevato potere d'ingrandimento, un'immagine ben definita e la possibilità per il chirurgo di lavorare con entrambe le mani.

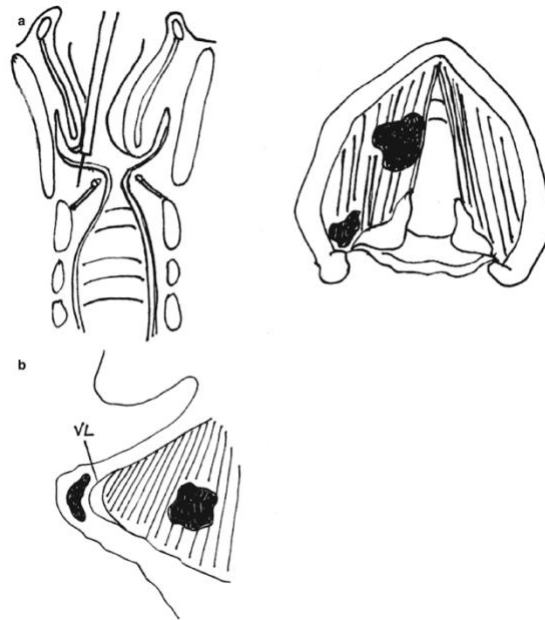


Figura 106. Siti di iniezione di alcuni materiali iniettivi. a) grasso; b) acido ialuronico; c) CaHa e polidimetilsilossano (da SPRINGER *Injection Laryngoplasty*, © Springer 2015)

Le complicanze di tale procedura possono essere legate all'anestesia generale, al microlaringoscopio e al materiale iniettato, ma solitamente sono rare. Le complicanze anestesologiche sono tendenzialmente riconducibili alla tecnica di ventilazione e alle condizioni cliniche del paziente. Complicanze rare possono essere il laringospasmo, l'enfisema cervicomedastinico, lo pneumotorace e la stimolazione del vago.

Il microlaringoscopio può causare danni ai denti, mobilizzazione delle protesi, abrasione e ferite delle labbra, lesioni dell'orofaringe e dell'ipofaringe e traumi dell'articolazione temporo-mandibolare.

Le complicanze legate alla procedura chirurgica e al materiale usato possono essere respiratorie o fonatorie: le prime possono essere dovuti a ipercorrezione; le seconde ad un erroneo sito di iniezione oppure alla scelta di materiale non idoneo.

Procedure ambulatoriali (in anestesia locale)

Le procedure ambulatoriali vengono eseguite sotto anestesia locale. A paziente sveglio, viene iniettata una quantità via via maggiore del materiale scelto, valutando di volta in volta la funzione vocale e l'anatomia della regione glottica tramite videostroboscopia.

La procedura office-based più utilizzata è la *videoendoscopia* (Fig. 17),[25] che può essere eseguita con un approccio transnasale, transorale o transcutaneo. Tale procedura si basa sull'utilizzo di un endoscopio flessibile collegato ad un monitor; all'interno dell'endoscopio, a livello del canale operativo, possono essere introdotti strumenti come microforbici, fibre laser e aghi; questi ultimi possono essere usati per iniettare all'interno della laringe sostanze come l'acido ialuronico e il calcio idrossiapatite (Radiesse®), due dei materiali maggiormente utilizzati per il trattamento iniettivo delle paralisi unilaterali delle corde vocali.

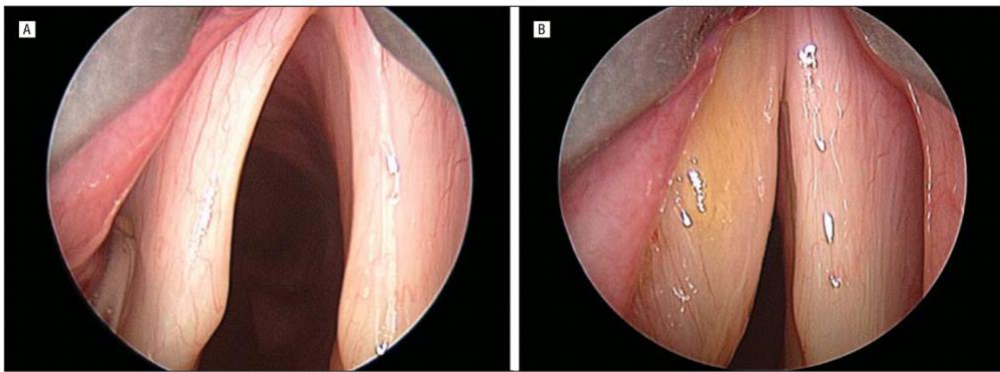


Figura 117. Visione laringoscopica di paralisi cordale sinistra. a) prima dell'iniezione di grasso; b) subito dopo l'iniezione (da *Outcomes of Fat Injection Laryngoplasty in Unilateral Vocal Cord Paralysis*, ©2010 American Medical Association)

Il principale sito di iniezione è tra il terzo medio e posteriore della corda vocale immobile, lateralmente al processo vocale della cartilagine aritenoide. Oltre a consentire un aumento di volume, tale manovra prevede la rotazione mediale e l'adduzione della corda vocale. L'iniezione deve essere effettuata gradualmente, per permettere al materiale di distribuirsi adeguatamente nel tessuto ospite e per evitare che fuoriesca dal foro d'ingresso. Dal momento che buona parte del materiale iniettato viene riassorbito nel primo periodo post-trattamento, è opportuno iniettare il materiale in sovrabbondanza, conferendo alla corda vocale una forma convessa. Una volta che l'iniezione è stata eseguita, l'ago deve rimanere inserito nella corda vocale per circa 15 secondi, per permettere una migliore distribuzione del materiale appena iniettato. Successivamente si rimuove l'ago e si aspirano le secrezioni residue; una volta eseguite queste procedure è opportuno eseguire una fibrolaringostroboscopia per controllare i risultati ottenuti.

