

Université de Liège  
Faculté de Médecine  
Service d'Oto-Rhino-Laryngologie

Implantation d'acide hyaluronique estérifié lors de la  
microchirurgie des lésions cordales bénignes

Docteur Camille Finck

Mémoire présenté en vue de l'obtention du titre de  
Docteur en sciences médicales

Année académique 2007-2008

## Remerciements

La rédaction de ce mémoire et le travail clinique qui l'a précédé, n'ont été possibles que grâce à l'aide et au soutien que m'ont apportés mes parents, mes amis, mes collègues et mes collaborateurs.

Mes pensées vont d'abord à mes parents qui ont soulagé le labeur de chaque jour, m'ont entourée de leur tendresse et ont partagé mon enthousiasme pour le diagnostic et le traitement des pathologies vocales.

Je remercie chaleureusement le Professeur Philippe Lefebvre, promoteur de ce mémoire, pour la confiance et l'amitié qu'il me témoigne depuis de nombreuses années, pour ses conseils avisés, pour le soutien constant apporté à mes projets et pour les investissements consentis afin de permettre la réalisation de ce travail.

Je remercie mon ami, le Professeur Bernard Harmegnies, Doyen de la Faculté de Psychologie et des Sciences de l'Education de l'Université de Mons-Hainaut pour son aide capitale dans le traitement statistique des données recueillies, pour m'avoir fait partager son immense savoir dans le domaine de l'analyse acoustique du signal vocal mais aussi pour les longues années d'amitié et de collaboration.

Je remercie les membres de mon comité de thèse, le Professeur Gustave Moonen, Doyen de la Faculté de Médecine de l'Université de Liège, le Professeur Annick Comblain, le Professeur Jacques Boniver, le Professeur Renaud Louis, le Professeur Michel Meurisse et le Professeur Pierre Moreau pour le temps qu'ils m'ont accordé et les conseils qu'ils m'ont prodigués.

Je remercie ma collaboratrice Angélique Remacle, Licenciée en logopédie, pour son rigoureux travail dans l'acquisition et l'analyse des enregistrements vocaux des patients inclus dans ce travail.

Je remercie le Dr Alexandra Rodriguez et Frédéric Robert, infographiste de talent chez Nwave Digital, pour les magnifiques dessins de la structure cordale et des modèles phonatoires.

Je remercie le Dr Lionel Lejeune, assistant FNRS du Service ORL du CHU de Liège et Brigitte Derkenne, secrétaire du Service ORL du CHU de Liège, pour la collecte des articles de référence.

Je remercie mes collègues anesthésistes, et en particulier les Docteurs Letitia Pire, Marc Janssens et Robert Fontaine, ainsi que toutes les infirmières de salle d'opération pour m'avoir permis de réaliser toutes les interventions microchirurgicales dans d'excellentes conditions.

De très nombreux amis m'ont affectueusement épaulée : qu'ils en soient tous remerciés.

Enfin, ma gratitude va à mes patients pour la confiance qu'ils m'ont témoignée.

## **Introduction et objectifs**

La microchirurgie des pathologies cordales bénignes est pratiquée afin d'améliorer les caractéristiques mécaniques du vibreur laryngé. C'est en augmentant la souplesse tissulaire et la fermeture glottique en phonation que le micro-chirurgien espère améliorer les caractéristiques du son laryngé émis.

Les techniques microchirurgicales ont évolué de manière spectaculaire au cours des 20 dernières années grâce à la connaissance de plus en plus approfondie de la structure cordale normale et surtout de son tissu conjonctif : la lamina propria. C'est la partie la plus superficielle de la lamina propria, l'espace de Reinke, qui joue le rôle le plus important dans la production du son. C'est aussi l'espace de Reinke qui est occupé, détruit ou remanié en cas de pathologie cordale bénigne. La microchirurgie vise à le libérer du processus pathologique. L'originalité des techniques microchirurgicales exposées dans ce travail est de tenter, non seulement de libérer l'espace vibrant de la lésion cordale, mais aussi de modifier les processus cicatriciels post-opératoires par l'utilisation d'un implant résorbable d'acide hyaluronique estérifié.

Les objectifs de ce travail sont :

- de contribuer à la connaissance des résultats fonctionnels laryngés et vocaux observés après une microchirurgie cordale
- d'évaluer l'impact fonctionnel, sur ces résultats, de l'utilisation d'un implant résorbable d'acide hyaluronique estérifié, en fin d'intervention chirurgicale.

# Chapitre I

## 1. La structure cordale normale

En dépit d'une anatomie macroscopique simple (un épithélium, un ligament, un muscle), la corde vocale est une structure très complexe à l'échelle tissulaire et moléculaire. Dans ce chapitre, après le rappel de la description princeps de la structure laminaire cordale faite par Hirano, seront décrites les connaissances récentes sur la structure histologique et moléculaire de la corde vocale saine. C'est la matrice extracellulaire qui retiendra surtout notre attention, car c'est elle qui détermine les caractéristiques biomécaniques, en particulier visco-élastiques, des cordes vocales et donc leur capacité vibratoire. Les protéines fibreuses sont importantes pour la forme et le volume tissulaires et déterminent la résistance aux stress mécaniques engendrés par la vibration. Les protéines interstitielles contrôlent la viscosité, l'hydratation et le volume tissulaires tout en régulant la taille et la densité des fibres collagènes (Gray et al., 2000).

### a. L'anatomie macroscopique

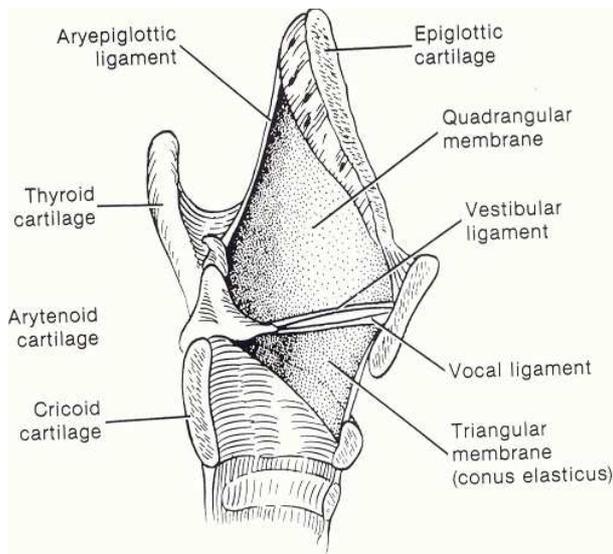
Les cordes vocales font partie intégrante du larynx : au nombre de deux, elles constituent un repli musculo-ligamentaire, recouvert d'une muqueuse, tendu entre l'angle rentrant du cartilage thyroïde et l'apophyse vocale du cartilage aryénoïde.



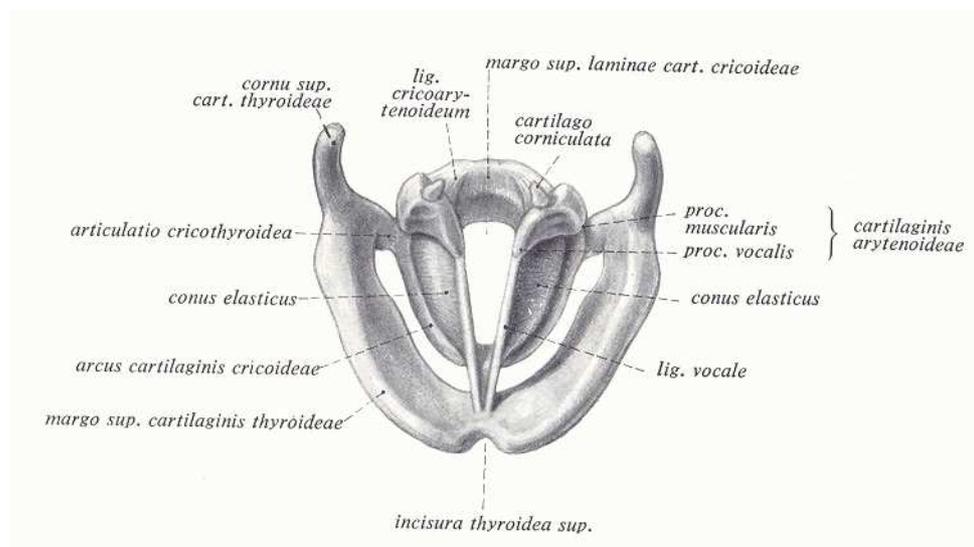
Cordes vocales normales en position phonatoire  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)

La glotte est l'espace compris entre les cordes vocales. Les structures situées au-dessus du plan glottique sont définies comme supra-glottiques. Les structures situées sous le plan glottique sont définies comme sous-glottiques (Frèche et al, 1984).

Le ligament de la corde est le bord médial, libre, de la membrane triangulaire (encore appelée conus elasticus) endolaryngée (Graney D., Flint P. 1998).

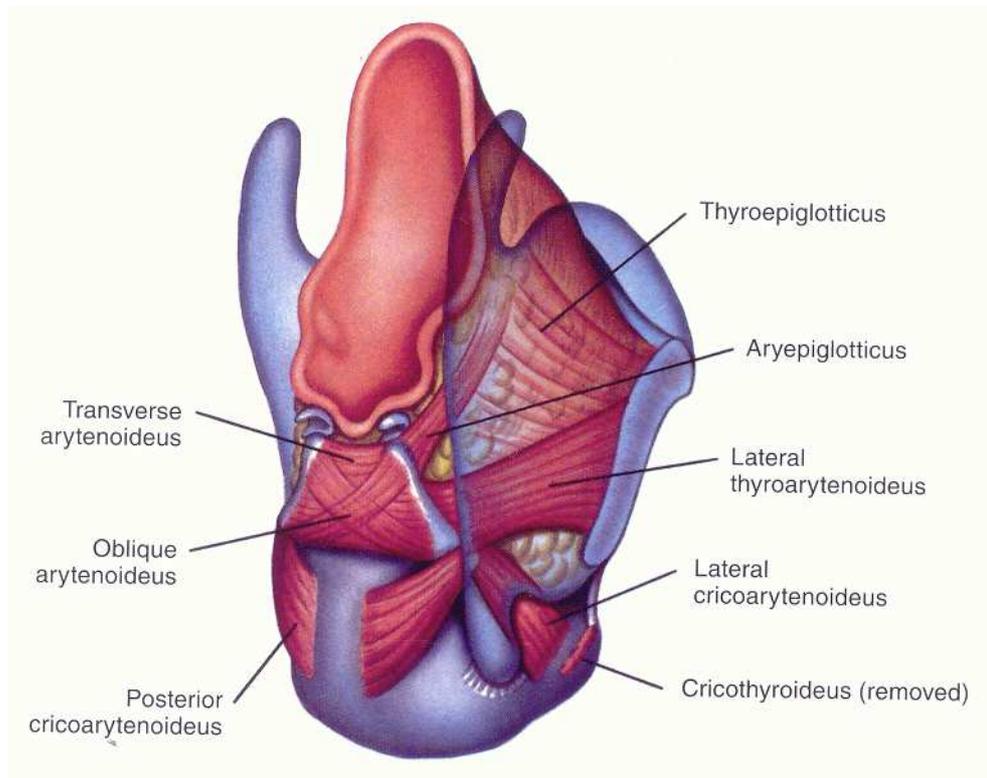


Extrait de Graney D, Flint P. Anatomy of the larynx. In Otolaryngology & Head Neck Surgery, 3rd edition, 1824-1833. 1998. Mosby eds (Graney D, 1998)



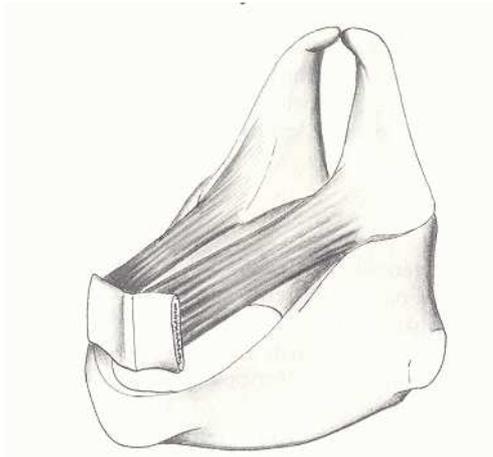
Extrait de Sobotta, Atlas d'Anatomie Humaine, Maloine eds 1977

Le muscle vocal est la portion la plus interne du muscle thyro-aryténoïdien, vaste muscle doublant en dehors la membrane quadrangulaire laryngée. Les fibres du muscle vocal courent de l'angle rentrant du cartilage thyroïde au bord externe de l'aryténoïde, parallèlement au ligament vocal qu'elles doublent en dehors (Frèche et al, 1984;Graney D., Flint P.1998).



Les muscles intrinsèques du larynx, Tucker HM. The Larynx., New York, NY : Thieme Medical Publishers, Inc;1987 (Tucker HM, 1987)

Extrait de Benninger & Murry. The Performer's Voice, p 19. Plural Publishing Inc.2006.(2006)



Le muscle vocal

Extrait de La voix humaine et ses troubles, p 22. Librairie Arnette 1984.(1984)

La muqueuse recouvrant les cordes est constituée d'un épithélium pavimenteux stratifié, très différent de l'épithélium cilié et pseudo-stratifié de type respiratoire de presque tout le reste de la muqueuse laryngée (Frèche et al, 1984;Graney D., Flint P. 1998). Des glandes muqueuses tubulo-alvéolaires occupent la sous-muqueuse dans certaines régions du larynx, à savoir le ventricule de Morgagni et la région sous-glottique (Abitbol J, 2006;Graney DO, 1998).

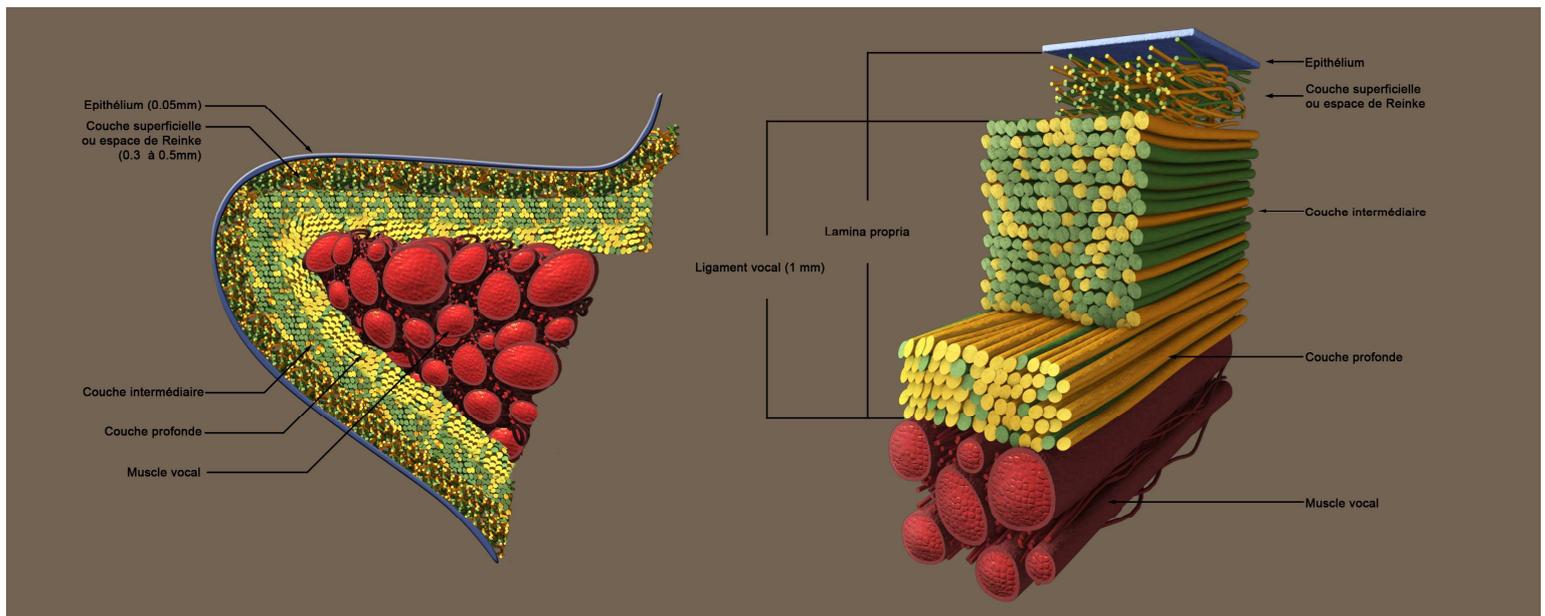
## **b. La structure cordale normale**

### ***La structure laminaire : description princeps de M. Hirano***

C'est en 1974 que Hirano (Hirano, 1974;Hirano, 1981) a publié ses travaux sur l'organisation très spécialisée et unique de l'architecture histologique des cordes vocales.

Il a montré que sous l'épithélium pavimenteux stratifié de 50  $\mu\text{m}$  et sa membrane basale, se situait un tissu conjonctif : la lamina propria, organisée en trois couches successives qui diffèrent entre elles par la composition en protéines fibreuses de leur matrice extracellulaire. La matrice extracellulaire est, comme son nom l'indique, la substance existant entre les cellules, et dont la composition moléculaire varie en fonction du tissu étudié.

Dans cette description histologique du tissu conjonctif cordal, seules les protéines fibreuses ont été prises en compte, à savoir le collagène et l'élastine.



### La structure laminaire cordale

(en vert, les fibres élastiques ; en jaune, les fibres collagènes.)

Dessin de Frédéric Robert, adapté de *Hirano M, Otologia 21:239,1975*

La couche la plus superficielle de la lamina propria cordale est l'espace de Reinke (Reinke F, 1895; Reinke F, 1897) ou, pour les Anglo-Saxons, la SLLP (superficial layer of the lamina propria). C'est Reinke qui, le premier, a décrit un compartiment sous-épithélial surmontant le ligament vocal et présentant des contours bien définis, tant dans le plan vertical que dans ses limites antéropostérieures (Reinke F, 1895; Reinke F, 1897). Située juste sous l'épithélium, cette couche mesure 0.3 à 0.5 mm d'épaisseur. Cet espace tissulaire est caractérisé par une architecture fibreuse très lâche : il y a peu de fibres élastiques et de fibres collagènes.

La couche intermédiaire de la lamina propria est, quant à elle, riche en fibres élastiques, tandis que la couche profonde est riche en fibres collagènes.

D'un point de vue macroscopique, la couche intermédiaire et la couche profonde de la lamina propria constituent ensemble le ligament vocal. L'épaisseur du ligament vocal est

d'environ 1 à 2 mm. Selon les observations de Hirano réalisées au microscope électronique, les fibres collagènes courent *parallèlement* au bord libre de la corde.

Enfin, sous le ligament vocal sont situées les fibres musculaires du muscle vocal, le muscle thyro-aryténoïdien interne qui a une épaisseur de 7 à 8 mm. En 1960, Sonesson (Sonesson, 1960) a montré que les fibres musculaires sont également parallèles au bord cordal .

C'est à cette organisation laminaire que les cliniciens comme les histologistes font toujours référence aujourd'hui. Les techniques récentes de coloration, d'immunohistochimie et de microscopie n'ont fait qu'affiner et développer la connaissance de ces couches tissulaires. Le typage et l'organisation tridimensionnelle des protéines fibreuses ainsi que la composition en molécules interstitielles de la matrice extracellulaire cordale ont fait l'objet d'études récentes qui viennent compléter et parfois modifier la description princeps de Hirano.

### ***La structure laminaire cordale en 2008***

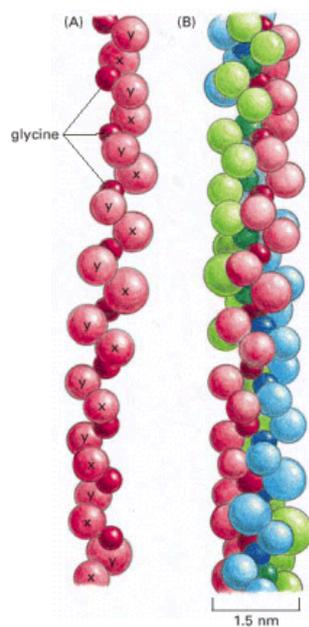
La matrice extracellulaire de la lamina propria cordale est un complexe moléculaire contenant des protéines fibreuses et des molécules interstitielles telles que les protéo- et glycosaminoglycans, les glycoprotéines, les cytokines, les facteurs de croissance, les enzymes de dégradation de la matrice et les inhibiteurs de ceux-ci. La matrice extracellulaire n'exerce pas seulement un rôle structurel : les interactions entre les cellules et la matrice extracellulaire apparaissent capitales dans les processus de maintien de la structure fonctionnelle du tissu ainsi que dans les processus de réparation, de cicatrisation et de régénération tissulaire (Petreaca M, 2008). Les molécules matricielles influencent le comportement cellulaire par des récepteurs membranaires protéiques (les intégrines), et des co-récepteurs membranaires non protéiques constitués de protéoglycans (Lodish, 2000;Alberts B, 2008).

Nous décrivons ici l'organisation laminaire des principales molécules matricielles de la lamina propria cordale.

## ***1• Les protéines fibreuses***

### *a. Le collagène*

Le collagène est la protéine fibreuse dominante au sein de la matrice extracellulaire des tissus conjonctifs. Dans les cordes vocales, cette protéine, comme dans le reste de l'organisme, confère au tissu qui la contient une résistance à l'élongation ainsi que la capacité de maintenir la morphologie de l'organe. La structure de base du collagène est une triple hélice de 3 chaînes protéiques dites chaînes alpha dont 25 types différents, tous codés par un gène propre (Tateya et al., 2006;Alberts B, 2008), ont été identifiés.



### *Le collagène*

#### *La structure en triple hélice des chaînes protéiques alpha*

*Extrait de The Molecular Biology of the Cell, Garland Science, 2002 (2008)*

Les chaînes alpha adoptent une structure en triple hélice. En fonction de l'expression génique tissulaire, 20 types de collagène différents ont été décrits qui se différencient par leur organisation bi- ou tridimensionnelle ainsi que par leur capacité à former des fibrilles, des fibres, ou des membranes. Ils se différencient aussi par leurs caractéristiques mécaniques (Sonesson, 1960;Alberts B, 2008;Lodish, 2000). Les collagènes de type I, II et III représentent 80 à 90 % des types collagéniques présents dans les tissus humains. Le collagène

de type I possède une résistance énorme à la traction, au point qu'il peut être étiré sans se rompre (Lodish, 2000). Le collagène de type IV est propre, quant à lui, à toutes les membranes basales épithéliales, certaines portions de ce type collagénique étant incapables de se conformer en triple hélice (Lodish, 2000) : il forme une structure en réseau (Alberts B, 2008).

Le collagène est présent dans la membrane basale épithéliale et dans les 3 couches, superficielle, intermédiaire et profonde de la lamina propria ainsi que dans le tissu conjonctif entourant les fibres musculaires du muscle vocal. Il représente 43% des protéines de la lamina propria cordale (Hahn et al., 2006b).

Les types collagéniques et leur organisation spatiale au sein de la lamina propria ont fait l'objet de nombreuses études. Les collagènes de type I, II et III ont été identifiés dans la lamina propria cordale (Gray SD, 1993; Gray, 2000), alors que les collagènes de type IV et V sont associés à la membrane basale épithéliale cordale (Tateya et al., 2006). Toutefois, de nombreuses controverses persistent à ce sujet. Nous n'en citerons que quelques-unes. Au sein de l'espace de Reinke, du collagène de type III formant de fines fibres réticulées a été observé en microscopie électronique (Sato, 1998). Au microscope électronique à balayage, il semble néanmoins que les collagènes de type I et III co-existent dans ces fibres réticulées (Tateya et al., 2007).

L'organisation fibreuse a aussi été étudiée par une technique de coloration/polarisation au Rouge Sirius (Madruga de Melo et al., 2003) et par une technique immunohistochimique (Tateya et al., 2006).

La première technique utilise un colorant acide se liant aux acides aminés basiques des molécules de collagène. Cette réaction augmente la bi-réfringence naturelle des fibres collagéniques qui peut être observée en lumière polarisée. Cette méthode a permis de démontrer que juste sous l'épithélium et dans l'espace de Reinke, existe une mince couche de collagène de type I et de type III, dans laquelle le type I forme des fibres plus volumineuses que celles du type III. La couche intermédiaire de la lamina propria est constituée de collagène de type III formant un réseau fibreux délicat. Enfin, la couche la plus profonde de la lamina propria est occupée par du collagène de type I et de type III, en un maillage épais, qui s'enfonce profondément entre les faisceaux du muscle vocal.

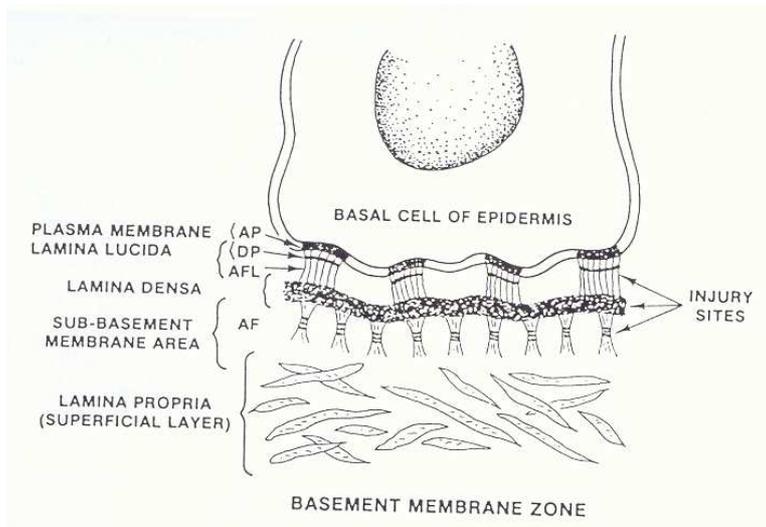
L'immunohistochimie (Tateya et al., 2006) confirme la présence de collagène de type I et III dans l'espace de Reinke. Contrairement à la technique de coloration/polarisation décrite plus haut, ce sont les fibres de type III qui sont plus volumineuses que celles du type I.

Malgré ces controverses sur la taille des fibres formées par les types collagéniques I et III, ces études récentes démontrent que, contrairement aux notions développées par Hirano (Hirano, 1974;Hirano, 1981), l'espace de Reinke, et surtout la région immédiatement située sous la membrane basale, contient un maillage important de fibres de collagène conférant à cette zone tissulaire des caractéristiques de résistance à l'étirement et à la déformation. Le second renseignement important venant modifier l'organisation laminaire du collagène décrite par Hirano, est que l'organisation des fibres collagènes ne se fait pas simplement de manière parallèle au bord libre de la corde vocale, mais qu'elles ont une organisation tridimensionnelle en forme de panier d'osier (Hirano, 1981;Madruga de Melo et al., 2003), ce qui confère au tissu de la résistance à l'étirement tout en permettant une déformation résiliente. Si les fibres collagènes étaient effectivement orientées parallèlement au bord libre, comme l'a décrit Hirano, un étirement longitudinal cordal serait mécaniquement difficile.

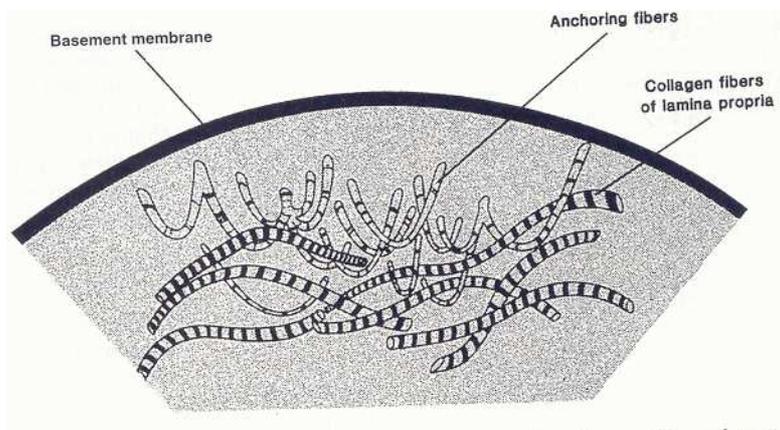
D'un point de vue mécanique, le collagène est nécessaire à la résistance à l'élongation. C'est grâce à lui que la tension intra-cordale peut augmenter suffisamment pour permettre l'accès à une large gamme fréquentielle (Gray et al., 2000).

Le collagène est un constituant majeur de la membrane basale épithéliale :les types collagéniques I, III, IV et V et VII sont présents dans la membrane basale.

Le collagène de type IV forme un réseau feuilleté flexible alors que le collagène de type VII est le constituant des fibres d'amarrage (Gray et al., 1994) dont les boucles descendantes sont traversées par des fibres collagéniques de type III de l'espace de Reinke (Gray et al., 1994). La densité de la population des fibres d'amarrage est génétiquement déterminée (Gray et al., 1994).



*La membrane basale cordale observée au microscope électronique. Extrait de Gray SD and others, eds: Molecular and cellular structure of vocal fold tissue. In Vocal Fold Physiology, San Diego, 1993, Singular Publishing group. (Gray SD, 1993)*



*La membrane basale cordale : les fibres collagéniques de type III passent au travers des boucles descendantes des fibres d'amarrage.*

*Extrait de Gray SD, Pignatari SS, Harding P: Morphologic ultrastructure of anchoring fibers in normal vocal fold basement membrane, J Voice 8:48, 1994 (Gray et al., 1994)*

### *b. L'élastine*

L'élastine représente 8.5% des protéines totales de la lamina propria cordale (Hahn et al., 2006a). C'est une quantité nettement plus élevée que celle qui est observée dans le derme humain où l'élastine ne représente que 3% du contenu protéique total (Hahn et al., 2006a). La quantité et la répartition de l'élastine dans la lamina propria cordale est identique dans les 2 sexes (Hammond et al., 1998).

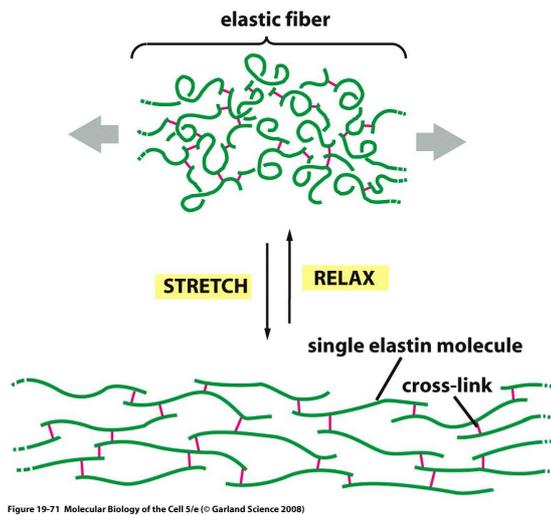
La protéine d'élastine est sécrétée sous une forme soluble, la tropoélastine. Celle-ci est ensuite assemblée en une molécule d'élastine grâce à des liaisons croisées entre molécules adjacentes. Ces liaisons croisées permettent l'élongation et la résilience (caractéristique mécanique permettant le retour à la longueur initiale après étirement).

Les fibres élastiques ne sont pas composées uniquement d'élastine (la substance « amorphe ») mais contiennent aussi des glycoprotéines adoptant une organisation microfibrillaire. La fibrilline est une glycoprotéine de grande taille qui, en se liant à l'élastine, assure l'intégrité de la structure tridimensionnelle de la fibre élastique (Alberts B, 2008).

Trois formes d'élastine qui se distinguent par la proportion entre les microfibrilles et la substance amorphe (Hahn et al., 2006a), existent au sein du tissu conjonctif cordal :

l'oxytalan, l'élaunine et les fibres élastiques matures (Gray et al., 2000; Hammond et al., 1997). L'oxytalan et l'élaunine sont des formes immatures. L'oxytalan est purement microfibrillaire alors que l'élaunine contient du matériel amorphe et des microfibrilles.

Les fibres élastiques matures sont composées d'une grande quantité de substance amorphe entourée de microfibrilles.



*Les liaisons croisées (covalentes) entre les molécules de tropoélastine.*

*Extrait de The Molecular Biology of the Cell, Garland Science eds, 2008(2008)*

L'oxytalan est totalement dépourvu de substance amorphe (et donc d'élastine) et beaucoup moins élastique.

Dans l'espace de Reinke, ce sont les formes immatures (oxytalan et élaunine) qui sont observées au microscope électronique alors que les fibres élastiques matures sont présentes dans les couches intermédiaire et profonde de la lamina propria (Hammond et al., 1997). Les techniques immunohistochimiques confirment cette répartition des différents types d'élastine, l'espace de Reinke contenant une grande quantité de la forme fibrillaire et immature de l'élastine (Hahn et al., 2006a).

D'un point de vue mécanique, les fibres élastiques apportent la résilience. Les fibres élastiques matures peuvent être étirées jusqu'à 2 fois leur longueur (Hahn et al., 2006a; Porto IC, 1990). L'élaunine et l'oxytalan sont beaucoup moins élastiques et se retrouvent dans les tissus où le stress mécanique (la force par unité de surface) est plus important, et c'est peut être la raison pour laquelle il se trouve associé à l'espace de Reinke (Gray et al., 2000; Hahn et al., 2006a; Hammond et al., 1997).

## 2. Les molécules interstitielles

Des recherches récentes se sont intéressées aux molécules présentes entre les fibres et les cellules de la lamina propria : outre de nombreuses molécules de petit poids moléculaire (ions, glucides, lipides), il s'agit essentiellement de structures polysaccharidiques et protéiques : les glycosaminoglycans, les protéoglycans et les glycoprotéines. Toutes ces molécules remplissent des fonctions structurelles et mécaniques et exercent de nombreuses fonctions biologiques.

Les glycosaminoglycans (GAGs) sont des chaînes polysaccharidiques composées par la répétition d'une unité disaccharidique. Au sein de la lamina propria cordale, le glycosaminoglycan qui a été le plus étudié est l'acide hyaluronique.

Les protéoglycans comme les glycoprotéines sont des molécules « mixtes » constituées d'une partie polysaccharidique et d'une partie protéique, la part protéique étant plus importante dans le groupe des glycoprotéines que dans le groupe des protéoglycans. Au sein de la lamina propria ont été décrits plusieurs protéoglycans : la décorine, la fibromoduline, le versican, l'héparan.

Les glycoprotéines sont représentées par la fibronectine (Gray et al., 1999) et la laminine. Ces deux molécules peuvent éventuellement être classées parmi les protéines fibreuses (Alberts B, 2008). La laminine fait partie de la membrane basale (cf *supra*).

Toutes ces molécules, produites par les fibroblastes, influencent la viscosité, l'hydratation et l'épaisseur du tissu. De plus, elles affectent aussi par les interactions qu'elles entretiennent entre elles et avec les protéines fibreuses ainsi qu'avec les cellules, la densité et la taille des fibres collagènes. Ces molécules remplissent de multiples rôles : fonction de support ou de suppression de la croissance tissulaire, modulation des fonctions de cicatrisation, liaison aux facteurs de croissance et délivrance de ceux-ci aux cellules, exerçant par là une véritable fonction de filtre biologique (Lander Ad, 1993; Gray et al., 1999; Petreaca M, 2008).

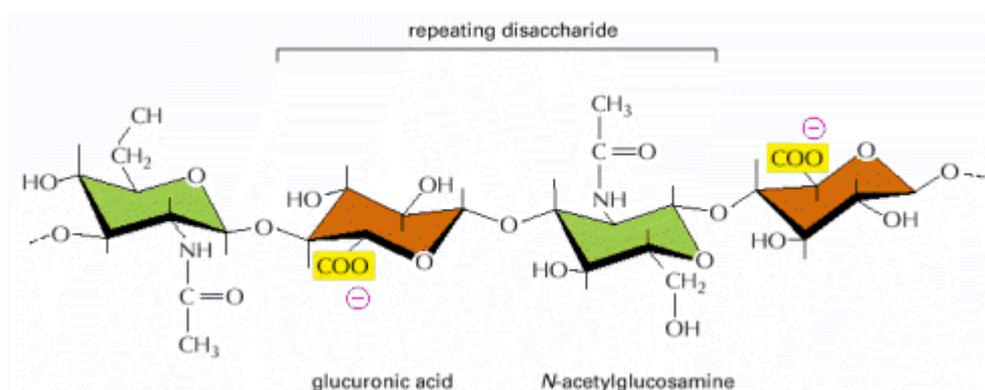
Certaines de ces molécules interstitielles adoptent, tout comme les protéines fibreuses, une disposition laminaire au sein de la lamina propria cordale.

### a. L'acide hyaluronique

Il s'agit d'un volumineux glycosaminoglycan qui est omniprésent dans les matrices extracellulaires corporelles. Il représente 0.82% (Hahn et al., 2006a) du contenu protéique total de la lamina propria humaine, quantité du même ordre que celle du derme humain (Hascall VC, 1997).

Il assume des fonctions mécaniques mais aussi biologiques capitales.

La structure moléculaire de l'acide hyaluronique, qui a été décrit pour la première fois par Meyer et Palmer (Meyer k, 1934) en 1934, résulte de la répétition d'un grand nombre d'unités disaccharidiques constituées d'acide glucuronique et de N-acétyl-glucosamine. Sa taille est énorme, la séquence disaccharidique pouvant se répéter jusqu'à obtenir des poids moléculaires entre 10000 et 4.000.000 de daltons. 10000 séquences disaccharidiques conduisent à une molécule, qui, étirée, mesure 10 $\mu$ m, soit le diamètre d'un érythrocyte (Hascall VC, 1997).



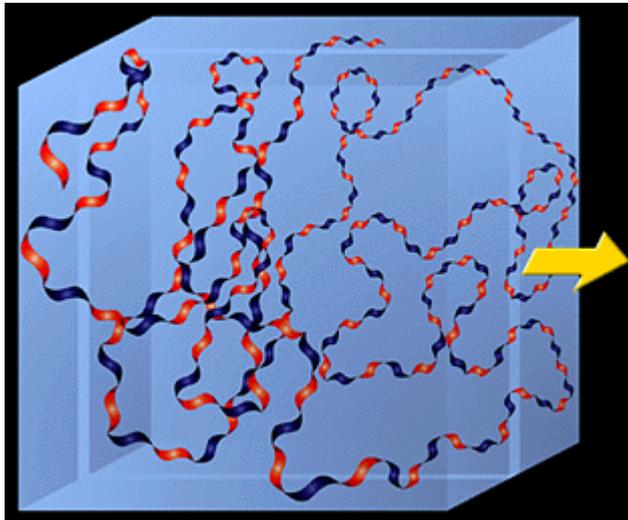
Extrait de *The Molecular Biology of the Cell* (Alberts B, 2008)

Ce GAG ne se lie pas de manière covalente à une structure protéique au sein de la matrice extracellulaire.

Négativement chargé, il attire une grande quantité de cations (surtout Na<sup>+</sup>) osmotiquement actifs, qui eux-mêmes attirent une grande quantité de molécules d'eau (Alberts B, 2008). La molécule possède par conséquent des caractéristiques hydrophiliques mais aussi hydrophobiques en raison de l'existence d'atomes d'hydrogène axiaux.

Ces caractéristiques sont à l'origine d'une forme lâche et poreuse de la molécule d'acide hyaluronique placée dans une solution physiologique, tout en occupant un volume important (Hascall VC, 1997). Cette structure macromoléculaire poreuse de l'acide

hyaluronique en solution va permettre à l'eau, aux électrolytes et aux molécules de petite taille moléculaire de se déplacer librement au sein de sa structure macromoléculaire dont la structure poreuse se modifie constamment (Hascall VC, 1997). Pour ces raisons, l'acide hyaluronique influence les phénomènes osmotiques ainsi que le transport et la concentration moléculaire d'autres composants de la matrice extracellulaire (Hascall VC, 1997).



Modèle d'une molécule d'acide hyaluronique en solution

Le carré bleu représente le domaine occupé par la molécule.

Extrait de « Hyaluronan : structure and physical properties » Hascall VC, Laurent TC, [www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan](http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan) (Hascall VC, 1997)

Les molécules d'acide hyaluronique interagissent entre elles et avec les autres composants de la matrice extracellulaire : le caractère hydrophobique entraîne la création d'un énorme réseau en nid d'abeille et permet le maintien volumique de structures tridimensionnelles créées par d'autres composants protéiques de la matrice extracellulaire, comme cela a été montré dans l'humeur vitrée (Scott JE, 2002).

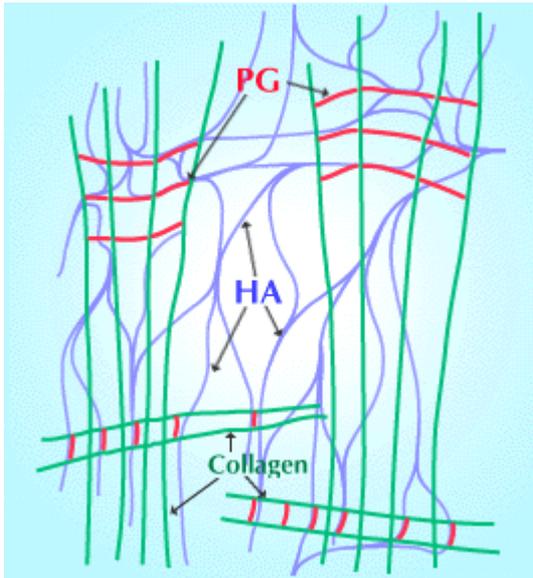


Schéma de la composition de l'humeur vitrée (HA : acide hyaluronique, PG : protéoglycan). L'acide hyaluronique empêche l'aggrégation des fibres collagènes et protéoglycans.

Extrait de Scott VC. Secondary and tertiary structures of hyaluronan in aqueous solution. Some biological consequences.

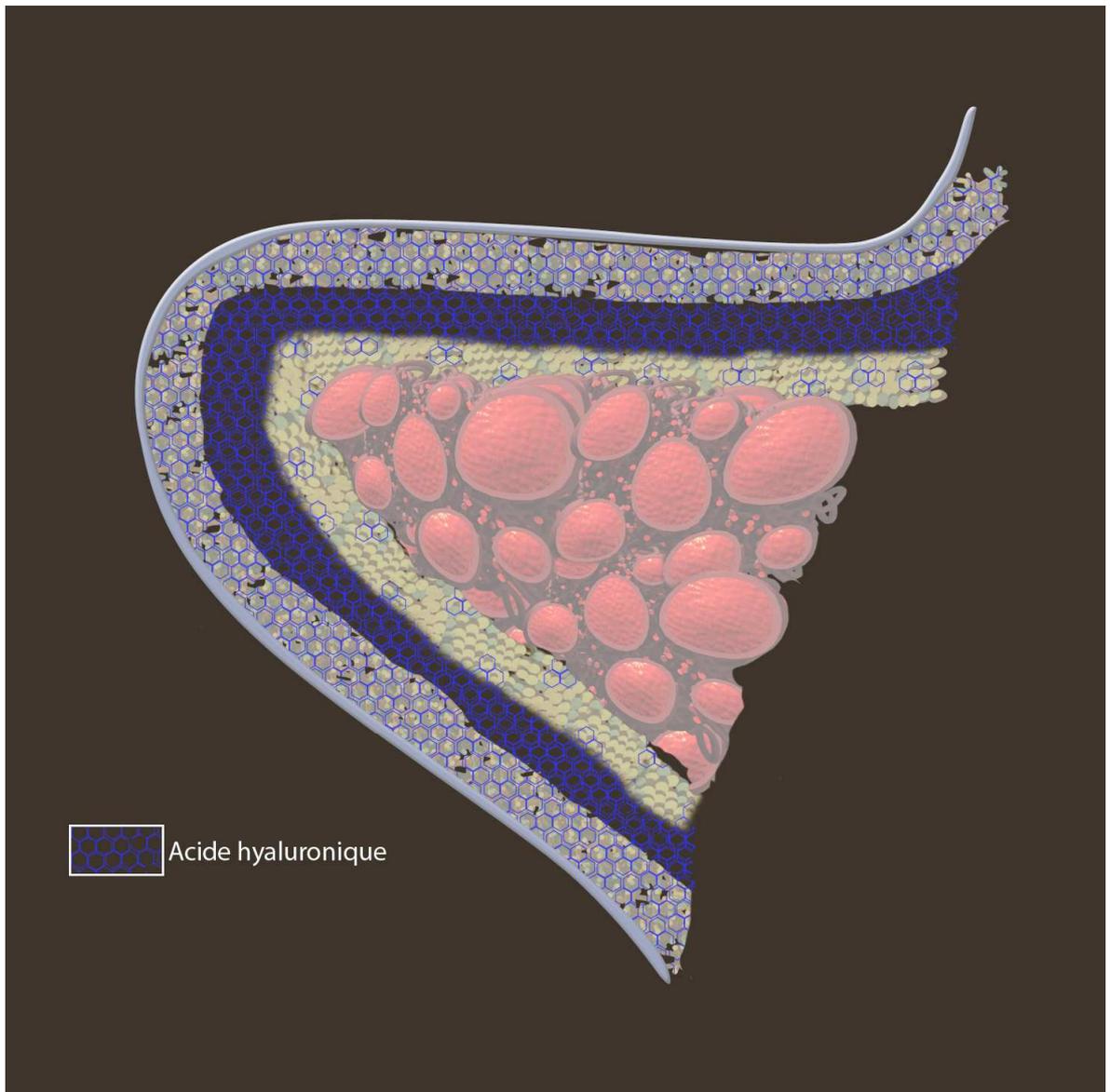
[www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan](http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan) (Scott JE, 2002)

Omniprésent dans les matrices extracellulaires corporelles (Hascall VC, 1997), les caractéristiques chimiques de l'acide hyaluronique expliquent sans doute sa concentration élevée dans des tissus très spécialisés où il peut jouer le rôle d'une molécule de remplissage (comme dans l'humeur vitrée de l'œil (Hascall VC, 1997; Meyer K Palmer JW, 1934)), d'un rétenteur d'humidité (Alberts B, 2008; Gray et al., 1999; Hascall VC, 1997) (comme dans le derme cutané), de molécule absorbant les chocs (Alberts B, 2008; Hascall VC, 1997) (comme dans le liquide synovial).

Le tissu cordal en vibration est soumis à des stress mécaniques importants dont l'un est lié à l'existence d'impacts collisionnels à haute vitesse entre les deux cordes vocales : ces collisions entraînent des stress compressifs intratissulaires (Gunter, 2004). Un des rôles mécaniques de l'acide hyaluronique de la lamina propria cordale est la protection tissulaire cordale par l'absorption de l'énergie de ce stress compressif (Gray et al., 1999).

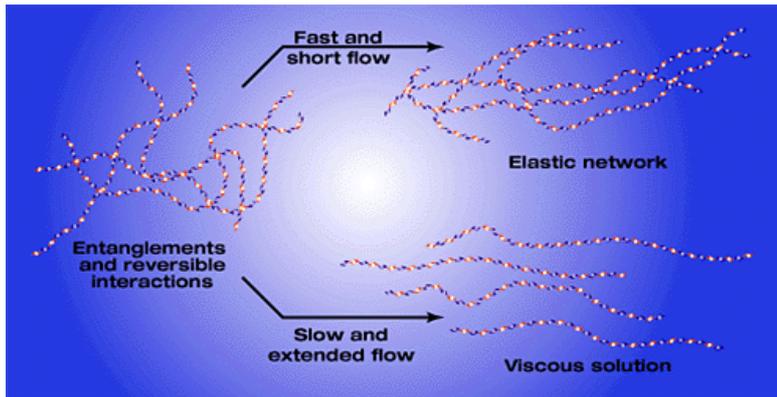
Au sein du tissu conjonctif cordal, il se trouve particulièrement associé à l'espace de Reinke et à la couche intermédiaire de la lamina propria (Hahn et al., 2006a; Hammond et al., 1997; Chan et al., 2001; Gray et al., 1999; Ward et al., 2002). Il influence l'épaisseur de la lamina propria. Il est 2 (Butler et al., 2001) à 3 (Hammond et al., 1997) fois plus abondant

dans l'espace de Reinke masculin (Hammond et al., 1997), par ailleurs plus épais que l'espace de Reinke féminin (Hammond et al., 1997).



L'acide hyaluronique : sa distribution dans les 3 couches de la lamina propria  
Dessin de Frédéric Robert

L'acide hyaluronique possède des capacités visco-élastiques : l'organisation tridimensionnelle en solution induit une résistance aux variations de la vitesse de flux du solvant (caractéristique de viscosité) tout en possédant des caractéristiques de résilience (caractéristique d'élasticité) (Hascall VC, 1997).



Modèle des caractéristiques visqueuses et élastiques de l'acide hyaluronique

Extrait de « Hyaluronan : structure and physical properties » Hascall VC, Laurent TC, [www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan](http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan) (Hascall VC, 1997)

Ces caractéristiques ont été démontrées, au sein de la lamina propria cordale, par des études cadavériques humaines : l'acide hyaluronique est nécessaire au maintien d'une élasticité et d'une rigidité optimales du tissu. Ces études ont évalué l'influence de la disparition de l'acide hyaluronique de la couche superficielle de la lamina propria cordale. Après digestion enzymatique à l'hyaluronidase, une étude conclut à une élévation de la viscosité tissulaire d'un facteur 2 à 4 (Gray et al., 1999). La seconde conclut à une augmentation de 70% de la viscosité du tissu et à une diminution de la rigidité tissulaire de 35%. Une viscosité augmentée implique une plus grande difficulté à la mise en vibration et à son maintien alors qu'une rigidité diminuée implique une plus grande difficulté à maintenir la stabilité de la fréquence vibratoire (Chan et al., 2001).

L'acide hyaluronique est produit par les fibroblastes et les macrophages (Ward et al., 2002), au niveau de la membrane cellulaire, par un complexe enzymatique membranaire (Alberts B, 2008; Ward et al., 2002).

Outre ses fonctions mécaniques, l'acide hyaluronique (tout comme l'ensemble des molécules de la matrice extracellulaire) influence le comportement cellulaire et est un important régulateur des processus morphogènes et de réparation tissulaire. Il influence l'attachement, la prolifération, la migration et la différenciation cellulaires. Ceci n'est possible que grâce à l'existence de récepteurs, les hyaladhérines (Toole, 1990), à la surface des cellules. Ces récepteurs membranaires identifiés pour l'acide hyaluronique sont le récepteur CD44 et le récepteur RHAMM (Receptor for Hyaluronate-Mediated Motility) (Toole BP, 1998; Petreaca M, 2008). Le récepteur CD44 est une protéine membranaire de 34kDa (Lodish, 2000). Le récepteur RHAMM est lui, un protéoglycan (Petreaca M, 2008).

La localisation cellulaire, l'expression tissulaire, la spécificité, l'affinité, la régulation de ces hyaladhérines permettent d'expliquer la grande diversité des actions biologiques et morphogènes exercées par une molécule ubiquitaire comme l'acide hyaluronique. Ces récepteurs à l'acide hyaluronique ont été identifiés à la surface des fibroblastes (Toole, 1990) et des macrophages (Underhill et al., 1993), des neutrophiles (Bazil and Horejsi, 1992) et des lymphocytes T (Pilarski et al., 1993). C'est dans les processus de réparation tissulaire que ces fonctions biologiques de l'acide hyaluronique prennent toute leur importance : elles seront décrites dans le chapitre IV consacré à la microchirurgie des lésions cordales et à la physiopathologie des cicatrices cordales iatrogènes.

La demi-vie de l'acide hyaluronique est très courte, moins d'un jour au sein de l'épiderme (Hascall VC, 1997), et sans doute 3 à 5 jours au sein de la lamina propria cordale (Ward et al., 2002;Hallen et al., 1998). Le turn-over de l'acide hyaluronique est donc très rapide. La dégradation de la molécule s'effectue soit par l'hyaluronidase extracellulaire (Lodish, 2000), soit par internalisation cellulaire après fixation au récepteur CD44 selon la séquence d'actions suivante : elle se lie à un récepteur membranaire, le complexe acide hyaluronique/récepteur entre dans la cellule par endocytose, l'acide hyaluronique est dégradé par les hyaluronidases lysosomiales en ses composants monosaccharidiques, l'acide glucuronique et la N-acétyl-glucosamine (Ward et al., 2002).

#### *b. La décorine*

La décorine est un protéoglycan de petit poids moléculaire qui apparaît comme très spécifique de l'espace de Reinke. Elle se lie au collagène de type I et II, régulant la production et l'assemblage des fibres collagènes en diminuant la taille de celles-ci (Gray et al., 1999;Pawlak et al., 1996). Cette activité pourrait être un élément essentiel dans la réduction des phénomènes fibrotiques post-traumatiques de l'espace de Reinke (Gray, 2000). La décorine est capable de se lier à une cytokine fibrosante, le TGF  $\beta$ 1 (Transforming Growth Factor  $\beta$ 1) et d'en modifier l'activité (Petreaca M, 2008;Gu and Wada, 1996;Alberts B, 2008)

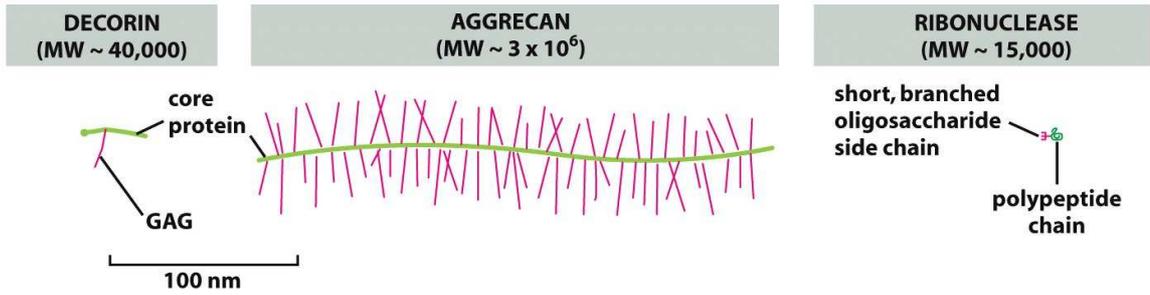
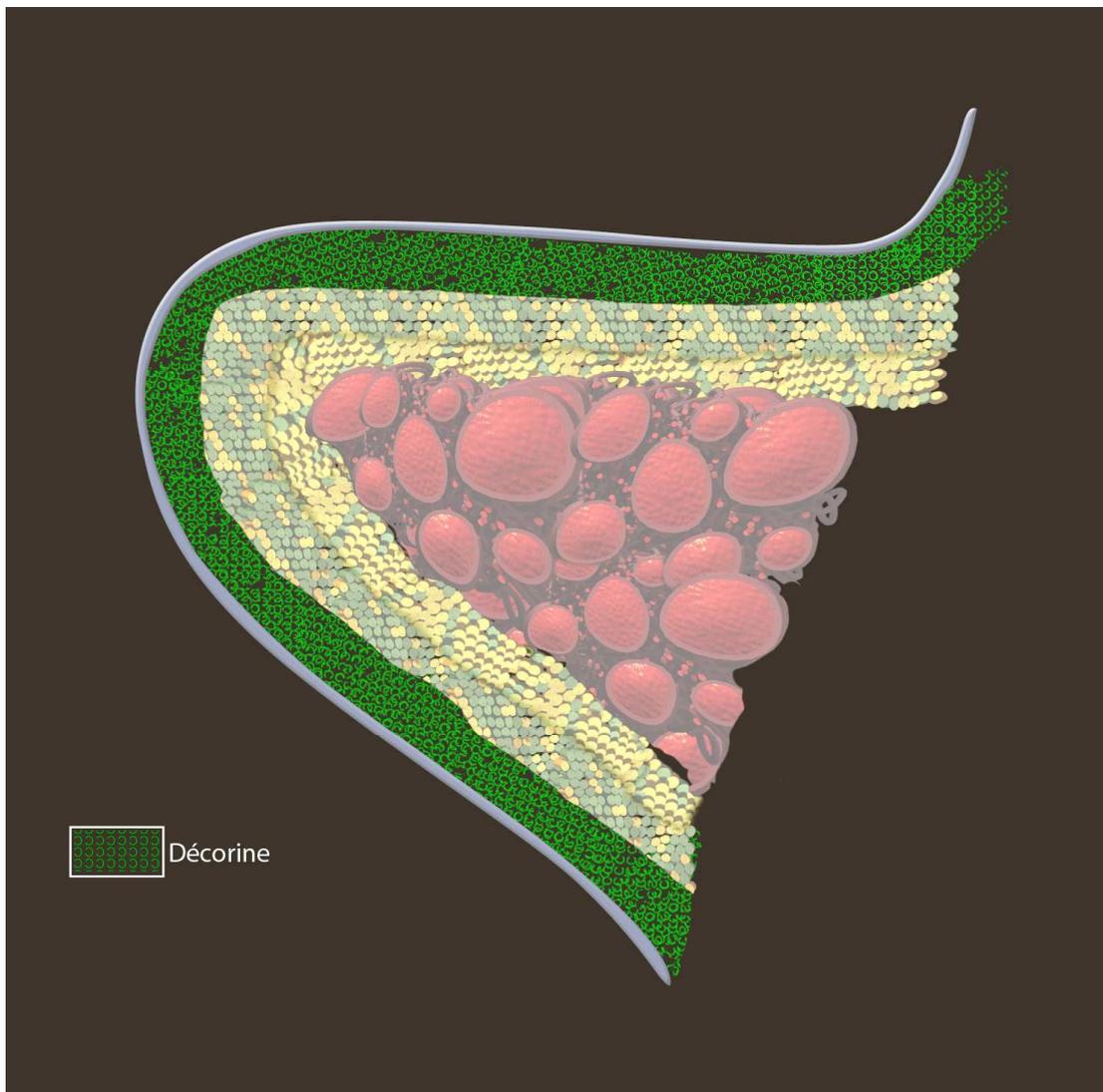


Figure 19-59 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Décorine comparée à un protéoglycan de grande taille, l'aggrecan (extrait de Molecular Biology of the Cell, Garland Science, 2002) (Alberts B, 2008)



La décorine dans la lamina propria cordale

Dessin de Frédéric Robert

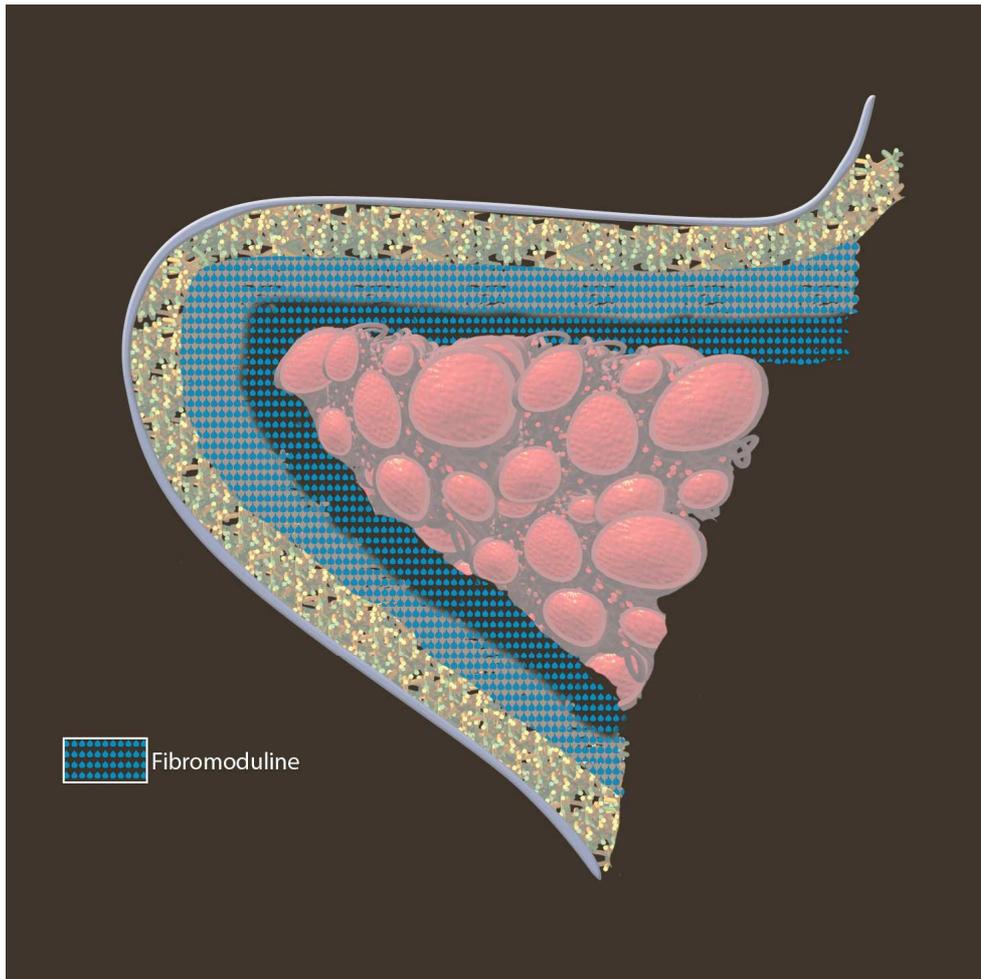
### c. La fibromoduline

La fibromoduline est un protéoglycan dont le glycosaminoglycan est une chaîne de sulfate de kératan.

La fibromoduline est très spécifique des couches intermédiaire et profonde de la lamina propria et donc de la région du ligament vocal. Elle est structurellement très semblable à la décorine et également capable d'adhérer aux fibres collagènes I et II (Thibeault et al., 2003). Localisée de manière très différente au sein de la corde vocale, elle est associée aux couches intermédiaire et profonde de la lamina propria, et donc à la zone ligamentaire. Ceci permet d'envisager un éventuel rôle de graissage et d'aide au déplacement des fibres collagènes et élastiques les unes par rapport aux autres (Gray et al., 1999; Gray, 2000).

*In vitro*, la fibromoduline inhibe la formation des fibrilles de collagène (Thibeault et al., 2003).

La fibromoduline est, comme la décorine, capable de se lier au TGF $\beta$ 1 et d'inhiber son action fibrosante (Petreaca M, 2008).



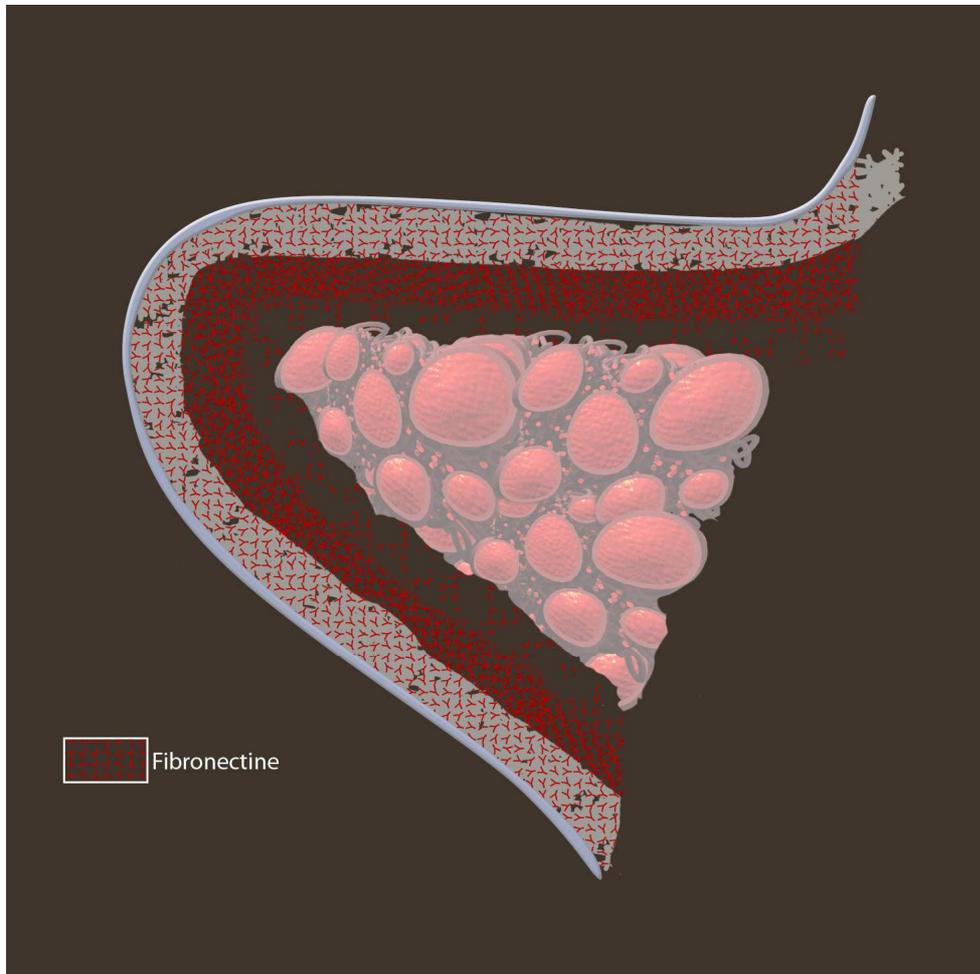
La fibromoduline dans la lamina propria cordale  
Dessin de Frédéric Robert

d) Le versican, l'héparan et le biglycan

On connaît peu de chose sur la localisation et le rôle de ces protéoglycans dans la lamina propria cordale. Le versican est une molécule de remplissage (Gray, 2000). Le sulfate d'héparan (ou perlecan) est capable de se lier au collagène de type IV, à la laminine, à la fibronectine et a été identifié dans la zone de la membrane basale épithéliale cordale (Gray, 2000; Lodish, 2000).

### e. La fibronectine

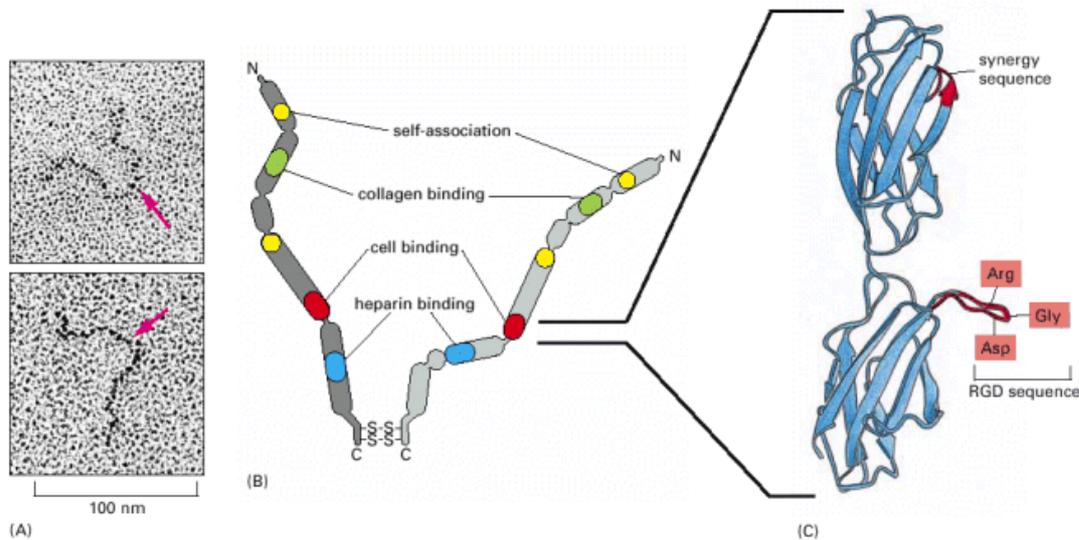
C'est une glycoprotéine ubiquitaire dans la lamina propria. Elle est présente depuis l'espace de Reinke jusqu'à la zone ligamentaire (Gray et al., 1999).



La fibronectine dans la lamina propria

Dessin de Frédéric Robert

Cette volumineuse protéine interstitielle possède des capacités d'adhésion importantes grâce à l'existence de sites spécifiques de liaison pour d'autres macromolécules (comme le collagène, l'acide hyaluronique, les protéoglycans (Hirschi et al., 2002)) ou pour la surface cellulaire (Alberts B, 2008).



### *Une molécule de fibronectine*

*Extrait de Molecular Biology of the Cell, Garland Science, 2002 (Alberts B, 2008)*

Les fibronectines matricielles, dont il existe au moins 20 isoformes, sont des dimères constitués de 2 chaînes peptidiques reliées à leur terminaison C- par 2 ponts disulfures. Il existe également une fibronectine circulante, et donc soluble, sécrétée par le foie, et qui joue des rôles importants dans les processus de cicatrisation décrits au chapitre III (Lodish, 2000; Petreaca M, 2008).

Les rôles biologiques de la fibronectine sont importants car elle est le médiateur des interactions entre les cellules, et entre les cellules et la matrice extracellulaire (Hirschi et al., 2002). Elle est surtout une protéine d'adhésion qui permet aux cellules de s'attacher aux collagènes matriciels fibreux de type I, II, III et V (Alberts B, 2008; Lodish, 2000).

Elle contribue à l'adhésion, la migration et l'attraction des fibroblastes ainsi qu'à l'organisation de la matrice extracellulaire (Grinnell, 1984). Elle joue un rôle dans l'adhésion des fibroblastes aux fibres collagènes et dans la morphogenèse de celles-ci (Obara and Yoshizato, 1997).

D'un point de vue mécanique et structurel, elle est considérée comme une molécule apportant une certaine rigidité tissulaire et une résistance à la déformation (Gray et al., 1999). Le rôle de la fibronectine dans le déterminisme des caractéristiques visco-élastiques de la lamina propria cordale demeure un sujet de discussion, car elle est habituellement présente en grande quantité dans les tissus cicatriciels et dans des tissus très riches en cellules, comme le tissu rénal (Gray et al., 1995). Au sein de cicatrices cordales induites chez l'animal, la fibronectine entraîne une augmentation de la rigidité tissulaire (Thibeault et al., 2003), et elle apparaît sur-

exprimée dans les polypes associés eux aussi à une plus grande rigidité tissulaire (Thibeault et al., 2002).

Les études immunohistochimiques montrent un marquage intense pour la fibronectine dans la couche superficielle et intermédiaire de la lamina propria saine (Gray et al., 1995).

L'explication de sa présence, en quantité importante, au sein d'un tissu très souple comme l'espace de Reinke pourrait résider en l'existence de différentes isoformes moléculaires possédant des caractéristiques visco-élastiques différentes (Hirschi et al., 2002).

La fibronectine joue aussi un rôle important dans les processus pathologiques tels que les nodules. Elle est précocement présente dans les plaies et exerce des actions biologiques importantes dans la cicatrisation tissulaire (Petreaca M, 2008; Alberts B, 2008; Lodish, 2000).

Ces actions de la fibronectine seront décrites dans le chapitre III, consacré aux altérations pathologiques de la lamina propria.

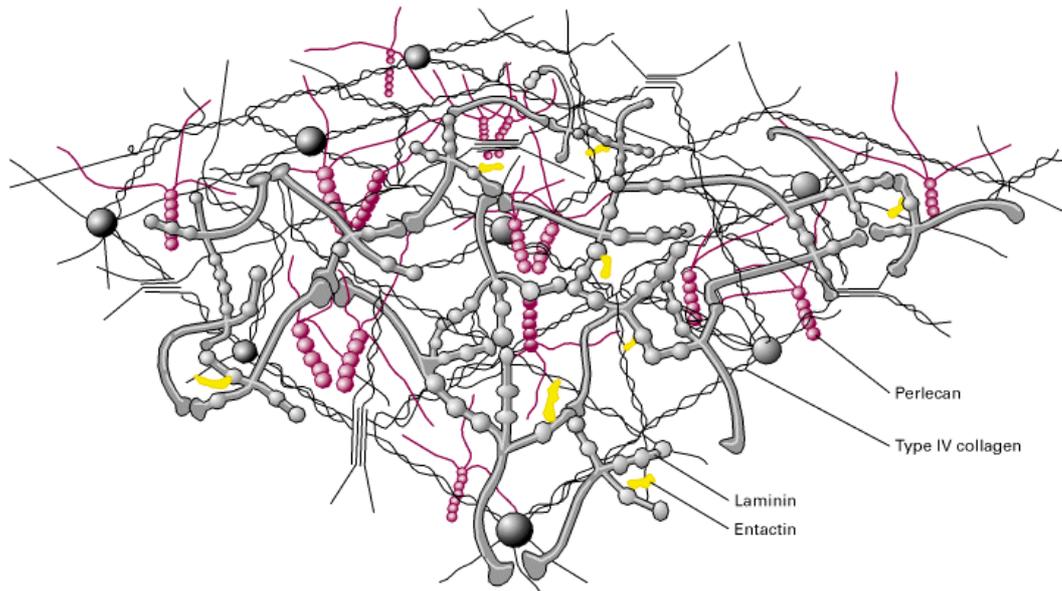
### **c. La membrane basale épithéliale**

La membrane basale épithéliale est une matrice extracellulaire ultraspécialisée amarrant fermement l'épithélium au tissu conjonctif sous-jacent. Elle est sécrétée par les cellules épithéliales sus-jacentes et remplit plusieurs fonctions essentielles. Elle sépare strictement les cellules épithéliales des fibroblastes du tissu conjonctif, elle influence le métabolisme cellulaire ainsi que les processus de différenciation et de prolifération cellulaires. Elle est mécaniquement essentielle car elle amarre l'épithélium cordal soumis aux forces induites par la vibration tissulaire. La membrane basale épithéliale cordale possède une épaisseur de 0.5µm (Courey et al., 1996).

La membrane basale est constituée de différentes molécules protéiques et de glycosaminoglycans.

Les protéines sont représentées par les types collagéniques (Tateya et al., 2006) I, III, IV, V et VII (*cf supra*), la laminine (Benninger et al., 1996; Nicolai et al., 1990) et l'entactine. Le collagène de type IV forme, avec la laminine, un réseau feuilleté flexible (Lodish, 2000). L'entactine est une protéine matricielle possédant des caractéristiques d'adhésion au collagène de type IV et à la laminine. Les interactions entre ces 3 molécules stabilisent la structure tridimensionnelle de la membrane basale (Lodish, 2000).

Parmi les glycosaminoglycans, le perlecan (ou sulfate d'héparan) est présent dans la membrane basale (Lodish, 2000).



*Schéma de la structure de la membrane basale*

*Extrait de P. D. Yurchenco and J. C. Schittny, 1990, FASEB J. 4: 1577–1590.]*

*In Molecular Cell Biology, W.H.Freeman eds (Lodish, 2000)*

## **2. Structure laminaire et propriétés biomécaniques**

### **Théorie de la couverture et du corps**

La structure laminaire cordale telle qu'elle vient d'être histologiquement décrite, est associée à des caractéristiques mécaniques favorables à la vibration tissulaire et à la production d'un son laryngé.

La biomécanique (Titze, 1994b) étudie le déplacement de structures biologiques sous l'action de forces déterminées. Les caractéristiques biomécaniques indispensables à la compréhension des caractéristiques vibratoires cordales sont : la longueur, la masse, l'élasticité, la viscosité et la rigidité cordales.

**La longueur** est une entité facile à appréhender.

**La masse** (Titze, 1994b) est différente du poids (qui fait intervenir la force d'attraction gravitationnelle) et représente la quantité de matière en mouvement. **L'élasticité** (Titze, 1994b) fait référence à l'élongation que le tissu peut endurer sous l'action d'un stress mécanique et détermine la restauration à la longueur initiale. Le stress mécanique est, quant à lui, défini comme étant la force par unité de surface.

**La viscosité** (Titze, 1994b) représente la vitesse avec laquelle le tissu, soumis à un stress mécanique, se déforme.

**La rigidité** (Titze, 1994b) est proportionnelle à la tension longitudinale cordale.

Hirano (Hirano, 1981) a montré que les 5 couches histologiques peuvent être réorganisées en 3 couches possédant des caractéristiques biomécaniques propres :

- la couverture cordale : l'épithélium et l'espace de Reinke
- la zone de transition : la couche intermédiaire et profonde de la lamina propria, correspondant au ligament
- le corps cordal : le muscle vocal.

### **1. La couverture cordale**

La couverture cordale est très souple : elle est peu rigide et possède une viscosité optimale. La souplesse de la couverture cordale est capitale pour une production vocale aisée (Hirano, 1981;Maragos NE, 2006;Chan et al., 2001;Gray et al., 1995;Gray et al., 1999;Jiang J, 2006;Ward et al., 2002). Elle est capable de se déplacer avec un certain degré de liberté sur les couches plus profondes de la lamina propria, plus rigides (Hirano, 1981). Cette souplesse de la couverture cordale est déterminée par la composition moléculaire et l'organisation tridimensionnelle de la matrice extracellulaire de l'espace de Reinke (Chan et al., 2001;Gray et al., 1995;Gray et al., 1999;Ward et al., 2002) : grande quantité d'acide hyaluronique, présence de décorine et de peu de fibres élastiques et collagènes..

### **2. La zone de transition**

La zone de transition, correspondant au ligament, possède des capacités d'élasticité et de rigidité importantes qui peuvent être modulées par la tension longitudinale dans le ligament (Titze, 1994a).

### **3. Le corps musculaire**

Le corps musculaire est doté de capacités contractiles qui modifient activement la rigidité et la masse par unité de surface (Hirano, 1974).

### **3. La population cellulaire de la lamina propria (Catten et al., 1998)**

Trois types de cellules occupent la lamina propria cordale : les fibroblastes, les myofibroblastes et les macrophages.

Les cellules les plus abondantes sont les fibroblastes, qui sont présents dans les 3 couches de la lamina propria. Les cellules les moins abondantes sont les macrophages.

La couche superficielle de la lamina propria est paucicellulaire.

Les myofibroblastes et les macrophages sont surtout présents dans la couche superficielle de la lamina propria. La présence de macrophages dans cette région cordale est vraisemblablement liée à leur rôle de défense contre les germes et les particules irritantes.

Les myofibroblastes sont des fibroblastes spécialisés contenant de l'actine et dotés d'un « fibronexus », qui est un complexe transmembranaire reliant la fibronectine intra- et extracellulaire (Alberts B, 2008). Ces deux caractéristiques des myofibroblastes sont sans doute liées à leur rôle dans l'organisation et la réparation de la matrice extracellulaire.

Les myofibroblastes ont été étudiés dans la cicatrisation cutanée : certains fibroblastes du tissu de granulation se différencient en myofibroblastes. Ces myofibroblastes acquièrent la morphologie et les caractéristiques biochimiques des cellules des muscles lisses en exprimant l'actine  $\alpha$  (Petreaca M, 2008).

C'est ce rôle réparateur des myofibroblastes qui explique vraisemblablement leur présence dans la couche superficielle de la lamina propria, qui est celle subissant le stress mécanique le plus important durant la vibration cordale : la différenciation en myofibroblastes pourrait être régulée par la tension mécanique appliquée au tissu (Petreaca M, 2008;Hinz et al., 2001).

## Articles de référence

(1984) Frèche et al, eds. La voix humaine et ses troubles. Paris: Arnette.

(2008)Alberts et al, eds. The Molecular Biology of the Cell. Garland Science.

(2006) Benninger M., Murry T., eds. The Performer's voice. San Diego,Oxford: Plural Publishing.

Abitbol J (2006) Normal voice maturation. In: The Performer's voice (Benninger MS, Murry T, eds), pp 34-50. San diego, CA: Plural Publishing.

Alberts et al, eds (2008) Cell junction, cell adhesion and the extracellular matrix. In: Molecular biology of the Cell, pp 1131-1204. New York and London: Garland Science.

Bazil V, Horejsi V (1992) Shedding of the CD44 adhesion molecule from leukocytes induced by anti-CD44 monoclonal antibody simulating the effect of a natural receptor ligand. J Immunol 149:747-753.

Benninger MS, Alessi D, Archer S, Bastian R, Ford C, Koufman J, Sataloff RT, Spiegel JR, Woo P (1996) Vocal fold scarring: current concepts and management. Otolaryngol Head Neck Surg 115:474-482.

Butler JE, Hammond TH, Gray SD (2001) Gender-related differences of hyaluronic acid distribution in the human vocal fold. Laryngoscope 111:907-911.

Catten M, Gray SD, Hammond TH, Zhou R, Hammond E (1998) Analysis of cellular location and concentration in vocal fold lamina propria. Otolaryngol Head Neck Surg 118:663-667.

Chan RW, Gray SD, Titze IR (2001) The importance of hyaluronic acid in vocal fold biomechanics. Otolaryngol Head Neck Surg 124:607-614.

Courey MS, Shohet JA, Scott MA, Ossoff RH (1996) Immunohistochemical characterization of benign laryngeal lesions. Ann Otol Rhinol Laryngol 105:525-531.

Frèche et al (1984) La voix humaine et ses troubles. Paris: Librairie Arnette.

Graney D., Flint P (1998) Anatomy of the larynx. In: Otolaryngology&Head Neck Surgery, (Cummings et al, eds), pp 1824-1833. St Louis,USA: Mosby.

Gray SD et al (1993) Molecular and cellular structure of vocal fold tissue. In: Vocal Fold Physiology pp 1-34. San diego: Singular Publishing.

Gray SD (2000) Cellular physiology of the vocal folds. Otolaryngologic clinics of North America 33:679-697.

Gray SD, Hammond E, Hanson DF (1995) Benign pathologic responses of the larynx. Ann Otol Rhinol Laryngol 104:13-18.

- Gray SD, Pignatari SS, Harding P (1994) Morphologic ultrastructure of anchoring fibers in normal vocal fold basement membrane zone. *J Voice* 8:48-52.
- Gray SD, Titze IR, Alipour F, Hammond TH (2000) Biomechanical and histologic observations of vocal fold fibrous proteins. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 109:77-85.
- Gray SD, Titze IR, Chan R, Hammond TH (1999) Vocal fold proteoglycans and their influence on biomechanics. *Laryngoscope* 109:845-854.
- Grinnell F (1984) Fibronectin and wound healing. *J Cell Biochem* 26:107-116.
- Gu J, Wada Y (1996) Effect of exogenous decorin on cell morphology and attachment of decorin-deficient fibroblasts. *J Biochem* 119:743-748.
- Gunter HE (2004) Modeling mechanical stresses as a factor in the etiology of benign vocal fold lesions. *J Biomech* 37:1119-1124.
- Hahn MS, Kobler JB, Starcher BC, Zeitels SM, Langer R (2006a) Quantitative and comparative studies of the vocal fold extracellular matrix. I: Elastic fibers and hyaluronic acid. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 115:156-164.
- Hahn MS, Kobler JB, Zeitels SM, Langer R (2006b) Quantitative and comparative studies of the vocal fold extracellular matrix II: collagen. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 115:225-232.
- Hallen L, Dahlqvist A, Laurent C (1998) Dextranomers in hyaluronan (DiHA): a promising substance in treating vocal cord insufficiency. *Laryngoscope* 108:393-397.
- Hammond TH, Gray SD, Butler J, Zhou R, Hammond E (1998) Age- and gender-related elastin distribution changes in human vocal folds. *Otolaryngol Head Neck Surg* 119:314-322.
- Hammond TH, Zhou R, Hammond EH, Pawlak A, Gray SD (1997) The intermediate layer: a morphologic study of the elastin and hyaluronic acid constituents of normal human vocal folds. *J Voice* 11:59-66.
- Hascall VC LT (1997) Hyaluronan: structure and physical properties. [www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan](http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan)
- Hinz B, Mastrangelo D, Iselin CE, Chaponnier C, Gabbiani G (2001) Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation. *Am J Pathol* 159:1009-1020.
- Hirano M (1974) Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variations. *Folia Phoniatr (Basel)* 26:89-94.
- Hirano M (1981) The structure and control of the vocal fold as a vibrator. In: *Clinical examination of voice* pp 4-7. Springer-Verlag Wien New York.
- Hirschi SD, Gray SD, Thibeault SL (2002) Fibronectin: an interesting vocal fold protein. *J Voice* 16:310-316.
- Jiang J (2006) Physiology of voice production: how does voice work? In: *The Performer's Voice* (Benninger MS, Murry T, eds), pp 23-32. San Diego, Oxford: Plural Publishing.

Lander Ad (1993) Proteoglycans. Guidebook to the extracellular matrix and adhesion proteins. pp 12-16. Oxford University Press.

Lodish et al, eds (2000) Integrating cells into tissues. In: Molecular Cell Biology, W.H. Freeman & Co.

Madruga de Melo EC, Lemos M, ragao Ximenes FJ, Sennes LU, Nascimento Saldiva PH, Tsuji DH (2003) Distribution of collagen in the lamina propria of the human vocal fold. Laryngoscope 113:2187-2191.

Maragos NE (2006) Anatomy of the vocal mechanism: structure of the voice. pp 15-32. Plural publishing.

Meyer K Palmer JW (1934) The polysaccharide of the vitreous humor. pp 629-634.

Meyer k pJ (1934) The polysaccharide of the viteous humor. pp 629-634.

Nicolai P, Cappiello J, Peretti G, Antonelli AR, Parolini S, Rosa D, Favret M, Maroccolo D, Molinari Tosatti MP (1990) Distribution of laminin, type IV collagen and fibronectin in normal, dysplastic and neoplastic laryngeal tissue. Acta Otorhinolaryngol Ital 10:139-149.

Obara M, Yoshizato K (1997) A novel domain of fibronectin revealed by epitope mapping of a monoclonal antibody which inhibits fibroblasts-mediated collagen gel contraction. FEBS Lett 412:48-52.

Pawlak AS, Hammond T, Hammond E, Gray SD (1996) Immunocytochemical study of proteoglycans in vocal folds. Ann Otol Rhinol Laryngol 105:6-11.

Petreaca M M-GM (2008) Cell-ECM interactions in repair and regeneration. In: Principles of Regenerative Medicine (Atala A LRTJNR, ed), pp 66-99. Academic Press, Elsevier.

Pilarski LM, Miszta H, Turley EA (1993) Regulated expression of a receptor for hyaluronan-mediated motility on human thymocytes and T cells. J Immunol 150:4292-4302.

Porto IC CMPSGSGJ (1990) Elastin in human, baboon and mouse liver: an immunohistochemical and immunoelectron microscopic study. pp 392-404.

Reinke F (1895) Untersuchungen ueber das menschliche Stimmband. pp 469-478.