La voce subito dopo l'intervento potrebbe risultare pressata e rauca (a causa della ipermedializzazione della corda paralitica); una voce valida è indice di ipercorrezione insufficiente e pertanto, nel giro di poche settimane, gran parte del materiale iniettato verrebbe riassorbito determinando una nuova insufficienza glottica.

Nel caso in cui alla laringostroboscopia si ravvisi la necessità di iniettare ulteriore materiale, una seconda iniezione può essere effettuata nel terzo centrale della corda vocale fissa, in posizione laterale, o alternativamente nel terzo centrale della corda mobile controlaterale.

Nel caso in cui la corda vocale paralizzata sia situata a un livello diverso sul piano assiale rispetto alla controlaterale, alcuni chirurghi preferiscono eseguire una laringoplastica bilaterale.

È infatti fondamentale che la corda vocale trattata abbia un aspetto e una configurazione simile alla corda controlaterale, ma è altrettanto fondamentale che sia posizionata sullo stesso piano; in caso contrario la voce potrebbe rimanere disfonica. Ciò sottolinea l'importanza della regione infraglottica nel raggiungimento di una configurazione geometrica ottimale per la funzione aerodinamica.

Un'altra opzione terapeutica per il trattamento ambulatoriale delle paralisi unilaterali è costituita dalla *laringoplastica transcutanea*.

L'iniezione transcutanea può essere eseguita tramite tre approcci differenti:

- Approccio trans-cartilagine tiroide: l'ago viene posizionato perpendicolarmente alla cartilagine tiroide, approssimativamente 2-3 mm sopra il bordo inferiore, in posizione mediana. L'iniezione può essere eseguita sotto monitoraggio video;
- Approccio trans-cricotiroideo: il paziente viene posto in posizione seduta con il collo esteso. Un ago viene inserito attraverso la membrana cricotiroidea, lateralmente alla linea mediana direttamente all'interno spazio paraglottico;
- Trans-tiroioideo: un ago di 25G di calibro viene inserito tramite la membrana tiro-ioidea o tramite la membrana crico-tiroidea, fino a raggiungere il lume laringeo a livello del petiolo epiglottico. Con guida fibroscopica, la punta dell'ago risulta ben visibile. Dunque questa procedura offre una precisione maggiore rispetto alle altre tecniche transcutanee.

La laringoplastica iniettiva transcutanea offre diversi vantaggi rispetto alle tecniche tradizionali. È infatti una tecnica ambulatoriale che viene eseguita in anestesia locale, senza incisioni ed è generalmente ben tollerata dal paziente.

Tuttavia, tale procedura ha una incidenza di complicanze leggermente maggiore delle procedure eseguite in anestesia generale tra cui l'ematoma della corda vocale, la crisi vago-vagale e l'iniezione in una posizione errata.

Reinnervazione laringea

La reinnervazione laringea è una tecnica chirurgica che consiste nel restauro delle connessioni neurali della laringe, che possono essere danneggiate in seguito ad un trauma o a un intervento

chirurgico. [26]L'obiettivo di questo intervento non è quello di migliorare i movimenti fonatori e respiratori, ma di mantenere o ripristinare il trofismo muscolare e della corda vocale e la tensione tra i muscoli antagonisti.

Le funzioni nervose ripristinate possono essere quelle del nervo laringeo ricorrente o di uno dei suoi rami, del nervo laringeo superiore o di entrambi i nervi. Le tecniche utilizzate sono molteplici e comprendono l'anastomosi termino-terminale (neurorrafia), l'impianto diretto della porzione terminale del nervo in un muscolo (*nerve-muscle pedicle technique*) o la tecnica muscle-nerve-muscle, in cui si anastomizza un nervo ad un muscolo denervato da un capo e ad uno regolarmente innervato dall'altro.

Idealmente la reinnervazione laringea permetterebbe di ripristinare la corretta cinetica delle corde vocali, con un'adeguata adduzione durante la fonazione e abduzione durante l'inspirazione; tuttavia, attualmente nessuna delle tecniche sopracitate permette di raggiungere risultati altrettanto soddisfacenti.

La paralisi unilaterale delle corde vocali è la principale indicazione alla reinnervazione laringea, in particolare se il nervo danneggiato è il laringeo ricorrente.[26] È bene sottolineare che nella maggior parte dei casi il nervo danneggiato non viene riparato ma sostituito con un nervo alternativo.

I possibili vantaggi della reinnervazione laringea sono: la possibilità di ripristinare una voce normale o quasi normale senza ricorrere all'iniezione di materiali sintetici, il mantenimento del trofismo dei muscoli adduttori della laringe, il miglioramento del posizionamento della corda vocale, la reversibilità della procedura e l'eliminazione di un'eventuale disfonia secondaria ai movimenti incordinati tipici della sincinesia. Inoltre, il ricorso alla reinnervazione laringea non preclude un futuro impiego delle tecniche di medializzazione.

I possibili svantaggi sono: la necessità di avere a disposizione un nervo donatore intatto e le tempistiche necessarie per osservare clinicamente dei miglioramenti, in quanto sono necessari almeno 6 mesi per iniziare a vedere gli effetti della reinnervazione.