Reinke F (1897) Uber die funktionelle Struktur der menschlichen Stimmlippe mit besonderer Berücksichtigung des elastischen Gewebes. pp 103-117.

Sato K (1998) Reticular fibers in the vocal fold mucosa. Ann Otol Rhinol Laryngol 107:1023-1028.

Scott JE (2002) Secondary and tertiary structures of hyaluronan in aqueous solution. Some biological consequences. [www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan](http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan)

Sonesson B (1960) On the anatomy and vibratory pattern of the human vocal folds. pp 35-80.

Tateya T, Tateya I, Bless DM (2006) Collagen subtypes in human vocal folds. Ann Otol Rhinol Laryngol 115:469-476.

- Tateya T, Tateya I, Bless DM (2007) Immuno-scanning electron microscopy of collagen types I and III in human vocal fold lamina propria. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 116:156-159.
- Thibeault SL, Bless DM, Gray SD (2003) Interstitial protein alterations in rabbit vocal fold with scar. *J Voice* 17:377-383.
- Thibeault SL, Gray SD, Li W, Ford CN, Smith ME, Davis RK (2002) Genotypic and phenotypic expression of vocal fold polyps and Reinke's edema: a preliminary study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 111:302-309.
- Titze IR (1994a) Control of fundamental frequency. In: *Principles of voice production* pp 191-217. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- Titze IR (1994b) Vocal fold oscillation. In: *Principles of voice production* pp 80-111. Englewood Cliffs, NJ: Prentice- Hall Inc.
- Toole BP (1998) Hyaluronan in morphogenesis and tissue remodeling. [www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan](http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan)
- Toole BP (1990) Hyaluronan and its binding proteins, the hyaladherins. *Curr Opin Cell Biol* 2:839-844.
- Tucker HM (1987) *The Larynx*. New York: Thieme Medical Publishers Inc.
- Underhill CB, Nguyen HA, Shizari M, Culty M (1993) CD44 positive macrophages take up hyaluronan during lung development. *Dev Biol* 155:324-336.
- Ward PD, Thibeault SL, Gray SD (2002) Hyaluronic acid: its role in voice. *J Voice* 16:303-309.

## Chapitre II

### La phonation normale

La voix est un son complexe émis par le système vocal, comprenant un oscillateur (les cordes vocales au sein du larynx), une soufflerie (le système respiratoire), et des résonateurs (les cavités supraglottiques que sont le pharynx, la cavité buccale et les fosses nasales).

La phonation désigne les processus physiques et physiologiques de l'oscillation des cordes vocales, à l'origine de la production de la voix.

La compréhension par le microchirurgien des mécanismes physiologiques de l'oscillation cordale, et de leur altération par une lésion cordale bénigne, est capitale. En effet, le but de la microchirurgie est d'améliorer les caractéristiques biomécaniques du vibrateur laryngé de telle manière que l'oscillation cordale soit de meilleure qualité après l'intervention microchirurgicale.

De nombreuses théories de la phonation ont vu le jour, les plus anciennes remontant au 18<sup>ème</sup> siècle. Certaines d'entre elles, pourtant décrites très récemment, ont été totalement abandonnées car basées sur des notions anatomiques et physiologiques totalement fausses. C'est le cas de la théorie neuro-chronaxique de Husson (Husson Raoul, 1962) (1950). Selon ce dernier, la production du son laryngé est un mécanisme actif, induit par la contraction des fibres musculaires du muscle vocal, précisant même que « rien ne vibre dans le larynx » (Husson Raoul, 1962) ! Cette théorie « neuro-musculaire » de la phonation implique une architecture particulière du muscle vocal : les fibres musculaires s'insèrent sur le ligament vocal et leur contraction rythmique induit le mouvement vibratoire du bord cordal. Nous savons aujourd'hui qu'il n'en est rien.

Dans ce chapitre, nous décrivons les hypothèses physiologiques communément acceptées en 2008, tout en étant conscients que la théorie de la phonation reste un sujet qui suscite toujours de nombreuses discussions et controverses.

## a. L'oscillation cordale

En position de fermeture phonatoire, les deux cordes vocales entrent en oscillation grâce à des caractéristiques mécaniques favorables. Cette oscillation est induite et entretenue par le flux aérien : c'est un mouvement de va-et-vient auto-entretenu qui transforme l'énergie aérodynamique en une énergie acoustique.

Une théorie séduisante est décrite en 1958 par Vanden Berg (Vanden Berg, 1958). Cette théorie complète le rôle de la pression d'air présente sous les cordes vocales et de l'élasticité propre des cordes, par l'existence d'un effet Bernoulli au niveau de la glotte, afin d'expliquer l'alternance de mouvements d'ouverture et de fermeture des cordes vocales constituant la vibration cordale. L'effet Bernoulli est régi par la loi de Bernoulli ou loi de conservation de l'énergie, qui affirme que l'énergie d'un fluide (ou gaz) se déplaçant dans un conduit est identique en tous points de son trajet, moins les déperditions énergétiques.

$$\text{Energie}_2 = \text{Energie}_1 - \text{pertes énergétiques}$$

L'énergie totale du gaz en déplacement se répartit en énergie potentielle et en énergie cinétique. La somme des deux est une constante. L'énergie potentielle est proportionnelle à la pression du gaz, alors que l'énergie cinétique est proportionnelle au carré de la vitesse de déplacement du gaz

$$\text{Autrement dit : } P + \frac{1}{2} \rho v^2 = \text{constante}$$

$\rho$  = densité du gaz

P = pression

v = vitesse

Si le conduit présente un rétrécissement, les particules de gaz en déplacement doivent s'accélérer au niveau de la région étroite du conduit en vertu de la loi de continuité qui établit que le produit de la vitesse du gaz par le diamètre du conduit est une constante.

Cette augmentation de vitesse entraîne donc en vertu de la loi de Bernoulli, une diminution de la pression. Cette dépression aspire les structures en mouvement, c'est-à-dire les cordes vocales l'une contre l'autre.

Néanmoins cette théorie est insuffisante pour expliquer le caractère auto-entretenu de l'oscillation cordale. En effet, l'effet de succion que représente l'effet Bernoulli étant insensible au sens du déplacement des cordes vocales, il conduit inévitablement à la fermeture des cordes et à l'arrêt du mouvement vibratoire. Autrement dit, à diamètre glottique égal, l'effet Bernoulli est identique, et ce, que le mouvement cordal soit en ouverture ou en fermeture. Ceci conduit à l'extinction de l'oscillation. Aujourd'hui, la théorie myo-élastique complétée de Vanden Berg a dû être modifiée en tenant compte de principes physiques connus régissant les systèmes oscillants, de données fournies par l'observation des cordes vocales en mouvement telle que la permet la vidéostroboscopie et la cinématographie ultra-rapide, et des caractéristiques structurelles et biomécaniques des cordes vocales. Au sein d'un système mécanique, une oscillation libre (ou naturelle) est possible si trois conditions sont remplies : il doit exister une position d'équilibre stable, de l'inertie doit être présente au sein du système afin de dépasser cette position d'équilibre et enfin, la perte énergétique doit être nulle par cycle d'oscillation.

Les cordes vocales ne sont pas un système oscillant libre, mais bien un vibreur entretenu par une force motrice qui est le flux aérien.

Dans ce type de système (comme dans une balançoire), de l'énergie est transférée au corps oscillant si la force motrice est dirigée dans le sens du déplacement de l'objet en oscillation et elle est, par ailleurs, dépendante de la vitesse du corps oscillant. De plus, la fourniture énergétique au système doit être synchronisée au sens du déplacement. La notion d'asymétrie de la force motrice, et le décalage temporel de l'application de la force motrice, sont deux règles essentielles au maintien de l'oscillation.

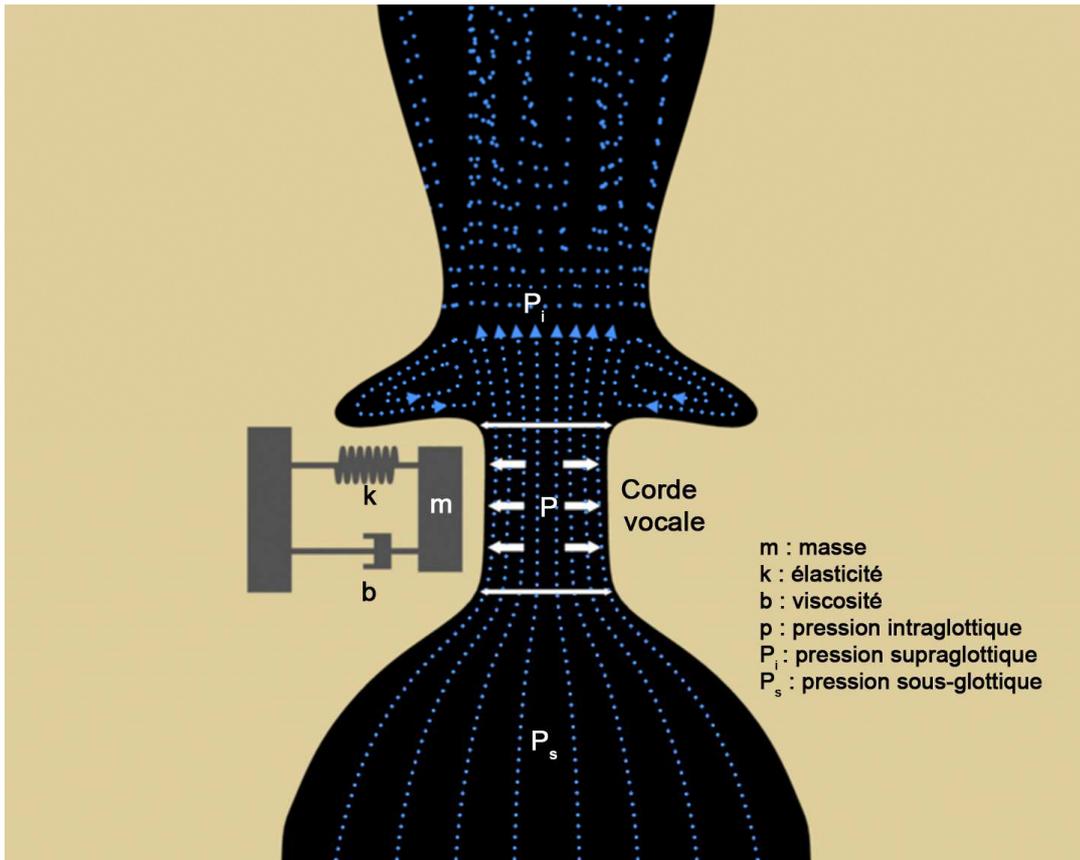
Dans le cas particulier de l'oscillation cordale, l'air en mouvement constitue la force motrice. Le flux aérien et les cordes vocales forment un système mécanique au sein duquel un transfert énergétique positif est créé, du flux aérien vers le tissu, de manière à compenser les pertes énergétiques durant le cycle oscillatoire. Comme dans le système oscillant de la balançoire, ceci ne peut exister que grâce à un décalage entre la force motrice et le déplacement tissulaire, et aussi grâce à une asymétrie de la force motrice intraglottique au cours du cycle. Ces deux conditions sont remplies, dans le système phonatoire humain, grâce à l'existence d'une part d'un conduit vocal supraglottique et d'autre part d'un mode vibratoire non uniforme du tissu cordal.

Le mode vibratoire non uniforme (Hollien et al., 1968;Titze, 1994d) des cordes vocales est aisément observé en vidéostroboscopie : les cordes vocales ne vibrent pas comme une seule masse, telle une corde de guitare, mais on observe un mouvement complexe associant un mouvement de rapprochement/écartement des bords libres et une vague muqueuse se déplaçant de la face inférieure de la corde vers la face supérieure de celle-ci. Cette ondulation muqueuse de surface est possible grâce à la souplesse naturelle de la couverture cordale constituée de l'espace de Reinke et de l'épithélium. Cette entité fonctionnelle est capable d'un mouvement ondulatoire propre, sur une lamina propria plus profonde et un corps musculaire plus rigides. La théorie de la couverture cordale et du corps cordal a été décrite par Hirano (Hirano, 1974;Hirano, 1981). Une autre manière de conceptualiser ce modèle vibratoire est le modèle vibratoire à 2 masses (Ishizaka, 1972), ou plus récemment le modèle de Titze (Titze, 1988), qui exprime mathématiquement l'hypothèse de la théorie du corps et de la couverture cordale. Dans ce modèle, Titze démontre que la vague muqueuse de surface produit les mêmes formes glottiques que dans le modèle à 2 masses , et surtout que cette ondulation muqueuse peut exister même si les cordes vocales ne sont pas parfaitement au contact l'une de l'autre.

Nous décrivons ci-dessous le modèle vibratoire à une masse (Titze, 1994d), eu égard au rôle joué par le conduit vocal supra-glottique, et le modèle vibratoire à deux masses (Ishizaka, 1972;Titze, 1988;Titze, 1994d) afin d'expliquer le rôle joué par l'ondulation muqueuse de surface.

### **1° Le modèle à une masse**

Dans ce modèle, chaque corde vocale peut être décrite comme un oscillateur harmonique simple avec une masse « m », une rigidité « k » et une constante d'amortissement (ou de viscosité) « b ».



Le modèle à 1 masse

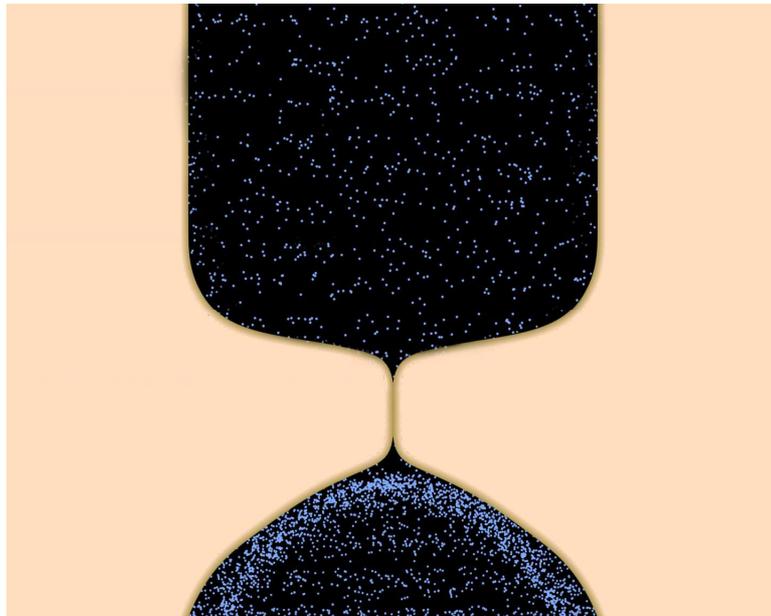
Dessin de Frédéric Robert, adapté de Titze (1994d) Vocal fold oscillation. In : Principles of voice production pp 80-111.Engelwoods Cliffs, NJ : Prentice-Hall Inc

La pression intra-glottique « P » est, dans ce modèle, égale à la pression supra-glottique « Pi » car il n'y a pas de déphasage entre les lèvres supérieures et inférieures de chaque corde et que  $a_2 = a_1$ , ce qui entraîne la disparition du facteur pressionnel trans-glottique  $P_s - P_i$ .

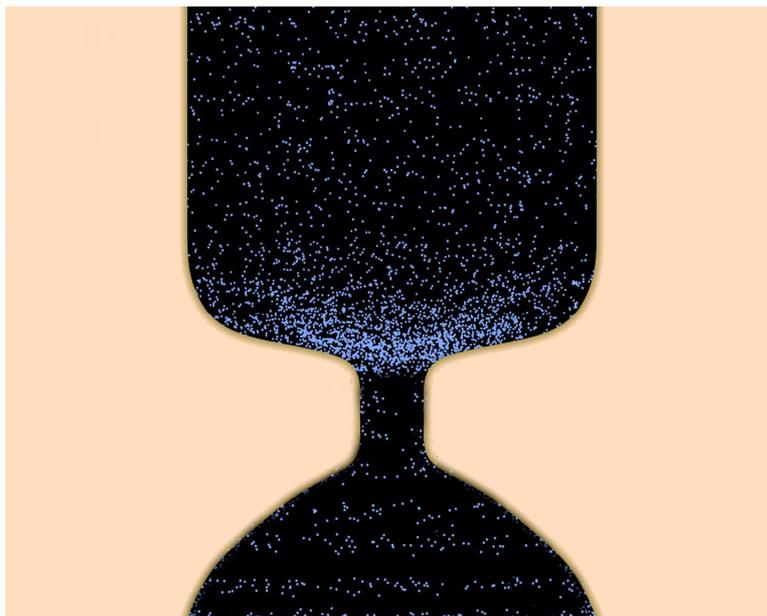
$$P = (1 - a_2/a_1) (P_s - P_i) + P_i$$

Dans ce modèle à une masse, la force motrice proportionnelle à la pression intra-glottique est en fait équivalente à la pression supra-glottique. Cette pression supra-glottique  $P_i$  varie au cours du cycle d'ouverture et de fermeture des cordes vocales en raison de l'inertie de la colonne d'air présente au-dessus des cordes vocales. Quand les cordes vocales s'ouvrent, l'air supra-glottique se condense tout en étant poussé vers la bouche. Cette pression supra-glottique augmentée aide donc à l'ouverture des cordes

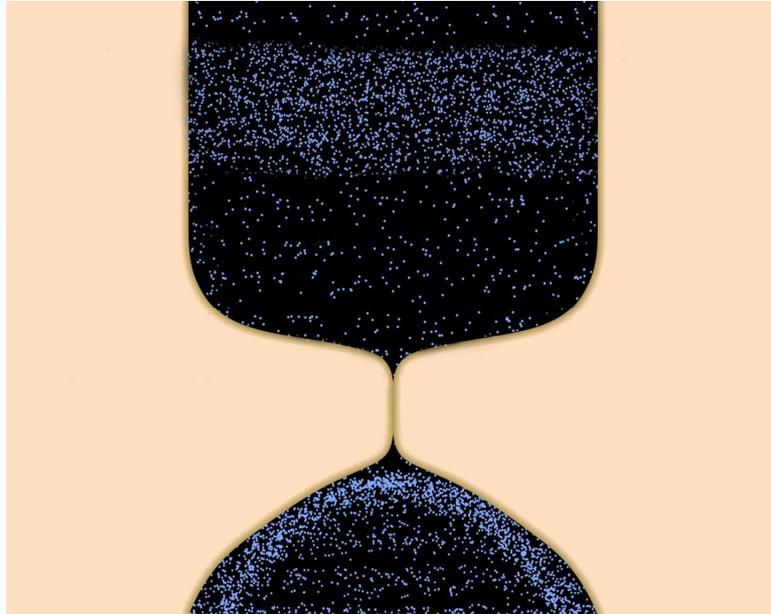
vocales. Par contre, lorsque les cordes se ferment, l'air supra-glottique continue à se déplacer vers la bouche, l'air supra-glottique se raréfie, la pression supra-glottique  $P_i$  diminue et cet effet de succion supra-glottique équivalent à un effet Bernoulli facilite la fermeture des cordes.



Modèle à 1 masse. Temps 1 : augmentation de la pression sous-glottique  
Dessin de Frédéric Robert



Modèle à 1 masse. Temps 2 : ouverture des cordes, condensation de l'air supra-glottique. Dessin de Frédéric Robert



Modèle à 1 masse. Temps 3 : raréfaction de l'air supra-glottique lors de la fermeture cordale. Dessin de Frédéric Robert

C'est l'inertie de la colonne d'air au-dessus des cordes qui crée une asymétrie de la pente du flux aérien : la pente est moins marquée à l'ouverture cordale qu'à la fermeture.

$P_i$  = inertance x accélération de la colonne d'air.

$$\text{Inertance} = \frac{\rho L}{a}$$

$\rho$  = densité

$L$  = longueur de la colonne d'air

$a$  = diamètre de la colonne d'air

Lorsque la glotte s'ouvre, l'accélération de la masse aérienne supraglottique prend du temps. Alors que lorsque la glotte se ferme, le ralentissement du flux aérien est retardé,

puis ralentit brusquement au moment de la fermeture glottique. C'est l'asymétrie de flux, et plus encore, de la vitesse des particules d'air en déplacement, qui permet l'existence d'une force motrice asymétrique, liée à la vitesse, nécessaire à la mise en vibration.

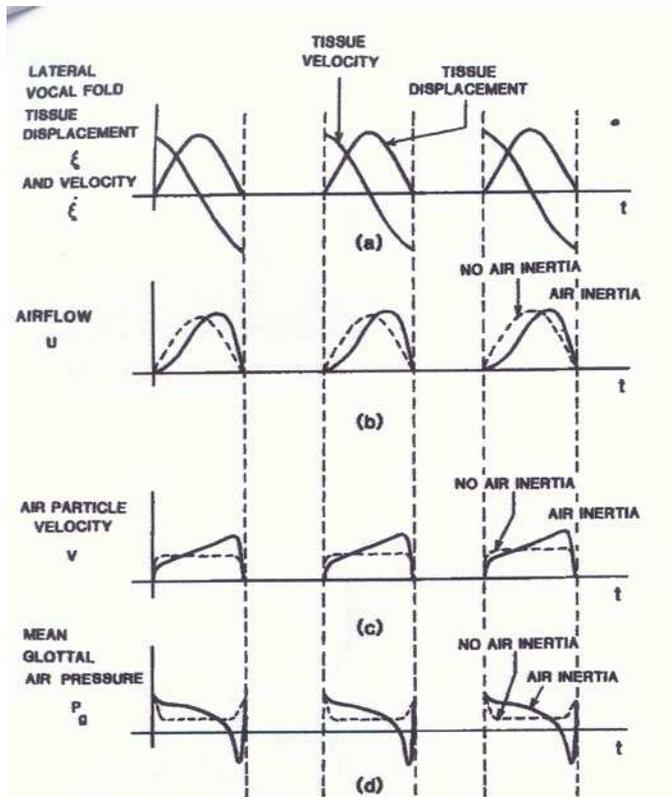


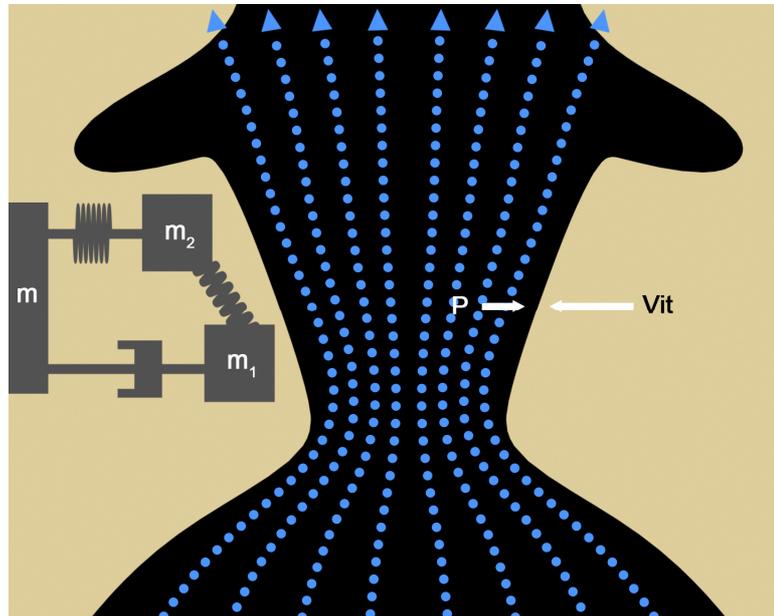
FIG. 3. Idealized waveforms for three cycles of oscillation: (a) tissue displacement and velocity, (b) glottal airflow, (c) air particle velocity, and (d) mean glottal air pressure as a function of time. No waveforms are shown during vocal fold collision.

Courbes du déplacement tissulaire, du débit intraglottique, de la vitesse de déplacement aérien et de la pression intraglottique durant 3 cycles vibratoires.

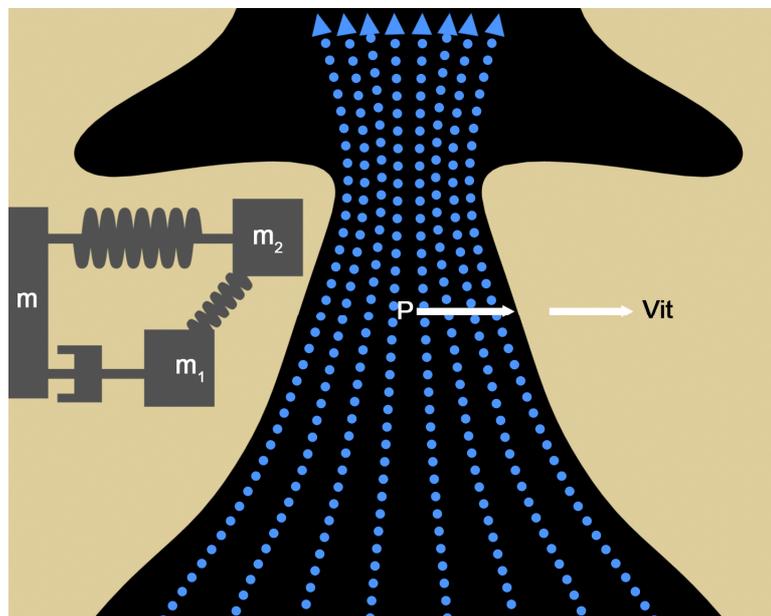
Extrait de Titze IR, The physics of small-amplitude oscillation of the vocal folds.1998 J. Acoust. Soc .Am. 83 (4) 1536-1552 (Titze, 1988).

Ce modèle permet donc de comprendre que l'existence des cavités supra-glottiques fournit une force motrice supra-glottique qui permet le maintien de l'oscillation des cordes vocales.

## 2° Le modèle à 2 masses.



Mouvement de fermeture, glotte divergente



Mouvement d'ouverture, glotte convergente

Le modèle à 2 masses, dessins de Frédéric Robert, adapté de Titze (1994d) Vocal fold oscillation. In : Principles of voice production pp 80-111. Englewood Cliffs, NJ : Prentice-Hall

La théorie de la couverture cordale et du corps cordal et le modèle à 2 masses ne sont finalement qu'une manière différente d'exprimer la nécessité de caractéristiques

biomécaniques particulières associées aux couches tissulaires constitutives de la lamina propria cordale pour permettre la production aisée d'un son laryngé de qualité.

Dans le modèle à deux masses de la vibration cordale, la couverture cordale est représentée par deux masses  $m_1$  et  $m_2$ , qui sont capables de se déplacer de façon indépendante. Ces deux masses de la couverture cordale sont reliées à la masse  $m$  du corps cordal. Les deux masses  $m_1$  et  $m_2$  sont capables de se déplacer de manière indépendante l'une de l'autre, mais aussi d'une manière indépendante par rapport à la masse  $m$  du corps cordal. En raison de l'existence de deux masses séparées représentant la couverture cordale, un mouvement non uniforme de la vibration cordale peut exister où la lèvre supérieure et la lèvre inférieure de la corde vocale ne se meuvent pas en phase. La lèvre inférieure va toujours précéder le mouvement de la lèvre supérieure. Ce déphasage conduit à la réalisation dans le plan frontal d'une forme glottique dite divergente lorsque les cordes vocales s'ouvrent et d'une forme dite convergente lorsque les cordes vocales se ferment (Ishizaka 1972). La pression moyenne intra-glottique (Scherer R, 1983) est plus élevée dans le cas d'une glotte convergente que dans le cas d'une glotte divergente. Le système en oscillation utilise cette asymétrie pressionnelle et va alterner de manière cyclique un mouvement tissulaire dessinant une glotte convergente et divergente. Dans ces conditions, l'oscillation auto-entretenu est possible. De l'énergie est transférée au tissu car la force motrice aérodynamique (la pression) est asymétrique : elle n'est pas identique lorsque les cordes s'ouvrent (elle est plus élevée, et dirigée dans le sens du déplacement tissulaire) et lorsqu'elles se ferment (elle est plus faible, et de sens opposé au déplacement tissulaire). Ce modèle vibratoire à deux masses est tout à fait superposable au modèle vibratoire lié à l'existence d'une ondulation muqueuse de surface, car tous deux sont capables de permettre un mode vibratoire qui change la forme de la glotte durant le cycle de vibration.

En conclusion, on peut affirmer que des caractéristiques visco-élastiques favorables au sein de l'espace de Reinke sont nécessaires à l'existence de l'ondulation muqueuse de surface et donc à la capacité de l'oscillateur laryngé de transformer l'énergie aérodynamique en énergie acoustique.

L'ondulation muqueuse démarre au niveau de la lèvre inférieure de la corde et se propage à la face supérieure de celle-ci, puis s'éteint latéralement. Elle possède une ampleur maximale sur le bord vibrant. Elle se déplace à une vitesse comprise entre 0.5 et 1 m/sec (Hirano et al., 1980).

## b. Le réglage de la fréquence

L'étendue fréquentielle de la voix humaine est considérable : 2 à 3 octaves

Le vibrateur principal est la couverture cordale. C'est la vitesse de son déplacement qui va déterminer, dans une large mesure, la fréquence du son émis (Berke and Gerratt, 1993; Sloan et al., 1993). Cette vitesse de déplacement dépend, chez le sujet normal, de la rigidité et de la masse en mouvement

La rigidité dépend, dans le modèle de la couverture et du corps cordaux, de la tension longitudinale passive des cordes et d'une rigidité active, intracordale, déterminée par la contraction du muscle vocal (Titze, 1994a; Jiang J, 2006).

$$F_0 = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m}}$$

Equation 1

Dans l'équation 1 (Titze, 1994a), la fréquence de vibration ( $F_0$ ) est proportionnelle à la racine carrée du rapport rigidité ( $k$ ) / masse ( $m$ ). Autrement dit, la fréquence augmente si la masse en vibration diminue ou si la rigidité augmente.

La rigidité est proportionnelle à la tension cordale (Titze, 1994a) (équation 2) car

$$k = \frac{\pi^2}{L} \sigma TD$$

Equation 2

( $k$ ) la rigidité

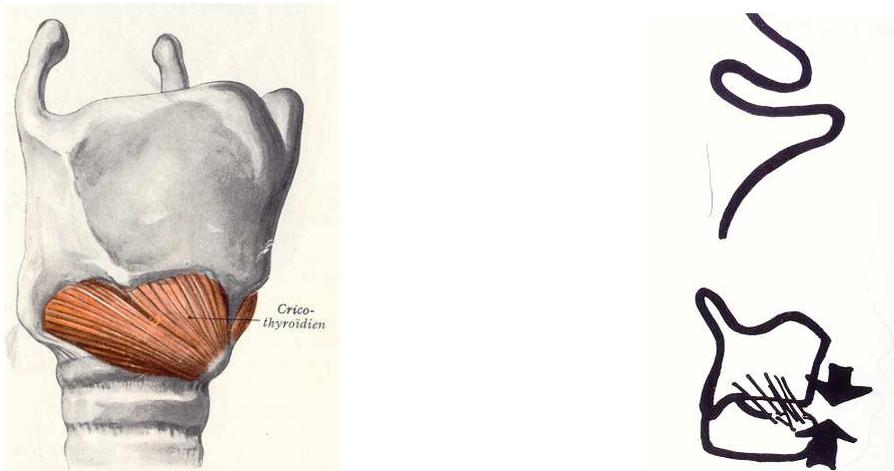
( $\sigma$ ) le stress

( $T$ ) l'épaisseur

( $D$ ) la profondeur du tissu en vibration.

( $\sigma TD$ ) la tension longitudinale du tissu

La tension longitudinale passive des cordes vocales est sous la dépendance du muscle crico-thyroïdien.



#### Le muscle crico-thyroïdien et son action

Extrait de Rouvière : Anatomie humaine, tome 1, Masson 1981, p487.

Le muscle crico-thyroïdien s'insère en bas, sur la face antéro-externe de l'arc cricoïdien puis ses fibres se portent en haut et en arrière pour s'insérer sur le bord inférieur du cartilage thyroïde. Sa contraction fait basculer en avant et en bas le cartilage thyroïde, un peu comme le mouvement du ventail d'un heaume. Cette bascule allonge et tend l'ensemble des cordes vocales. La tension augmente à la fois dans la couverture et le corps cordaux (Titze, 1994a).

L'action du muscle vocal est un peu plus difficile à appréhender. Dans le modèle vibrant de la couverture et du corps cordaux, la contraction isolée du muscle vocal entraîne une rigidification du corps musculaire mais, par contre, une diminution de la tension dans la couverture cordale. Celle-ci conduit à une diminution de la fréquence vibratoire, si seule la couverture cordale est en mouvement. Si, par contre, une épaisseur plus grande de la corde est impliquée dans la vibration, alors la contraction isolée du muscle vocal peut augmenter la fréquence de vibration (Titze, 1994a).

L'accès à des fréquences élevées requiert nécessairement l'action du muscle crico-thyroïdien (Titze, 1994a). C'est le ligament vocal qui va supporter l'augmentation du stress mécanique de l'élongation cordale, grâce à sa composition fibreuse. Ceci permet de préserver la couverture cordale d'un stress mécanique excessif. C'est ce qui explique que, même en cas de tension longitudinale importante, la couverture cordale reste capable de

créer une ondulation muqueuse permettant la transformation de l'énergie aérodynamique en énergie acoustique (Titze, 1994a).

Dans la réalité, les 2 muscles (thyro-aryténoïdien et crico-thyroïdien) fonctionnent ensemble, de manière à la fois antagoniste ( allongement cordal/raccourcissement cordal) et synergique ( augmentation de la tension/de la fréquence) et il a été démontré qu'une augmentation de la fréquence de vibration est obtenue lors de la contraction du muscle vocal à condition que la contraction du muscle crico-thyroïdien ne soit pas maximale (Atkinson, 1978).

Lors de l'émission des notes les plus aiguës, néanmoins, le muscle vocal est relâché et l'augmentation fréquentielle dépend uniquement du muscle crico-thyroïdien (Hirano et al., 1969) .

Enfin, il est connu qu'une augmentation de la pression aérienne sous-glottique augmente la fréquence de vibration. Une explication à ce phénomène est une augmentation de la tension intra-tissulaire d'origine purement dynamique, c'est-à-dire, présente seulement lorsque le tissu est en vibration (Titze, 1994a).

Il est impossible de parler de la variation fréquentielle sans parler des registres de la voix humaine. Le terme « registre » désigne une série de sons perçus comme possédant une qualité homogène, même si l'intensité et la fréquence varient (Titze, 1994e;Frèche et al, 1984). Les registres existent tant dans la voix parlée que chantée.

On distingue deux registres principaux, la voix de fausset et la voix de poitrine. Entre les deux se situe la voix mixte.

Leur terminologie a été, et reste encore, le thème d'intenses débats : les professeurs de chant, les phonéticiens, les logopèdes orthophonistes et les phoniâtres utilisent souvent des termes différents alors qu'ils décrivent en réalité le même phénomène sonore. Les confusions sont encore accrues par une terminologie légèrement différente selon le sexe et selon la langue : on ne parle pas de voix de fausset chez la femme et la « head voice » des auteurs anglo-saxons correspond non pas au registre de fausset des auteurs francophones mais bien à la voix mixte.

La raison de ces confusions est que l'explication physiologique et la description acoustique des registres sont incomplètes. Il n'entre pas dans le cadre de ce mémoire de décrire l'ensemble des hypothèses physiologiques propres aux registres. Nous décrivons donc la théorie la plus communément acceptée qui consiste à associer un registre à un réglage musculaire particulier (Hirano, 1981;Frèche et al, 1984;Titze, 1994e;Cornut Guy, 1983) :

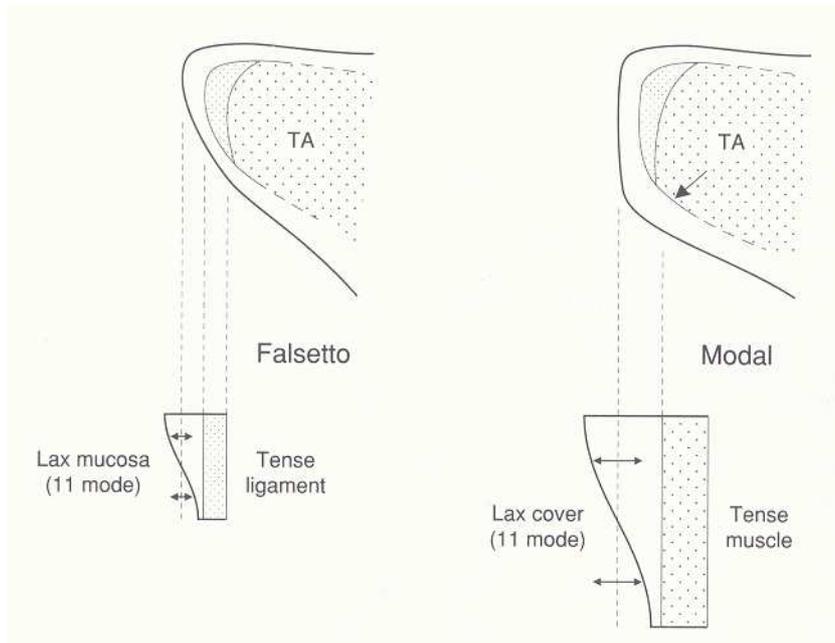
✚ le registre de fausset (falsetto chez les auteurs anglo-saxons, voix de tête chez la femme, voix de fausset chez l'homme) correspond à un mécanisme dit « léger ». Dans ce registre, le ligament vocal est fortement étiré sous l'action du muscle crico-thyroïdien. Le muscle vocal est par contre relâché. L'amplitude vibratoire est faible. Le corps comme la couverture cordale sont passivement étirés, leur constante élastique est élevée. Il n'y a pas d'accolement cordal au sein de ce registre : un mince coulage longitudinal y est associé. L'ondulation muqueuse est inexistante dans ce registre (Hirano, 1974).

✚ Le registre de poitrine (chest voice, voix de poitrine) correspond à un mécanisme dit « lourd ». Dans ce registre, la tension longitudinale sous l'action du muscle crico-thyroïdien est faible. Par contre, le muscle vocal est actif et sa contraction augmente de plus en plus avec l'augmentation de la tonalité émise. Dans le bas de ce registre, le corps et la couverture de la corde vocale sont relâchés et vibrent, ensemble, avec une grande amplitude. Avec l'augmentation de la tonalité au sein du registre, le corps devient de plus en plus rigide en raison de la contraction de plus en plus marquée du muscle vocal, mais la couverture cordale reste souple et dans cette configuration, la vibration se restreint à la couverture cordale (Hirano, 1974;Titze, 1994e).

La voix parlée masculine, sauf exception, est émise en mécanisme lourd.

✚ La voix mixte (head voice) correspond théoriquement à un mélange des mécanismes lourd et léger. Il existe une contraction à la fois du muscle vocal et du muscle crico-thyroïdien, le muscle vocal étant toujours prépondérant.

La voix mixte est le mécanisme habituel de la voix parlée chez la femme.



Couverture et corps cordaux dans les registres de fausset et de poitrine, extrait de Titze, Vocal registers, In Principles of voice production, Prentice-Hall 1994, p262 (Titze, 1994e)

Cette description des registres vocaux apporte néanmoins son lot d'interrogations car à partir de quel niveau relatif de contraction entre le muscle vocal et le muscle crico-thyroïdien se situe-t-on en registre de poitrine ou en voix mixte ?

Il n'en est pas moins vrai que les registres existent bel et bien. Ils sont acoustiquement reconnaissables et physiquement ressentis par le chanteur ou le locuteur : la frontière (ou passage) est donc probablement définie par l'impression acoustique et proprioceptive différente.

### c. Le réglage de l'intensité

Le réglage de l'intensité se fait par la combinaison des réglages de la pression sous-glottique, de la géométrie glottique et du tractus vocal supra-glottique.

En effet, nous pouvons tous aisément remarquer que notre voix est plus forte si nous appliquons plus de pression aérienne sur nos cordes vocales ou si nous utilisons une

tonalité plus aiguë. L'intensité de notre voix varie aussi en fonction du caractère serré ou soufflé de notre technique d'émission. Les explications physiologiques de ces phénomènes peuvent être résumées de la manière suivante :

### ***1. la géométrie glottique***

La puissance acoustique de la source glottique dépend à la fois de la durée du contact entre les 2 cordes vocales durant un cycle vibratoire et de la rapidité de la modification du débit au cours du cycle, ces deux facteurs étant par ailleurs liés : si la durée du contact cordal diminue, alors la vitesse de modification du flux diminue. Ces considérations conduisent à la constatation que la configuration glottique optimale à l'obtention d'une puissance acoustique glottique importante est l'existence d'un léger écartement entre les apophyses vocales. Toute autre configuration (serrage glottique ou déficit d'accolement cordal) est à l'origine d'une puissance acoustique inférieure (Titze, 1994b)

La puissance acoustique dépend par ailleurs de l'ampleur de l'excursion du bord libre cordal et d'une viscosité optimale du tissu en vibration (Jiang J et al., 2000). Une réduction de l'excursion du bord libre ou de l'ondulation muqueuse (en raison d'une viscosité tissulaire augmentée) entraîne une diminution de la puissance du son émis (Jiang J et al., 2000).

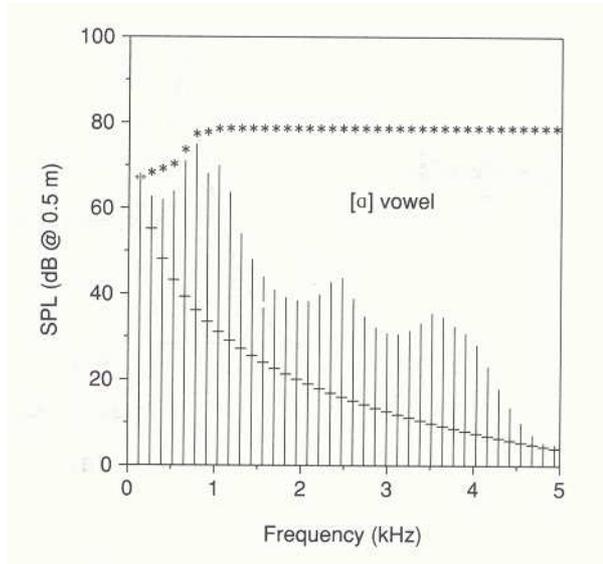
### ***2. la pression sous-glottique***

Lorsque la pression sous-glottique augmente, la puissance acoustique glottique augmente également : l'intensité du son augmente de 6dB chaque fois que la pression (la pression dépassant la valeur seuil nécessaire au démarrage vibratoire) double. Une conséquence de cela est que la puissance acoustique glottique augmente de 6 db chaque fois que F0 est doublé (Titze, 1994b)

### ***3. le rôle du tractus vocal supraglottique***

Enfin, le tractus vocal supraglottique, constitué des cavités pharyngée et buccale, agit comme un mégaphone, amplifiant le son émis par la vibration glottique. Bien que le tractus vocal ne soit qu'un système passif, susceptible seulement de dissiper l'énergie, certaines fréquences du spectre harmonique glottique vont être amplifiées et d'autres

atténuées : les harmoniques proches des zones formantiques sont amplifiés alors que ceux situés entre les formants sont atténués. Ce sont les harmoniques proches du premier formant (F1) qui contribuent le plus à l'intensité « globale » de la voyelle émise.

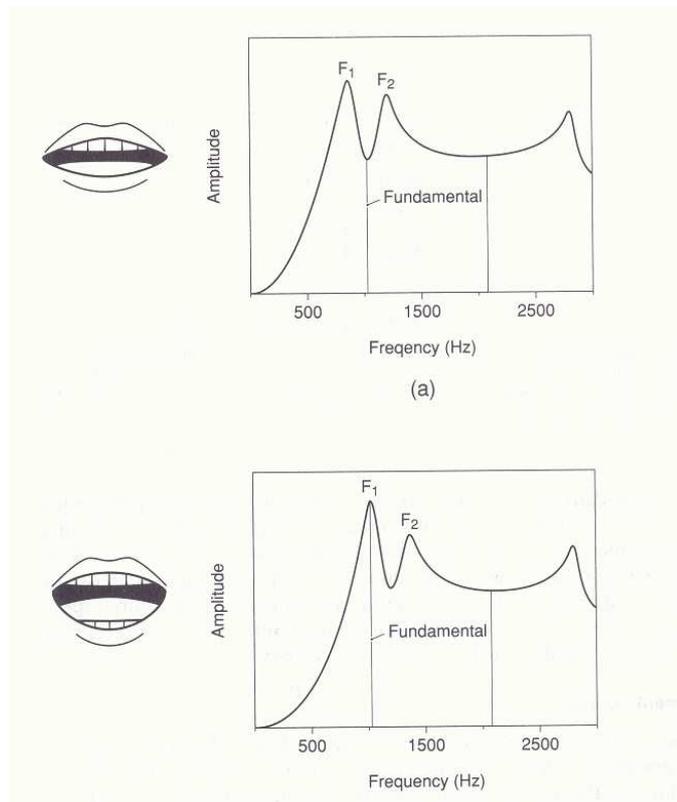


Le gain d'intensité au sein des cavités supraglottiques. Extrait de Titze IR, *Principles of voice production*, p. 231. Prentice-Hall, 1994. Spectre de la source glottique : traits horizontaux ; Spectre vocalique rayonné : traits verticaux ; intensité sonore cumulée (en dB SPL) : astérisques (Titze, 1994b).

L'importance du tractus vocal dans l'intensité sonore émise est particulièrement illustrée par le formant du chant et le « tuning » formantique.

Le formant du chant (le « ring » des anglo-saxons) est un renforcement de l'énergie sonore autour de 3000 Hz. Cette zone énergétique permet au chanteur d'opéra d'être entendu au-dessus de l'orchestre. Il semble que ce formant du chant soit créé grâce à la formation d'une cavité résonnante de petite taille, comprise entre la face supérieure des cordes vocales et le bord libre de l'épiglotte (Titze, 1994b; Sundberg J, 1972).

Le « tuning » formantique est le phénomène correspondant à une augmentation importante de l'intensité sonore lorsque F0 est élevé et qu'un harmonique coïncide parfaitement avec la zone formantique F1. En abaissant la mandibule, une soprano est capable de déplacer son formant F1 de telle manière qu'il coïncide avec la note émise (F0) (Titze, 1994b; Sundberg J, 1987).



Le « tuning » formantique

Extrait de Titze IR, *Principles of voice production*, p. 232

Prentice-Hall, 1994 (Titze, 1994b)

#### d. La production des voyelles

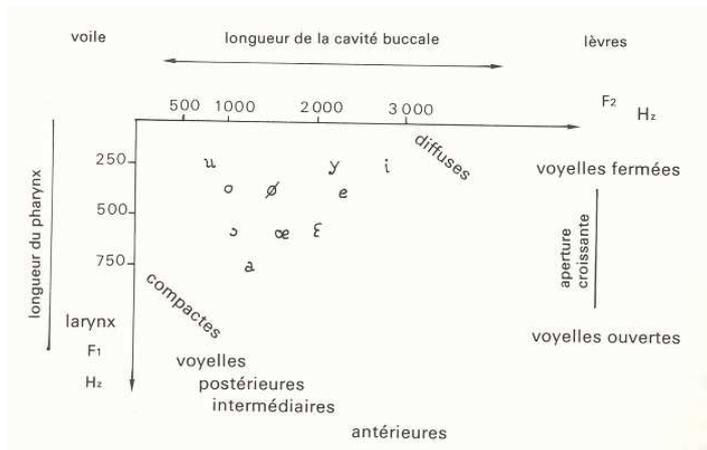
Nous ne nous sommes jusqu'ici intéressés qu'au son laryngé, produit par la vibration cordale. Mais ce son traverse ensuite les cavités supraglottiques constituées par le pharynx, la bouche, et pour certains sons, les fosses nasales.

Nous avons déjà montré, plus haut dans ce chapitre, que le tractus vocal supraglottique est essentiel à l'oscillation cordale et qu'il amplifie le son émis par le larynx.

C'est aussi dans les cavités supra-glottiques que sont créées les voyelles. Cette création vocalique peut être décrite par la théorie de « la source (les cordes vocales) » et du « filtre (les cavités supraglottiques) ». Le larynx est le générateur sonore : les cordes vocales produisent, en oscillant, le son laryngé. Les cavités supraglottiques, quant à elles, sont des filtres modifiant le son laryngé. Au sein des cavités supraglottiques se crée un phénomène d'ondes stationnaires lorsque l'air qu'elles contiennent est ébranlé par la

variation pressionnelle constituant le son laryngé. Ces zones d'onde stationnaires définissent les fréquences de résonance du tractus vocal : elles sont appelées les formants.

Les zones formantiques peuvent être modifiées grâce à la modification de la longueur et de la taille des résonateurs : ceci est réalisé grâce aux organes mobiles tels que la langue, le palais mou, les lèvres, le larynx. Chaque voyelle est ainsi définie par deux formants créés par une position articuloire particulière de ces organes mobiles. Le premier formant (F1) est attribué au pharynx et le second (F2) à la cavité buccale (Titze, 1994c).



Le triangle vocalique. Extrait de Cornut G., La voix. Presses Universitaires de France, 1983 (Cornut Guy, 1983).

## e. Les caractéristiques acoustiques de la voix

### 1. La fréquence

La fréquence fondamentale est la fréquence la plus basse contenue dans le signal acoustique vocal. Elle correspond au rythme d'ouverture et de fermeture des cordes vocales. Elle est l'inverse de la période correspondant à la durée, en millisecondes, du cycle glottique. Elle est habituellement mesurée lors de l'émission spontanée d'une voyelle durant quelques secondes (Woodson G, 1998).

La fréquence fondamentale dépend de l'âge et du sexe. Chez l'homme adulte, elle se situe autour de 110 Hz (la1). Chez la femme, elle se situe autour de 220 Hz (la 2) soit une octave au-dessus (Frèche et al, 1984).

## 2. *l'intensité*

L'intensité est une mesure de la puissance par unité de surface et s'exprime en watts/m<sup>2</sup>.

Plus habituellement, on exprime l'intensité de la voix soit en décibel SIL si l'on utilise le niveau d'intensité sonore, soit en décibel SPL si l'on utilise la notion de pression sonore.

$$\text{SIL} = 10 \log_{10} \frac{I}{I_0} \text{ dB}$$

Décibel SIL: Sound Intensity Level

$I_0$  est l'intensité de référence soit  $10^{-12}$  watt/m<sup>2</sup>

$$\text{SPL} = 20 \log_{10} \frac{P}{P_0} \text{ dB}$$

Décibel SPL: Sound Pressure Level

$P_0$  est la pression de référence de  $20 \mu\text{Pa}$  ( $0.00002 \text{ Pa}$ )

Dans le domaine de l'analyse vocale, les deux types de décibels sont utilisés indifféremment (Titze, 1994b).

L'intensité de la voix mesurée à 1 mètre de la bouche du locuteur est de

- 🚦 40 à 60 dB, en voix confidentielle ;
- 🚦 60 à 70 dB, en voix conversationnelle ;
- 🚦 70 à 90 dB, en voix d'appel ou « projetée ».

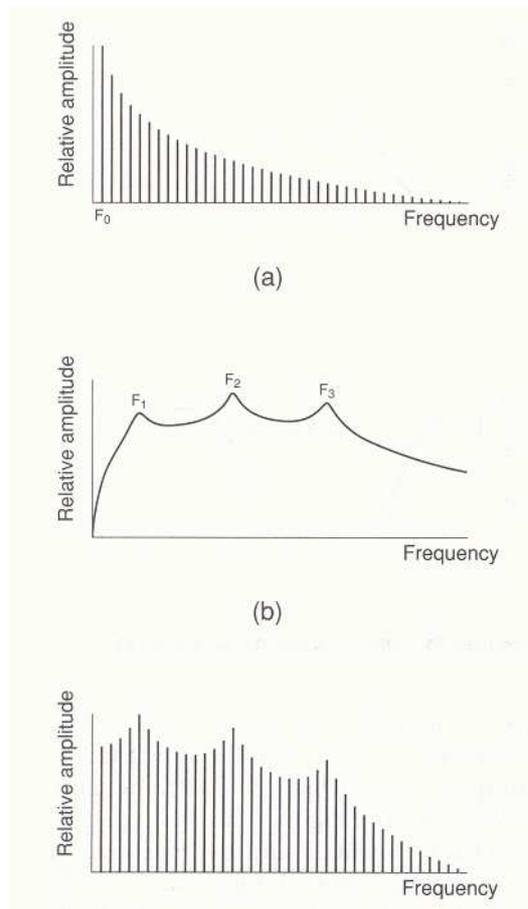
### *3. La fourniture harmonique*

La voix est un son harmonique complexe. L'oscillation cordale produit le son laryngé, qui est ensuite modifié lors du passage dans les cavités supraglottiques.

L'analyse spectrale, développée par Fourier (1768-1830) est le procédé transformant les événements temporels d'une onde en valeurs de fréquence, amplitude et phase. La voix étant la résultante d'un mouvement oscillatoire périodique (cyclique), les fréquences composant sa fourniture spectrale sont des multiples entiers de la fréquence fondamentale et sont appelés « harmoniques ». Le caractère harmonique du domaine spectral est lié au caractère cyclique (et donc périodique) du domaine temporel (Titze IR, 1994).

Le son laryngé est un son harmonique caractérisé par une décroissance progressive de l'intensité des harmoniques avec l'accroissement de leur rang. La pente spectrale est variable, exprimée en dB/octave. Le son laryngé est ensuite modifié dans les cavités de résonance supraglottiques : le spectre vocalique est le spectre de la source glottique « filtré » par les cavités résonnantes. Le spectre des cavités de résonance est un spectre continu qui va se surimposer au spectre de la source glottique. Les formants apparaissent, modifiant l'intensité des harmoniques (Titze, 1994c).

La qualité du « timbre » vocal perçu est dépendante de la plus ou moins grande richesse en harmoniques aigus. Plus la pente est faible, plus le son paraît riche en harmoniques et perçu comme « claironnant ». Si la pente est au contraire importante, le son est moins riche en harmoniques et prend alors un caractère plus « flûté » (Titze IR, 1994).



Spectre glottique, spectre supraglottique et spectre vocalique. Extrait de Titze, The source-filter theory of vowels. In Principles of voice production 1994, p 162. Prentice- Hall (Titze, 1994c).

## Articles de référence

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

Berke GS, Gerratt BR (1993) Laryngeal biomechanics: an overview of mucosal wave mechanics. *J Voice* 7:123-128.

Cornut Guy (1983) *La voix*. Presses Universitaires de France.

Frèche et al eds (1984) *La voix humaine et ses troubles*. Paris: Librairie Arnette.

Hirano M (1974) Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variations. *Folia Phoniatr (Basel)* 26:89-94.

Hirano M (1981) The structure and control of the vocal fold as a vibrator. In: *Clinical examination of voice* pp 4-7. Springer-Verlag Wien New York.

Hirano M, Gould WJ, Lambiase A, Kakita Y (1980) Movements of selected points on a vocal fold during vibration. *Folia Phoniatr (Basel)* 32:39-50.

Hirano M, Ohala J, Vennard W (1969) The function of laryngeal muscles in regulating fundamental frequency and intensity of phonation. *J Speech Hear Res* 12:616-628.

Hollien H, Coleman R, Moore P (1968) Stroboscopic laminagraphy of the larynx during phonation. *Acta Otolaryngol* 65:209-215.

Husson Raoul (1962) *Le chant*. Presses Universitaires de France.

Ishizaka M (1972) Fluid mechanical considerations of vocal cord vibration. SCRL Monograph 8

Jiang J (2006) Physiology of voice production: how does voice work? In: *The Performer's Voice* (Benninger MS, Murry T, eds), pp 23-32. San Diego, Oxford: Plural Publishing.

Jiang J, Lin E, Hanson DG (2000) Vocal fold physiology. *Otolaryngol Clin North Am* 33:699-718.

Scherer R TIR (1983) Pressure-flow relationships in a model of laryngeal airway with diverging glottis. In: *Vocal fold physiology: contemporary research and clinical issues* pp 179-193. San Diego: College-Hill Press.

Sloan SH, Berke GS, Gerratt BR, Kreiman J, Ye M (1993) Determination of vocal fold mucosal wave velocity in an in vivo canine model. *Laryngoscope* 103:947-953.

Sundberg J (1972) An articulatory interpretation of the "singing formant". *Speech transmission Laboratory/Quarterly Progress Status Report, Stockholm* 1:45-53.

Sundberg J (1987) *The science of the singing voice*. Dekalb, Northern Illinois University Press.

- Titze IR (1994) Generation and propagation of sound. In: Principles of voice production pp 112-135. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- Titze IR (1994e) Vocal registers. In: Principles of voice production pp 252-278. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- Titze IR (1994b) Control of vocal intensity and efficiency. In: Principles of voice production pp 218-251. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- Titze IR (1994c) The source-filter theory of the vowels. In: Principles of voice production pp 136-168. Englewood Cliffs, NJ; Prentice-Hall.
- Titze IR (1988) The physics of small-amplitude oscillation of the vocal folds. *J Acoust Soc Am* 83:1536-1552.
- Titze IR (1994a) Control of fundamental frequency. In: Principles of voice production pp 191-217. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- Titze IR (1994d) Vocal fold oscillation. In: Principles of voice production pp 80-111. Englewood Cliffs, NJ: Prentice- Hall Inc.
- Vanden Berg (1958) Myoelastic-aerodynamic theory of voice production. *J Speech Hear Res* 227-244.
- Woodson G (1998) Laryngeal and pharyngeal function. In: *Otolaryngology and Head Neck Surgery* (Cummings et al, eds), pp 1834-1894. St Louis, Missouri: Mosby.

## Chapitre III

### Les pathologies cordales bénignes

Les pathologies cordales bénignes sont très fréquentes. Environ 50% des patients examinés en consultation de phoniatrie sont atteints d'une altération organique et bénigne de leurs cordes vocales (Bastian RW, 1998).

En cas de pathologie cordale bénigne, c'est la couche la plus superficielle de la lamina propria, l'espace de Reinke, qui est occupé, détruit ou déformé par le processus pathologique. La plupart de ces pathologies sont, en réalité, une réponse tissulaire à une blessure cordale.

Le traumatisme cordal lié à une charge vocale excessive (ou phonotrauma) est la conséquence des stress mécaniques associés à la vibration tissulaire nécessaire à la production vocale. Les contraintes et stress mécaniques imposées au tissu cordal lors de la vibration sont : l'étirement longitudinal, le stress collisionnel, le stress inertiel, le stress contractile intramusculaire, le stress aérodynamique, le stress de contact aryténoïdien et le stress de cisaillement. Parmi l'ensemble de ces contraintes mécaniques, c'est le stress lié à l'étirement longitudinal sous l'action du muscle crico-thyroïdien qui est le plus élevé : il a été empiriquement évalué à 16 kPa chez la femme et 5 kPa chez l'homme pour une F0 respectivement de 200 Hz et de 100 Hz. Sur des fréquences très élevées telles que celles produites par une soprano colorature, il peut atteindre une valeur de 1.0 MPa (soit 10000 bars !!!) pour une F0 de 1500 Hz. Néanmoins, le ligament vocal est parfaitement capable de supporter ce stress d'étirement longitudinal et il protège ainsi la couverture cordale et le muscle vocal de ce stress mécanique considérable (Titze IR, 1994). Le stress collisionnel (lié à l'impact entre les 2 cordes vocales en vibration) et le stress inertiel (lié à l'accélération et la décélération tissulaires) ont également été empiriquement évalués : ils sont respectivement de l'ordre de 0.5 à 5 kPa, et de 1 à 2 kPa lors de la phonation normale (Titze IR, 1994). La présence de myofibroblastes, dans l'espace de Reinke, cellules impliquées dans la réparation tissulaire (Petreaca M, 2008), est également un argument en faveur de l'existence d'un trauma quotidien du tissu cordal par la phonation (Catten et al., 1998).

Les cordes vocales sont également exposées à des traumatismes sans relation avec leur rôle vibrant : il s'agit de traumatismes mécaniques comme la microchirurgie cordale, l'intubation endotrachéale, le trauma laryngé externe, ou chimiques comme l'inhalation de la

fumée de tabac, de corticostéroïdes et d'irritants divers comme le formaldéhyde ou le fréon (Branski et al., 2006).

Tous ces traumatismes provoquent des lésions tissulaires cordales mais surtout induisent une réponse tissulaire réparatrice imparfaite à l'origine du développement d'une lésion cordale (Branski et al., 2006). Dans le cas du phonotrauma, les stress mécaniques vibratoires dépassent les capacités d'homéostasie de la matrice extracellulaire cordale et induisent un remodelage de la matrice extracellulaire (Johns, 2003; Branski et al., 2006). Ce remodelage est dans une certaine mesure, une tentative de protection du tissu cordal des traumas induits par la vibration tissulaire (Titze IR, 1994) .

La classification des pathologies cordales bénignes est une entreprise difficile. Elle peut en effet être réalisée sur la base de critères cliniques, étiologiques ou histologiques. La tâche est d'autant plus compliquée que les phoniâtres et les microchirurgiens n'ont actuellement pas réussi à établir un consensus sur l'aspect macroscopique et les caractéristiques vidéo-stroboscopiques des lésions observées (Rosen and Murry, 2000; Branski et al., 2006; Duflo et al., 2006), que les mécanismes étiologiques présidant à la formation de ces lésions restent pour la plupart incompris, et que les analyses histologiques habituellement pratiquées sur les prélèvements chirurgicaux ne fournissent pas de renseignement discriminant sur les lésions traitées.

Ce qui nous paraît fonctionnellement, et microchirurgicalement, le plus important est l'épaisseur et la souplesse résiduelles de l'espace de Reinke pathologique. Il est étonnant de constater que certains patients évoluent vers une destruction de l'espace de Reinke alors que d'autres évoluent vers une augmentation du volume et de l'épaisseur de ce dernier, en réponse à une utilisation vocale excessive. Les mécanismes qui président à cette dérégulation sont toujours incompris. Néanmoins, la stratégie microchirurgicale que nous appliquons est très dépendante des caractéristiques lésionnelles initiales et du but poursuivi, qui est l'amélioration vibratoire postopératoire.

Dans ce chapitre sont décrites les lésions opérées chez nos patients et les caractéristiques de celles-ci. Nous les avons classées en fonction du type d'altération de l'espace de Reinke que nous avons cliniquement observé lors de l'examen vidéo-stroboscopique pré-opératoire et de l'exploration cordale peropératoire. Pour chacune d'entre elles, nous décrirons les caractéristiques histologiques et immunohistochimiques connues, issues de la littérature, ainsi que les hypothèses physio-pathologiques présidant à leur apparition.

## 1. Les lésions occupantes de l'espace de Reinke

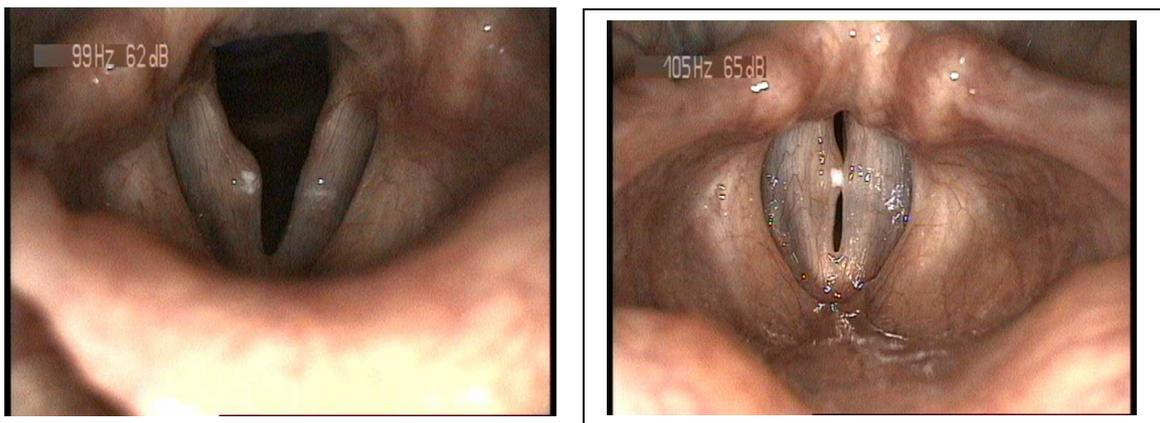
Les lésions occupantes de l'espace de Reinke sont les kystes intracordaux muqueux et épidermoïdes.

### *a. Les kystes muqueux*

Les kystes muqueux sont la conséquence de l'obstruction d'une glande tubulo-alvéolaire (Abitbol J, 2006; Graney DO, 1998) de la sous-muqueuse de la région sous-glottique (Bastian RW, 1998). Ils sont, pour cette raison, souvent difficiles à diagnostiquer lorsqu'ils sont de petite taille, car ils se développent d'abord à la face inférieure de la corde vocale, échappant donc aisément à la vue de l'examineur.

Les kystes de gros volume peuvent, par compression, entraîner une atrophie ou une déchirure des couches plus profondes de la lamina propria (Johns, 2003).

Ce sont des kystes par rétention dont la cavité est bordée d'un épithélium glandulaire constitué de 1 ou 2 couches de cellules (Cornut G, 1984; Cornut G, 1977; Bastian RW, 1998). Ils surviennent spontanément et ne semblent pas liés à une utilisation vocale excessive (Bastian RW, 1998).



Kyste muqueux du tiers moyen de la corde vocale droite (C.Finck, CHU Sart Tilman)

A l'examen vidéo-stroboscopique, on observe une voussure unilatérale, souvent jaunâtre, enclavée au sein de l'espace de Reinke. L'ondulation muqueuse est souvent très altérée, parfois totalement absente. Si le kyste est de petite taille, la déformation peut être peu visible car localisée au niveau du bord inférieur de la corde (Bastian RW, 1998).

### *b. Les kystes épidermoïdes*

Les kystes épidermoïdes occupent également l'espace de Reinke. Ils contiennent des débris de kératine. Ils sont plus fréquents que les kystes muqueux, représentant environ 2/3 des kystes intracordaux (Guerrier B, 2004b).

La physiopathologie de ces lésions reste encore discutée. Longtemps considérés comme des lésions congénitales (Chalabreysse et al., 1999), actuellement l'explication physiopathologique la plus probable serait une altération de la muqueuse cordale par une utilisation vocale excessive (Johns, 2003;Monday et al., 1983) déterminant un stress mécanique important dans la couverture cordale, la cicatrisation pathologique enfouissant des cellules épithéliales dans la lamina propria (Cornut G, 1977;Bastian RW, 1998).



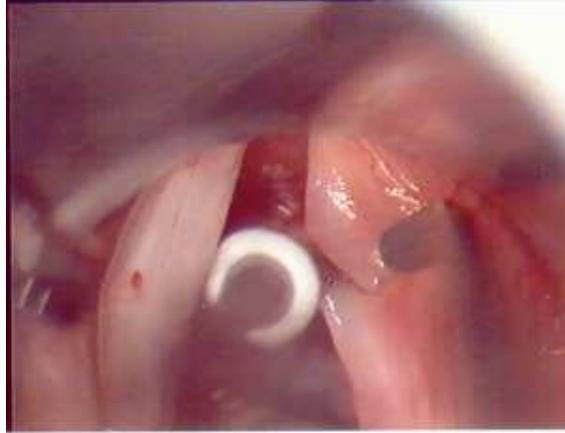
Kyste épidermoïde bilatéral  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)



Kyste épidermoïde droit  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)

Les kystes épidermoïdes peuvent se rompre spontanément et communiquer avec la lumière laryngée, par une ouverture naturelle : ce sont alors des kystes dits « ouverts » (Bastian RW,

1998). Tel un puits, cette ouverture peut descendre profondément dans la lamina propria, jusqu'au niveau des fibres musculaires du muscle vocal (Ford, 1999). Des phénomènes inflammatoires et des adhérences cicatricielles sont souvent présents (Ford, 1999).



Kyste ouvert de la corde vocale droite  
(image peropératoire, en laryngoscopie directe)  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)

Peu d'études immunohistochimiques ont été pratiquées sur les lésions kystiques cordales et les renseignements obtenus sont très limités, car l'étude ne porte que sur le kyste isolé et non sur l'ensemble de l'épaisseur de la lamina propria. Mis à part l'existence d'une membrane basale supportant l'épithélium de la paroi kystique, le seul renseignement obtenu est l'existence d'une distribution de la fibronectine autour de la lésion kystique, identique au tissu sain (Courey et al., 1996).

Les kystes ouverts sont peut-être un stade évolutif différent de pathologies telles que les sulci et les ponts muqueux (Cornut G, 1977; Cornut G, 1984; Bastian RW, 1998).

Les examens vidéo-stroboscopiques de nos patients montrent, de manière classique, et dans tous les cas, une altération sévère de l'ondulation muqueuse (Cornut G, 1977; Cornut G, 1984; Bastian RW, 1998). La corde vocale atteinte montre une voussure à sa face supérieure et son bord libre apparaît souvent discrètement déformé. Des vaisseaux dilatés surplombent le plus souvent la lésion (Chalabreysse et al., 1999; Cornut G, 1977; Cornut G, 1984; Bastian RW, 1998).

Les kystes épidermoïdes peuvent être unis ou bilatéraux et peuvent être associés à d'autres lésions bénignes telles que nodule, polype, ponts muqueux, sulci (Cornut G, 1984).

Au sein de notre échantillon de 13 kystes intracordaux, nous avons remarqué l'existence d'une fibrose importante autour du kyste rendant la dissection difficile chez 9 d'entre eux.

## 2. Les lésions destructrices de l'espace de Reinke

Les lésions de ce type se caractérisent par une disparition plus ou moins complète de la couche superficielle de la lamina propria : ce sont les sulci, les vergetures, les ponts muqueux et les cicatrices cordales.

Ces lésions possèdent toutes les caractéristiques suivantes : elles constituent des lésions sévères aux répercussions vocales importantes, de diagnostic difficile, et elles représentent un véritable challenge chirurgical.

### *a.. Les sulci*

Le sulcus vocalis est une dépression longitudinale de la surface cordale, constituée d'une invagination plus ou moins profonde et plus ou moins longue de l'épithélium de surface. A ce niveau, la caractéristique essentielle est la disparition de la couche superficielle de la lamina propria, qui est remplacée par un tissu cicatriciel créant une adhérence sévère entre la membrane basale de l'épithélium et le ligament vocal (Ford, 1999).



Sulcus de la corde droite, un polype est implanté sur sa lèvre inférieure  
(image peropératoire, en laryngoscopie directe)  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)



Sulcus de la corde droite, la micropince étire la couverture cordale et permet d'observer l'invagination de la couverture cordale ainsi que son caractère aminci dans le fonds de la poche que constitue le sulcus

(C.Finck, CHU Sart Tilman)

Au microscope électronique, la membrane basale est épaissie, les fibres élastiques sont réduites en nombre et les fibres collagéniques sont très denses au contact du fonds du sulcus (Sato and Hirano, 1998). Cette découverte est importante car cette pathologie n'est donc pas une altération isolée de l'espace de Reinke mais bien des 3 couches de la lamina propria cordale.

L'examen vidéostroboscopique montre un aspect de fente longitudinale se dessinant à peu de distance du bord libre cordal. Au niveau du sulcus, on n'observe pas d'ondulation muqueuse, mais celle-ci peut être présente à la face supérieure de la corde atteinte.

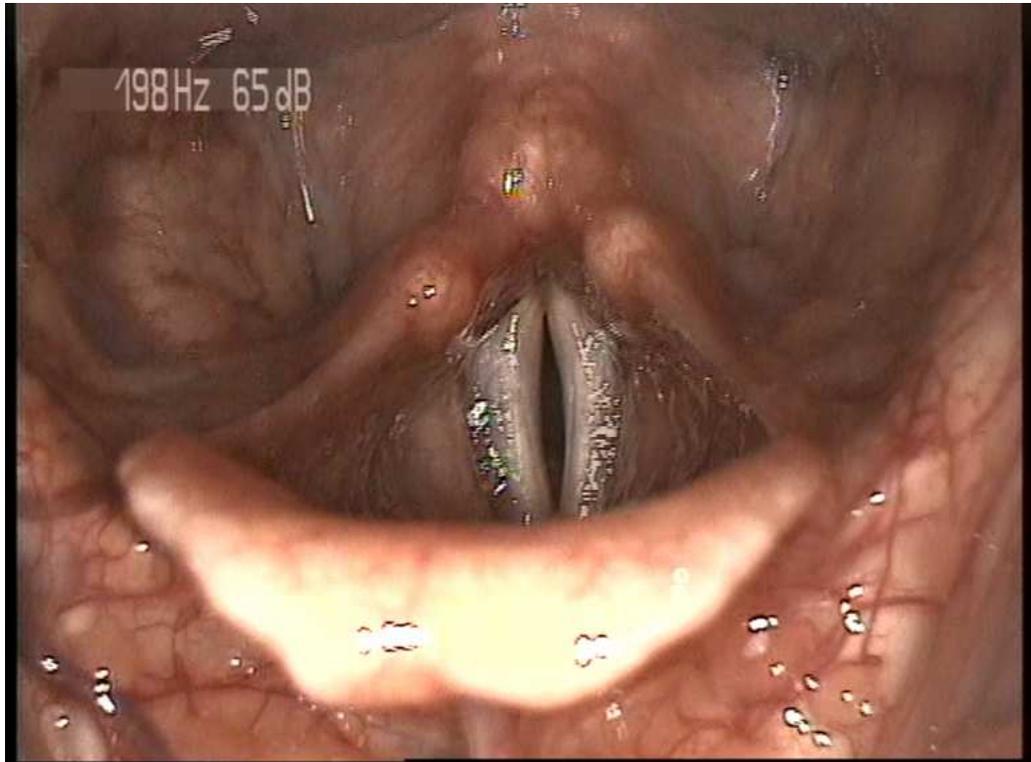
#### *b. Les vergetures*

Uni- ou bilatérales, les vergetures correspondent à des sulci (Chalabreysse et al., 1999) plus larges et plus profonds. Plus d'un mm de hauteur n'est pas rare, et l'atrophie cordale est telle que le bord libre cordal apparaît concave et sévèrement arqué.

Comme pour les kystes épidermoïdes, la physiopathologie de ces lésions peut être congénitale (Garcia Martins RH, 2007) ou acquise. L'excès vocal, à l'origine d'une destruction progressive de la couche superficielle de la lamina propria, est la cause la plus communément acceptée aujourd'hui (Bastian RW, 1998).

L'altération vocale est plus sévère que dans les sulci (Ford, 1999).

L'examen vidéo-stroboscopique montre un aspect concave et arqué du bord libre dont le mouvement vibratoire peut être nul. La fermeture glottique phonatoire est déficitaire, le coulage aérien est ovalaire.

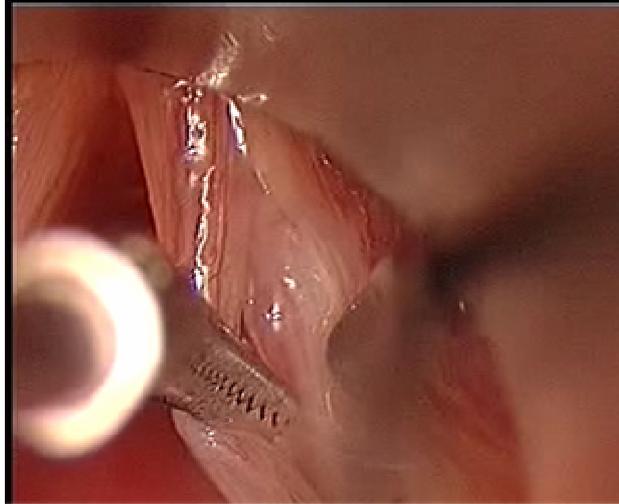


Vergeture bilatérale (C.Finck, CHU Sart Tilman)

### *c. Les ponts muqueux*

Les ponts muqueux ne surviennent jamais seuls : ils sont toujours associés à une altération sous-jacente telle qu'une vergeture, un sulcus ou un kyste ouvert (Guerrier B, 2004b).

Le pont est une bride constituée d'épithélium et de tissu conjonctif passant par-dessus la vergeture, le sulcus ou le kyste ouvert.



Pont muqueux de la corde vocale droite surplombant une vergeture,  
en laryngoscopie directe (C.Finck, CHU Sart Tilman)

Il pourrait être la conséquence d'une double rupture d'une seule inclusion kystique (Bastian RW, 1998). L'épaisseur du pont muqueux est variable, certains ponts très épais altérant de manière considérable l'anatomie macroscopique de la corde atteinte, véritablement séparée en 2 chefs distincts. Dans ces ponts épais, une grande quantité de fibres conjonctives est présente.

Le pont muqueux peut parfois être suspecté à l'examen vidéo-stroboscopique mais son diagnostic préopératoire est difficile, et il constitue souvent une découverte per-opératoire, lors de l'inspection cordale (Bastian RW, 1998). Il partage par ailleurs les mêmes caractéristiques vidéo-stroboscopiques que les pathologies cordales auxquelles il est associé.

#### *d. Les cicatrices cordales*

Cicatrice ne doit pas être confondu avec cicatrisation. Les processus de réparation tissulaire constituent la cicatrisation, phénomène essentiel à la restauration de l'intégrité tissulaire. La cicatrisation est un phénomène dynamique et orchestré dans le temps. Elle procède par 3 étapes successives : une phase inflammatoire, une phase proliférative et une phase de remodelage tissulaire (Branski et al., 2006). Cette cascade d'événements, telle qu'observée dans une plaie cutanée, peut être grossièrement décrite de la manière suivante :

- durant la phase inflammatoire, l'extravasation de sang dans la plaie crée un réseau de fibrine et de fibronectine (Petreaca M, 2008). Les débris tissulaires contenant de nombreuses

cytokines déclenchent une vasodilatation locale, une extravasation de cellules inflammatoires (neutrophiles, macrophages).

- la phase proliférative est caractérisée par l'invasion de la plaie par les fibroblastes et par un début de migration épithéliale, l'activité mitotique est intense. Les fibroblastes envahissent la plaie dès 48h après le trauma. Cette phase correspond au développement du tissu de granulation. Ce dernier contient des fibroblastes, de nombreux myofibroblastes, des monocytes/macrophages, des lymphocytes et des cellules endothéliales constitutives des vaisseaux néoformés. Les fibroblastes produisent de grandes quantités de molécules de la matrice extracellulaire : fibronectine, collagène de type I et III, élastine, laminine, protéoglycans et glycosaminoglycans dont l'acide hyaluronique. La stimulation de la prolifération fibroblastique est assurée par certaines protéines matricielles telles que la fibronectine et la laminine. Les facteurs de croissance TGF- $\beta$ 1, FGF (Fibroblast Growth Factor) et VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) stimulent la prolifération des fibroblastes et des cellules endothéliales (Petreaca M, 2008). La différenciation des fibroblastes en myofibroblastes est stimulée par TGF- $\beta$ 1 et par l'héparine et par la tension mécanique intratissulaire mais est inhibée par l'acide hyaluronique. Les myofibroblastes contractent la plaie (Petreaca M, 2008).

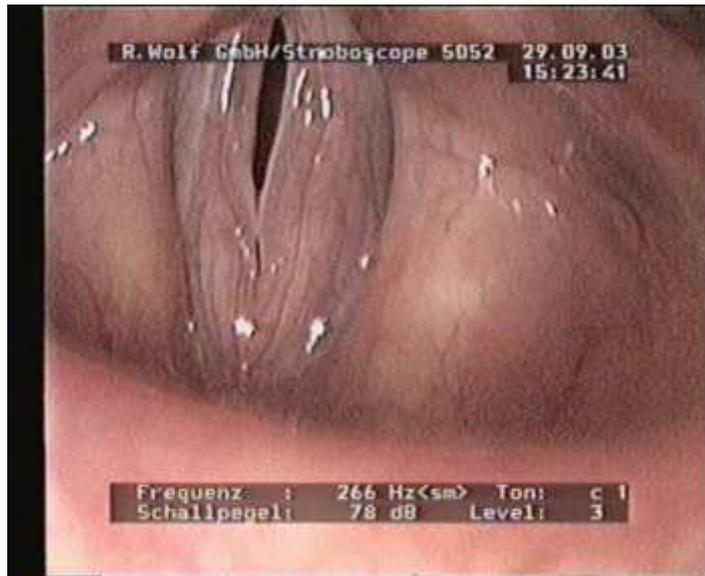
- la phase de remodelage (ou de maturation) se poursuit durant de nombreux mois après la ré-épithélialisation. Cette phase de maturation est associée à la ré-organisation des fibres collagéniques et des protéoglycans. Cette phase de remodelage du tissu conjonctif est un processus de réparation (et non pas de régénération) au cours duquel une partie de la complexité structurelle du tissu initial est perdue. Elle s'accompagne d'une fibrose et d'une rigidité cicatricielle. Durant cette phase, le tissu de granulation évolue vers un tissu cicatriciel. Le nombre de cellules se réduit : de nombreux myofibroblastes, fibroblastes et cellules endothéliales meurent par apoptose. La diminution de la tension mécanique au sein du tissu stimule l'apoptose au sein de la plaie. Par contre, si ce mécanisme de mort cellulaire est déficient, la cicatrice peut évoluer vers un caractère hypertrophique ou chéloïde (Petreaca M, 2008).

Les cicatrices cordales sont l'aboutissement d'un processus de cicatrisation qui a échoué à maintenir des caractéristiques visco-élastiques favorables à la vibration cordale. Cet échec aboutit à une destruction de la structure laminaire normale de la corde vocale et à un déséquilibre profond de la composition moléculaire de la matrice extracellulaire: la quantité de collagène augmente alors que celle des protéoglycans et d'acide hyaluronique diminue (Krishna et al., 2006; Hirano, 2005).

D'importantes altérations biomécaniques accompagnent ce phénomène: la viscosité et la rigidité augmentent au sein de la couche superficielle de la lamina propria. La couverture cordale perd sa souplesse et sa capacité à se mouvoir sur le corps cordal : la conversion de l'énergie aérodynamique en énergie acoustique est altérée. En résulte une dysphonie souvent sévère et invalidante (Benninger et al., 1996; Hirano, 2005; Thibeault et al., 2002a).

En fonction de son « âge », le tissu cicatriciel dont les mesures rhéologiques attestent la rigidité, montre les modifications moléculaires suivantes au sein de sa matrice extracellulaire : augmentation de la quantité de fibronectine (Thibeault et al., 2002a; Thibeault et al., 2003) ou de collagène, diminution de la quantité de collagène et d'élastine (Thibeault et al., 2002a), diminution de la quantité de décorine (Thibeault et al., 2003), de fibromoduline (Thibeault et al., 2003) et de l'acide hyaluronique (Rousseau et al., 2004; Thibeault et al., 2004). Une désorganisation de l'agencement des protéines fibreuses collagéniques et élastiques (Thibeault et al., 2002a; Thibeault et al., 2003) est également observée, en relation avec une augmentation de la rigidité tissulaire.

En vidéostroboscopie, ces altérations cicatricielles se manifestent surtout par la raideur du tissu et son déficit vibratoire (Benninger et al., 1996; Branski et al., 2006; Woo et al., 1994b; Woo et al., 1994a). Sans l'aide de la stroboscopie, une zone cicatricielle limitée peut aisément passer inaperçue (Baker et al., 1981). Le caractère cicatriciel peut parfois se remarquer par le caractère anormal de la distribution des vaisseaux à la surface cordale : ils adoptent une direction perpendiculaire au bord libre ou convergent vers une zone de rétraction centrale. Dans les cas sévères, une perte de substance crée une encoche du bord libre (Guerrier B, 2004a).



Cicatrice cordale droite, post-microchirurgie cordale  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)

La difficulté à induire le mouvement oscillatoire de la couverture cordale conduit à une dysphonie importante : la voix est difficile à émettre, le forçage vocal et la fatigabilité vocale sont marqués (Benninger et al., 1996; Hirano, 2005; Rosen, 2000).

Les étiologies d'une cicatrice cordale sont nombreuses: il peut s'agir d'une séquelle d'un phénomène inflammatoire (laryngite bactérienne, reflux pharyngo-laryngé, polyarthrite rhumatoïde, maladies systémiques granulomateuses), d'un traitement chirurgical ou radiothérapique pour néoplasie, d'un trauma laryngé (usage vocal excessif, trauma externe, plaie pénétrante du larynx). Il peut aussi s'agir d'une origine congénitale, comme dans certains sulci, ou iatrogénique (microchirurgie cordale, intubation laryngée, sonde nasogastrique) (Benninger et al., 1996; Branski et al., 2006; Rosen, 2000).

Les cicatrices induites par l'usage vocal excessif ainsi que celles séquellaires d'une microchirurgie nous intéressent particulièrement.

En effet, une cicatrice cordale est malheureusement la raison la plus fréquente de conserver une dysphonie, parfois invalidante, après résection microchirurgicale de lésions cordales bénignes (Benninger et al., 1996; Hirano, 2005; Thibeault et al., 2002a). Les processus de cicatrisation de la lamina propria induits par un traumatisme chirurgical, ainsi que la prévention de phénomènes cicatriciels postopératoires constituent notre préoccupation essentielle et sont décrits dans le chapitre IV de ce mémoire.

Un phonotrauma chronique peut conduire à une altération cicatricielle définitive de l'espace de Reinke (Branski et al., 2006;Rosen, 2000). Il est par ailleurs très probable que beaucoup de lésions cordales bénignes soient, au moins partiellement, l'expression d'un processus cicatriciel (Rosen and Murry, 2000;Branski et al., 2006) : c'est vraisemblablement le cas pour les nodules, la fibrose sousépithéliale, les polypes, les sulci et les vergetures (Branski et al., 2006).