Il nervo donatore ideale dovrebbe avere le seguenti caratteristiche: minima morbilità nel sito donatore in seguito al prelievo, un elevato numero di assoni e una sufficiente lunghezza; è infatti fondamentale che il nervo scelto abbia una lunghezza adeguata ai cambiamenti delle dimensioni dell'asse laringeo sul piano verticale che si verificano durante la deglutizione. Il nervo utilizzato per è l'ansa cervicale del nervo ipoglosso. L'ansa cervicale è una struttura nervosa derivata dall'unione di due radici provenienti dal plesso cervicale ed è costituita da fibre provenienti da C1, C2 e C3. È il nervo donatore maggiormente utilizzato perché il suo prelievo non comporta grave morbilità nel sito donatore; decorrendo vicino al nervo laringeo ricorrente non richiede ulteriori innesti nervosi,

cosa che comporterebbe un ritardo ulteriore nel processo di reinnervazione non selettiva dei muscoli laringei.

La reinnervazione laringea viene eseguita solitamente sotto anestesia generale, ma può anche essere eseguito ricorrendo ad un'anestesia locale con sedazione profonda.

2. Materiale e Metodi

Sono stati raccolti tra Gennaio 2022 e Settembre 2022 i dati relative a 10 elettromiografie laringee eseguite durante stimolazione magnetica transcranica (TMS). Tra queste 10 valutazioni, abbiamo diviso la coorte in due gruppi: **gruppo A**, composto da 5 soggetti affetti da paralisi unilaterale delle corde vocali (UVFP); ed il **gruppo B**, composto da 5 soggetti sani. Per migliorare l'accuratezza della valutazione e ridurre il bias legato alle differenti caratteristiche fisiche dei soggetti appartenenti ai due gruppi (età, altezza, conformazione anatomica), sono stati raccolti i dati, come ulteriore controllo sano, del lato non affetto da paralisi dei 5 soggetti affetti da UVFP. Le caratteristiche demografiche dei soggetti del gruppo A sono riassunte nella Tabella 1 (Tab.1).

Tutti i soggetti hanno firmato il consenso informato, approvato dal comitato etico (**CER Liguria: 63/2021 - DB id 11240**) per accettare di partecipare allo studio.

È stata raccolta l'anamnesi di tutti i pazienti inclusi, registrando la data di insorgenza della sintomatologia, l'eventuale associazione con paralisi di altri nervi cranici ed eventuali sintomi neurologici concomitanti.

È stata, quindi, condotta una valutazione clinica otorinolaringoiatrica completa ed un esame clinico neurologico completo.

2.1 Videolaringoscopia

Tutti i soggetti inclusi sono stati sottoposti ad una videolaringoscopia (Olympus CV-170 ENT digital platform associata ad un videoendoscopio ENF-VT2, Olympus medical system o Pentax Medical Defina EPK-3000 con Video Naso Pharyngo Laryngoscope VNL 1570STK, Pentax Medical). Durante la valutazione videolaringoscopica è stato chiesto al paziente di inspirare ed espirare e di sostenere una vocale prolungata per poter meglio valutare la motilità laringea.

Tutte le videolaringoscopie sono state registrate, rendendo possibile una attenta osservazione e rivalutazione della motilità laringea e delle caratteristiche vibratorie delle corde vocali durante l'utilizzo della luce stroboscopica.

2.2 Elettromiografia laringea (LEMG)

Tutti i soggetti arruolati nello studio sono stati sottoposti ad una elettromiografia laringea per valutare la attività della muscolatura intrinseca laringea. L'esame è stato eseguito seguendo le linee guida proposte dalla Società Europea di Laringologia.[27] Per eseguire l'esame sono stati utilizzati elettrodi ad ago concentrici della lunghezza di 50 mm in modo da poter raggiungere tutta la muscolatura incluso il muscolo cricoaritenoidico posteriore. Prima di iniziare l'esame, sono stati identificati i principali punti di repere (la linea mediana, l'osso ioide, l'incisura tiroidea, il margine inferiore della cartilagine tiroide e l'anello cricoideo).

Sono stati valutati bilateralmente il muscolo cricotiroideo, il muscolo tiroaritenoidico ed il muscolo cricoaritenoidico posteriore. In tal modo è possibile verificare l'integrità sia del nevo laringeo ricorrente, che innerva il muscolo tiroaritenoidico ed il muscolo cricoaritenoidico posteriore, sia del nervo laringeo superiore, che innerva il muscolo cricotiroideo.

Per eseguire tale LEMG abbiamo utilizzato un elettromiografo Deymed Trutrace. Nella maggior parte dei casi il segnale elettromiografico è stato ascoltato e visualizzato in modalità free run.[27]

Prima di iniziare la TMS, sono stati posizionati elettrodi di superficie pregellati a livello del muscolo abduttore breve del pollice (APB) per ottenere una risposta di riferimento dall'arto superiore omolaterale. L'ago è stato quindi posizionato a livello del muscolo tiroaritenoidico e mantenuto in posizione in modo da poter registrare le risposte ottenute con la TMS.

Stimolazione magnetica transcranica (TMS)

L'esame è stato eseguito con i soggetti posti in posizione seduta o supina seconda la preferenza del singolo paziente. La stimolazione a singolo impulso è stata ottenuta mediante una bobina circolare dal diametro di 90mm collegata a uno stimolatore Magstim 200 (Magstim Co. Ltd, Whitland, UK). (Fig. 2)

La stimolazione corticale è stata effettuata secondo la mappa pubblicata di neuroanatomia laringea.[28]–[30]

Il punto migliore di stimolazione è stato individuato come quello localizzato al vertice. La bobina è stata mantenuta tangenziale al cranio. La stimolazione è stata eseguita con intensità iniziale pari al 30% della massima intensità erogabile, incrementando progressivamente l'intensità in modo da individuare la soglia di attivazione a livello del muscolo tiroaritenoidico. (Fig.2)

Non è stata richiesta alcuna preattivazione da parte dei soggetti, ai quali è stato chiesto di rimanere rilassati. È stata rilevata la presenza o meno di preattivazione del muscolo tiroaritenoidico (involontaria) e calcolata la soglia motoria (a riposo o con preattivazione) e la latenza media di comparsa dei potenziali evocati motori. Sono stati considerati utili per l'analisi, solo i potenziali

evocati motori riproducibili per almeno 3 volte. L'intera procedura è stata ripetuta per ciascun lato (tiroaritenideo e APB di destra e di sinistra).

2.3 Analisi statistica

I valori medi di latenza sono stati confrontati con le caratteristiche demografiche ed antropometriche dei soggetti (età, sesso, altezza, peso). I valori ottenuti nei soggetti sani sono stati utilizzati come valori di riferimento. Le latenze del lato sano e del lato affetto da paralisi sono state analizzate nei pazienti affetti da UVFP e confrontati con i valori ottenuti nei controlli sani. I confronti riportati sono stati effettuati usando il test T di Student per dati appaiati o campioni indipendenti con stessa varianza. Il livello di significatività è stato impostato al 0.05%. Tutti i valori sono riportati come media \pm deviazione standard. L'analisi è stata effettuata utilizzando LibreOffice Calc versione 7.4.2.3.

3. Risultati

Sono stati valutati 5 pazienti con paralisi unilaterale del TA e 6 controlli sani.

Cinque dei 6 controlli sani hanno mostrato preattivazione involontaria del TA.

È stato possibile evocare un potenziale evocato motorio (PEM) in 8 muscoli tiroaritenoidi (TA) su 10 con soglie di attivazione variabili tra 45 e 90%. Le soglie di attivazione del TA ($66\% \pm 16$) erano sempre più alte rispetto a quelle registrate a livello dell'eminenza tenar dagli elettrodi APB del APB ($47\% \pm 7$) ($p=0.008$). La latenza media delle risposte sul TA è di $12,4 \pm 2,9$ ms.

Nei pazienti, è sempre stato possibile evocare un potenziale di unità motoria (PUM) sul TA non affetto da paralisi con soglia analoga ai controlli ($69\% \pm 16$, $p=ns$) e latenza di $12,4 \pm 3,5$ ms ($p=ns$). A livello del lato affetto è stato possibile ottenere un PUM riproducibile in 4 TA su 5 con latenze ($9,5 \pm 0,4$ ms, $p=ns$) e soglie ($83\% \pm 15$, $p=ns$) prive di una differenza

statisticamente significativa. Nel lato non affetto il TA era preattivato in 4 casi su 5, mentre nel lato affetto il TA era preattivato solo in 2 casi su 5.

4. Discussione

Lo studio su cui si è basata la presente tesi ha avuto come obiettivo impostare la metodica per lo studio delle vie motorie laringee mediante TMS e presentare i dati preliminari ottenuti su un gruppo di soggetti sani e pazienti con paralisi laringea.

Cracco et al[31] e Benecke[32], per primi ottennero la attivazione della muscolatura intrinseca laringea attraverso la TMS. I successivi tentativi di utilizzo della TMS per lo studio delle neuropatie laringee sono stati condizionati da strumentazioni rudimentali e da coorti di piccole dimensioni. Thumfart et al [6] utilizzando una singola bobina di stimolazione posta a vari livelli del decorso del nervo vago, descrissero una stimolazione laringea riproducibile, ma non abbastanza selettiva da attivare i diversi muscoli intrinseci separatamente. Nel 1996, poi, Sims e collaboratori[33] descrissero l'utilizzo di una bobina a 8, simile a quella utilizzata nel presente studio, capace di stimolare selettivamente il nervo laringeo superiore (SLR) ed il nervo laringeo ricorrente (RLN). Khedr e Aref[34] nel 2002, descrissero un approccio simile per la valutazione della velocità di conduzione nervosa in soggetti sani ed in soggetti affetti da UVFP.

Rimane in ogni caso molto difficile definire l'eziologia della paralisi delle corde vocali in tutti i pazienti, dal momento che molte cause di lesioni neuronali sono ad oggi sconosciute.

UVFP, definita come la immobilità di una corda vocale, è una entità fisiopatologica nota da più di un secolo, dal momento che la diagnosi clinica è di facile attuazione con la sola fibrolaringoscopia. Con la sola valutazione clinica, però, non è possibile stabilire la sede e la causa del danno neuronale. La TMS è stata quindi proposta come strumento diagnostico e prognostico per i pazienti affetti da paralisi delle corde vocali.

In ambito neurofisiologico vengono normalmente utilizzati elettrodi di superficie per registrare la velocità di conduzione nervosa. Visto il decorso profondo dei nervi laringei, non è possibile l'utilizzo degli stessi elettrodi per la valutazione del SLN e del RLN. L'impiego di bobine ad 8 o

circolari per la TMS permette di ridurre questo bias, consentendo di ottenere una stimolazione più selettiva e più profonda. Inoltre, la possibilità di questa bobina di stimolare la corteccia motoria, permette di ottenere la valutazione di tutto il tratto motorio laringeo. L'innervazione corticale efferente della laringe parte dal piede del giro frontale precentrale. Gli assoni del primo motoneurone vanno verso i centri midollari attraversando la corona radiata e la capsula interna della giunzione tra il ginocchio e il giro posteriore. Successivamente le fibre scendono principalmente attraverso la componente corticobulbare del sistema piramidale. Parte delle fibre corticali discendenti attraversano la linea mediana a livello del ponte e della parte craniale del midollo allungato, attraversando il lemnisco mediale per entrare nel gruppo dei primi motoneuroni controlaterali nel nucleo ambiguo. Alcune fibre, però, decorrono ipsilateralmente, così che la muscolatura intrinseca laringea riceva fibre motorie dalla corteccia motoria di entrambi gli emisferi. Ad oggi, tuttavia, c'è una scarsa documentazione neurofisiologica che permetta di comprendere al meglio l'innervazione corticale bilaterale della laringe. Ludlow e collaboratori hanno dimostrato come, stimolando separatamente i due emisferi cerebrali, si ottenga una attivazione bilaterale della muscolatura intrinseca laringea, a dimostrazione della attivazione bilaterale della via corticobulbare dei motoneuroni laringei. [35], [36] (Figura 1)