### **3. Les lésions occupantes et destructrices de l'espace de Reinke**

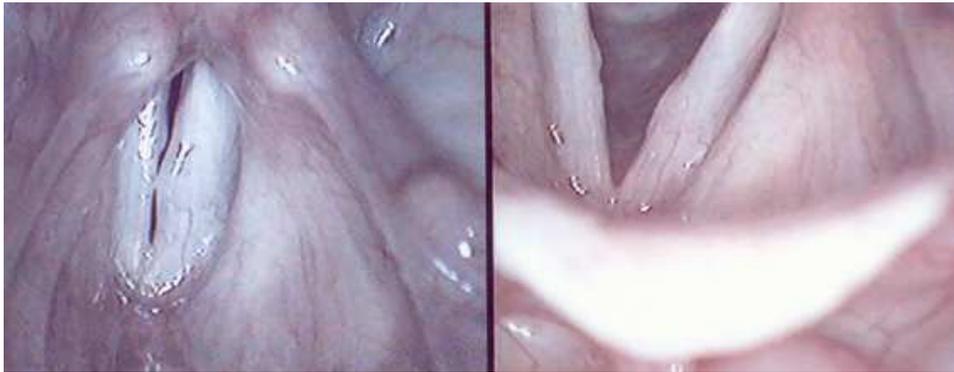
Nous classons dans cette catégorie les lésions nodulaires à caractère rigide et la fibrose sous-épithéliale qui remplacent partiellement ou totalement la couche superficielle de la lamina propria.

#### ***a. Les nodules vocaux***

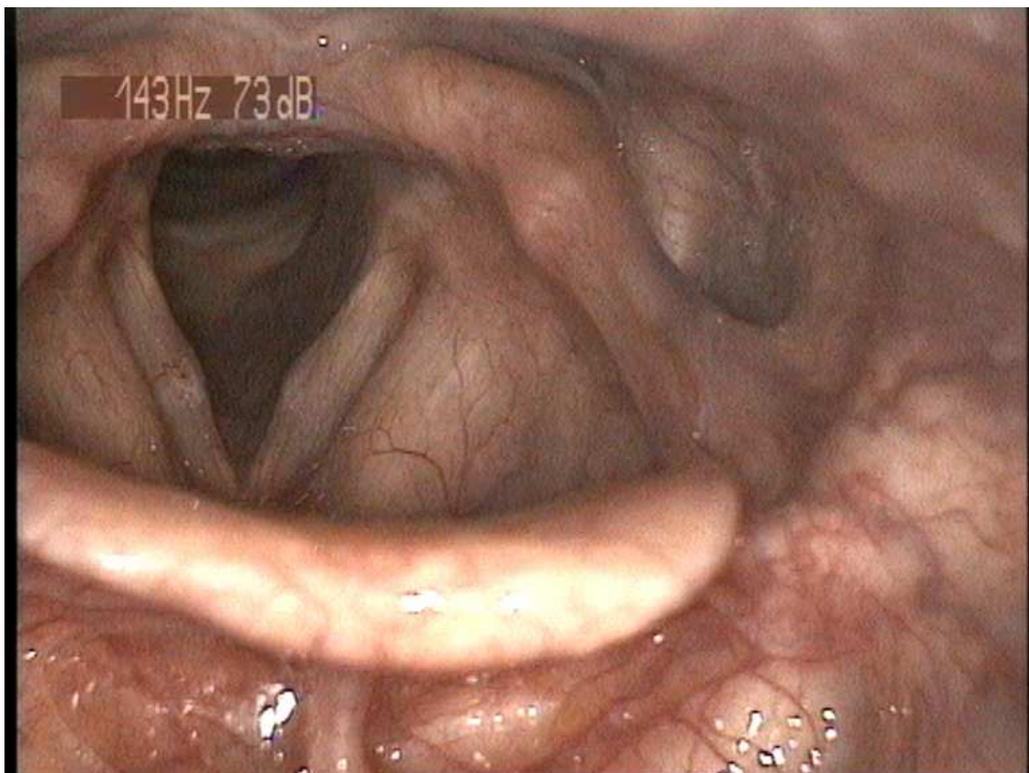
Le nodule vocal est probablement la pathologie la plus connue parmi les lésions bénignes cordales. Sa définition et sa catégorisation sont particulièrement difficiles, un consensus n'étant actuellement toujours pas acquis si l'on tient compte de caractéristiques macroscopiques.

Nous la définirons comme une lésion chronique, localisée au 1/3 ou au 2/3 moyen de la corde vocale. La lésion peut être uni- ou bilatérale (Chalabreysse et al., 1999) bien que certains auteurs ne considèrent comme nodule « vrai » que les lésions bilatérales (Dikkers and Nikkels, 1995;Dikkers and Nikkels, 1999).

Le nodule apparaît comme une voussure du bord libre, un peu sous- cordale. En vidéostroboscopie, le nodule est totalement rigide, il n'existe aucune ondulation muqueuse à son niveau. Le mouvement latéral vibratoire est également restreint. La fermeture glottique est déficitaire, dessinant une forme de sablier en cas de nodules bilatéraux.



Nodules vocaux (C.Finck, CHU Sart Tilman)



Nodules vocaux (C.Finck, CHU Sart Tilman)

Le nodule se développe en réponse à un phonotrauma chronique (Chalabreysse et al., 1999; Johns, 2003; Dijkers and Nikkels, 1999; Bastian RW, 1998; Branski et al., 2006; Gray et al., 1995; Gunter, 2004)

Il a longtemps été considéré comme un simple épaissement épithélial, sa structure histologique étant étudiée par de simples techniques de coloration à l'hématoxyline/éosine (Chalabreysse et al., 1999; Gray et al., 1995). Ce sont les techniques immunohistochimiques qui ont permis de démontrer que la pathologie nodulaire siège au sein de la couche superficielle de la lamina propria et est associée à des altérations de la membrane basale épithéliale. Les lésions nodulaires sont caractérisées par d'importants dépôts de fibronectine (Courey et al., 1996; Gray et al., 1995) le long de la membrane basale (MB) épithéliale, ainsi que dans l'espace de Reinke. La membrane basale elle-même montre une épaisseur anormale (Courey et al., 1996; Gray et al., 1995), associée à un marquage anormalement faible pour le collagène de type IV (Gray et al., 1995).

Une étude au microscope électronique de la membrane basale épithéliale de lésions nodulaires a montré d'importantes altérations de celle-ci : épaissement important de la MB, dislocation et fragmentation de la lamina densa, fibres d'amarrage anormales et rudimentaires, absence d'ancrage des fibres d'amarrage à la lamina densa, envahissement de l'espace de Reinke par des fragments de MB, absence de collagène de type I et de fibres élastiques sous la MB (Gray, 1991).

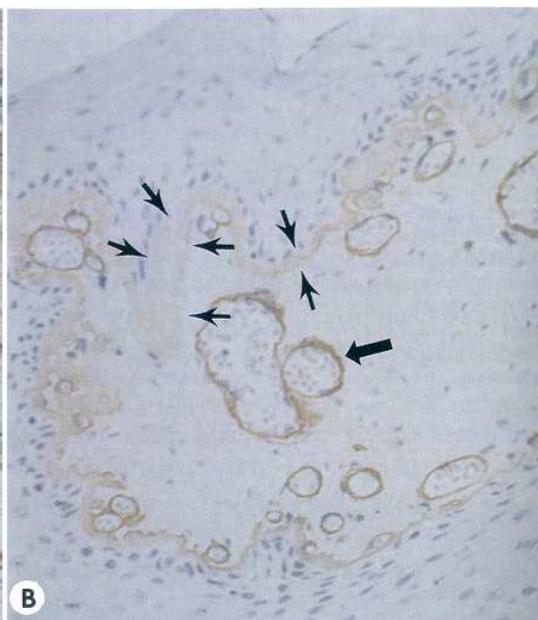
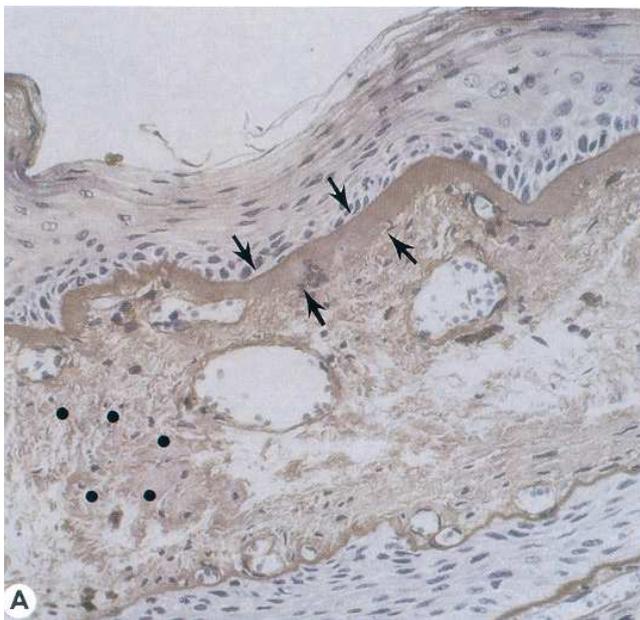
Des dépôts collagéniques ont aussi été démontrés au sein des lésions nodulaires (Kotby et al., 1988).

C'est l'envahissement progressif de la région sous-épithéliale par les débris de membrane basale et par les dépôts de fibronectine qui va créer la déformation du bord libre et l'enraidissement tissulaire. Le nodule constitue donc une lésion à la fois destructrice et occupante de l'espace de Reinke.

La localisation du nodule au tiers moyen de la corde vocale s'explique par le fait que, durant la vibration cordale, les forces d'impact sont maximales à cet endroit (Jiang and Titze, 1994).

Une modélisation des stress mécaniques supportés par la corde vocale confirme l'existence d'un stress compressif s'avérant le plus élevé au milieu de la longueur de la corde vocale modélisée. Le modèle montre également l'existence d'un stress d'étirement augmenté au même endroit du bord libre cordal (Gunter, 2004).

Sur base de ces observations, la localisation (au tiers moyen de la corde) ainsi que le mécanisme du développement de la lésion nodulaire trouvent une explication rationnelle. La vibration induit un traumatisme répété de la membrane basale épithéliale, qui s'avère incapable de cicatriser normalement et qui se désinsère continuellement de la couche superficielle de la lamina propria. Cette fragilité locale induit l'apparition de mécanismes cicatriciels, dont un des témoins est le dépôt de fibronectine et de collagène, à l'origine de la rigidité tissulaire locale (Gray, 1991; Courey et al., 1996). Il a également été démontré que le stress mécanique compressif est capable d'induire une augmentation de la production de matrice extracellulaire par les cellules qui y sont soumises (Gunter, 2004; Swartz MA, 2001).



Marquage fibronectine

Marquage collagène type IV

Lésion nodulaire

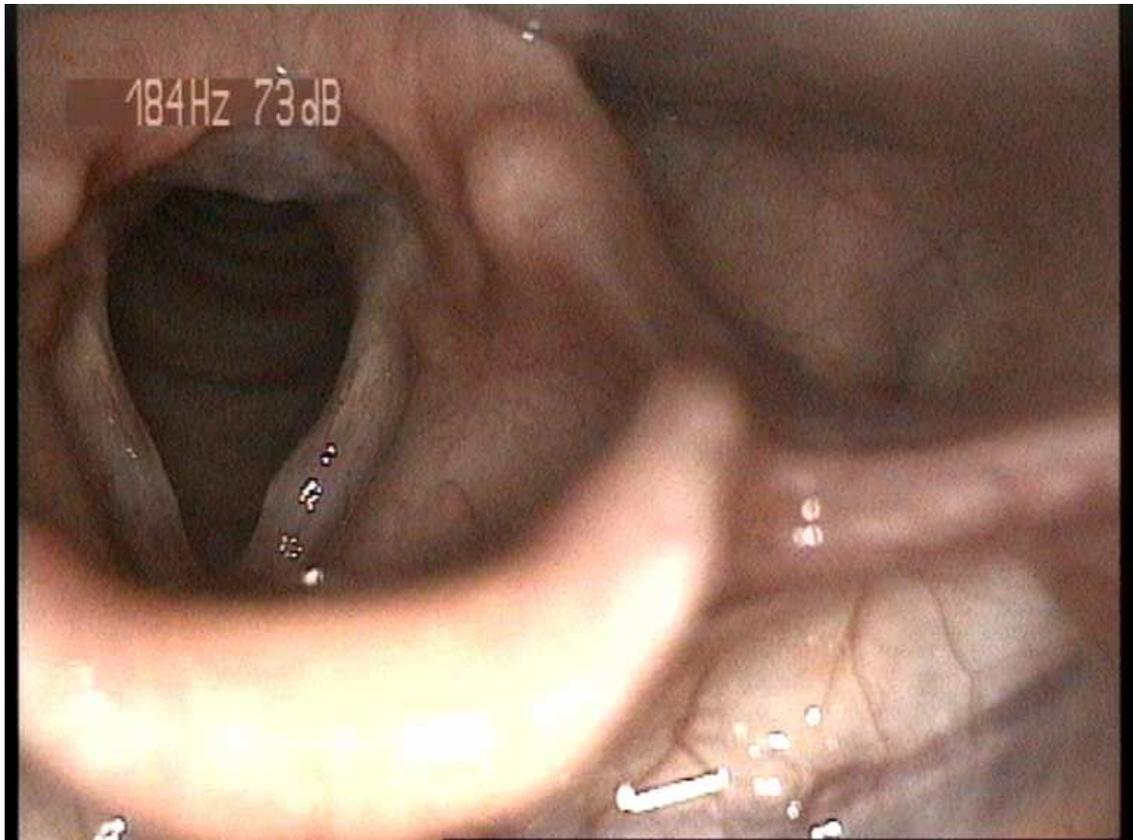
Extrait de Gray, S. D., Hammond, E. & Hanson, D. F. Benign pathologic responses of the larynx

*Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 104, 13-18 (1995)

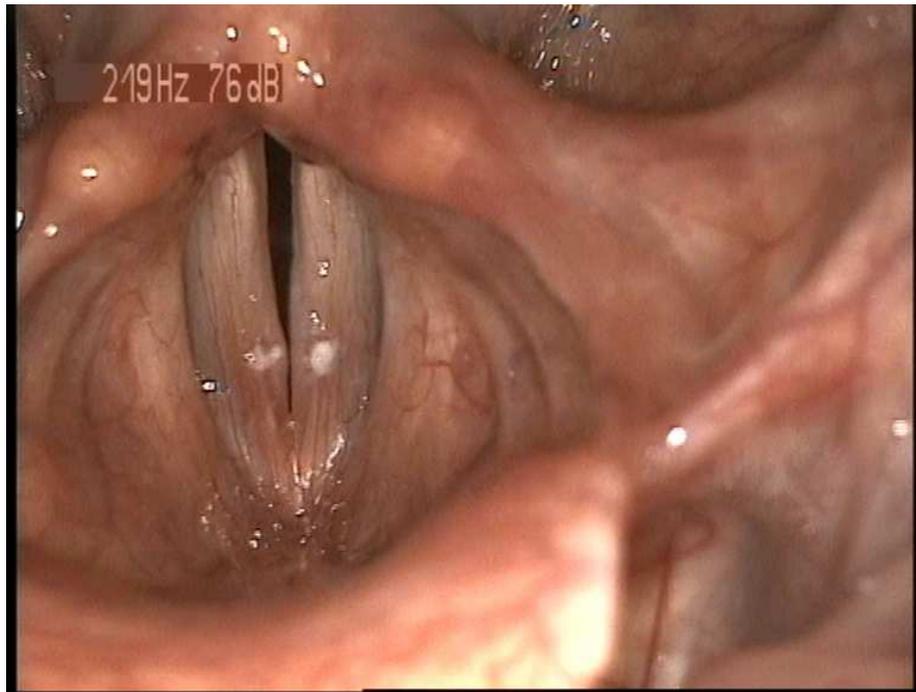
***b. La fibrose sous-épithéliale***

Cette lésion cordale n'est que rarement décrite. Elle correspond à une zone sous-épithéliale rigide au sein de la couche superficielle de la lamina propria, d'aspect blanchâtre. Elle partage les caractéristiques de la cicatrice et du nodule. Elle diffère d'une cicatrice par le fait que l'espace de Reinke existe toujours ; elle diffère d'un nodule par le fait que le bord libre n'est pas déformé.

Comme le nodule, elle se développe en réponse à un phonotrauma chronique.



Fibrose sous-épithéliale droite, nodule gauche  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)



Fibrose sous-épithéliale du tiers antérieur de la corde vocale droite  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)

#### **4. Les lésions déformantes de l'espace de Reinke**

Nous classons dans cette catégorie les lésions caractérisées par un excès de matrice extracellulaire souple au sein de la couche superficielle de la lamina propria, associé à une déformation plus ou moins marquée de la surface cordale. Ce sont les oedèmes de Reinke, les nodules souples et les pseudokystes.

##### ***a. Les oedèmes de Reinke***

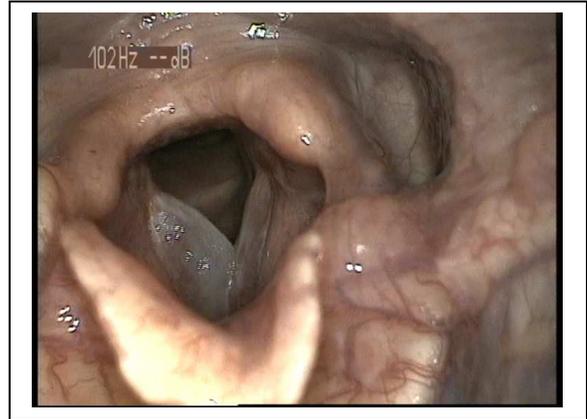
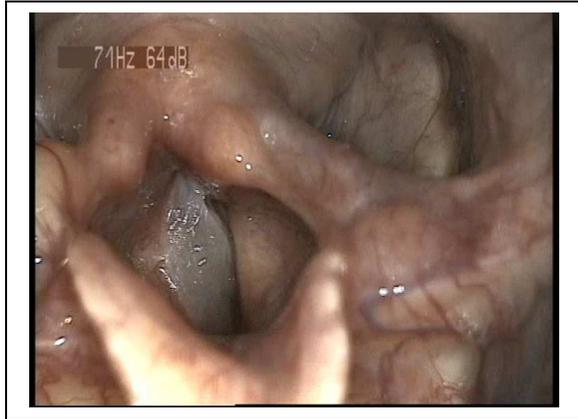
L'œdème de Reinke possède de nombreux synonymes : pseudo-myxome, dégénérescence polypoïde, laryngite chronique pseudomyxomateuse (Chalabreysse et al., 1999;Guerrier B, 2004a). Sa première description remonte au 19<sup>ième</sup> siècle (Turck L, 1860).

Sa caractéristique essentielle est un œdème chronique de l'espace de Reinke (Reinke F, 1895;Reinke F, 1897), qui déforme la face supérieure et le bord cordal. La corde atteinte a un aspect boursoufflé et translucide. L'épaisseur de la couche superficielle de la lamina propria peut être considérable, atteignant parfois plus d'un centimètre. La lésion peut alors s'avérer dyspnéisante.

Cette lésion, uni- ou bilatérale, est la conséquence d'une irritation chronique tabagique ou consécutive à un reflux pharyngolaryngé, ou d'un phonotrauma (Wallner LJ, 1954;Zeitels et al., 1997).

Les caractéristiques histologiques de l'œdème de Reinke sont l'association d'un épaissement de la membrane basale épithéliale à des lacs d'œdème, des extravasations d'érythrocytes et un épaissement des parois vasculaires (Dijkers and Nikkels, 1995).

L'œdème de Reinke et les polypes sont considérés par certains auteurs comme faisant partie d'un même cadre nosologique (Michaels L, 1984) . Une étude récente (Thibeault et al., 2002b), utilisant les techniques de « polymérase chain reaction » (ou PCR) et de Western Blot sur des lésions qualifiées cliniquement de polypes et d'œdèmes de Reinke, a montré une expression phénotypique différente des deux types lésionnels : polype et œdème différent dans l'expression des ARNm codant pour la fibronectine et la fibromoduline. La fibronectine est sous-exprimée dans les œdèmes de Reinke, alors que c'est la fibromoduline qui est sous-exprimée dans les polypes. Ces 2 caractéristiques sont par ailleurs liées à un phénotype plus « rigide » dans la population des polypes. En effet, la sur-expression pour la fibronectine et la sous-expression pour la fibromoduline sont associées à des ondulations muqueuses faibles ou absentes. Cette étude apporte des arguments permettant de penser que polype cordal et œdème de Reinke sont 2 lésions différentes, et que l'une n'est pas le continuum biologique de l'autre (Thibeault et al., 2002b).



Œdème cordal droit (en phonation)

Œdème cordal droit (en inspiration)

(C.Finck, CHU Sart Tilman)

Plus récemment, une étude par DNA microarray a montré que le profil de l'expression génique est différent chez les polypes et les oedèmes : sur un total de 8745 gènes, 65 gènes sont exprimés différemment, et de manière statistiquement significative, dans les deux groupes pathologiques. Dans le groupe des oedèmes, ce sont les gènes impliqués dans la protection contre les stress oxydatifs et l'apoptose, qui sont surexprimés. Selon les auteurs, ce profil d'expression génique est évocateur d'une protection contre une transformation tumorale éventuelle. Dans le groupe des polypes, ce sont des gènes impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire, la croissance et la prolifération cellulaire qui sont surexprimés. En particulier, un gène impliqué dans l'amarrage de la membrane basale épithéliale au tissu conjonctif sous-jacent est surexprimé dans ce groupe pathologique (Duflo et al., 2006).

Lors de l'examen vidéostroboscopique, l'ondulation muqueuse est difficile à évaluer et apparaît comme extrêmement différente de celle que l'on peut observer à la surface d'une corde vocale saine. Le caractère irrégulier est souvent important. La lésion peut être souple ou parfois très rigide (Zeitels et al, 1997).

### ***b. Les nodules souples***

Situés, comme les autres nodules, au tiers moyen de la corde vocale, ils partagent avec les oedèmes, leur caractère souple. Bilatéraux, mais parfois asymétriques, ils entraînent un coulage aérien phonatoire en sablier. Au vu de leur caractère oedémateux et souple, ils pourraient être considérés comme la conséquence d'un phonotrauma isolé (Branski et al., 2006), dont on pourrait espérer la résolution spontanée. Au sein de notre échantillon, il n'en n'est rien : ces lésions ne disparaissent pas malgré un traitement conservateur et la diminution de la charge vocale.



Nodules souples, plus volumineux à droite  
(en laryngoscopie directe)  
(C.Finck, CHU Sart Tilman)

### *c. Les pseudokystes*

Les pseudokystes sont également des lésions molles, déformant le bord libre.

La lésion est unilatérale, située au tiers moyen de la corde, ou à l'union du tiers moyen et du tiers antérieur. Elle apparaît comme une « ampoule » très superficielle.

Le pseudokyste atteint plus volontiers les femmes.

Histologiquement, on observe un œdème localisé de l'espace de Reinke, l'épithélium pouvant être aminci (Chalabreysse et al., 1999).

A la vidéostroboscopie, la lésion vibre peu, donnant l'impression d'une tension interne importante du fluide qu'elle contient.



Pseudokyste cordal droit  
(C. Finck, CHU Sart Tilman)

L'étiologie reste mystérieuse. L'existence d'une majorité de femmes atteintes a fait évoquer une influence hormonale. Une autre hypothèse serait l'existence d'une parésie homolatérale du muscle vocal à l'origine d'un déficit de tension intracordale. Le stress d'étirement asymétrique au sein de la couverture cordale entraînerait le développement de cette lésion strictement unilatérale et très superficielle (Koufman and Belafsky, 2001).

## 5 .Les lésions hémorragiques de l'espace de Reinke

Les lésions hémorragiques peuvent être à la fois occupantes et déformantes de l'espace de Reinke, comme dans les polypes sessiles. Elles sont plus simplement déformantes en cas de polype pédiculé.

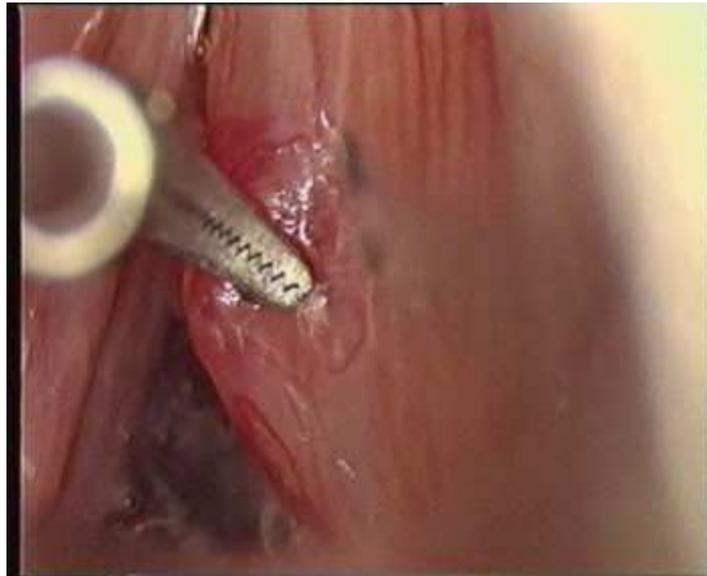
### *Les polypes*

Le polype cordal est une lésion unilatérale, d'implantation large (polype sessile) ou étroite (polype pédiculé). Ils sont la conséquence d'une hémorragie (Bastian RW, 1998; Gray et al., 1995) au sein de la lamina propria, parfois favorisée par la prise d'aspirine, survenant de manière aiguë (Bastian RW, 1998; Thibeault et al., 2002b). Un effort vocal intense, un effort de toux ou une manœuvre de Valsalva peuvent en constituer l'événement déclenchant. L'hémorragie intracordale à l'origine d'un polype doit être suffisamment profonde pour qu'une accumulation de sang se crée localement. Avec le temps, le polype peut perdre son aspect hémorragique et être difficile à différencier d'un œdème. Le caractère pédiculé serait également une caractéristique d'une lésion polypoïde ancienne (Bastian RW, 1998).



Polype pédiculé cordal gauche (en phonation et en inspiration calme)

(C. Finck, CHU Sart Tilman)



Hémorragie intracordale et polype sessile de la corde vocale droite,  
image peropératoire  
(C. Finck, CHU Sart Tilman)

Les caractéristiques immunohistochimiques de ces lésions sont toujours très discutées actuellement. Les polypes sont parfois considérés comme des lésions exsudatives de l'espace de Reinke, et faisant partie du même cadre nosologique que les oedèmes et les nodules (Guerrier B, 2004b), mais leur expression phénotypique est néanmoins très différente, et ils constituent très certainement une entité biologique distincte (Thibeault et al., 2002b). Certaines études montrent qu'ils sont pauvres en fibronectine (Gray et al., 1995), alors que d'autres les décrivent comme exprimant plus les ARNm pour la fibronectine que ne le font les oedèmes (Thibeault et al., 2002b). Un contenu lésionnel plus faible en collagène et plus grand en fibronectine semble associé à une moindre souplesse tissulaire, et donc à une moins grande ondulation muqueuse à l'examen vidéo-stroscopique (Thibeault et al., 2002b). Enfin, ils ne montrent pas de lésion de la membrane basale épithéliale (à l'inverse des nodules) (Gray et al., 1995) mais leur profil d'expression génique montre pourtant une surexpression d'un gène impliqué dans l'amarrage de la membrane basale épithéliale au tissu conjonctif sous-jacent (Duflo et al., 2006).

## Articles de référence

Abitbol J (2006) Normal voice maturation. In: *The Performer's voice* (Benninger MS, Murry T, eds), pp 34-50. San diego, CA: Plural Publishing.

Baker BM, Fox SM, Baker CD, McMurry GT (1981) Persistent hoarseness after surgical removal of vocal cord lesions. *Arch Otolaryngol* 107:148-151.

Bastian RW (1998) Benign vocal fold mucosal disorders. In: *Otolaryngology&Head Neck Surgery* (Cummings FHKRS, ed), pp 2096-2129. St Louis, Missouri: Mosby,1998.

Benninger MS, Alessi D, Archer S, Bastian R, Ford C, Koufman J, Sataloff RT, Spiegel JR, Woo P (1996) Vocal fold scarring: current concepts and management. *Otolaryngol Head Neck Surg* 115:474-482.

Branski RC, Verdolini K, Sandulache V, Rosen CA, Hebda PA (2006) Vocal fold wound healing: a review for clinicians. *J Voice* 20:432-442.

Catten M, Gray SD, Hammond TH, Zhou R, Hammond E (1998) Analysis of cellular location and concentration in vocal fold lamina propria. *Otolaryngol Head Neck Surg* 118:663-667.

Chalabreysse L, Perouse R, Cornut G, Bouchayer M, Loire R (1999) Anatomy and anatomopathology of benign vocal cord lesions. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord )* 120:275-280.

Cornut G et Bouchayer M (1977) Indications phoniatriques et résultats fonctionnels de la microchirurgie laryngée. *Bulletin d'audiophonologie* 7 (3): pp 5-52.

Cornut G et al (1984) Indications phoniatriques et résultats fonctionnels de la microchirurgie endo-laryngée chez l'enfant et l'adolescent. *Bulletin d'Audiophonologie* 17(5): 473-496.

Courey MS, Shohet JA, Scott MA, Ossoff RH (1996) Immunohistochemical characterization of benign laryngeal lesions. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 105:525-531.

Dikkers FG, Nikkels PG (1999) Lamina propria of the mucosa of benign lesions of the vocal folds. *Laryngoscope* 109:1684-1689.

Dikkers FG, Nikkels PG (1995) Benign lesions of the vocal folds: histopathology and phonotrauma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 104:698-703.

Duflo SM, Thibeault SL, Li W, Smith ME, Schade G, Hess MM (2006) Differential gene expression profiling of vocal fold polyps and Reinke's edema by complementary DNA microarray. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 115:703-714.

Ford CN (1999) Advances and refinements in phonosurgery. *Laryngoscope* 109:1891-1900.

Garcia Martins RH et al (2007) Sulcus vocalis: probable genetic etiology. *Rev Bras Otorrinolaringol* 73 (4): 573.

- Graney D., Flint P (1998) Anatomy of the larynx. In: Otolaryngology&Head Neck Surgery, (Cummings et al, eds), pp 1824-1833. St Louis,USA: Mosby.
- Gray SD (1991) Basement membrane zone injury in vocal nodules. In: Vocal fold physiology pp 21-27. Whurr Publishers.
- Gray SD, Hammond E, Hanson DF (1995) Benign pathologic responses of the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 104:13-18.
- Guerrier, Giovanni, Remacle, eds (2004b) Pathologies bénignes des cordes vocales:phonopathologie. In: Pathologie de la corde vocale de l'adulte, pp 153-177. Société Française d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie de la Face et du Cou.
- Guerrier B., Giovanni A., Remacle M., eds (2004a) Pathologies bénignes des cordes vocales:pathologie traumatique du plan glottique. In: Pathologie de la corde vocale de l'adulte, pp 199-220. Société Française d'Oto-laryngologie et de Chirurgie de la Face et du Cou.
- Gunter HE (2004) Modeling mechanical stresses as a factor in the etiology of benign vocal fold lesions. *J Biomech* 37:1119-1124.
- Hirano S (2005) Current treatment of vocal fold scarring. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 13:143-147.
- Jiang JJ, Titze IR (1994) Measurement of vocal fold intraglottal pressure and impact stress. *J Voice* 8:132-144.
- Johns MM (2003) Update on the etiology, diagnosis, and treatment of vocal fold nodules, polyps, and cysts. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 11:456-461.
- Kotby MN, Nassar AM, Seif EI, Helal EH, Saleh MM (1988) Ultrastructural features of vocal fold nodules and polyps. *Acta Otolaryngol* 105:477-482.
- Koufman JA, Belafsky PC (2001) Unilateral or localized Reinke's edema (pseudocyst) as a manifestation of vocal fold paresis: the paresis podule. *Laryngoscope* 111:576-580.
- Krishna P, Rosen CA, Branski RC, Wells A, Hebda PA (2006) Primed fibroblasts and exogenous decorin: potential treatments for subacute vocal fold scar. *Otolaryngol Head Neck Surg* 135:937-945.
- Michaels L (1984) The vocal polyp and other exsudative processes of Reinke's space. pp 102-109. Springer-Verlag,Berlin Heidelberg.
- Monday LA, Cornut G, Bouchayer M, Roch JB (1983) Epidermoid cysts of the vocal cords. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 92:124-127.
- Petreaca M, Martins-Green M I(2008) Cell-ECM interactions in repair and regeneration. In: Principles of Regenerative Medicine (Atala A. et al, eds), pp 66-99. Academic Press,Elsevier.
- Reinke F (1895) Untersuchungen ueber das menschliche Stimmband. pp 469-478.
- Reinke F (1897) Uber die funktionelle Struktur der menschlichen Stimmlippe mit besonderer Berücksichtigung des elastischen Gewebes. pp 103-117.

- Rosen CA (2000) Vocal fold scar: evaluation and treatment. *Otolaryngol Clin North Am* 33:1081-1086.
- Rosen CA, Murry T (2000) Nomenclature of voice disorders and vocal pathology. *Otolaryngol Clin North Am* 33:1035-1046.
- Rousseau B, Sohn J, Montequin DW, Tateya I, Bless DM (2004) Functional outcomes of reduced hyaluronan in acute vocal fold scar. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 113:767-776.
- Sato K, Hirano M (1998) Electron microscopic investigation of sulcus vocalis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 107:56-60.
- Swartz MA et al (2001) Mechanical stress is communicated between different cell types to elicit matrix remodeling. pp 6180-6185.
- Thibeault SL, Bless DM, Gray SD (2003) Interstitial protein alterations in rabbit vocal fold with scar. *J Voice* 17:377-383.
- Thibeault SL, Gray SD, Bless DM, Chan RW, Ford CN (2002a) Histologic and rheologic characterization of vocal fold scarring. *J Voice* 16:96-104.
- Thibeault SL, Gray SD, Li W, Ford CN, Smith ME, Davis RK (2002b) Genotypic and phenotypic expression of vocal fold polyps and Reinke's edema: a preliminary study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 111:302-309.
- Thibeault SL, Rousseau B, Welham NV, Hirano S, Bless DM (2004) Hyaluronan levels in acute vocal fold scar. *Laryngoscope* 114:760-764.
- Titze IR (1994) Mechanical stress in phonation. *J Voice* 8:99-105.
- Turck L (1860) Chronic inflammatory disease of vocal cord.
- Wallner LJ (1954) Smoker's larynx. *Laryngoscope* 64:259-270.
- Woo P, Casper J, Colton R, Brewer D (1994a) Aerodynamic and stroboscopic findings before and after microlaryngeal phonosurgery. *J Voice* 8:186-194.
- Woo P, Casper J, Colton R, Brewer D (1994b) Diagnosis and treatment of persistent dysphonia after laryngeal surgery: a retrospective analysis of 62 patients. *Laryngoscope* 104:1084-1091.
- Zeitels SM, Hillman RE, Bunting GW, Vaughn T (1997) Reinke's edema: phonatory mechanisms and management strategies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 106:533-543.

## Chapitre IV

### **La microchirurgie des lésions cordales bénignes et la reconstruction de l'espace de Reinke : de l'intérêt de l'utilisation d'un implant d'acide hyaluronique.**

#### *a. Introduction*

Les premières interventions de chirurgie cordale pratiquées par mes soins, il y a plus de 20 ans, consistaient, à l'instar de ce qui se pratiquait à l'époque, en une simple résection lésionnelle. L'intervention ne durait pas plus de quelques minutes et était pratiquée à l'œil nu, sans l'aide du microscope opératoire. A cette époque, le but poursuivi était la rectitude du bord libre de la corde vocale. L'espace de Reinke était considéré comme un simple plan de clivage. La résection de la lésion se soldait inévitablement par un déficit tissulaire de surface qui cicatrisait par seconde intention.

Le traitement des pathologies cordales bénignes a évolué, au cours des 20 dernières années, d'une chirurgie de résection à une chirurgie fonctionnelle (Uloza, 1999) dont le but est d'améliorer les caractéristiques biomécaniques du vibreur laryngé.

Les progrès technologiques nous permettent, aujourd'hui, de disposer d'instruments de diagnostic performants, d'une instrumentation chirurgicale de plus en plus miniaturisée, de sources lumineuses puissantes et de microscopes opératoires de qualité.

Mais c'est la connaissance de plus en plus approfondie de la structure laminaire cordale et de ses altérations pathologiques qui a profondément modifié le geste chirurgical (Woodson G, 2006;Hochman I, 2000;Zeitels et al., 2002;Courey et al., 1995;Ford, 1999) .

Les points essentiels qui ont présidé aux modifications des techniques microchirurgicales, et qui ont été exposés dans les chapitres précédents, sont :

a) la couche superficielle de la lamina propria est essentielle à la production du son car elle détermine l'existence de l'ondulation muqueuse de surface.

b) ses caractéristiques mécaniques sont liées à la composition et à l'organisation de sa matrice extracellulaire

c) les lésions cordales bénignes occupent, détruisent ou déforment cet espace

d) les lésions cordales sont une réponse tissulaire à un traumatisme (Gray, 1991;Gray et al., 1995;Guerrier B, 2004;Gunter, 2004;Titze IR, 1994)

e) la microchirurgie représente elle-même un trauma tissulaire

f) les lésions cicatricielles de l'espace de Reinke altèrent définitivement ses caractéristiques biomécaniques et induisent des dysphonies postopératoires (Bjorck et al., 2002; Benninger et al., 1996; Hirano, 2005; Rosen, 2000).

Les buts fonctionnels poursuivis par le microchirurgien, dans le but d'améliorer la qualité vocale, sont (Woo et al., 1994) :

- a) la résection de la lésion tout en préservant la structure laminaire de la lamina propria.
- b) la restauration d'une masse et d'une tension égales des deux cordes vocales.
- c) la préservation ou l'amélioration de la souplesse tissulaire de l'espace de Reinke.
- d) l'absence de création d'une cicatrice cordale.

Afin d'atteindre ces buts, la microchirurgie actuelle, telle que je la pratique, possède les caractéristiques suivantes : un trauma chirurgical minimal, une préservation maximale de la lamina propria saine (et en particulier de l'espace de Reinke) et un sacrifice nul ou minimal de l'épithélium, de manière à obtenir une cicatrisation par première intention (Bouchayer and Cornut G, 1991; Zeitels and Healy GB, 2003). Techniquement, les incisions sont de plus en plus petites, proches du bord libre, permettant la création d'un microflap (Bouchayer and Cornut G, 1991; Zeitels et al., 2002; Zeitels and Healy GB, 2003; Hochman I, 2000; Courey et al., 1995; Courey et al., 1997) qui sera ensuite rabattu, en fin d'intervention, sur les couches plus profondes, préservées, de la lamina propria. Dans la quasi-totalité des cas, le processus de correction microchirurgical se pratique grâce à une dissection sous-épithéliale, et ce même en cas de lésions déformantes du bord libre.

Ces raffinements techniques sont indispensables au respect maximal de la couverture cordale. Il faut éviter de traumatiser chirurgicalement les zones résiduelles saines de l'espace de Reinke, autour de la lésion traitée. Dans notre expérience personnelle, le risque de développer une cicatrice post-microchirurgicale au sein de la couverture cordale est plus élevé dans les cas suivants :

- a) absence préopératoire d'espace de Reinke résiduel au sein de la lésion traitée : situation rencontrée en cas de vergeture, cicatrice, fibrose sous-épithéliale et sulcus.
- b) remplacement partiel de l'espace de Reinke par du tissu fibreux et rigide : nodules rigides, polypes et hémorragies intracordales fibrotiques, kystes entourés de remaniements fibreux.
- c) dissection lésionnelle difficile

d) dissection large de l'espace de Reinke : situation rencontrée lors du traitement des oedèmes de Reinke

e) dissection profonde au sein de la corde vocale : les kystes épidermoïdes, en particulier ouverts, descendent parfois profondément au sein du ligament vocal.

Ce risque cicatriciel accru a été documenté précédemment (Rogerson et al., 1996). Ce risque plus élevé au sein des couches profondes de la lamina propria cordale est à opposer au faible risque cicatriciel si la dissection est limitée à l'espace de Reinke. Ceci est vraisemblablement dû à la présence naturelle de décorine au sein de la couche la plus superficielle de la couverture cordale. Ce protéoglycan possède des propriétés antifibrotiques qui sont connues et démontrées au sein de nombreux tissus : elle réduit la taille des fibres collagéniques (Gray et al., 1999; Pawlak et al., 1996) et est capable de bloquer l'action d'une cytokine fibrosante, le facteur de transformation bêta (TGF  $\beta$ 1) (Gu and Wada, 1996; Petreaca M, 2008).

f) un sacrifice épithélial associé à la perte sévère de l'espace de Reinke sous-jacent : cette situation correspond à la réalisation d'un « stripping » cordal et est rappelée ici pour mémoire, car aucune de nos microchirurgies n'aboutit à cette situation potentiellement catastrophique.

### ***b. La reconstitution de l'espace de Reinke : notre hypothèse***

Techniquement, il est plus aisé de réaliser une correction micro-chirurgicale d'une lésion souple, caractérisée par un excès de matrice extracellulaire (comme dans les oedèmes et les pseudokystes) que de traiter une lésion rigide telle qu'une vergeture, un pont muqueux, une cicatrice cordale, un nodule rigide, qui sont d'emblée caractérisés par une absence partielle ou complète de l'espace de Reinke. Dans le cas de ces lésions, le traumatisme tissulaire que représente la dissection microchirurgicale augmente potentiellement le risque d'une aggravation de la rigidité tissulaire par les processus cicatriciels qu'elle entraîne. Le microchirurgien est bel et bien confronté, non seulement à la résection lésionnelle, mais aussi et surtout à l'amélioration des capacités visco-élastiques du tissu qu'il opère (Ford, 1999). Or, il n'existe actuellement aucun implant exogène, produit d'engineering tissulaire, que nous puissions utiliser en remplacement d'un espace de Reinke détruit par un processus pathologique ou iatrogène.

Si la dissection de ces lésions destructrices est techniquement possible, comment parvenir à recréer, restaurer, au moins partiellement, une couche sous-épithéliale souple et

dont les caractéristiques visco-élastiques se rapprochent de celles d'un espace de Reinke sain ? La prévention d'une adhésion rapide du microflap à la zone ligamentaire sous-jacente ainsi que la modulation des processus de réparation tissulaire au sein de la plaie microchirurgicale constituent, à notre avis, deux éléments importants. Chez les patients où nous étions confrontés à une destruction lésionnelle ou une altération fibrotique importante de l'espace de Reinke, nous avons décidé d'insérer, en fin d'intervention, un implant constitué d'acide hyaluronique modifié dans la plaie opératoire. Notre hypothèse est que cet implant, totalement résorbable, joue un rôle mécanique de séparation des couches tissulaires mais aussi un rôle biologique s'inscrivant dans un processus de modulation de la cicatrisation post-opératoire : il pourrait en effet créer localement une matrice hautement hydratée pouvant constituer un milieu favorable à une colonisation fibroblastique à l'origine de la reconstitution d'une matrice extracellulaire dans la couche superficielle de la lamina propria. C'est donc surtout son rôle clé dans les processus de réparation tissulaire qui nous a amené à l'utiliser en microchirurgie cordale, et ce, afin si possible d'améliorer l'évolution des processus de réparation tissulaire au sein de la corde vocale opérée. Ce rôle possible a été évoqué dès 1999 (Chan and Titze, 1999; Chan et al., 2001). Bien que l'importance des interactions entre les cellules et la matrice extracellulaire, particulièrement dans la morphogenèse et la cicatrisation, soit connue depuis longtemps (c'est en 1966 que l'on a démontré que le collagène interstitiel entraîne l'organisation des myofibroblastes en myotubes (Petreaca M, 2008), l'intérêt pour la modulation des processus de cicatrisation au sein des cordes vocales est très récent (Branski et al., 2006). Les rôles joués par l'acide hyaluronique au sein de nombreux tissus, dans ces processus dynamiques, ont été étudiés : l'acide hyaluronique facilite la migration cellulaire grâce la création de voies de pénétration hydratées, il forme à la surface cellulaire une matrice facilitant le processus mitotique (Toole BP, 1998), il influence le comportement cellulaire via les récepteurs CD44 et RHAMM (Toole BP, 1998; Savani R, 2000). La cicatrisation cutanée fœtale, en particulier, est très différente de celle observée après la naissance : elle est régénérative et non fibrotique. Elle est associée à de grandes quantités d'acide hyaluronique dans la matrice extracellulaire du tissu fœtal (Dang et al., 2003; Savani R, 2000; Longaker et al., 1991; Longaker and Adzick, 1991; Petreaca M, 2008).