I dati della letteratura dimostrano una grande variabilità interindividuale nella latenza di attivazione dei muscoli laringei. Al contrario, i risultati riportati nel presente studio hanno dimostrato una certa riproducibilità della latenza di attivazione dei muscoli laringei nel lato sano dei soggetti affetti da UVFP e nel gruppo di controllo dei soggetti sani ($13,2 \pm 2,8$ ms). Analogamente, i dati di latenza registrati nei soggetti sani e dal lato sano di soggetti affetti da UVFP sono in linea con quelli riportati in letteratura.[4], [30], [35], [37] Dai nostri dati è emersa una maggiore soglia di attivazione per il muscolo TA rispetto all'eminenza tenar presa come dato di controllo. Questo probabilmente è la conseguenza del fatto che la posizione del muscolo TA nell'homunculus motorio è più laterale rispetto ai muscoli della mano. Durante la TMS, la bobina è stata posizionata anche in posizione laterale a 45° rispetto al vertice, ottenendo una soglia di attivazione più bassa in soli 2 soggetti. La esigua numerosità del nostro campione consente, purtroppo, di ottenere dati conclusivi in merito.

Dati della letteratura, in accordo con quelli riportati nella presente tesi, suggeriscono che ci sia un aumento progressivo della latenza di conduzione con l'aumentare dell'età. Questi dati sono coerenti con altri studi di TMS su nervi periferici, che hanno suggerito come i nervi periferici vadano incontro ad una progressiva perdita assonale con l'aumentare dell'età.[38] Pelz e collaboratori[39], in un recente studio ecografico, hanno dimostrato come ci sia una correlazione

inversa tra l'aumento dell'età anagrafica ed il diametro del nervo vago, con una conseguente riduzione della densità assonale. Probabilmente questi dati possono aiutarci a comprendere i cambiamenti che osserviamo in pazienti anziani affetti da presbifonia o in pazienti anziani affetti da una ipomobilità unilaterale, senza una storia clinica suggestiva di un danno acuto nervoso.

La stimolazione magnetica può avvenire a diversi livelli: a livello della corteccia motoria, a livello della mastoide o dell'angolo mandibolare. Secondo i dati della letteratura, la diversa posizione di stimolazione condiziona la latenza di attivazione della muscolatura intrinseca laringea. Nella presente tesi è stata eseguita esclusivamente la stimolazione corticale per evitare di creare ulteriori bias legati alla diversa conformazione anatomica dei soggetti inclusi nello studio. I dati presenti in letteratura, infatti, sono discordanti tra loro e non hanno permesso di ottenere informazioni definitive in merito all'utilità di eseguire la stimolazione magnetica in diverse sedi.[6], [36], [40]

Alcuni autori, avevano ipotizzato ci dovesse essere una differenza di latenza significativa per l'attivazione del RLN e della branca esterna del SLN, vista la differente lunghezza del decorso dei due nervi. Al contrario non si è dimostrata esserci una differenza statisticamente significativa nella latenza di attivazione tra il muscolo tiroaritenoidico, innervato dal RLN, ed il muscolo cricotiroideo, innervato dal SLN. Questo potrebbe essere dovuto alle maggiori dimensioni della guaina mielinica del RLN rispetto a quella della branca esterna del SLN, che garantirebbero una maggiore velocità di conduzione del RLN.[34]

La complessità dell'innervazione laringea, è ulteriormente aumentata dal fatto che muscoli agonisti (adduttori) ed antagonisti (abducenti) siano innervati da rami nervosi terminali provenienti dallo stesso RLN. Questa condizione anatomica è unica nel corpo umano e porta a conseguenze anche in caso di danno nervoso. Infatti, mentre il danno nervoso di un motoneurone periferico porta, generalmente, a diversi gradi di reinnervazione spontanea del tessuto che risulterà più o meno efficace a seconda dei casi, a livello laringeo, un danno del RLN, portando alla contemporanea perdita di funzione di muscoli agonisti ed antagonisti, determinerà una rigenerazione aberrante con sincinesie involontarie. A seguito di ciò si potrà avere la attivazione dei muscoli adduttori durante l'inspirazione o degli abducenti durante la fonazione.[4] Crumley[41], [42] fu il primo a documentare il fenomeno delle sincinesie durante la reinnervazione spontanea della muscolatura laringea.

L'ansa di Galeno, anastomosi tra il SLN ed il RNL, storicamente descritta come una eccezione alle regole anatomiche, potrebbe in realtà essere un archetipo di una sovrapposizione relativamente comune della distribuzione negli organi dei rami terminali del nervo vago, come è già stato descritto

in vari studi anatomici da Sanders e collaboratori.[43], [44] La stessa ansa anastomotica potrebbe avere un ruolo fondamentale nei processi di reinnervazione aberranti e di sincinesie conseguenti al danno neurogeno.[4]

Dal punto di vista elettromiografico, in caso di completa interruzione dei nervi laringei (assonotmesi), dopo la degenerazione Walleriana, non è possibile registrare alcuna risposta periferica durante la TMS. Al contrario, in caso di danno non completo del nervo (neuroaprassia o assonotmesi prima della degenerazione Walleriana), si registrerà un patologico aumento della latenza di insorgenza delle risposte periferiche durante la TMS.[6]

I nostri dati hanno permesso di dimostrare un aumento, seppur non statisticamente significativo, della latenza di attivazione del TA dal lato affetto, nei pazienti con UVFP. Futuri studi con una numerosità campionaria maggiore sono necessari per confermare questo dato.