Les processus biologiques précis par lesquels l'acide hyaluronique réduit le caractère fibrotique de la cicatrisation ne sont toujours qu'incomplètement compris aujourd'hui. Il existe une relation inverse entre la quantité d'acide hyaluronique et le collagène durant la phase de remodelage de la cicatrisation (Rooney and Kumar, 1993), mais le mécanisme ou les mécanismes précis ne sont pas identifiés : il pourrait s'agir d'une action structurelle (Savani

R, 2000), en créant une matrice lâche et hydratée et/ou de la conséquence d'une action induite par la liaison aux hyaladhérines présentes à la surface des fibroblastes (Savani R, 2000). Les 2 types de récepteurs cellulaires à l'acide hyaluronique seraient impliqués (CD 44 et RHAMM) : le récepteur transmembranaire CD44 est nécessaire à l'internalisation de l'acide hyaluronique. Dans les plaies caractérisées par une cicatrisation fibrosante, l'expression de CD44 entraîne la diminution rapide du taux d'acide hyaluronique au sein de la matrice extracellulaire (Savani R, 2000). Les récepteurs RHAMM pourraient également jouer un rôle identique dans la diminution de la quantité d'acide hyaluronique matriciel : la haute concentration extracellulaire en acide hyaluronique, chez le fœtus, serait liée à une sous-expression des récepteurs RHAMM (Savani R, 2000). Une présence importante d'acide hyaluronique matriciel entraîne une sous-expression de la cytokine fibrosante TGF $\beta$ 1, ce qui facilite la migration fibroblastique au sein de la plaie fœtale et diminue le dépôt de collagène de type I (Petreaca M, 2008). L'inhibition de TGF $\beta$ 1 par l'acide hyaluronique permet également d'inhiber la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes (Petreaca M, 2008).

L'acide hyaluronique n'est certes pas le seul facteur permettant une cicatrisation régénérative chez le fœtus : le milieu est stérile, les macrophages sont abondants, le profil cytokinique est particulier, la fibronectine est présente précocement, favorisant l'adhésion entre cellules et entre cellule et matrice extracellulaire ainsi que la migration épithéliale (Dang et al., 2003; Hirano et al., 2003; Hirschi et al., 2002). Dans les plaies fœtales, le nombre de myofibroblastes est réduit, la décorine est sous-exprimée et la production collagénique est plus intense que dans les plaies adultes. Le mécanisme d'apoptose des plaies fœtales est mal connu mais sans doute différent de celui des plaies adultes (Petreaca M, 2008).

En dehors de la période fœtale, les plaies cutanées ont montré une augmentation du taux d'acide hyaluronique aux jours 2 et 4 après la blessure cutanée initiale, suivie par un rapide déclin (Weigel et al., 1986). Dès lors, de nombreuses études ont été menées au niveau du tissu cutané (Balazs EA, 2000) animal et humain, à la fois *in vitro* et *in vivo* : toutes s'intéressent à une modulation favorable de la cicatrisation tissulaire en augmentant le taux d'acide hyaluronique présent *in loco*. *In vivo*, dès les années septante, l'application d'acide hyaluronique purifié de haut poids moléculaire (>1x 1000000 Da), sur des plaies cutanées créées chez différents modèles animaux, a diminué l'intensité du développement du tissu de granulation et réduit la fibrose cicatricielle (Rydell, 1970). Des études animales ultérieures ont montré une accélération de la cicatrisation et une amélioration de la qualité du tissu cicatriciel, lors de l'utilisation d'acide hyaluronique (Hellstrom and Laurent, 1987; King et al., 1991; Abatangelo et al., 1983; Mast et al., 1991). *In vitro*, la contraction par les fibroblastes

d'une matrice collagénique, est réduite si une concentration élevée d'acide hyaluronique (> 1mg/ml) était présente dans le milieu (Huang-Lee et al., 1994). L'application d'acide hyaluronique sur des plaies cutanées a permis d'inhiber l'expression de TGB $\beta$ 1 et d'accélérer la cicatrisation (Hu et al., 2003;Petreaca M, 2008).

C'est par une augmentation du taux d'acide hyaluronique au sein de l'espace de Reinke opéré que nous espérons orienter la cicatrisation vers moins de fibrose, ce qui revêt une importance capitale dans le cas de la microchirurgie cordale : moins de fibrose et plus de souplesse au sein de la couche superficielle de la lamina propria cordale sont l'obsession du microchirurgien.

En laryngologie, c'est dès 1998 que l'utilisation de l'acide hyaluronique ou d'un de ses dérivés afin d'augmenter le volume d'une lamina propria déficitaire a été évoquée par de nombreux auteurs (Butler et al., 2001;Hallen et al., 1999;Ward et al., 2002;Gray et al., 1999;Chan and Titze, 1999;Hallen et al., 1998).

Peu de choses sont actuellement connues sur les processus de réparation tissulaire au sein des cordes vocales humaines. Les études portant sur ces processus n'ont été réalisées que très récemment et seulement sur des modèles animaux, à savoir chez le lapin, le chien et le cochon. Les observations et les résultats fournis par ces études doivent être interprétés avec la plus grande prudence et ce, pour 3 raisons majeures : la structure cordale laminaire humaine ne se retrouve chez aucun des modèles animaux testés, le modèle de cicatrisation investigué est une cicatrisation par 2<sup>ème</sup> intention (alors que la microchirurgie pratiquée aujourd'hui par beaucoup de microchirurgiens induit une cicatrisation par 1<sup>ère</sup> intention), et enfin l'utilisation vocale des modèles animaux est totalement différente de l'utilisation vocale humaine. On sait en effet que la synthèse et le turn-over des protéines de la matrice extracellulaire sont influencés par les forces mécaniques qui lui sont appliquées (Bishop, 1998;Parsons et al., 1999), et il est clair que la voix du lapin et du cochon a peu en commun avec la voix humaine. Les cicatrices cordales étudiées chez le lapin et le chien (Rousseau et al., 2004a;Rousseau et al., 2003;Thibeault et al., 2002), dans la phase de remodelage cicatriciel, soit à 2 et à 6 mois après le trauma initial, ont par ailleurs montré des différences dans la dynamique temporelle des différentes protéines de la matrice extracellulaire, lors du processus cicatriciel : ce qui est vrai pour le lapin, n'est pas nécessairement observé chez le chien. Il est donc plus que probable que ces observations ne sont finalement que l'expression de mécanismes cicatriciels propres à l'espèce et ne sont pas, pour cette raison, transposables à l'homme. Ces 3 études animales montrent par contre la désorganisation des protéines fibreuses (collagène et élastine) et la rigidité tissulaire associée à l'existence du tissu cicatriciel, quel que soit l'âge de celui-ci.

Ces derniers renseignements sont peu intéressants puisque toutes ces caractéristiques sont typiques de la cicatrisation adulte humaine : fibrose, rigidité, désorganisation des fibres collagènes et élastiques. Quant à la rigidité du tissu cicatriciel cordal, elle est aisément observée par les examens vidéo-stroboscopiques réalisés quotidiennement chez nos patients. Par ailleurs, ces études animales (Rousseau et al., 2004a; Rousseau et al., 2003; Thibeault et al., 2002) n'ont montré aucune différence de quantité d'acide hyaluronique entre corde vocale saine et corde vocale cicatricielle à 2 mois et 6 mois d'âge cicatriciel.

Néanmoins, et malgré la prudence d'interprétation face aux observations obtenues dans des modèles animaux, ce sont deux études animales (Rousseau et al., 2004b; Thibeault et al., 2004) explorant les phases précoces de la cicatrisation cordale après une plaie iatrogène qui apportent un argument supplémentaire à notre apport exogène d'acide hyaluronique au sein de certaines cordes vocales opérées.

L'étude réalisée chez le cochon (Rousseau et al., 2004b) montre que la quantité d'acide hyaluronique est significativement plus basse au sein de la corde iatrogéniquement blessée jusqu'au 15<sup>ième</sup> jour après le trauma. Par contre, le collagène n'augmente au sein de la corde cicatricielle qu'au 15<sup>ième</sup> jour. L'existence d'une lésion cordale était de plus associée à une augmentation de la pression sous-glottique, témoin d'une réduction du rendement aérodynamique du larynx lésé. L'étude pratiquée chez le lapin montre également que le taux d'acide hyaluronique intra-cordal diminue significativement jusqu'à 15 jours après la plaie cordale iatrogène (Thibeault et al., 2004).

Ceci n'est pas sans rappeler la diminution rapide du taux d'acide hyaluronique dans les lésions cutanées (Weigel et al., 1986) .

L'ensemble de ces observations permet de penser que c'est dans les premiers jours après la réalisation d'une plaie cordale, que l'augmentation de la quantité d'acide hyaluronique in loco peut jouer un rôle favorable, en orientant le processus de cicatrisation. Une implantation immédiate d'acide hyaluronique exogène au sein de la plaie microchirurgicale, telle que nous la décrivons dans les prochains paragraphes, prend ainsi tout son sens.

Nous décrivons dans les paragraphes suivants les techniques de dissection des lésions bénignes appliquées aux patients inclus dans les 2 études présentées dans le chapitre VI de ce travail, le type d'implant d'acide hyaluronique utilisé et la procédure d'implantation.

### *c. Les techniques de dissection*

Toutes les microchirurgies sont pratiquées aux instruments froids. Néanmoins, un petit nombre de nos patients a bénéficié de l'incision de la face supérieure de la corde vocale au laser CO<sub>2</sub>, le reste de la dissection cordale étant réalisée aux instruments froids.

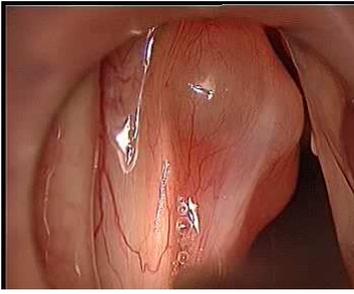
Chaque fois qu'un microflap est réalisé, la fermeture de l'incision est réalisée par reposition naturelle du flap sur le ligament. Le flap est maintenu en place grâce à l'utilisation de quelques gouttes de colle à la fibrine (Tissucol Duo 500°, Baxter, Illinois, USA) délicatement déposées, par un instrument mousse, au sein de la plaie.

#### *1° Les lésions occupantes de l'espace de Reinke*

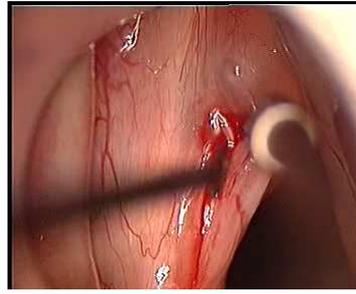
Les kystes muqueux et épidermoïdes sont réséqués grâce à la création d'un microflap de petite taille, encore appelé microflap médial (Courey et al., 1997). L'incision de la face supérieure de la corde vocale est pratiquée à l'aplomb de la lésion, mais aussi le plus près possible de l'ouverture naturelle du kyste, si celle-ci existe. La lésion est ensuite libérée de l'espace de Reinke, en la décollant progressivement des fibres ligamentaires et du microflap muqueux de surface. En cas d'ouverture naturelle du kyste (kyste épidermoïde ouvert), l'orifice est réséqué avec un petit fragment de muqueuse de surface. En fin d'intervention, le microflap est rabattu sur le ligament préservé.

Au sein de notre échantillon de 13 kystes intracordaux, nous avons remarqué l'existence d'une fibrose importante autour du kyste, rendant la dissection microchirurgicale difficile chez 9 d'entre eux, soit 69%. Les adhérences étaient marquées, à la fois au flap muqueux, et aux fibres ligamentaires. Les microciseaux ont parfois été nécessaires à la section de ces adhérences.

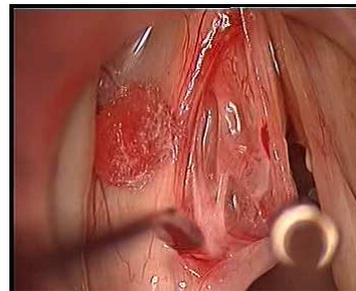
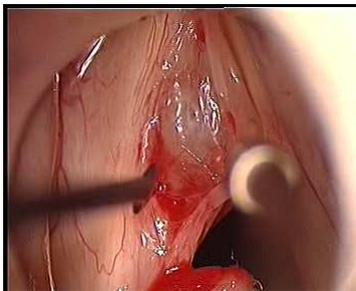
## Exemple de traitement microchirurgical d'un kyste muqueux G



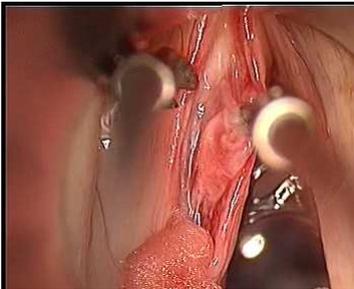
Volumineux kyste muqueux G



Incision cordale à l'aplomb de la lésion



Décollement progressif de la lésion, des fibres ligamentaires et du microflap muqueux de surface



Section des adhérences périkystiques aux microciseaux et libération de l'espace de Reinke

(C.Finck, CHU Sart Tilman)

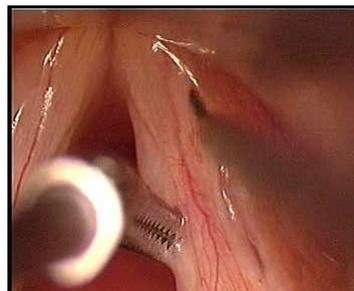
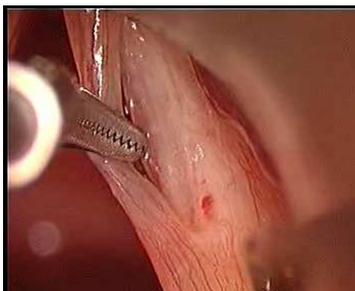
## 2° Les lésions destructrices de l'espace de Reinke

Les patients souffrant de sulcus, de vergeture et de cicatrice cordale ont tous bénéficié d'un geste chirurgical « de surface », par microflap. Ils n'ont pas bénéficié d'une injection intracordale, qui est une autre alternative thérapeutique (Hertegard et al., 2002) mais qui ne sera donc pas décrite ni discutée dans ce travail. La technique utilisée chez nos patients consiste en un décollement, par rapport au ligament sous-jacent, de la zone adhérentielle sévère constituant la lésion. L'épithélium atrophique est sacrifié, la dissection du flap muqueux est prolongée sous la zone adhérentielle, de manière à pouvoir bénéficier de suffisamment de couverture muqueuse pour fermer l'incision bord à bord, sans défaut de surface.

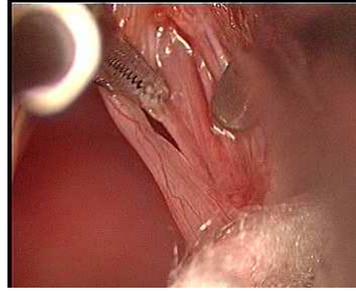
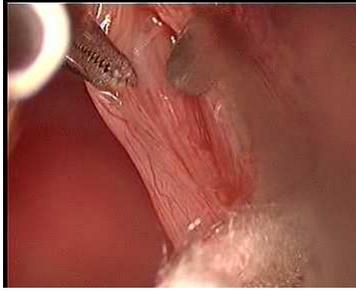
En cas de pont muqueux associé, la procédure est complexe : la vergeture ou le sulcus est traité de manière classique, puis le pont muqueux est incisé longitudinalement de manière à bénéficier d'un flap muqueux accessoire. Ceci nous permet de recouvrir totalement le ligament, avec moins de tension et de concavité du bord libre cordal.

Fermeture classique du microflap par la colle à la fibrine.

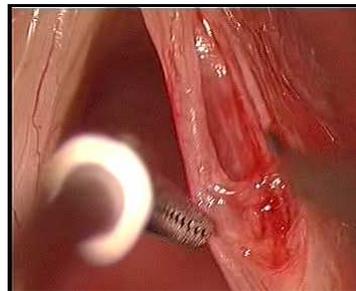
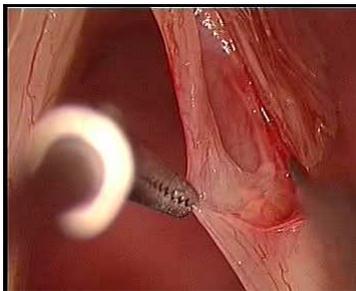
Exemple de traitement microchirurgical d'un pont muqueux et vergeture droits



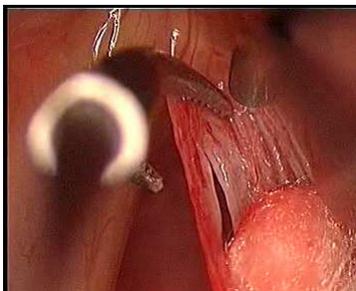
Incision au bord latéral de la vergeture



Création du microflap en libérant progressivement la muqueuse adhérente de la vergeture, des fibres ligamentaires sous-jacentes



Incision longitudinale du pont muqueux pour créer le microflap accessoire



Les flaps, accessoire et principal et leur reposition sur le ligament sous-jacent

(C.Finck, CHU Sart Tilman)

### *3° Les lésions occupantes et destructrices*

Les nodules et la fibrose sous-épithéliale sont traités par une dissection sous-épithéliale, et donc via la création d'un microflap. La libération de la région sous-épithéliale des dépôts rigides et fibreux constituant la lésion nodulaire ou la zone de fibrose, est le plus souvent longue et difficile car il convient de veiller à ne pas déchirer la couche épithéliale. Après ce nettoyage minutieux, une résection minimale d'épithélium est réalisée de manière à fermer parfaitement l'incision et permettre l'absence de défaut de surface. Fermeture classique du microflap par la colle à la fibrine.

### *4° Les lésions déformantes de l'espace de Reinke*

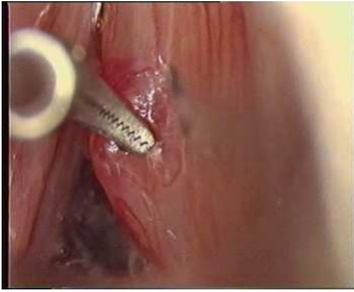
Les oedèmes de Reinke, les pseudokystes et les nodules souples sont également traités par la création d'un microflap. Après aspiration sous-muqueuse de l'œdème, une résection muqueuse partielle est réalisée. En effet, la muqueuse de surface est cette fois très excessive et redondante. La résection épithéliale doit néanmoins ne pas être trop importante, afin de ne pas créer de défaut de surface. Un redrapage le plus parfait possible du flap sur le ligament doit être obtenu.

### *5° Les lésions hémorragiques de l'espace de Reinke*

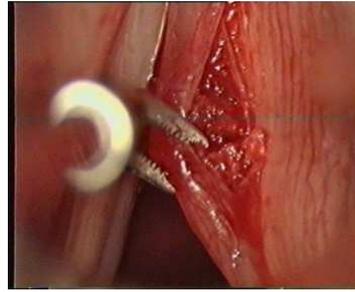
Les polypes pédiculés ont été réséqués à l'emporte-pièce, sans réalisation de microflap, en raison de leur base d'implantation étroite (moins de 1 mm).

Par contre, les polypes sessiles et les hémorragies intracordales sont traités par la réalisation d'un microflap classique, via lequel on réalise un nettoyage soigneux de la fibrine et des réactions fibrotiques souvent marquées occupant l'espace de Reinke (Hochman I, 2000). Une résection muqueuse est parfois réalisée, si le flap s'avère trop large. Fermeture classique par la colle à la fibrine.

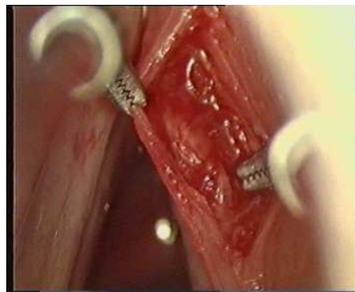
## Exemple de traitement microchirurgical d'un polype sessile droit



1. Palpation de la lésion



2. Incision de la muqueuse cordale : l'espace de Reinke est occupé par un hématome partiellement fibrosé



3. Nettoyage de l'espace de Reinke

(C.Finck, CHU Sart Tilman)

### *d. L'implantation d'acide hyaluronique estérifié au sein de la plaie microchirurgicale.*

#### *1° L'implant d'acide hyaluronique estérifié*

##### *a.. Introduction : les acides hyaluroniques modifiés*

Il existe sur le marché, commercialement disponibles, un grand nombre d'acides hyaluroniques modifiés chimiquement par différents procédés afin de créer des polymères biocompatibles et biodégradables. Les modifications chimiques permettent de créer des

liquides, des gels ou du matériel fibreux, beaucoup plus résistants que l'acide hyaluronique natif, à la dégradation *in vivo* par les hyaluronidases. Si l'acide hyaluronique exogène n'est pas modifié chimiquement, il est résorbé très rapidement : quelques jours suffisent à une résorption quasi complète chez le lapin (Hallen et al., 1998).

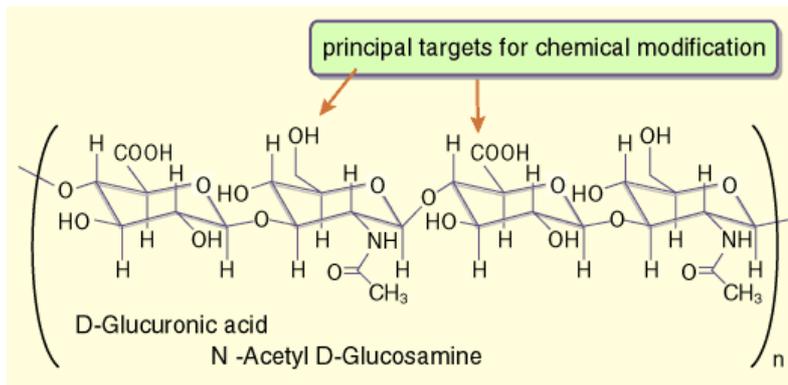
Ces biomatériaux sont utilisés dans de nombreuses spécialités médicales et chirurgicales : en chirurgie plastique, comme agent de comblement des rides (Pollack, 1999) ; en ophtalmologie, comme implant permettant de maintenir la profondeur de la chambre antérieure de l'œil lors de la chirurgie de la cataracte (Miyachi and Iwata, 1986) ; en rhumatologie, en injections intra-articulaires dans le traitement de l'arthrite (Peyron, 1993b;Peyron, 1993a) ; dans différentes spécialités chirurgicales, comme matériel anti-adhésion (Septrafilm°, Genzyme/Biomatrix Corp, Ridgefield, New Jersey, USA) (Becker et al., 1996;Burns et al., 1996) pour ne fournir que quelques exemples.

Certains acides hyaluroniques modifiés par liaisons croisées forment la catégorie des hylans qui possèdent une viscosité et une élasticité plus élevée que la molécule d'acide hyaluronique natif : il s'agit de gels utilisés dans le comblement des rides (Hylaform° et Restylane°) ou comme thérapeutique de visco-supplémentation dans les affections ostéo-articulaires (Synvisc°).

En laryngologie, des hylans comme l'Hylaform° ou de l'acide hyaluronique non modifié mélangé à des dextranomes (Copolymer Deflux°, Q-Med AB, Upsala, Suède) sont utilisés comme implants d'augmentation volumique cordale en cas de paralysie cordale ou d'atrophie cordale (Hallen et al., 2001;Hertegard et al., 2002;Hertegard et al., 2004). Un hylan tel que l'Hylaform° peut rester en place 1 an, lors d'une injection intarcordale profonde (Hallen et al., 1999).

#### *b. L'acide hyaluronique modifié par estérification*

L'implant que nous utilisons est un acide hyaluronique modifié par estérification. Le produit d'estérification est un « HYAFF » : l'acide hyaluronique estérifié peut être extrudé afin de produire des membranes ou des fibres, lyophilisé pour produire des éponges, ou évaporé pour produire des microsphères.



Principaux sites de modification chimique de l'acide hyaluronique

Extrait de Biomaterials from chemically-modified hyaluronan.

Glenn D.Prestwich, [www.glycoforum.gr.jp](http://www.glycoforum.gr.jp)

Le bioimplant d'acide hyaluronique que nous utilisons est un HYAFF<sup>®</sup> produit par Fidia Advanced Biopolymers, Abano, Italie. L'acide hyaluronique a un poids moléculaire de 20kDa et est un produit de fermentation de Streptococcus Equii. Il est ensuite estérifié à 100% par le benzyl alcool sur le groupe carboxyl de l'acide glucuronique. L'estérification de la molécule d'acide hyaluronique la rend moins hydrophilique : à 100 % d'estérification, on obtient un matériel fibreux.

Cet HYAFF est commercialisé sous le nom de MeroGel<sup>®</sup>, marque déposée de Medtronic Xomed, Jacksonville, Floride, USA.

Il s'agit d'un matériel solide, fibreux, ayant la consistance de l'ouate lorsqu'il sort de son emballage.

Il est aussi utilisé en chirurgie rhinosinusale (Miller et al., 2003) et otologique (Li et al., 2001).

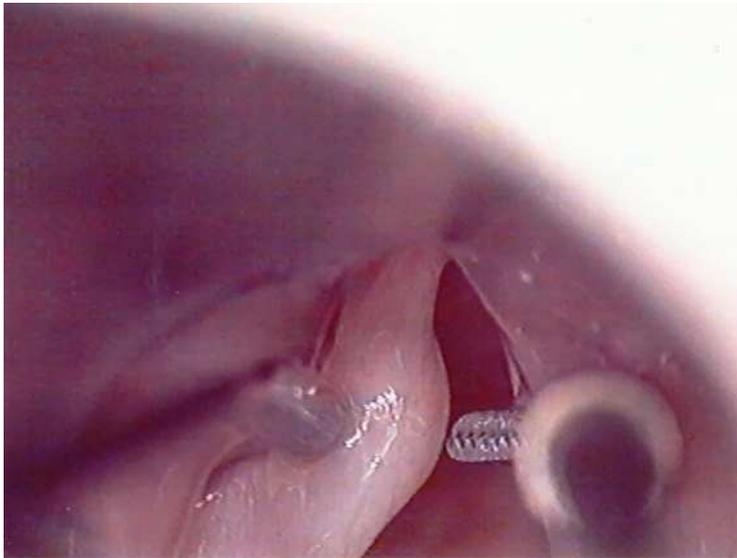
Au contact des tissus, il se transforme en un gel hautement hydraté. Le MeroGel est totalement biodégradable et suit une voie métabolique qui a été étudiée sur des modèles animaux après implantation sous-cutanée ou intra-péritonéale. La première étape de la dégradation in vivo est une dé-estérification de l'acide hyaluronique, par hydrolyse de la liaison ester. Le benzyl alcool libéré est alors dégradé par le foie, en acide benzoïque. Celui-ci est conjugué à la glycine pour produire de l'acide hippurique excrété par voie urinaire. L'acide hyaluronique libéré de la liaison ester est métabolisé comme l'acide hyaluronique endogène.

Notre choix s'est porté sur ce matériel car il possède d'une part les caractéristiques favorables de l'acide hyaluronique natif (molécule non toxique et non immunogénique), et d'autre part des caractéristiques qui nous paraissent idéales pour l'usage que nous lui réservons. En effet, il s'agit d'un matériel solide qui peut être aisément et précisément déposé dans la plaie microchirurgicale. Son caractère fibreux en fait aussi un matériel très versatile, dont on peut gérer la quantité déposée in loco. Par ailleurs, son temps de résidence est court dans les cavités nasales et dans l'oreille moyenne : selon le fabricant, l'implant disparaît des cavités nasales en 2 semaines environ et de l'oreille moyenne, en approximativement 6 semaines. Un temps de résidence limité, et de cet ordre est ce que nous recherchons a priori car nous désirons moduler la cicatrisation cordale.

### *2° La technique d'implantation*

En fin d'intervention microchirurgicale, quelques fibres d'acide hyaluronique estérifié sont délicatement placées entre le microflap et les couches plus profondes de la lamina propria cordale. Le microflap est fermé au-dessus de l'implant et maintenu en place par quelques gouttes de colle à la fibrine (Tissucol Duo 500°, 0,5ml Baxter, Deerfield, Illinois, USA).

Nous illustrons la technique d'implantation par quelques images obtenues aux temps principaux d'une intervention microchirurgicale pour kyste intracordal gauche.



1 .Inspection cordale

Kyste muqueux gauche. (C.Finck, CHU Sart Tilman)

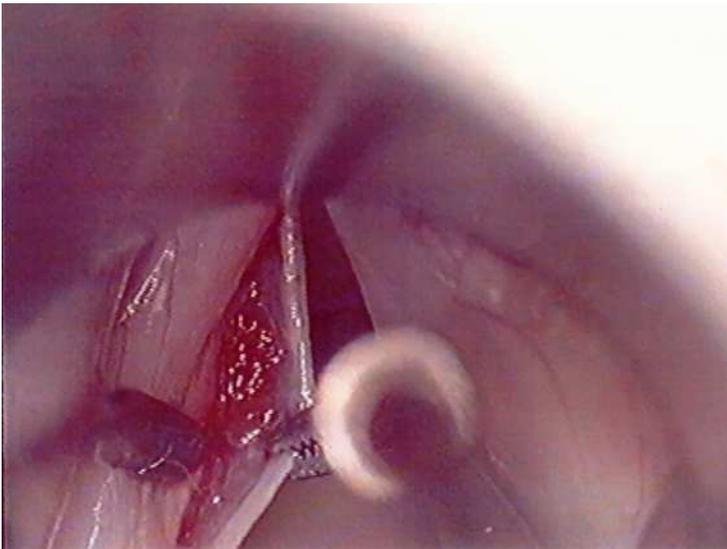


2. Incision de la muqueuse cordale à l'aplomb de la lésion

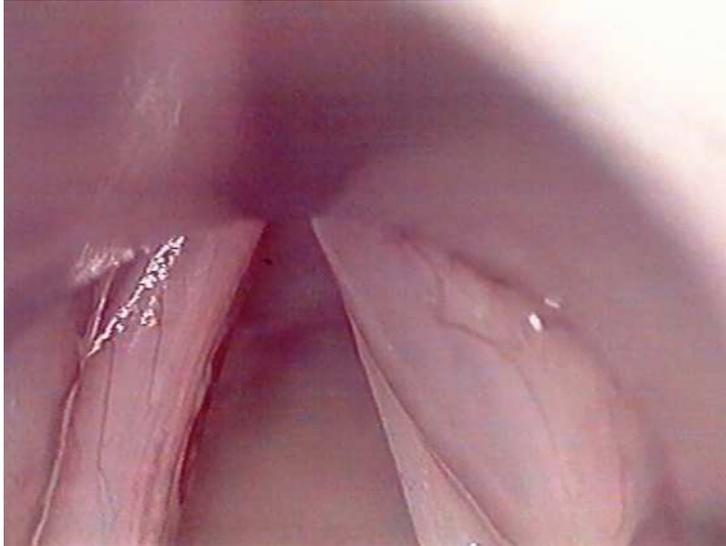
Le kyste occupe l'espace de Reinke. (C.Finck, CHU Sart Tilman)



3. Les fibres du bio-implant d'acide hyaluronique estérifié avant leur insertion dans la plaie microchirurgicale. (C.Finck, CHU Sart Tilman)



4. Les fibres du bio-implant d'acide hyaluronique estérifié placées sous le microflap avant la fermeture de celui-ci. (C.Finck, CHU Sart Tilman)



5. Aspect de la corde vocale gauche en fin d'intervention, le microflap est fermé au-dessus des fibres du bio-implant d'acide hyaluronique estérifié. (C.Finck, CHU Sart Tilman)

### *3° La décision d'implantation d'acide hyaluronique estérifié*

La décision d'implanter l'acide hyaluronique estérifié a toujours été prise durant l'intervention microchirurgicale. Elle dépend des caractéristiques lésionnelles préopératoires mais aussi de l'inspection cordale per-opératoire et du déroulement de l'intervention :

- a) absence préopératoire d'espace de Reinke résiduel au sein de la lésion traitée : situation rencontrée en cas de vergeture, cicatrice, fibrose sous-épithéliale et sulcus.
- b) remplacement partiel de l'espace de Reinke par du tissu fibreux et rigide : nodules rigides, polypes et hémorragies intracordales fibrotiques, kystes entourés de remaniements fibreux.
- c) dissection lésionnelle difficile et risque cicatriciel estimé élevé
- d) dissection large de l'espace de Reinke : situation rencontrée lors du traitement des oedèmes de Reinke
- e) dissection profonde au sein de la corde vocale : les kystes épidermoïdes, en particulier ouverts.
- f) fermeture parfaite du microflap sur l'implant inséré dans la plaie

Les conditions nécessaires à l'utilisation du bio-implant correspondent en réalité aux situations décrites plus haut dans ce chapitre où un risque cicatriciel est présent, hormis bien sûr l'existence d'un sacrifice épithélial qui rend impossible la fermeture du microflap au-dessus de l'implant.

## Articles de référence

Abatangelo G, Martelli M, Vecchia P (1983) Healing of hyaluronic acid-enriched wounds: histological observations. *J Surg Res* 35:410-416.

Balazs EA LN (2000) Hyaluronan: aiming for perfect skin regeneration. In: Scarless wound healing (Garg HG, ed), pp 143-160. New York: Marcel Dekker.

Becker JM, Dayton MT, Fazio VW, Beck DE, Stryker SJ, Wexner SD, Wolff BG, Roberts PL, Smith LE, Sweeney SA, Moore M (1996) Prevention of postoperative abdominal adhesions by a sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane: a prospective, randomized, double-blind multicenter study. *J Am Coll Surg* 183:297-306.

Benninger MS, Alessi D, Archer S, Bastian R, Ford C, Koufman J, Sataloff RT, Spiegel JR, Woo P (1996) Vocal fold scarring: current concepts and management. *Otolaryngol Head Neck Surg* 115:474-482.

Bishop JE (1998) Regulation of cardiovascular collagen deposition by mechanical forces. *Mol Med Today* 4:69-75.

Bjorck G, D'Agata L, Hertegard S (2002) Vibratory capacity and voice outcome in patients with scarred vocal folds treated with collagen injections--case studies. *Logoped Phoniatr Vocol* 27:4-11.

Bouchayer M, Cornut G (1991) Instrumental microscopy of benign lesions of the vocal folds. In: Phonosurgery: assessment and surgical management of voice disorders (Ford CM BD, ed), pp 143-165. New York: Raven.

Branski RC, Verdolini K, Sandulache V, Rosen CA, Hebda PA (2006) Vocal fold wound healing: a review for clinicians. *J Voice* 20:432-442.

Burns JW, Skinner K, Colt MJ, Burgess L, Rose R, Diamond MP (1996) A hyaluronate based gel for the prevention of postsurgical adhesions: evaluation in two animal species. *Fertil Steril* 66:814-821.

Butler JE, Hammond TH, Gray SD (2001) Gender-related differences of hyaluronic acid distribution in the human vocal fold. *Laryngoscope* 111:907-911.

Chan RW, Gray SD, Titze IR (2001) The importance of hyaluronic acid in vocal fold biomechanics. *Otolaryngol Head Neck Surg* 124:607-614.

Chan RW, Titze IR (1999) Hyaluronic acid (with fibronectin) as a bioimplant for the vocal fold mucosa. *Laryngoscope* 109:1142-1149.

Courey MS, Gardner GM, Stone RE, Ossoff RH (1995) Endoscopic vocal fold microflap: a three-year experience. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 104:267-273.

- Courey MS, Garrett CG, Ossoff RH (1997) Medial microflap for excision of benign vocal fold lesions. *Laryngoscope* 107:340-344.
- Dang C, Ting K, Soo C, Longaker MT, Lorenz HP (2003) Fetal wound healing current perspectives. *Clin Plast Surg* 30:13-23.
- Ford CN (1999) Advances and refinements in phonosurgery. *Laryngoscope* 109:1891-1900.
- Gray SD (1991) Basement membrane zone injury in vocal nodules. In: *Vocal fold physiology* pp 21-27. Whurr Publishers.
- Gray SD, Hammond E, Hanson DF (1995) Benign pathologic responses of the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 104:13-18.
- Gray SD, Titze IR, Chan R, Hammond TH (1999) Vocal fold proteoglycans and their influence on biomechanics. *Laryngoscope* 109:845-854.
- Gu J, Wada Y (1996) Effect of exogenous decorin on cell morphology and attachment of decorin-deficient fibroblasts. *J Biochem* 119:743-748.
- Guerrier B., Giovanni A., Remacle M. eds (2004) Pathologies bénignes des cordes vocales:phonopathologie. In: *Pathologie de la corde vocale de l'adulte* (Guerrier B GARM, ed), pp 153-177. Société Française d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie de la Face et du Cou.
- Gunter HE (2004) Modeling mechanical stresses as a factor in the etiology of benign vocal fold lesions. *J Biomech* 37:1119-1124.
- Hallen L, Dahlqvist A, Laurent C (1998) Dextranomers in hyaluronan (DiHA): a promising substance in treating vocal cord insufficiency. *Laryngoscope* 108:393-397.
- Hallen L, Johansson C, Laurent C (1999) Cross-linked hyaluronan (Hylan B gel): a new injectable remedy for treatment of vocal fold insufficiency--an animal study. *Acta Otolaryngol* 119:107-111.
- Hallen L, Testad P, Sederholm E, Dahlqvist A, Laurent C (2001) DiHA (dextranomers in hyaluronan) injections for treatment of insufficient closure of the vocal folds: early clinical experiences. *Laryngoscope* 111:1063-1067.
- Hellstrom S, Laurent C (1987) Hyaluronan and healing of tympanic membrane perforations. An experimental study. *Acta Otolaryngol Suppl* 442:54-61.
- Hertegard S, Hallen L, Laurent C, Lindstrom E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist A (2002) Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 112:2211-2219.
- Hertegard S, Hallen L, Laurent C, Lindstrom E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist A (2004) Cross-linked hyaluronan versus collagen for injection treatment of glottal insufficiency: 2-year follow-up. *Acta Otolaryngol* 124:1208-1214.
- Hirano S (2005) Current treatment of vocal fold scarring. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 13:143-147.

- Hirano S, Bless DM, Rousseau B, Welham N, Scheidt T, Ford CN (2003) Fibronectin and adhesion molecules on canine scarred vocal folds. *Laryngoscope* 113:966-972.
- Hirschi SD, Gray SD, Thibeault SL (2002) Fibronectin: an interesting vocal fold protein. *J Voice* 16:310-316.
- Hochman I ZS (2000) Phonomicrosurgical management of vocal fold polyps: the subepithelial microflap resection technique. *J Voice* 14:112-118.
- Hu M, Sabelman EE, Cao Y, Chang J, Hentz VR (2003) Three-dimensional hyaluronic acid grafts promote healing and reduce scar formation in skin incision wounds. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 67:586-592.
- Huang-Lee LL, Wu JH, Nimni ME (1994) Effects of hyaluronan on collagen fibrillar matrix contraction by fibroblasts. *J Biomed Mater Res* 28:123-132.
- King SR, Hickerson WL, Proctor KG (1991) Beneficial actions of exogenous hyaluronic acid on wound healing. *Surgery* 109:76-84.
- Li G, Feghali JG, Dinces E, McElveen J, Van De Water TR (2001) Evaluation of esterified hyaluronic acid as middle ear-packing material. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 127:534-539.
- Longaker MT, Adzick NS (1991) The biology of fetal wound healing: a review. *Plast Reconstr Surg* 87:788-798.
- Longaker MT, Chiu ES, Adzick NS, Stern M, Harrison MR, Stern R (1991) Studies in fetal wound healing. V. A prolonged presence of hyaluronic acid characterizes fetal wound fluid. *Ann Surg* 213:292-296.
- Mast BA, Flood LC, Haynes JH, DePalma RL, Cohen IK, Diegelmann RF, Krummel TM (1991) Hyaluronic acid is a major component of the matrix of fetal rabbit skin and wounds: implications for healing by regeneration. *Matrix* 11:63-68.
- Miller RS, Steward DL, Tami TA, Sillars MJ, Seiden AM, Shete M, Paskowski C, Welge J (2003) The clinical effects of hyaluronic acid ester nasal dressing (Merogel) on intranasal wound healing after functional endoscopic sinus surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 128:862-869.
- Miyauchi S, Iwata S (1986) Evaluations on the usefulness of viscous agents in anterior segment surgery. I. The ability to maintain the deepness of the anterior chamber. *J Ocul Pharmacol* 2:267-274.
- Parsons M, Kessler E, Laurent GJ, Brown RA, Bishop JE (1999) Mechanical load enhances procollagen processing in dermal fibroblasts by regulating levels of procollagen C-proteinase. *Exp Cell Res* 252:319-331.
- Pawlak AS, Hammond T, Hammond E, Gray SD (1996) Immunocytochemical study of proteoglycans in vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 105:6-11.
- Petreaca M., Martins-Green M (2008) Cell-ECM interactions in repair and regeneration. In: *Principles of Regenerative Medicine* (Atala A et al, eds), pp 66-99. Academic Press, Elsevier.