È necessario evidenziare alcuni limiti di questo studio, a partire dal reclutamento dei pazienti, che è stato particolarmente difficoltoso. Per prima cosa, si tratta di una patologia rara, per cui la numerosità della popolazione affetta da UVFP è limitata. Inoltre, anche i soggetti potenzialmente elegibili per lo studio, hanno spesso mostrato una certa reticenza al fatto di sottoporsi ad una stimolazione magnetica, nonostante sia dimostrato che la stessa non ha alcun effetto nocivo sull'organismo. Inoltre, il fatto di aver preso come gruppo di controllo sano, soggetti giovani, potrebbe aver contribuito alla generazione di un bias.

Anche dal punto di vista tecnico ci sono state alcune criticità: la precisa localizzazione della corteccia motoria laringea per il corretto posizionamento della bobina circolare non è sempre stato possibile, nonostante siano stati presi come riferimento i dati pubblicati da altri lavori sulla TMS laringea ed i dati anatomici pubblicati sulla proiezione della corteccia motoria laringea. Al contrario che in altri lavori, è stato piuttosto difficile ottenere la stimolazione corticale controlaterale. Durante la stimolazione si sono ottenute alcune risposte anche da parte della muscolatura facciale e dei muscoli prelaringei, cosa che ha determinato la comparsa di artefatti nel tracciato, ma tutto ciò è la conseguenza inevitabile, della nota sovrapposizione esistente delle aree facciali e laringee nell'homunculus motorio.[45]

Nonostante le suddette limitazioni, l'utilizzo della TMS per future applicazioni cliniche non è irrilevante. Si potrà applicare questa tecnologia a studi più ampi multicentrici per lo studio dell'evoluzione naturale delle neuropatie laringee o per la valutazione dei pattern atipici di

reinnervazione laringea o ancora per lo studio del ruolo della neuroplasticità nel percorso riabilitativo dei pazienti affetti da UVFP.

Conclusioni

Nonostante l'aiuto che clinico può ricavare dalla visualizzazione diretta laringea tramite la videolaringostroboscopia per la valutazione della motilità laringea, un disordine della motilità delle corde vocali non può essere diagnosticato con precisione con la sola valutazione clinica. La stimolazione magnetica transcranica è uno strumento semplice e non invasivo per la misurazione del tempo di conduzione nervosa per comprendere la sede e la causa del disordine motorino laringeo. I futuri sviluppi della neurolaringologia dipenderanno dalle nostre conoscenze sulla biomeccanica laringea e sulla innervazione della laringe.

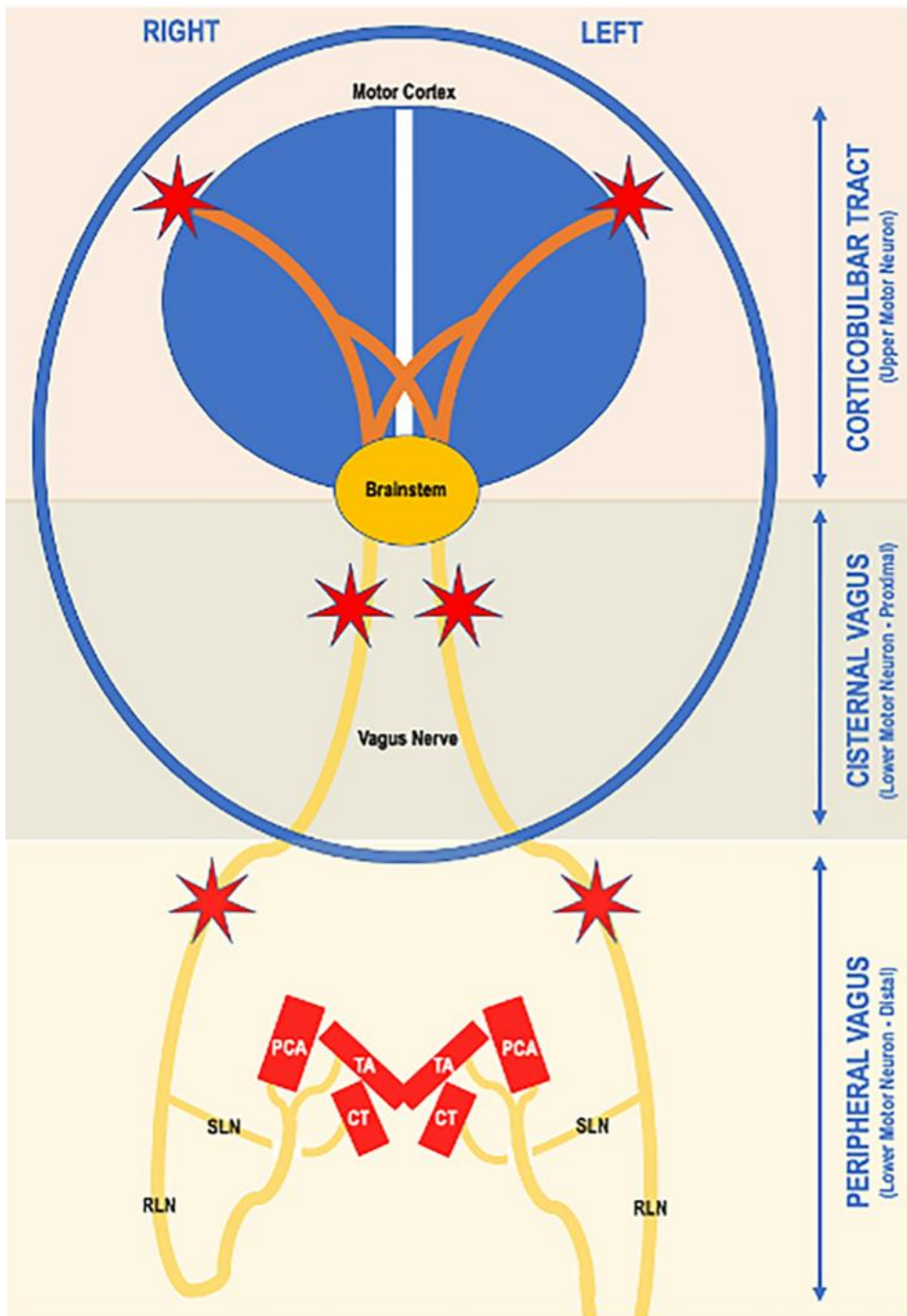


Figura 1. Rappresentazione delle vie motorie laringee cortico-bulbari e periferiche