- Peyron JG (1993a) A new approach to the treatment of osteoarthritis: viscosupplementation. *Osteoarthritis Cartilage* 1:85-87.
- Peyron JG (1993b) Intraarticular hyaluronan injections in the treatment of osteoarthritis: state-of-the-art review. *J Rheumatol Suppl* 39:10-15.
- Pollack S (1999) Some new injectable dermal filler materials: Hylaform, Restylane, and Artecoll. *J Cutan Med Surg* 3 Suppl 4:S27-S35.
- Rogerson AR, Clark KF, Bandi SR, Bane B (1996) Voice and healing after vocal fold epithelium removal by CO2 laser vs. microlaryngeal stripping. *Otolaryngol Head Neck Surg* 115:352-359.
- Rooney P, Kumar S (1993) Inverse relationship between hyaluronan and collagens in development and angiogenesis. *Differentiation* 54:1-9.
- Rosen CA (2000) Vocal fold scar: evaluation and treatment. *Otolaryngol Clin North Am* 33:1081-1086.
- Rousseau B, Hirano S, Chan RW, Welham NV, Thibeault SL, Ford CN, Bless DM (2004a) Characterization of chronic vocal fold scarring in a rabbit model. *J Voice* 18:116-124.
- Rousseau B, Hirano S, Scheidt TD, Welham NV, Thibeault SL, Chan RW, Bless DM (2003) Characterization of vocal fold scarring in a canine model. *Laryngoscope* 113:620-627.
- Rousseau B, Sohn J, Montequin DW, Tateya I, Bless DM (2004b) Functional outcomes of reduced hyaluronan in acute vocal fold scar. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 113:767-776.
- Rydell N (1970) Decreased granulation tissue reaction after installment of hyaluronic acid. *Acta Orthop Scand* 41:307-311.
- Savani R et al (2000) The role of hyaluronan receptor interactions in wound repair. In: *Scarless wound healing* pp 115-137. New York: Marcel Dekker.
- Thibeault SL, Gray SD, Bless DM, Chan RW, Ford CN (2002) Histologic and rheologic characterization of vocal fold scarring. *J Voice* 16:96-104.
- Thibeault SL, Rousseau B, Welham NV, Hirano S, Bless DM (2004) Hyaluronan levels in acute vocal fold scar. *Laryngoscope* 114:760-764.
- Titze IR (1994) Mechanical stress in phonation. *J Voice* 8:99-105.
- Toole BP (1998) Hyaluronan in morphogenesis and tissue remodeling. [www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan](http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan)
- Uloza V (1999) Effects on voice by endolaryngeal microsurgery. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 256:312-315.
- Ward PD, Thibeault SL, Gray SD (2002) Hyaluronic acid: its role in voice. *J Voice* 16:303-309.

Weigel PH, Fuller GM, LeBoeuf RD (1986) A model for the role of hyaluronic acid and fibrin in the early events during the inflammatory response and wound healing. *J Theor Biol* 119:219-234.

Woo P, Casper J, Colton R, Brewer D (1994) Aerodynamic and stroboscopic findings before and after microlaryngeal phonosurgery. *J Voice* 8:186-194.

Woodson G (2006) History of professional voice care. In: *The Performer's voice* (Benninger MS, Murry T, eds), pp 7-13. San Diego, Oxford: Plural Publishing.

Zeitels SM, Healy GB (2003) Laryngology and phonosurgery. *The New England Journal of Medicine* 349:882-892.

Zeitels SM, Hillman RE, Desloge R, Mauri M, Doyle PB (2002) Phonomicrosurgery in singers and performing artists: treatment outcomes, management theories, and future directions. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 190:21-40.

# Chapitre V

## L'évaluation fonctionnelle

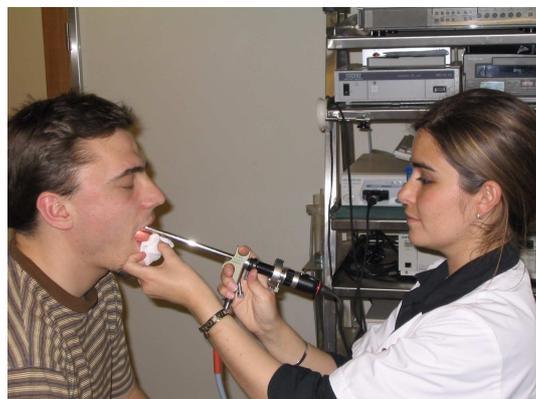
Nous présentons dans ce chapitre les évaluations et mesures que nous avons utilisées afin d'évaluer les résultats fonctionnels, à la fois laryngés et vocaux, obtenus après microchirurgie cordale chez les patients enrôlés dans les 2 études cliniques décrites au chapitre VI.

Les pathologies cordales bénignes détériorent la capacité du vibrateur laryngé à transformer l'énergie aérodynamique en énergie acoustique. Plusieurs dimensions des caractéristiques phonatoires et vocales s'altèrent. Une étude multiparamétrique, à la fois vidéostroboscopique, acoustique et aérodynamique, est nécessaire à l'évaluation de la détérioration fonctionnelle et à son amélioration postopératoire.

### 1. L'examen laryngé

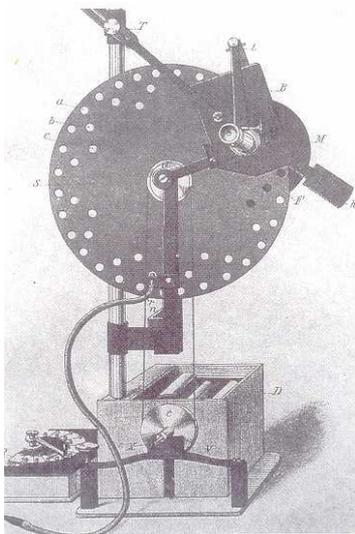
L'examen laryngé est un élément capital : l'observation visuelle des cordes vocales fournit le diagnostic lésionnel, par l'observation morphologique et dynamique des cordes vocales.

L'observation laryngée est réalisée le plus souvent par voie buccale et à l'aide d'une optique rigide.



Outre le caractère grossissant de l'optique, un enregistrement vidéo est réalisé à chaque examen. La visualisation de la vibration cordale est indispensable. Or, le rythme oscillatoire cordal est élevé et n'est donc pas perceptible à l'oeil nu en raison de la rémanence rétinienne : les images persistent 0.2 seconde sur la rétine humaine et donc, tout phénomène oscillatoire possédant une fréquence supérieure à 5 cycles/sec donnera l'impression d'une absence de mouvement. C'est Oertel (Oertel MJ, 1895) en 1878 qui, le premier, utilisa la stroboscopie (stroboscope (de *στρόβος*, *tourbillon*, *tournoiement*, et *σκοπέω*, *j'observe*, *j'examine*) afin d'observer la vibration cordale.

Son stroboscope comprenait un disque percé de trous permettant l'interruption itérative d'une source lumineuse continue.

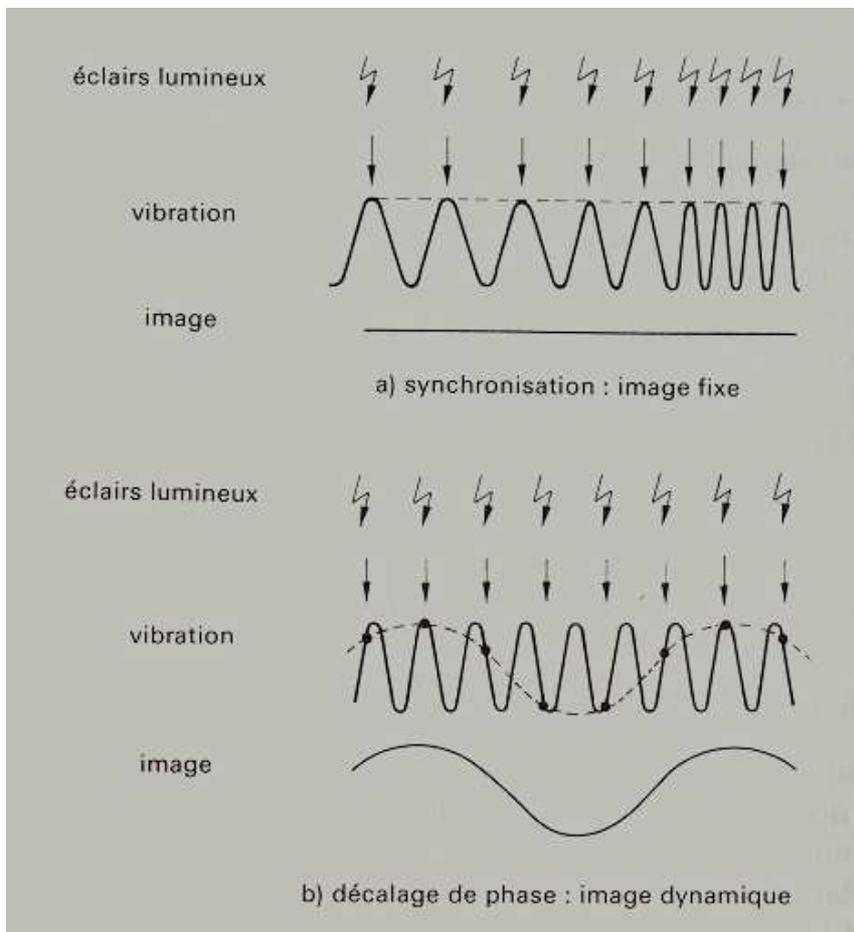


Le premier stroboscope, mis au point par Oertel, 1878

Le principe de la stroboscopie est d'utiliser une lumière discontinue, en « flashes », qui illumine de manière itérative les cordes vocales en oscillation. Le déphasage entre la fréquence des flashes et de l'oscillation cordale, permet de visualiser un moment différent du cycle grâce à l'illumination par la lumière stroboscopique. La position cordale visualisée par le premier flash ne sera à nouveau observée qu'après un nombre de flashes équivalent à la fréquence de ceux-ci. Les images captées sur plusieurs cycles sont fusionnées sur la rétine de l'examineur, nous fournissant alors un film au ralenti de l'oscillation cordale (Shohet et al., 1996). La fréquence apparente du mouvement observé est égale à la différence entre la fréquence de l'oscillation cordale et la fréquence du flash (Baken R, 1987). Si la fréquence

des flashes est identique à la fréquence vibratoire des cordes vocales, l'observateur aura l'illusion d'une absence de mouvement.

La stroboscopie est donc une illusion d'optique qui est très performante pour l'observation de phénomènes oscillatoires réguliers (Guerrier, 2004).



### Principe de l'observation stroboscopique

Actuellement, la stroboscopie est l'outil clinique de choix pour l'observation de la vibration cordale et est l'indispensable instrument du diagnostic clinique des pathologies cordales. Dans notre département, nous avons utilisé jusque très récemment une lumière stroboscopique vraie ( laryngostroboscope Wolff 5052) couplée à une caméra Olympus Visera OTV-57 permettant l'archivage sur cassettes VHS des examens vidéo-stroboscopiques obtenus. Un matériel plus récent est constitué d'une caméra à « shutter » : la lumière est continue mais la caméra digitale ouvre et ferme son objectif afin de réaliser une captation

stroboscopique du mouvement cordal (caméra digitale Xion EndoStrob, couplée au logiciel d'acquisition et de stockage informatique Xion DiVas).

La stroboscopie permet d'observer le mouvement non-uniforme (Hollien et al., 1968;Titze, 1994b) propre à la vibration cordale : le mouvement est complexe, associant un mouvement d'écartement/rapprochement du bord libre et une ondulation muqueuse de surface.

L'amplitude de l'ondulation muqueuse et du mouvement latéral, la régularité et la symétrie du mouvement oscillatoire ainsi que la qualité de la fermeture glottique sont évalués.

#### a.. *L'ondulation muqueuse*

L'ondulation muqueuse est, à nos yeux, la caractéristique stroboscopique la plus importante. Elle ne peut exister que si la couverture cordale possède des caractéristiques biomécaniques favorables : elle est représentative du caractère souple et plus ou moins épais de l'espace de Reinke (Hirano, 1974).

Chez le sujet sain, l'ondulation muqueuse est influencée par :

- le sexe : les hommes possèdent une couverture cordale plus épaisse (Butler et al., 2001) ainsi qu'une registration caractérisée par moins de tension longitudinale cordale ; leur ondulation muqueuse est en moyenne, pour ces raisons, plus ample que chez les femmes.

- la fréquence émise et le registre : plus le son est aigu, moins l'ondulation muqueuse est ample. En registre de tête, l'ondulation muqueuse n'est plus visible (Hirano, 1974).

- l'intensité et la pression sous-glottique : une intensité et une pression sous-glottique accrues, augmentent l'ampleur de l'ondulation muqueuse observée (Sataloff et al., 1991).

Chez le sujet atteint d'une pathologie cordale bénigne, l'occupation ou la destruction de l'espace de Reinke entraîne une diminution de l'ondulation muqueuse au niveau de la lésion (voir chapitre III).

Une disparition complète de l'ondulation muqueuse n'est pas rare en cas de cicatrice cordale, de vergeture, de kyste intracordal. Selon certains auteurs, la diminution ou la disparition de l'ondulation muqueuse est un signe accompagnant 100% des cas de kystes intracordaux (Shohet et al., 1996).

En cas de vergeture ou de sulcus, la persistance d'une ondulation muqueuse observable à la face supérieure de la corde vocale atteinte influence le type de microchirurgie cordale pratiquée. Chez ces patients, nous proposons éventuellement une injection intracordale

comme celles que nous pratiquons en cas de paralysie cordale. Dans les cas plus sévères de vergeture, où nous n'observons pas d'ondulation muqueuse résiduelle, nous proposons le plus souvent une microchirurgie de résection de l'épithélium adhérent et d'implantation d'acide hyaluronique estérifié telle que nous l'avons décrite dans le chapitre IV de ce mémoire. Dans de nombreux cas de nodules, l'observation attentive du mode vibratoire lésionnel permet de suspecter s'il existe sous la lésion, un volume résiduel d'espace de Reinke sain (Zeitels et al., 2002). Ceci a une grande importance dans le résultat fonctionnel post-opératoire que l'on peut espérer. L'existence d'une ondulation muqueuse ample après une microchirurgie cordale est essentielle à l'obtention d'un résultat vocal satisfaisant (Zeitels et al., 2002; Woo et al., 1994).

L'évaluation de l'ondulation muqueuse chez les patients souffrant d'œdème de Reinke est difficile. L'œdème est une pathologie souple, caractérisée par une augmentation volumique importante de la matrice extracellulaire de la couche superficielle de la lamina propria, mais l'augmentation de la masse cordale est telle que l'observation d'une ondulation muqueuse « normale » est assez peu fréquente. On observe un refoulement de la lésion à la face supérieure de la corde et l'ondulation ne se transmet pas normalement à la face supérieure. Au contraire, la corde atteinte peut même apparaître rigide : l'ondulation est réduite, voire absente (Thibeault et al., 2002; Zeitels et al., 1997).

#### b. *Le mouvement latéral vibratoire*

Le mouvement latéral vibratoire est le déplacement du bord libre de la corde vocale vers et à l'opposé de la ligne médiane, durant le cycle vibratoire. Sa symétrie et son ampleur sont observées.

Chez le sujet sain, l'ampleur de l'excursion du bord libre correspond au tiers ou à la moitié de la face supérieure de la corde vocale (Potsma GN, 1998). Comme pour l'ondulation muqueuse, une augmentation de fréquence réduit l'ampleur de l'excursion du bord libre. Et de même, un son plus intense est associé à une augmentation de l'amplitude de l'excursion du bord libre.

En cas de pathologie cordale bénigne, une rigidité ou une masses tissulaires augmentées réduisent l'ampleur du mouvement latéral (Potsma GN, 1998).

L'altération de l'ampleur du mouvement latéral est beaucoup moins performante que l'altération de l'ondulation muqueuse de surface dans le diagnostic différentiel entre une lésion intracordale et une autre lésion cordale bénigne (Shohet et al., 1996).

L'asymétrie du mouvement latéral est déterminée, en cas de pathologie vocale, par une asymétrie des caractéristiques biomécaniques cordales : masse, rigidité ou viscosité asymétriques, essentiellement au sein de la couverture cordale, déterminent une asymétrie vibratoire qui peut affecter la phase comme l'ampleur du mouvement observé (Guerrier, 2004;Potsma GN, 1998).

La régularité du mouvement vibratoire est évaluée lorsque la fréquence des flashes stroboscopiques est parfaitement synchronisée avec la fréquence vibratoire cordale. Une vibration instable, aperiodique peut être observée en cas d'inadéquation entre la tension du corps cordal et la pression sous-glottique (Guerrier, 2004;Potsma GN, 1998). Elle est donc fréquemment observée, tant en cas de dysphonie fonctionnelle qu'en cas de lésion cordale bénigne. Elle est une caractéristique bien connue des parésies et paralysies des muscles intrinsèques laryngés. Elle est citée ici pour rappel, car nous n'utiliserons pas cette caractéristique stroboscopique dans l'évaluation comparative de nos patients : elle ne constitue pas un critère pertinent dans ce travail car elle n'influence ni le diagnostic ni le type d'intervention microchirurgicale pratiquée.

### *c. La fermeture glottique*

La qualité de la fermeture glottique est essentielle à l'efficacité de la transformation de l'énergie aérodynamique en énergie acoustique par le vibreur laryngé (Potsma GN, 1998;Titze, 1994a).

L'évaluation de la fermeture glottique se réalise à intensité normale et sur la fréquence fondamentale (F0) (Shohet et al., 1996).

Chez le sujet sain, la fermeture glottique est influencée par le sexe, le registre utilisé et l'intensité émise (Guerrier, 2004;Sabol et al., 1995;Titze, 1994a) :

- Les hommes ferment habituellement parfaitement la glotte en phonation, alors que 70% des femmes fonctionnent avec un déficit d'accolement postérieur entre les apophyses vocales (Potsma GN, 1998;Sabol et al., 1995).
- En voix de fausset, la fermeture glottique est nulle.
- Si l'intensité augmente, la durée de l'accolement cordal augmente.

Chez le sujet porteur d'une pathologie cordale bénigne, la fermeture glottique diminue soit parce que la lésion saillante déforme le bord libre (c'est le cas des nodules, polypes,

pseudokystes et œdèmes), soit parce que la lésion enraidit et « bride » le bord libre cordal qui apparaîtrait concave ou encoché (c'est le cas des sulci, vergetures et cicatrices cordales).

Le déficit d'accolement est appelé communément « coulage », et son aspect peut être ovalaire, longitudinal, postérieur, ou dessiner un aspect en sablier (Potsma GN, 1998).

#### d. *Notre protocole d'évaluation stroboscopique*

La fermeture glottique, l'ondulation muqueuse, l'amplitude vibratoire, la régularité et la symétrie sont évaluées sur une échelle analogique. Le formulaire d'évaluation (annexe 4) est identique à celui utilisé par le département de phoniatry de l'Université d'Utrecht (Dejonckere et al., 1998a).

Dans ce mémoire, nous nous sommes focalisés sur 3 paramètres : l'amplitude vibratoire, l'ondulation muqueuse, la fermeture glottique.

L'échelle est bipolaire pour l'amplitude vibratoire : elle est normale au centre de l'échelle, diminuée à gauche et augmentée à droite tandis qu'elle est monopolaire pour l'ondulation muqueuse qui est normale à l'extrémité gauche, absente si à l'extrémité droite. L'échelle est également monopolaire en ce qui concerne la fermeture glottique, qui est complète à droite et absente à gauche.

Les évaluations sont réalisées de manière collégiale par un ou deux laryngologues (dont l'un est le microchirurgien) et la logopède orthophoniste.

L'évaluation quantitative des paramètres stroboscopiques via ce protocole, montre qu'un même évaluateur évalue de manière très reproductible chacun des paramètres (Dejonckere et al., 1998a). Le degré de reproductibilité ou de concordance entre différents évaluateurs est élevé pour les paramètres utilisés dans ce mémoire, à savoir l'ondulation muqueuse, l'amplitude vibratoire et la fermeture glottique (Dejonckere et al., 1998a).

## 2. L'évaluation perceptuelle de la voix

Le meilleur instrument d'évaluation rapide et holistique de la qualité d'une voix est l'oreille. Dès la salle d'attente, les premiers mots émis par le patient renseignent le phoniatre, de manière quasi instantanée, sur l'ampleur de l'altération fonctionnelle de la voix.

La qualité vocale perçue associée à l'observation stroboscopique des cordes vocales pathologiques permet au microchirurgien de décider le type d'intervention microchirurgicale à réaliser et de définir les progrès fonctionnels importants à atteindre.

L'évaluation perceptuelle, bien que subjective, est très sensible même à une discrète altération vocale. Nous ne la limitons pas à la seule écoute de la voix conversationnelle : la voix murmurée, la voix projetée, la voix chantée, l'émission de notes dans différents registres ou de sons en « forte » ou en « pianissimo », les sirènes, sont écoutées selon les besoins.

L'évaluation subjective est à nos yeux importante, et cette opinion est partagée par l'ensemble des auteurs consultés. La méthode et les sons évalués sont extrêmement variables d'un clinicien à l'autre (Bastian RW, 1998;Uloza, 1999;Zeitels et al., 2002;Zeitels et al., 1997;Woo et al., 1994). Certains, comme Bastian (Bastian RW, 1998), pensent que l'évaluation perceptuelle permet, et contrairement aux tests dits « objectifs », de se forger une opinion solide sur la ou les altérations vocales. Nous partageons cette opinion, les mesures objectives décrites plus loin dans ce chapitre nous permettent de quantifier certains paramètres vocaux (et donc dans une certaine mesure de monitoriser l'évolution vocale), mais elles ne possèdent aucun poids diagnostique ni ne modifient aucunement l'attitude thérapeutique.

L'écoute attentive associée à une échelle d'évaluation perceptuelle (Woodson G, 1998) est la méthode que nous utilisons quotidiennement et que nous avons également appliquée aux cas décrits dans ce mémoire.

L'échelle d'évaluation perceptuelle est bien connue et a été développée par la Société Japonaise de Logopédie et de Phoniatrie : l'échelle GRBAS (Hirano M, 1981b) complétée du facteur I, introduit par Dejonckere (Morsomme D., 2001).

Cette échelle comprend 6 caractéristiques vocales

- ✚ Le grade (G) : l'importance de la dysphonie
- ✚ La raucité (R) : l'importance de l'irrégularité vocale
- ✚ Le souffle (B) : l'importance du souffle audible, par manque d'accolement glottique phonatoire

- ✚ L'asthénie (A) : l'importance de la faiblesse vocale, en terme d'intensité ou de timbre
- ✚ Le forçage (S) : l'importance du caractère hyperkinétique vocal
- ✚ Le caractère instable (I): l'importance de l'instabilité de l'émission vocale

Chaque caractéristique est évaluée comme :

- ✚ 0 : absente
- ✚ 1 : légère
- ✚ 2 : modérée
- ✚ 3 : sévère

L'évaluation est réalisée en fin de consultation, après avoir entendu le patient dans différentes tâches vocales comprenant des voyelles tenues, du langage spontané et de la lecture.

L'European Laryngological Society (ELS) propose de réaliser l'évaluation durant le discours spontané du patient (Dejonckere et al., 2001).

Nous avons utilisé l'ensemble des 6 caractéristiques de l'échelle GRBASI, mais d'autres auteurs se limitent éventuellement aux 3 caractéristiques G (grade), R (roughness), et B (breathiness) qui ont montré suffisamment de reproductibilité entre différents évaluateurs et entre différentes sessions d'évaluation (Dejonckere et al., 2001;De Bodt et al., 1997;Dejonckere et al., 1998b;Uloza, 1999;Hsiung et al., 2003).

Un sujet normal, non dysphonique, possède une cotation « zéro » pour chaque caractéristique de l'échelle GRBASI.

En cas de dysphonie, les valeurs de chaque caractéristique augmentent en fonction du type et de l'ampleur de l'altération vocale (Uloza, 1999;Hsiung et al., 2003).

La microchirurgie cordale a pour but d'améliorer la voix. Lors d'évaluations post-opératoires, une diminution de la valeur des variables du GRBASI est effectivement observée (Hsiung et al., 2003;Uloza, 1999).

### 3. L'analyse acoustique

Bien que l'analyse acoustique ne joue aucun rôle dans le diagnostic lésionnel ni dans la décision opératoire, elle nous paraît indispensable à l'évaluation du changement vocal obtenu après la réalisation d'une microchirurgie cordale.

Nous savons que la fiabilité des mesures acoustiques dans l'évaluation des dysphonies peut être contestée en raison du caractère apériodique de la voix pathologique et des mécanismes d'effort vocal associés à celle-ci (Potsma GN, 1998) mais nous pensons qu'un résultat thérapeutique ne peut être évalué sur de seuls critères subjectifs (Dejonckere et al., 2001).

De très nombreux paramètres peuvent être mesurés : 250 d'entre eux ont été dénombrés en 2000 (Buder EH, 2000). Nous n'avons pris en compte que certains d'entre eux : nous avons évalué la fréquence fondamentale F0, la stabilité fréquentielle, la stabilité de l'intensité ainsi que le rapport signal-bruit. Ces mesures sont considérées par l'European Laryngological Society comme les plus fiables (Dejonckere et al., 2001).

Ces mesures objectives sont réalisables en activité clinique courante grâce à un logiciel spécialement développé à cet usage clinique : le logiciel Multi Dimensional Voice Program (MDVP) de Kay Elemetrics.

Les mesures sont réalisées sur un segment de 3 secondes d'un « a » tenu. Trois émissions successives sont réalisées.

Certaines mesures objectives peuvent être corrélées avec des caractéristiques vocales subjectives de l'échelle GRBASI (Guerrier, 2004;Dejonckere et al., 2001) : la raucité est corrélée avec la stabilité de la vibration et donc de la fréquence (Baken R, 1987;Lieberman P, 1963), le souffle avec le rapport signal-bruit, l'asthénie avec l'intensité, et le forçage avec une F0 augmentée.

## ***1° La fréquence fondamentale F0***

La fréquence fondamentale moyenne est calculée à partir de la valeur de la période moyenne du cycle.

$$F_0 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N F_0^{(i)},$$

where:  $F_0^{(i)} = \frac{1}{T_0^{(i)}}$  - period-to-period fundamental frequency,

$T_0^{(i)}$ ,  $i=1,2,\dots,N$  - extracted pitch period data,

$N = PER$  - number of extracted pitch periods.

La fréquence la plus basse ainsi que la fréquence la plus aiguë enregistrées lors de l'émission du « a » tenu, sont également mesurées.

Pour être valides, ces mesures nécessitent un signal périodique. Elles sont nécessaires aux mesures de stabilité fréquentielle décrites plus loin.

## ***2° Les mesures de stabilité fréquentielle***

Ces mesures de stabilité sont corrélées avec la raucité et donc avec les indices G et R de l'échelle d'évaluation perceptuelle.

### *a. La perturbation à court terme : le jitter*

Le jitter est la variation de la période du cycle vibratoire, mesurée d'un cycle à l'autre (autrement dit, cycle-à-cycle).

Chez le sujet sain, cette variation cyclique est physiologique et inévitable en raison de petites irrégularités mécaniques, tissulaires et fonctionnelles (force et pression légèrement différentes d'un cycle à l'autre, par exemple).

Le jitter est qualifié de « mesure de perturbation à court terme », de la période du cycle. Le terme « perturbation » fait référence à une irrégularité minime du phénomène étudié.

« A court terme » fait référence à la comparaison réalisée d'un cycle à l'autre.

La période vibratoire normale est d'environ 10 millisecondes chez un homme et de 5 millisecondes chez la femme. Le jitter absolu peut être mesuré en millisecondes et a au départ été défini comme étant le pourcentage des perturbations égales ou supérieures à 0.5 millisecondes (Baken R, 1987;Lieberman P, 1963).

Le jitter est plus grand si la période est plus longue (et donc si la fréquence de la voix est plus basse) (Baken R, 1987). Il est donc plus intéressant d'utiliser un jitter « relatif » en divisant la valeur moyenne de la perturbation par la période moyenne. C'est la méthode mathématique que nous avons utilisée.

$$Jitt = \frac{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^{N-1} |T_o^{(i)} - T_o^{(i+1)}|}{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N T_o^{(i)}}$$

where:  $T_o^{(i)}$ ,  $i=1,2...N$  - extracted pitch period data,  
 $N = PER$  - number of extracted pitch periods.

Il convient de souligner que les méthodes de mesure et les modes de calcul du jitter sont multiples et de plus, variables d'un logiciel à l'autre. Un même échantillon vocal peut donc fournir des valeurs de jitter différentes en fonction du logiciel utilisé (Guerrier, 2004). Le jitter varie aussi, chez un même sujet, d'une émission vocale à l'autre, au cours d'une même séance d'acquisition et d'enregistrement. Pour toutes ces raisons, et malgré les nombreuses recherches réalisées sur le jitter, il nous paraît dangereux d'utiliser des normes de valeur de jitter.

Chez le sujet sain, le jitter est plus élevé à l'attaque sonore et en fin de tenue vocalique (Horii, 1979;Lieberman P, 1961) ; il augmente aussi avec l'intensité (Baken R, 1987). Une variation avec le type de voyelle émise est possible mais n'est pas confirmée (Baken R, 1987) : la voyelle « a » aurait un jitter plus élevé. Les femmes possèderaient un indice de jitter plus élevé que les hommes (Sorensen and Horii, 1983).

***Chez le sujet atteint de pathologie cordale, le jitter augmente*** en raison d'une instabilité vibratoire cordale plus grande, et est corrélé avec la raucité subjectivement audible (Baken R, 1987;Lieberman P, 1963).

***La microchirurgie cordale, en améliorant les caractéristiques tissulaires cordales, peut améliorer la stabilité vibratoire et donc réduire le jitter enregistré.*** Cette diminution peut être statistiquement significative (Uloza, 1999) ou non (Hsiung et al., 2003;Zeitels et al., 2002;Zeitels et al., 1997) .

*b. Les perturbations à moyen terme*

La fluctuation de F0 est susceptible de se manifester non pas de cycle à cycle, mais à plus long terme, soit sur la durée d'un phonème. Nous avons pris en considération l'étendue de fluctuation de la fréquence et l'écart-type de F0.

- ✚ L'étendue de la fluctuation de la fréquence est l'écart entre la fréquence la plus basse et la fréquence la plus élevée enregistrée, exprimé en demi-tons. L'échelle musicale en demi-tons est logarithmique. Il existe 12 demi-tons dans une octave (une octave correspond à un doublement de fréquence).
- ✚ L'écart-type de F0 (STD). La détermination de l'écart-type de F0 est également liée à la raucité subjectivement audible (Woodson et al., 1996;Woodson G, 1998).

$$STD = \sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (F_0 - F_0^{(i)})^2}$$

where:  $F_0 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N F_0^{(i)}$ ,  $F_0^{(i)} = \frac{1}{T_0^{(i)}}$  - period-to-period fundamental frequency values,  $T_0^{(i)}$ ,  $i = 1, 2, \dots, N$  - extracted pitch period data,  $N$  - number of extracted pitch periods.

***3• La mesure de stabilité de l'intensité : le shimmer***

Le shimmer est la mesure de stabilité de l'intensité et correspond donc à la mesure du jitter réalisée pour l'évaluation de la stabilité fréquentielle.

Le shimmer est une mesure de perturbation à court terme de l'amplitude du cycle vibratoire : c'est la différence d'amplitude de cycle à cycle.

$$Shim = \frac{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^{N-1} |A^{(i)} - A^{(i+1)}|}{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N A^{(i)}}$$

where:  $A^{(i)}$ ,  $i=1,2...N$  - extracted peak-to-peak amplitude data,  
 $N$  - number of extracted impulses.

Comme pour le jitter, nous avons choisi une mesure relative : le shimmer %.

Il est défini comme la fluctuation moyenne de l'amplitude du cycle rapporté à l'amplitude moyenne du cycle vibratoire. Tout comme le jitter, sa mesure et son mode de calcul sont différents d'un logiciel à l'autre (Guerrier, 2004).

Chez le sujet sain, le shimmer (dB) est plus élevé chez les hommes sur les voyelles « i » et « u », mais pas sur la voyelle « a » (Baken R, 1987;Sorensen and Horii, 1983).

*Chez le sujet atteint d'une lésion bénigne cordale, le shimmer augmente* pour la même raison que celle évoquée pour l'augmentation du jitter : l'instabilité vibratoire est augmentée par la pathologie cordale (Dejonckere et al., 2001;Guerrier, 2004).

*Après microchirurgie cordale, une diminution significative du shimmer est observée* (Hsiung et al., 2003;Uloza, 1999;Zeitels et al., 2002;Zeitels et al., 1997)

#### **4° Le rapport signal-bruit**

Chez un locuteur sain, du bruit (phénomène non périodique) est associé à la fourniture harmonique. Ce niveau de bruit « normal » est, selon les auteurs à mettre en relation avec l'importance de la perturbation fréquentielle (Emanuel and Austin, 1981;Baken R, 1987). Lorsque la voix est rauque, le bruit s'intensifie et remplace la fourniture harmonique (Baken R, 1987;Isshiki et al., 1966) . Deux mesures permettent de quantifier le rapport entre l'énergie du bruit et l'énergie harmonique du signal : le rapport signal/bruit (ou bruit/signal : noise-to-harmonics ratio) et l'énergie normalisée du bruit (Baken R, 1987;Guerrier, 2004;Yumoto et al., 1982).

Nous avons utilisé le rapport entre l'énergie du bruit et l'énergie harmonique (ou noise-to-harmonics ratio) exprimé en dB (Baken R, 1987;Yumoto et al., 1982).

Chez le sujet sain, le rapport signal/bruit est identique dans les deux sexes (Baken R, 1987;Yumoto et al., 1982).

*Chez le sujet pathologique, le rapport bruit/signal augmente*, et ce dernier est corrélé avec la raucité observée sur le spectrogramme (corrélation de 0.849) (Baken R, 1987; Yumoto et al., 1982) ou subjectivement audible (corrélation de 0.809) (Baken R, 1987; Yumoto et al., 1984).

Une diminution de la raucité est un but fonctionnel important poursuivi par le microchirurgien, et une diminution du rapport bruit/signal est dès lors espérée. *Cette diminution du rapport bruit/signal a été observée après microchirurgie cordale* (Baken R, 1987; Hsiung et al., 2003; Uloza, 1999).

#### **4. L'évaluation de la fonction phonatoire**

L'amélioration fonctionnelle vocale qui est recherchée grâce à la réalisation d'un geste microchirurgical n'est pas seulement acoustique mais aussi aérodynamique. Il convient en effet d'améliorer la voix, mais aussi de réduire l'effort nécessaire à son émission.

L'amélioration du rendement aérodynamique laryngé est la clé d'une diminution de la fatigue vocale et de l'augmentation du confort vocal quotidien du patient.

Le temps maximum de phonation et les mesures aérodynamiques, constituées de l'estimation de la pression sous-glottique et de la mesure du débit moyen phonatoire sont les mesures que nous avons utilisées pour quantifier la modification postopératoire du rendement aérodynamique laryngé.

Toutes les mesures sont réalisées avec le pneumotachographe et le logiciel Aerophone II.

##### ***1° Le temps maximum de phonation***

Le temps maximum de phonation est une mesure simple à réaliser : c'est le temps maximum de tenue d'un « a » à intensité et fréquence spontanées confortables, après une inspiration maximum.

Il est enregistré et mesuré en même temps que le débit aérien moyen phonatoire.

Chez le sujet sain, le temps maximum de phonation est plus grand chez les hommes que chez les femmes en raison de leur plus grande capacité vitale. Il est compris entre 25 et 35 secondes chez l'homme, et entre 15 et 25 secondes chez la femme. Un temps maximum

inférieur à 10 secondes chez la femme, et à 15 secondes chez l'homme, est considéré comme anormal (Hirano M, 1981a).

En cas de lésion cordale bénigne, le temps maximum de phonation se réduit (Hirano M, 1981a)

***L'utilisation du temps maximum de phonation comme indicateur de l'efficacité d'un traitement microchirurgical a été rapportée*** dès 1977 (Hirano M, 1981a; Shigemori Y, 1977). Les résultats publiés ne sont pourtant pas univoques: ***une augmentation de la valeur du temps maximum phonatoire après microchirurgie cordale a été rapportée dans certaines séries*** (Hsiung et al., 2003; Zeitels et al., 2002), alors qu'il demeure parfois inchangé (Zeitels et al., 1997), ou même diminue (Woo et al., 1994).

## ***2° L'estimation de la pression sous-glottique phonatoire***

La pression sous-glottique en phonation est conditionnée par l'importance de la fermeture glottique, par la force expiratoire et par l'importance de la force nécessaire à la mise en oscillation des cordes vocales. La pression sous-glottique est corrélée à l'intensité du son émis (Woodson G, 1998) : chaque fois que la pression minimale nécessaire à l'entrée en oscillation des cordes vocales (« phonation threshold pressure ») est doublée, l'intensité augmente de 6dB (Titze, 1994a).

En voix parlée usuelle, la pression sous-glottique est comprise entre 5 et 10 cm d'H<sub>2</sub>O (Hirano M, 1981a).

Une élévation de la pression sous-glottique s'observe chez les patients atteints de pathologie cordale (Holmberg et al., 2003; Hirano M, 1981a; Zeitels et al., 1997). Cette élévation de pression sous-glottique est multiconditionnée :

-  d'une part, les modifications tissulaires cordales, en augmentant la masse et la rigidité cordales, rendent inévitable l'existence d'une pression sous-glottique plus élevée
-  d'autre part, le forçage compensatoire entraîne également une élévation de la pression sous-glottique.

L'estimation de la pression sous-glottique ne se pratique pas par une technique invasive telle qu'une ponction trachéale, mais par une mesure de pression intra-buccale par la méthode décrite par Smitheran et Hixon (Smitheran and Hixon, 1981) : la pression intra-buccale est

mesurée durant l'articulation de la syllabe /pi/ au rythme d'environ 1,5 syllabe par seconde. Lorsque les lèvres sont fermées (sur le « p »), les cordes vocales sont ouvertes et la pression intra-buccale est équivalente à la pression sous-glottique. Celle-ci se maintient ensuite lors de l'émission du « i ». La technique a été validée par une mesure concomitante de la pression intra-buccale et de la pression sous-glottique par ponction trachéale (Mchenry et al., 1995).

### ***3° Le débit moyen aérien phonatoire***

Le débit d'air réellement utilisé durant une tenue vocalique est aisément mesuré par un pneumotachographe monté sur un masque facial. L'appareil calcule le débit en mesurant la chute de pression induite par le passage de l'air au travers d'un filtre de résistance connue.

Le débit aérien moyen est situé autour de 200 ml/sec (Woodson G, 1998), mais les valeurs du débit aérien moyen en phonation manquent de normalisation : les valeurs obtenues chez des patients normaux et pathologiques peuvent éventuellement être du même ordre (Dejonckere et al., 2001).

Une élévation du débit aérien moyen s'observe en cas de déficit d'accolement glottique en phonation (Woodson G, 1998).

***La mesure du débit aérien moyen phonatoire est une mesure intéressante de l'efficacité du traitement microchirurgical des lésions cordales à condition de réaliser une évaluation longitudinale du patient : une diminution du débit est un critère d'amélioration fonctionnelle postopératoire*** (Dejonckere et al., 2001). Dans le domaine de la microchirurgie des lésions cordales bénignes, peu d'auteurs ont utilisé cette mesure, et les séries publiées n'ont pas montré de diminution statistiquement significative du débit aérien phonatoire après la microchirurgie cordale (Zeitels et al., 2002;Zeitels et al., 1997).

## 5. Les altérations observées en cas de pathologie cordale bénigne

Nous venons de décrire, pour chaque dimension vidéostroboscopique et acoustique, le sens de l'altération de la variable mesurée en présence d'une pathologie cordale bénigne altérant les caractéristiques biomécaniques du vibrateur laryngé. Nous les résumons ci-dessous.

Ondulation muqueuse : diminution

Amplitude du mouvement vibratoire : diminution

Fermeture glottique : diminution

GRBASI : augmentation

Jitter % : augmentation

Shimmer % : augmentation

Fluctuation F0 : augmentation

Ecart-type F0 : augmentation

Rapport bruit/harmonique : augmentation

Temps maximum de phonation : diminution

Pression sous-glottique : augmentation

Débit aérien moyen : augmentation

Une relation directe entre le grade de la pathologie et la valeur de la variable, existe pour les variables suivantes : le jitter %, la fluctuation de F0, l'écart-type de FO, le shimmer %, le rapport bruit/signal, la pression sous-glottique et le débit aérien moyen (Guerrier, 2004).

*Compte tenu des variations méthodologiques et du manque de normalisation de nombreuses de ces variables, nous évaluerons le résultat postopératoire obtenu chez chacun de nos patients, par l'évolution postopératoire de la valeur des paramètres étudiés.*

## Articles de référence

- Baken R (1987) Clinical measurement of speech and voice. Boston: College-Hill Press.
- Bastian RW (1998) Benign vocal fold mucosal disorders. In: Otolaryngology&Head Neck Surgery (Cummings FHKRS, ed), pp 2096-2129. St Louis, Missouri: Mosby,1998.
- Buder EH (2000) Acoustic analysis of voice quality: a tabulation of algorithms 1902-1990. pp 119-244. Singular, San Diego.
- Butler JE, Hammond TH, Gray SD (2001) Gender-related differences of hyaluronic acid distribution in the human vocal fold. *Laryngoscope* 111:907-911.
- De Bodt MS, Wuyts FL, Van de Heyning PH, Croux C (1997) Test-retest study of the GRBAS scale: influence of experience and professional background on perceptual rating of voice quality. *J Voice* 11:74-80.
- Dejonckere PH, Bradley P, Clemente P, Cornut G, Crevier-Buchman L, Friedrich G, Van De HP, Remacle M, Woisard V (2001) A basic protocol for functional assessment of voice pathology, especially for investigating the efficacy of (phonosurgical) treatments and evaluating new assessment techniques. Guideline elaborated by the Committee on Phoniatics of the European Laryngological Society (ELS). *Eur Arch Otorhinolaryngol* 258:77-82.
- Dejonckere PH, Crevier L, Elbaz E, Marraco M, Millet B, Remacle M, Woisard V (1998a) Quantitative rating of video-laryngostroboscopy: a reliability study. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord )* 119:259-260.
- Dejonckere PH, Remacle M, Fresnel-Elbaz E, Woisard V, Crevier L, Millet B (1998b) Reliability and clinical relevance of perceptual evaluation of pathological voices. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord )* 119:247-248.
- Emanuel FW, Austin D (1981) Identification of normal and abnormally rough vowels by spectral noise level measurements. *J Commun Disord* 14:75-85.
- GuerrierB., Giovanni A., Remacle M. eds (2004) Explorations. In: Pathologie de la corde vocale chez l'adulte : pp 41-113. Société Française d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie de la face et du cou.
- Hirano M (1981a) Examination of phonatory ability. In: Clinical examination of voice (Arnold WW, ed), pp 85-98. Wien, New York: Springer-Verlag.
- Hirano M (1981b) Psycho-acoustic evaluation of voice. In: Clinical examination of voice pp 81-84. Wien, New York: Springer-Verlag.
- Hirano M (1974) Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variations. *Folia Phoniatr (Basel)* 26:89-94.
- Hollien H, Coleman R, Moore P (1968) Stroboscopic laminagraphy of the larynx during phonation. *Acta Otolaryngol* 65:209-215.

Holmberg EB, Doyle P, Perkell JS, Hammarberg B, Hillman RE (2003) Aerodynamic and acoustic voice measurements of patients with vocal nodules: variation in baseline and changes across voice therapy. *J Voice* 17:269-282.

Horii Y (1979) Fundamental frequency perturbation observed in sustained phonation. *J Speech Hear Res* 22:5-19.

Hsiung MW, Lin YS, Su WF, Lee JC, Wang HW (2003) Fat augmentation following microsurgical removal of the vocal nodules: long-term results. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 65:169-175.

Isshiki N, Yanagihara N, Morimoto M (1966) Approach to the objective diagnosis of hoarseness. *Folia Phoniatr (Basel)* 18:393-400.

Lieberman P (1961) Perturbations in vocal pitch. *J Acoust Soc Am* 33:597-603.

Lieberman P (1963) Some acoustic measures of the fundamental periodicity of normal and pathological larynges. *J Acoust Soc Am* 35:344-353.