Figura 2. Generatore Magstim 200 (Magstim Co. Ltd, Whitland, UK) associato ad una bobina circolare.

Tabella 1. Caratteristiche demografiche della popolazione inclusa nel gruppo A

N.	Età (anni)	Causa della paralisi	Lato	Data di insorgenza
1	76	Idiopatica	dx	2019
2	65	Idiopatica	sin	2021
3	56	Idiopatica	dx	2022
4	80	Idiopatica	sin	2020
5	45	Iatrogena	dx	2022

Bibliografia:

- [1] M. S. Benninger, J. B. Gillen, and J. S. Altman, "Changing Etiology of Vocal Fold Immobility," 1998.
- [2] S. Misono and A. L. Merati, "Evidence-Based Practice. Evaluation and Management of Unilateral Vocal Fold Paralysis," *Otolaryngol Clin North Am*, vol. 45, no. 5, pp. 1083–1108, 2012, doi: 10.1016/j.otc.2012.06.011.
- [3] E. G. HUPPLER, H. W. SCHMIDT, K. D. DEVINE, and R. P. GAGE, "Ultimate outcome of patients with vocal-cord paralysis of undetermined cause.," *Am Rev Tuberc*, vol. 73, no. 1, pp. 52–60, Jan. 1956, doi: 10.1164/artpd.1956.73.1.52.
- [4] B. Sadoughi and K. Andreadis, "Evaluation of Laryngeal Motor Neuropathy Using Transcranial Magnetic Stimulation-Mediated Evoked Potentials," *Laryngoscope*, Aug. 2022, doi: 10.1002/lary.30062.
- [5] E. M. Khedr and E. E. M. Aref, "Electrophysiological study of vocal-fold mobility disorders using a magnetic stimulator," *Eur J Neurol*, vol. 9, no. 3, pp. 259–267, 2002, doi: 10.1046/j.1468-1331.2002.00394.x.
- [6] E. H. Thumfart W, Potoschning C, Zorowka P, "Electrophysiological investigation of lower cranial nerve diseases by means of magnetically stimulated neuromyography of the larynx.," *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1992.
- [7] R. Benecke, B. U. Meyer, P. Schönle, and B. Conrad, "Transcranial magnetic stimulation of the human brain: responses in muscles supplied by cranial nerves.," *Exp Brain Res*, vol. 71, no. 3, pp. 623–632, 1988, doi: 10.1007/BF00248756.
- [8] D. Myssiorek, "Recurrent laryngeal nerve paralysis: Anatomy and etiology," *Otolaryngologic Clinics of North America*, vol. 37, no. 1. W.B. Saunders, pp. 25–44, 2004. doi: 10.1016/S0030-6665(03)00172-5.
- [9] M. Yamada, M. Hirano, and H. Ohkubo, "Recurrent Laryngeal Nerve Paralysis. A 10-Year Review of 564 Patients," *Auris Nasus Larynx*, vol. 10, pp. S1–S15, 1983, doi: 10.1016/S0385-8146(83)80001-7.
- [10] R. A. Otto, S. Antonio, and T. C. S. Cochran, "SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF INTRAOPERATIVE RECURRENT LARYNGEAL NERVE STIMULATION IN PREDICTING POSTOPERATIVE NERVE PARALYSIS."
- [11] F. I. Espinoza, F. B. Macgregor, J. C. Doughty, and L. D. Cooke, "Vocal fold paralysis following carotid endarterectomy," 1999.
- [12] R. I. Apfelbaum, M. D. Kriskovich, and J. R. Haller, "On the Incidence, Cause, and Prevention of Recurrent Laryngeal Nerve Palsies During Anterior Cervical Spine Surgery."
- [13] P. M. Small, L. W. Mcphaul, C. C. Sooy, C. B. Wofsy, and M. A. Jacobson, "Cytomegalovirus Infection of the Laryngeal Nerve Presenting as Hoarseness in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome."
- [14] R. L. Crumley, "LARYNGEAL SYNKINESIS REVISITED," 2000.
- [15] "dejonckere2001".
- [16] v Di Nicola, M L Fiorella, P Luperto, A Staffieri, and R Fiorella, "Objective evaluation of dysphonia. Possibilities and limitations".
- [17] A. Schindler *et al.*, "Cross-cultural adaptation and validation of the voice handicap index into Italian," *Journal of Voice*, vol. 24, no. 6, pp. 708–714, Nov. 2010, doi: 10.1016/j.jvoice.2009.05.006.
- [18] "rosen2004".
- [19] N. , Isshiki, H. , Morita, H. , Okamura, and M. Hiramoto, "Thyroplasty as a New Phonosurgical Technique."
- [20] F. Mattioli *et al.*, "Polydimethylsiloxane Injection Laryngoplasty for Unilateral Vocal Fold Paralysis: Long-Term Results," *Journal of Voice*, vol. 31, no. 4, pp. 517.e1-517.e7, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.jvoice.2016.12.017.

- [21] A. Borzacchiello, L. Mayol, O. G. Arskog, A Dahlqvist, and L. Ambrosio, "Evaluation of injection augmentation treatment of hyaluronic acid based materials on rabbit vocal folds viscoelasticity."
- [22] A. M. Rodriguez, C. Elabd, E. Z. Amri, G. Ailhaud, and C. Dani, "The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells," in *Biochimie*, 2005, vol. 87, no. 1 SPEC. ISS., pp. 125–128. doi: 10.1016/j.biochi.2004.11.007.
- [23] G. Cantarella, R. F. Mazzola, E. Domenichini, F. Arnone, and B. Maraschi, "Vocal fold augmentation by autologous fat injection with lipostructure procedure," *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, vol. 132, no. 2, pp. 239–243, 2005, doi: 10.1016/j.otohns.2004.09.022.
- [24] J. H. Brandenburg, J. M. Unger, and D. Koschke, "Vocal Cord Injection With Autogenous Fat: A Long-term Magnetic Resonance Imaging Evaluation."
- [25] M. Filauro *et al.*, "Office-based procedures in laryngology.," *Acta Otorhinolaryngol Ital*, vol. 41, no. 3, pp. 243–247, Jun. 2021, doi: 10.14639/0392-100X-N0935.
- [26] Jean-Paul Marie, Kevin Hansen, Philippe Bami, Adrien Marronnier, and Nicolas Bon-Mardion, "Nonselective Reinnervation as a Primary or Salvage Treatment of Unilateral Vocal Fold Palsy," *Laryngoscope*, vol. 130, no. (7), pp. 1756–1763, 2020.
- [27] G. F. Volk *et al.*, "Laryngeal electromyography: A proposal for guidelines of the European laryngological society," *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, vol. 269, no. 10, pp. 2227–2245, Oct. 2012, doi: 10.1007/s00405-012-2036-1.
- [28] Josep Espadaler, Maja Rogić, Vedran Deletis, Alba Leon, Cesar Quijada, and Gerardo Conesa, "Representation of cricothyroid muscles at the primary motor cortex (M1) in healthy subjects, mapped by navigated transcranial magnetic stimulation (nTMS)," *Clin Neurophysiol*, vol. 123, no. 11, pp. 2205–2211, 2012.
- [29] Ralph M W Rödel *et al.*, "Human cortical motor representation of the larynx as assessed by transcranial magnetic stimulation (TMS)," *Laryngoscope*, vol. 114, no. 5, pp. 918–922, 2004.
- [30] Maja Rogić Vidaković *et al.*, "Excitability of contralateral and ipsilateral projections of corticobulbar pathways recorded as corticobulbar motor evoked potentials of the cricothyroid muscles," *Clin Neurophysiol*, vol. 126, no. 8, pp. 1570–1577, 2015.
- [31] J B Cracco, v E Amassian, R Q Cracco, and P J Maccabee, "Brain stimulation revisited," *J Clin Neurophysiol*, vol. 7, no. 1, pp. 3–15, 1990.
- [32] R Benecke, "Magnetic stimulation in the assessment of peripheral nerve disorders," *Baillieres Clin Neurol*, vol. 5(1), pp. 115–28., 1996.
- [33] H. S. Sims, T. Yamashita, K. Rhew, and C. L. Ludlow, "Assessing the clinical utility of the magnetic stimulator for measuring response latencies laryngeal muscles in the," 1996.
- [34] E. M. Khedr and E.-E. M. Aref, "Electrophysiological study of vocal-fold mobility disorders using a magnetic stimulator."
- [35] C. L. Ludlow, "Central nervous system control of the laryngeal muscles in humans."
- [36] C. L. Ludlow, "Central nervous system control of the laryngeal muscles in humans," *Respir Physiol Neurobiol*, vol. 147, no. 2-3 SPEC. ISS., pp. 205–222, 2005, doi: 10.1016/j.resp.2005.04.015.
- [37] W. F. Thumfart, P. Zorowka, C. Pototschnig, and H. E. Eckel, "ELECTROPHYSIOLOGIC INVESTIGATION OF LOWER CRANIAL NERVE DISEASES BY MEANS OF MAGNETICALLY STIMULATED NEUROMYOGRAPHY OF THE LARYNX."
- [38] A. A. Eisen and W. Shtybel, "AAEM MINIMONOGRAPH #35 AAEM MINIMONOGRAPH #35: CLINICAL EXPERIENCE WITH TRANSCRANIAL MAGNETIC STIMULATION."
- [39] J. O. Pelz, E. Belau, P. Henn, N. Hammer, J. Classen, and D. Weise, "Sonographic evaluation of the vagus nerves: Protocol, reference values, and side-to-side differences," *Muscle Nerve*, vol. 57, no. 5, pp. 766–771, May 2018, doi: 10.1002/mus.25993.
- [40] Satoh I, "Evoked electromyographic test applied for recurrent laryngeal nerve paralysis.," *Laryngoscope*, 1978.
- [41] R. L. Crumley, "LARYNGEAL SYNKINESIS REVISITED," 2000.
- [42] Crumley R, "Mechanisms of synkinesis," *Laryngoscope*, vol. 89, no. 11, pp. 1847–54, 1979.

- [43] B.-L. Wu, I. Sanders, L. Mu, and H. F. Biller, "The Human Communicating Nerve An Extension of the External Superior Laryngeal Nerve That Innervates the Vocal Cord," 1994. [Online]. Available: <http://archotol.jamanetwork.com/>
- [44] I. Sanders and L. Mu, "Anatomy of the Human Internal Superior Laryngeal Nerve," 1998.
- [45] Jurgens U., "Neural pathways underlying vocal control," 2002. [Online]. Available: www.elsevier.com/locate/neubiorev