Mchenry M, Minton JT, Kuna ST, Vanoye CR, Roberts-Seibert NS (1995) Comparison of direct and indirect calculations of laryngeal airway resistance in various voicing conditions. *Eur J Disord Commun* 30:435-449.

Morsomme D. (2001) Contribution à la détermination de paramètres subjectifs et objectifs pour l'étude de la voix. Université Catholique de Louvain.

Oertel MJ (1895) Das laryngo-stroboskop und die laryngostroboskopische untersuchung.

Potsma GN et al (1998) The Professional Voice. In: *Otolaryngology & Head Neck Surgery* (Cummings et al, eds), pp 2055-2072. St Louis: Mosby.

Sabol JW, Lee L, Stemple JC (1995) The value of vocal function exercises in the practice regimen of singers. *J Voice* 9:27-36.

Sataloff RT, Spiegel JR, Hawkshaw MJ (1991) Stroboscovideolaryngoscopy: results and clinical value. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 100:725-727.

Shigemori Y (1977) Some tests related to the air usage during phonation. pp 138-166.

Shohet JA, Courey MS, Scott MA, Ossoff RH (1996) Value of videostroboscopic parameters in differentiating true vocal fold cysts from polyps. *Laryngoscope* 106:19-26.

Smitheran JR, Hixon TJ (1981) A clinical method for estimating laryngeal airway resistance during vowel production. *J Speech Hear Disord* 46:138-146.

Sorensen D, Horii Y (1983) Frequency and amplitude perturbation in the voices of female speakers. *J Commun Disord* 16:57-61.

Thibeault SL, Gray SD, Li W, Ford CN, Smith ME, Davis RK (2002) Genotypic and phenotypic expression of vocal fold polyps and Reinke's edema: a preliminary study *Ann Otol Rhinol Laryngol* 111:302-309.

Titze IR (1994a) Control of vocal intensity and efficiency. In: Principles of voice production pp 218-251. Englewood Cliffs,NJ: Prentice-Hall.

Titze IR (1994b) Vocal fold oscillation. In: Principles of voice production pp 80-111. Englewood Cliffs, NJ: Prentice- Hall.

Uloza V (1999) Effects on voice by endolaryngeal microsurgery. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 256:312-315.

Woo P, Casper J, Colton R, Brewer D (1994) Aerodynamic and stroboscopic findings before and after microlaryngeal phonosurgery. *J Voice* 8:186-194.

Woodson G (1998) Laryngeal and pharyngeal function. In: *Otolaryngology and Head Neck Surgery* (Cummings et al, eds), pp 1834-1894. St Louis, Missouri: Mosby.

Woodson GE, Rosen CA, Murry T, Madasu R, Wong F, Hengesteg A, Robbins KT (1996) Assessing vocal function after chemoradiation for advanced laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 122:858-864.

Yumoto E, Gould WJ, Baer T (1982) Harmonics-to-noise ratio as an index of the degree of hoarseness. *J Acoust Soc Am* 71:1544-1549.

Yumoto E, Sasaki Y, Okamura H (1984) Harmonics-to-noise ratio and psychophysical measurement of the degree of hoarseness. *J Speech Hear Res* 27:2-6.

Zeitels SM, Hillman RE, Bunting GW, Vaughn T (1997) Reinke's edema: phonatory mechanisms and management strategies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 106:533-543.

Zeitels SM, Hillman RE, Desloge R, Mauri M, Doyle PB (2002) Phonomicrosurgery in singers and performing artists: treatment outcomes, management theories, and future directions. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 190:21-40.

## Chapitre VI

### Les études originales

L'utilisation d'un implant résorbable d'acide hyaluronique estérifié en fin d'intervention microchirurgicale est une technique originale que nous avons développée depuis février 2003 et que nous continuons à pratiquer. Les arguments qui nous ont conduit à implanter de l'acide hyaluronique estérifié au sein de l'espace de Reinke de certaines cordes opérées, ont été longuement exposés précédemment (chapitre IV).

Les objectifs de ce travail sont d'évaluer le résultat fonctionnel laryngé et vocal obtenu chez les patients traités et de comparer leur évolution à celle de patients ayant subi une microchirurgie conventionnelle, c'est-à-dire sans implantation subséquente d'acide hyaluronique estérifié.

Dans ce chapitre sont décrits les résultats obtenus chez des patients opérés entre février 2003 et décembre 2006.

#### **Etude I :**

Les résultats obtenus chez les 11 premiers patients traités, constituant une étude pilote, ont été publiés : - **Finck C., Lefebvre P. « Implantation of Esterified Hyaluronic acid in Microdissected Reinke's space after Vocal Fold Microsurgery : First Clinical Experiences. » Laryngoscope 2005 ; 115 :1841-1847 (Finck and Lefebvre, 2005).**

- **Finck C., « Structure cordale et pathologies vocales. » Rev Laryngol Otol Rhinol.2005 ; 126, 5 :295-300 (Finck 2005)**

(annexes 1 et 2)

## **Etude II :**

Les résultats obtenus à court et à long terme chez 33 patients implantés sont comparés à ceux obtenus chez 50 patients non-implantés. Ces résultats sont soumis à publication: **Finck C., Harmegnies B., Remacle A., Lefebvre P. « Implantation of Esterified Hyaluronic Acid in Microdissected Reinke's Space after Vocal Microsurgery : a Controlled and Prospective Study of Laryngeal and Voice Evolution » (annexe 3)**

Les évaluations laryngées et vocales ainsi que les microchirurgies cordales des 83 patients ont toutes été réalisées par le premier auteur.

## **A. Méthodologie et résultats**

### ***Etude I***

***Implantation d'acide hyaluronique estérifié dans l'espace de Reinke lors du traitement microchirurgical d'une lésion cordale bénigne : étude pilote.***

**Finck C., Lefebvre P. « Implantation of Esterified Hyaluronic acid in Microdissected Reinke's space after Vocal Fold Microsurgery : First Clinical Experiences. » Laryngoscope 2005 ; 115 :1841-1847 (Finck and Lefebvre, 2005).**

### **Méthodologie**

#### ***Les patients***

11 patients (3 hommes et 8 femmes) atteints d'une lésion cordale bénigne bénéficient d'une microchirurgie cordale immédiatement suivie d'une implantation d'acide hyaluronique estérifié au sein de la plaie microchirurgicale. Les interventions microchirurgicales ont été pratiquées entre le 14/02/2003 et le 1/10/2004.

Le diagnostic lésionnel, le sexe, l'âge, les caractéristiques lésionnelles et l'utilisation éventuelle du laser CO2 lors de l'incision cordale sont décrits dans le tableau I.

#### ***L'intervention microchirurgicale***

Tous les patients ont bénéficié d'une anesthésie générale avec intubation laryngée (sonde d'intubation de taille 5.5 à 6.5). En laryngoscopie directe (laryngoscope Kleinsasser, Storz 8590C et 8590B), la microchirurgie est pratiquée au grossissement 25 ou 40 (microscope Leica M655). L'instrumentation de Bouchayer (Microfrance) est utilisée lors de la microchirurgie. Quelques patients bénéficient de l'incision cordale au laser CO2 Sharplan 40C.

Les techniques microchirurgicales ont été décrites au chapitre IV.

En peropératoire, chaque patient reçoit 125 mg de méthylprednisolone en intraveineux.

Le traitement médical postopératoire est constitué de méthylprednisolone à dose dégressive, clobutinol, paracétamol et amoxiclavulanate durant 8 jours. Un repos vocal strict de 8 jours est prescrit à tous les patients.

### ***Le bioimplant d'acide hyaluronique estérifié***

Le bioimplant constitué d'acide hyaluronique estérifié, les critères d'implantation et la technique d'implantation ont été décrits au chapitre IV.

### ***L'évaluation pré- et postopératoire***

Les patients bénéficient d'un examen ORL général et d'une exploration laryngée et vocale. Les techniques d'exploration ont été décrites au chapitre V.

Les patients de cette étude pilote n'ont pas pu bénéficier d'une exploration aérodynamique. Les modifications des paramètres vidéostroboscopiques et acoustiques par les pathologies cordales bénignes ont été décrites au chapitre V. Pour chaque patient, la modification post-opératoire de ces différents paramètres est évaluée.

#### **a) La vidéostroboscopie**

Les vidéostroboscopies sont enregistrées avec un endoscope rigide Wolff 70° 4450.47, un laryngostroboscope Wolff 5052, une camera Olympus Visera OTV-57 et un enregistreur VHS Panasonic AG-5700. Des impressions photographiques sont aussi réalisées pour chaque patient (vidéoprinter Sony UP 3000 P).

Une anesthésie locale pharyngée est réalisée avant chaque enregistrement (spray de xylocaïne à 10%).

L'enregistrement est pratiqué lors de l'émission d'un « i » à différentes hauteurs et intensités, ainsi qu'en phases de ventilation calme.

L'amplitude du déplacement du bord libre en oscillation, l'ampleur de l'ondulation muqueuse, l'importance de la fermeture glottique, l'existence d'une inflammation ou d'une déformation du bord libre sont évaluées. L'amplitude, l'ondulation muqueuse et la fermeture glottique sont évaluées sur une échelle analogique. Le formulaire d'évaluation

vidéostroboscopique est celui utilisé par le Service de Phoniatrie de l'Université d'Utrecht et mis au point par l'European Study Group on Voice Disorders (annexe 4).

Pour l'amplitude de la vibration, une échelle de 10 cm est utilisée. L'amplitude est normale si évaluée à 5, augmentée si supérieure à 5, diminuée si inférieure à 5.

Pour l'ampleur de l'ondulation muqueuse, une échelle de 10 cm est utilisée. L'ondulation est normale si évaluée à 10, diminuée si inférieure à 10. Une cotation zéro correspond à une absence complète d'ondulation muqueuse.

Pour la fermeture glottique, une échelle de 5 cm est utilisée. Elle est considérée comme complète si évaluée à 5, diminuée si inférieure à 5.

## b) L'évaluation vocale

L'acquisition des échantillons vocaux est réalisée dans une cabine insonorisée. Les enregistrements et les analyses sont pratiqués avec le Computerized Speech Lab de Kay Elemetrics sur le logiciel Mutidimensional Voice Program (« MDVP », modèle 4305, Kay Elemetrics Corp, Pinebrook, USA).

Trois « a » tenus et 2 textes standardisés (annexe 5) pour la langue française (Harmegnies B. et Landercy A., 1988) sont acquis lors de chaque consultation.

L'évaluation perceptuelle est réalisée sur l'échelle GRBASI.

Pour chaque tenue vocalique de 3 secondes, la fréquence fondamentale moyenne (F0), la fréquence la plus haute et la plus basse, l'écart-type de F0 (STD), la variation de F0 en demi-tons (PFR), le jitter%, le shimmer %, le rapport bruit/signal (NHR) sont mesurés. Pour chaque variable, une moyenne des valeurs obtenues lors des 3 émissions vocaliques est calculée.

C'est cette valeur moyenne qui est utilisée dans la présentation des résultats.

## Résultats

Les patients ont été évalués à plusieurs reprises après la microchirurgie et nous avons distingué 5 périodes d'évaluation postopératoire :

-  Evaluation précoce (Early PostOperative Evaluation, EPOE) : 1 à 2 semaines après la microchirurgie
-  Evaluation intermédiaire (Intermediate PostOperative Evaluation, IPOE): 3 à 4 semaines après la microchirurgie

- 📅 Evaluation tardive (Late PostOperative Evaluation, LPOE): 7 à 12 semaines après la microchirurgie
- 📅 Evaluation à long terme (Long Term PostOperative Evaluation, LTPOE): 15 à 38 semaines après la microchirurgie
- 📅 Evaluation à très long terme (Very Long Term PostOperative Evaluation, VLTPOE): entre 10 et 19 mois après la microchirurgie. Cette évaluation n'est disponible que chez 3 patients.

Il n'y a eu aucune complication majeure observée durant le suivi réalisé chez les 11 patients.

### *L'évaluation laryngée*

#### *a) aspect cordal postopératoire*

Au premier examen postopératoire (EPOE), 10 cas sur 11 sont caractérisés, en respiration calme, par un aspect non inflammatoire, lisse et bien hydraté de la corde vocale opérée. Cet aspect très favorable contraste avec l'aspect préopératoire particulièrement altéré observé chez les patients n°3 (hématome intracordal) et n°10 (vergeture cordale).

Un seul patient, le cas n°7 (œdème de Reinke), présente lors de ce premier contrôle postopératoire une inflammation de la corde vocale opérée, qui régresse sous traitement médical associant méthylprednisolone, aérosols humidifiants et repos vocal.

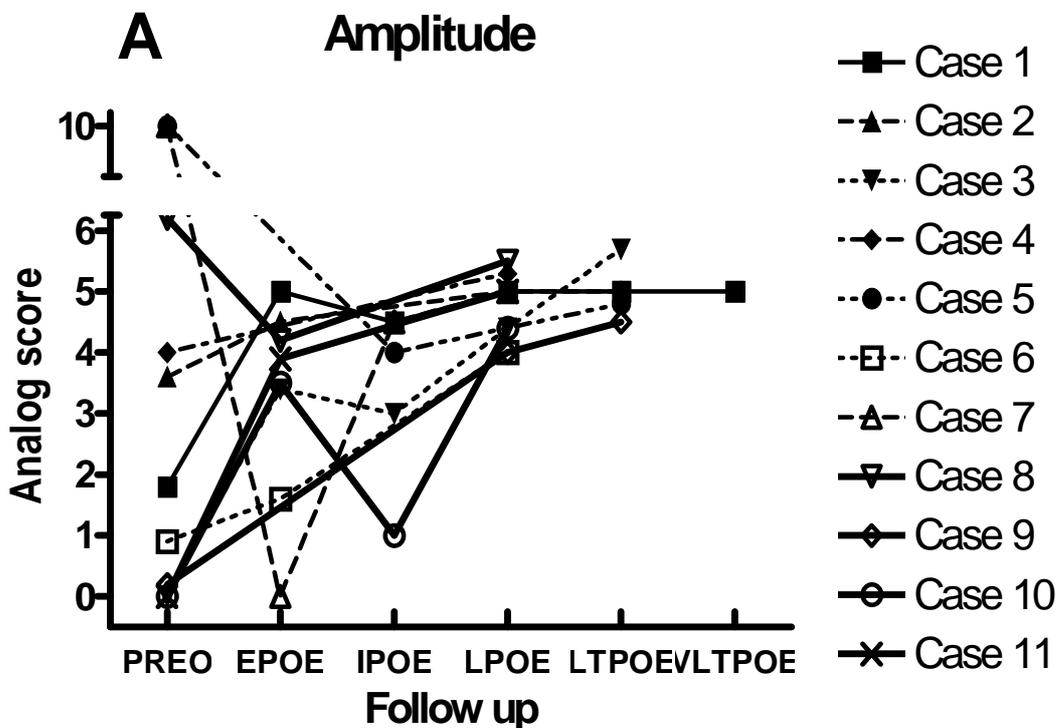
L'inflammation disparaît dans un délai de deux semaines et l'ondulation muqueuse s'améliore dès l'évaluation suivante pratiquée 3 semaines (IPOE) après la microchirurgie.

Une légère convexité de la corde opérée est observée chez les patients n° 1, 2, 3 et 10 lors du premier examen post-opératoire. Elle disparaît dans un délai postopératoire de 4 semaines chez les patients 1, 2 et 10. Le cas n°3 est caractérisé par la persistance d'une légère déformation du bord libre lors de l'examen postopératoire tardif (LPOE).

Une amélioration de la rectitude de la lèvre supérieure de la corde opérée est observée durant les premières semaines postopératoires chez le patient n°11 (kyste muqueux).

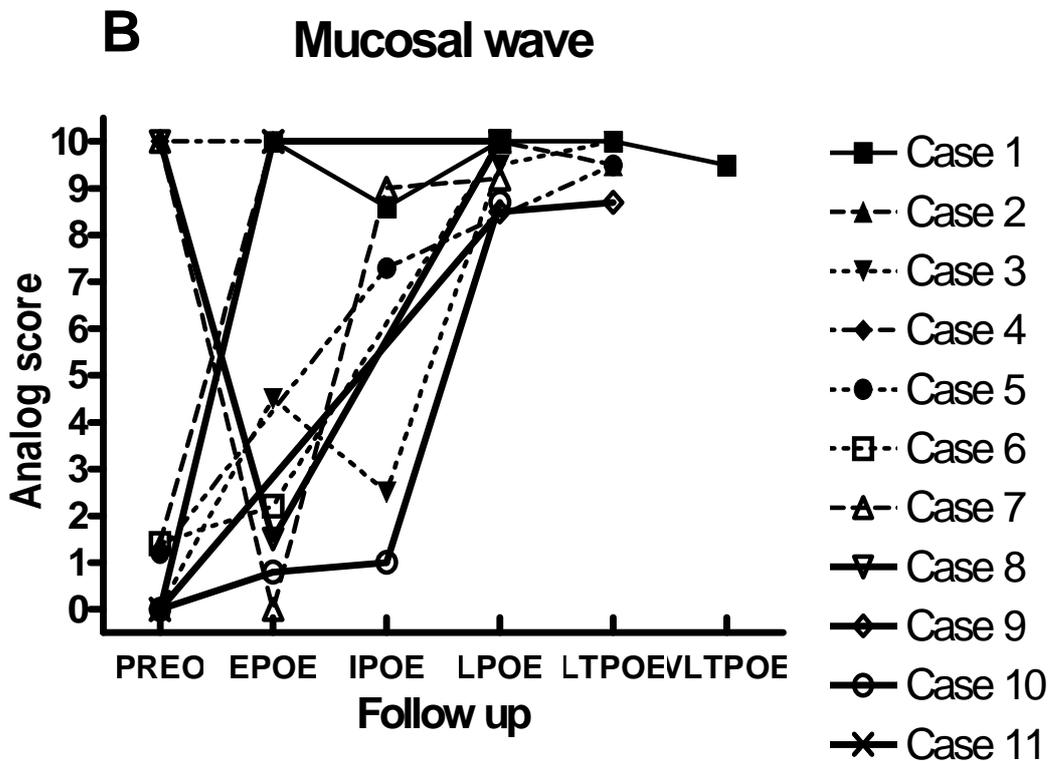
*b) évolution postopératoire des caractéristiques vidéostroboscopiques*

Trois graphiques montrent l'évolution de l'amplitude vibratoire (graphique A), de l'ondulation muqueuse (graphique B) et de la fermeture glottique phonatoire (graphique C).



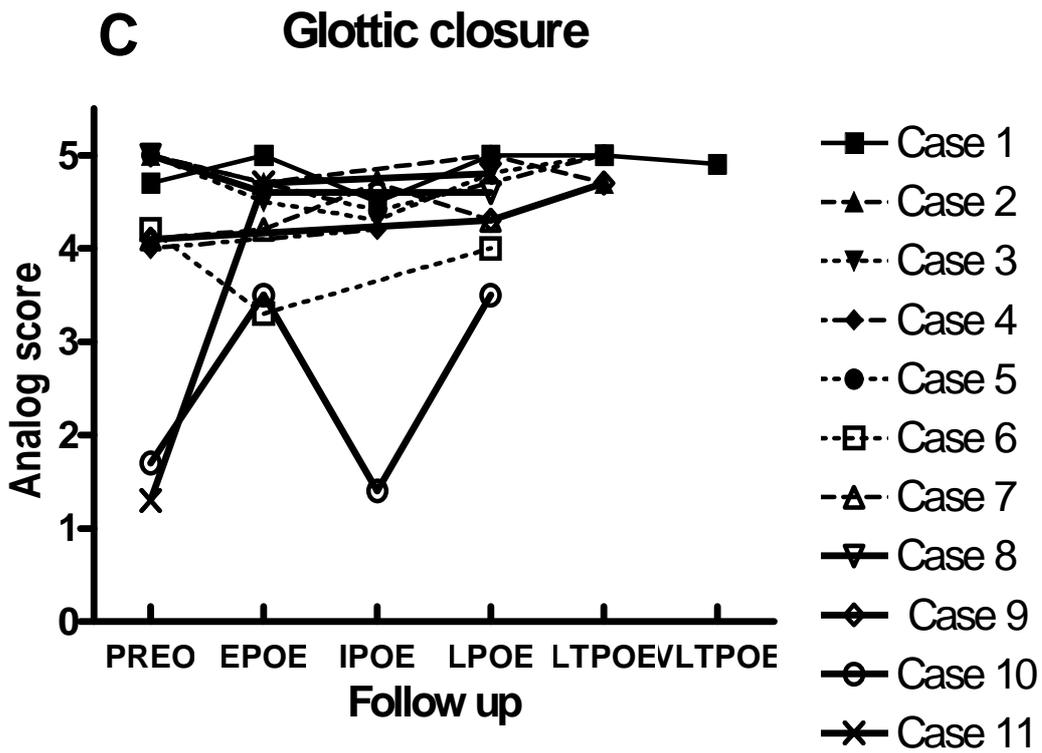
8 cas présentent une diminution préopératoire de l'amplitude vibratoire et améliorent leur amplitude lors des évaluations postopératoires. Cette amélioration est observée dès le premier contrôle postopératoire dans 5 cas.

3 cas (5, 7 et 8) possèdent une amplitude vibratoire excessive avant la microchirurgie. Chez ces patients, l'amplitude vibratoire régresse après la microchirurgie.



L'ondulation muqueuse est absente ou diminuée dans 8 cas (1, 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11) sur 11. Chez ces 8 patients, une augmentation de l'importance de l'ondulation muqueuse est observée après la microchirurgie et l'implantation d'acide hyaluronique estérifié.

Le patient n°7 souffre d'une inflammation postopératoire précoce et aucune ondulation muqueuse n'est observable lors du premier contrôle postopératoire (EPOE). Après traitement médical (cf *supra*), nous observons la récupération d'une ondulation muqueuse de bonne qualité au 2<sup>ième</sup> examen vidéostroboscopique postopératoire (IPOE).



La microchirurgie améliore la fermeture glottique phonatoire dans 6 cas (1, 4, 7, 9, 10, 11) sur 11.

La fermeture glottique est inchangée dans 2 cas (3 et 5) et diminue légèrement dans 3 cas (2, 6, 8).

## *L'évaluation vocale*

a) L'évaluation perceptuelle

### Valeurs GRBASI en fonction du temps chez les 11 patients

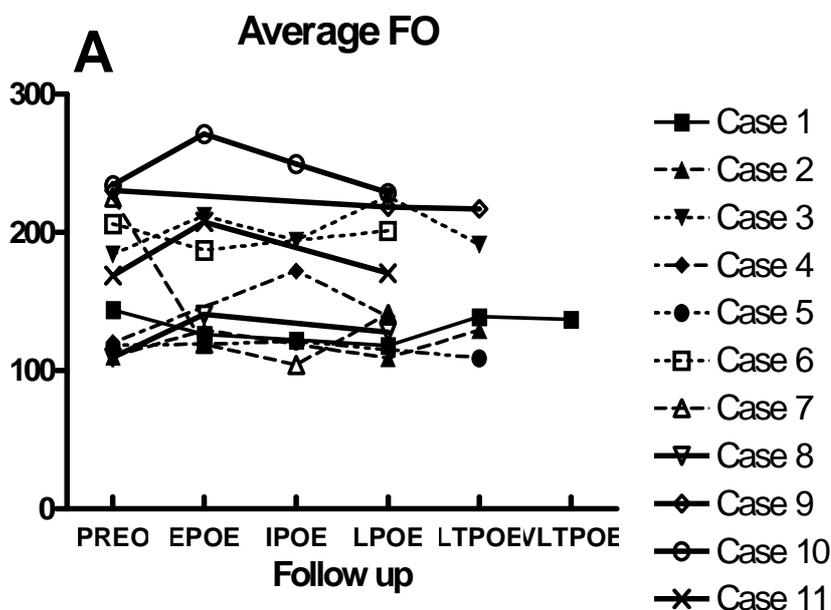
<b>Patient</b>	<b>Valeurs préopératoires</b>	<b>EPOE</b>	<b>IPOE</b>	<b>LPOE</b>	<b>LTPOE</b>	<b>VLTPOE</b>
<b>N° 1</b>	220023	110011	110000	110000	110011	111001 (16 mois)
<b>N° 2</b>	220022	221010	--	110011	110011	110011 (19 mois)
<b>N° 3</b>	331033	121012	212112	111022	000001	
<b>N° 4</b>	331033	--	211103	111001	--	000000 (10 mois)
<b>N° 5</b>	331013	--	111001	--	320011	
<b>N° 6</b>	231013	110102	--	111112	--	
<b>N° 7</b>	330002	332303	111001	110001	110001	
<b>N° 8</b>	320011	211011	--	221001		
<b>N° 9</b>	333033	3---3-	--	211032	111121	
<b>N° 10</b>	333033	321223	222132	323233		
<b>N° 11</b>	333033	111131	--	111101		

Une amélioration des valeurs de l'échelle GRBASI est observée après l'intervention microchirurgicale chez l'ensemble des cas traités. Un grade (G) 1 de dysphonie est atteint par 6 patients sur 11 dans un délai de 1 à 12 semaines. Les moins bons résultats sont observés chez les patients 10 et 11 : un grade 3 est toujours présent lors de leur dernière évaluation.

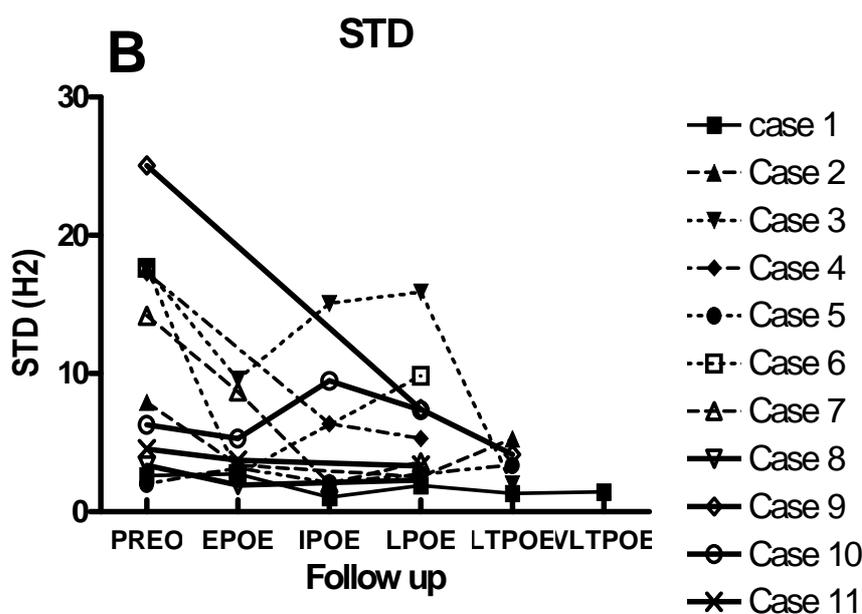
b) L'évaluation vocale objective

Les graphiques A, B, C, D, E montrent, pour chacun des patients, l'évolution temporelle des variables objectives vocales

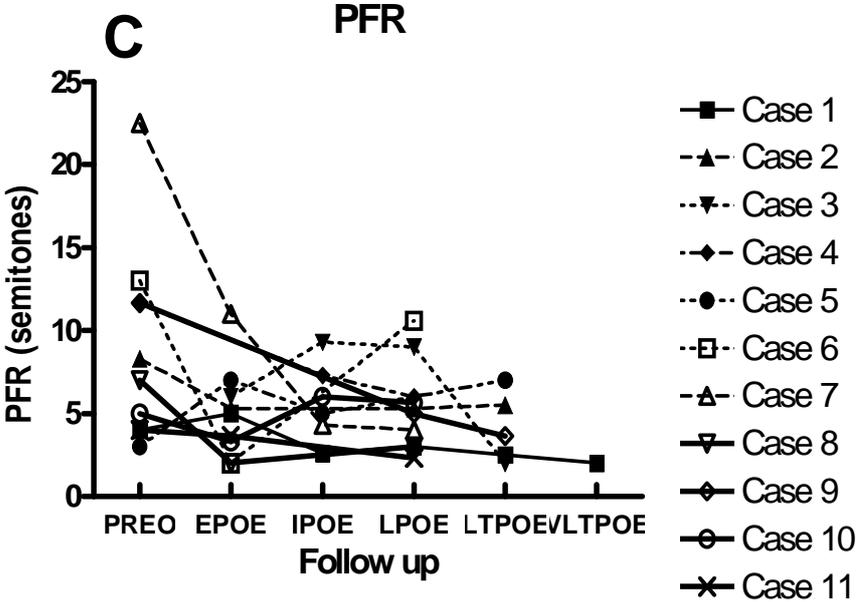
**Graphique A : fréquence fondamentale moyenne**



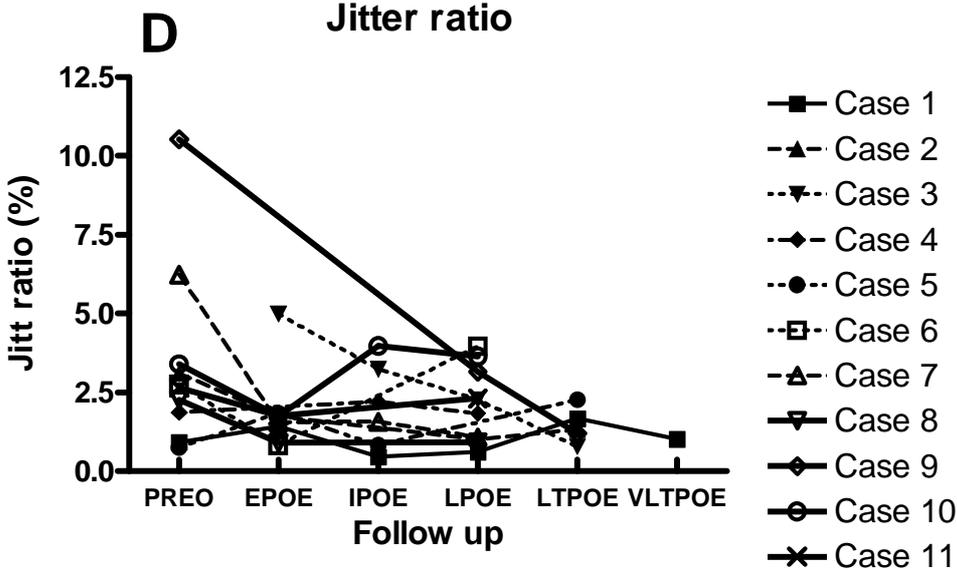
**Graphique B : écart-type de la fréquence fondamentale**



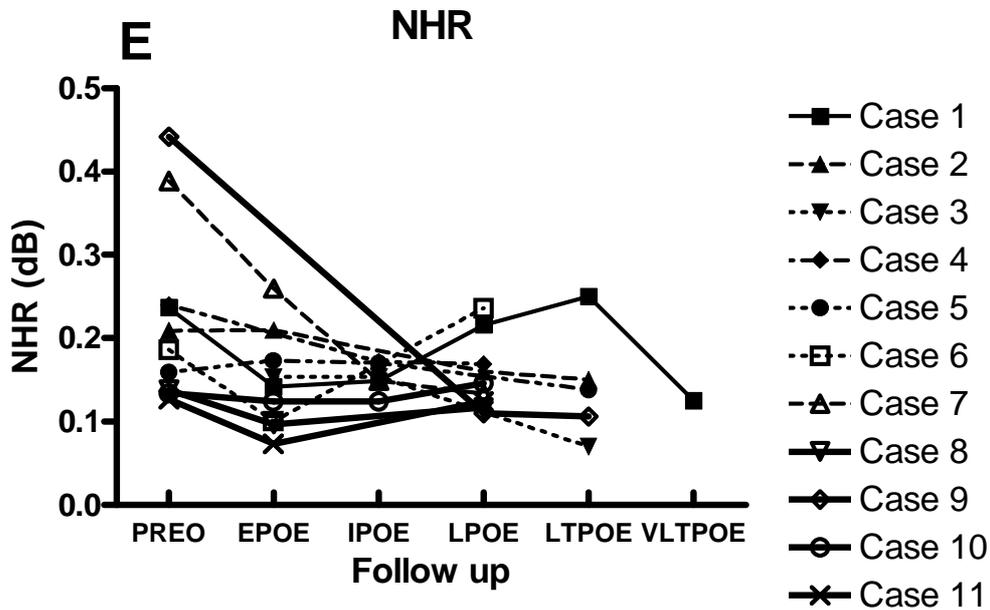
Graphique C : la variation de la fréquence fondamentale



Graphique D : le jitter %



**Graphique E : le rapport bruit/harmonique**



L'écart-type de la fréquence fondamentale (STD) et la variation de la fréquence fondamentale (PFR) diminuent après la microchirurgie chez 9 patients (cas 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11). Seul le patient n°5 élève ses valeurs de STD et PFR. Chez le patient n°10, des valeurs très fluctuantes de ces variables sont mesurées.

En postopératoire, les valeurs du jitter % montrent souvent une diminution précoce suivie d'une légère augmentation. Si l'on prend en compte les évaluations réalisées au-delà du 2<sup>ème</sup> mois après l'intervention, le jitter diminue chez 6 patients (cas 2, 3, 7, 8, 9, 11), augmente chez 2 patients (cas 6 et 10) et est inchangé chez 3 patients (cas 1, 4 et 10).

Le rapport bruit/harmonique diminue après la microchirurgie chez 8 patients (cas 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 et 9). Il augmente chez les patients 6 et 10. Le rapport bruit/harmonique est inchangé chez le 11<sup>ème</sup> patient, après une chute initiale au premier examen postopératoire.

## *Etude II*

### ***Implantation d'acide hyaluronique estérifié lors de la microchirurgie des lésions cordales bénignes : étude prospective et contrôlée de l'évolution laryngée et vocale.***

Cette seconde étude prospective et non randomisée regroupe les résultats observés chez 83 patients porteurs d'une lésion cordale bénigne et qui subissent un traitement microchirurgical.

Ils se répartissent en :

- un groupe contrôle de 50 patients opérés, mais qui ne bénéficient pas d'une implantation subséquente d'acide hyaluronique estérifié. Nous l'appellerons le « groupe contrôle ».
- un groupe de 33 patients opérés et bénéficiant d'une implantation d'acide hyaluronique estérifié dans la plaie chirurgicale en fin d'intervention. Nous l'appellerons le « groupe implanté ».

Les résultats obtenus sont soumis à deux analyses statistiques.

Cette étude est soumise à publication : **Finck C., Harmegnies B., Remacle A., Lefebvre P.** « **Implantation of Esterified Hyaluronic Acid in Microdissected Reinke's Space after Vocal Microsurgery : a Controlled and Prospective Study of Laryngeal and Voice Evolution** ».

## **Méthodologie**

### ***Les patients***

#### a) le groupe implanté

Il est constitué de 33 patients, 23 femmes (70%) et 10 hommes (30%), qui ont subi une microchirurgie cordale et une implantation intracordale d'acide hyaluronique estérifié entre février 2003 et décembre 2006.

Les lésions cordales traitées sont :

- 6 oedèmes
- 4 polypes
- 5 kystes muqueux
- 6 nodules
- 1 sulcus
- 2 cicatrices
- 2 fibroses sous-épithéliales
- 3 vergetures
- 4 kystes ouverts

Il s'agit d'une microchirurgie cordale gauche dans 20% des cas, droite dans 59% des cas et bilatérale dans 21% des cas.

18% des patients bénéficient d'une incision cordale au laser CO2. Les autres patients sont opérés uniquement à l'aide des instruments froids.

8 patients bénéficient d'une implantation bilatérale d'acide hyaluronique estérifié.

Les 11 premiers patients de l'étude I sont inclus dans cette seconde étude.

#### b) le groupe contrôle

Le groupe contrôle est constitué de 50 patients, 38 femmes (76%) et 12 hommes (24%), qui ont subi une microchirurgie cordale sans implantation subséquente d'acide hyaluronique estérifié entre janvier 2004 et février 2007.

Les lésions cordales traitées sont :

- 12 oedèmes
- 4 kystes muqueux
- 14 polypes
- 7 nodules
- 13 pseudokystes.

Il s'agit d'une microchirurgie cordale gauche dans 26% des cas, droite dans 34% des cas et bilatérale dans 40% des cas.

20% des patients bénéficient d'une incision cordale au laser CO2. Les autres patients sont opérés uniquement aux instruments froids.

La composition des 2 groupes est homogène pour le sexe (Chi-carré = 0.405, df = 1, p = 0.524), la corde vocale opérée (Chi-carré = 5.45, df = 2, p = 0.06), l'utilisation du laser (Chi-carré = 0.07, df = 1, p = 0.78).

La distribution des diagnostics lésionnels est inhomogène (Chi-carré = 34.51, df = 11, p = 0.0003).

### ***L'intervention microchirurgicale***

Tous les patients ont bénéficié d'une anesthésie générale avec intubation laryngée (sonde d'intubation de taille 5.5 à 6.5). En laryngoscopie directe (laryngoscope Kleinsasser, Storz 8590C et 8590B), la microchirurgie est pratiquée au grossissement 40 ( focale 400 mm) , ce qui correspond à un grossissement réel de 10 x (microscope Leica M655). L'instrumentation de Bouchayer (Microfrance) est utilisée lors de la microchirurgie. Quelques patients des deux groupes bénéficient de l'incision cordale au laser CO2 Sharplan 40C.

Hormis l'implantation d'acide hyaluronique estérifié qui n'est pas réalisée chez les patients du groupe contrôle, les techniques microchirurgicales sont identiques dans les deux groupes. Les techniques chirurgicales appliquées à chaque pathologie, ainsi que la technique d'implantation ont été décrites au chapitre IV.

### ***Le bioimplant d'acide hyaluronique estérifié***

Le bioimplant constitué d'acide hyaluronique estérifié, les critères d'implantation et la technique d'implantation ont été décrits au chapitre IV.

### ***Le traitement postopératoire***

Le traitement médical postopératoire est constitué de méthylprednisolone à dose dégressive, clobutinol et paracétamol. Un traitement de 8 jours par amoxycyclavulanate (ou par une céphalosporine en cas d'allergie connue à l'amoxycyclavulanate) est uniquement prescrit aux patients implantés. Un repos vocal strict de 8 jours est prescrit à tous les patients.

### ***L'évaluation pré- et postopératoire***

Comme au sein de l'étude I, les patients bénéficient d'un examen ORL général et d'une exploration laryngée et vocale. Ils sont soumis à une évaluation fonctionnelle phonatoire dont les techniques d'exploration ont été décrites au chapitre V.

Les paramètres acoustiques et vidéostroboscopiques sont modifiés par les pathologies cordales bénignes et ont été décrits dans le chapitre V de ce mémoire. C'est l'amélioration de

leur valeur après la microchirurgie qui est évaluée lors des examens postopératoires immédiats et différés.

a) La vidéostroboscopie

Les vidéostroboscopies sont réalisées soit avec un endoscope rigide Wolff 70° 4450.47, un laryngostroboscope Wolff 5052 et la caméra Olympus Visera OTV-57, soit avec la caméra digitale EndoStrob de Xion. Les enregistrements sont archivés soit sur cassette VHS via l'enregistreur VHS Panasonic AG-5700, soit dans le logiciel Divas de Xion. La méthodologie d'enregistrement vidéostroboscopique est identique à celle de l'étude I. Les variables laryngées étudiées sont identiques à celles de l'étude I : l'amplitude du déplacement du bord libre en oscillation, l'ampleur de l'ondulation muqueuse, la fermeture glottique, l'existence d'une inflammation ou d'une déformation du bord libre. Nous utilisons également la même échelle analogique pour l'évaluation de l'amplitude vibratoire, de l'ampleur de l'ondulation muqueuse et de la fermeture glottique, ainsi que le même formulaire d'évaluation (annexe 4).

c) L'évaluation vocale

La méthodologie d'acquisition des échantillons vocaux ainsi que les variables acoustiques subjectives et objectives sont identiques à celles utilisées dans l'étude I.

d) L'évaluation fonctionnelle phonatoire

Le temps maximum de phonation, la pression sous-glottique et le débit aérien moyen phonatoire sont mesurés avec l'Aérophone II (FJ Electronics, Vedbaek, Danemark).

## *Les analyses statistiques*

Tous les calculs ont été réalisés au moyen de la procédure GLM du logiciel SPSS (version 14) de SPSS Corporation, Chicago, Illinois, USA.

### 1. Les résultats postopératoires immédiats

Les valeurs préopératoires et postopératoires de chacune des variables ayant été évaluée chez les patients opérés sont comparées.

Les traitements statistiques sont effectués au moyen d'un modèle d'analyse de variance à mesures répétées, avec pour variable dépendante la mesure à l'étude et pour variables indépendantes d'une part le groupe et d'autre part le moment de l'examen (pré- ou post-opératoire). Les variables *groupe* et *moment* sont croisées. Ces deux facteurs sont considérés comme fixes, la dimension *sujet* étant considérée comme aléatoire.

### 2. Les résultats postopératoires différés et à long terme

L'évolution vocale et laryngée au-delà de la période postopératoire immédiate a été soumise à une approche statistique corrélationnelle.

Celle-ci étudie la relation entre, d'une part, le temps écoulé entre l'opération et la valeur de chacune des variables d'autre part.

Seules les valeurs obtenues au 2<sup>ème</sup> examen postopératoire et au-delà sont prises en considération.

Si les valeurs des variables d'observation évoluent, à ce moment, de manière aléatoire, nous devrions observer une valeur de corrélation non significative. Par contre, si le traitement opératoire exerce encore une influence qui continue à faire évoluer le fonctionnement cordal, nous devrions voir apparaître une liaison au temps.

Nous recourons à des coefficients de corrélation non paramétriques, ceux-ci présentant l'avantage d'une assez bonne résistance aux non-linéarités et ne nécessitant, en tout cas, le choix d'aucun modèle a priori.

La corrélation a été évaluée au moyen de deux coefficients différents : ceux de Kendall et de Spearman.

## Résultats

### *1. Les valeurs préopératoires*

Les valeurs moyennes du groupe contrôle sont présentées dans le tableau I.

Les valeurs moyennes du groupe implanté sont présentées dans le tableau II.

Le t de Student montre qu'il existe des différences significatives entre les 2 groupes. Les valeurs G, R, S, I sont significativement plus élevées, lors de l'examen préopératoire, chez les patients du groupe implanté.

A l'opposé, l'ampleur de l'ondulation muqueuse est bilatéralement plus faible dans le groupe implanté. L'ampleur vibratoire droite est également significativement plus faible dans le groupe implanté.

Les valeurs du t de Student ainsi que le niveau de signification (significatif si  $p < .05$ ) sont présentés dans le tableau III. Toutes les autres variables ne montrent aucune différence significative entre les 2 groupes évalués avant l'intervention microchirurgicale.

## Tableau I

### Groupe contrôle : moyennes préopératoires

	N	Moyenne	Ecart-type	St Error Mean
G	50	2,02	0,76904393	0,10875924
R	50	2	0,88063057	0,12453997
B	50	1,26	0,75078191	0,1061766
A	50	0,56	0,83690392	0,11835609
S	50	1,4	1,2453997	0,17612611
I	50	1,94	0,97750202	0,13823966
Fermeture glottique	47	3,48723404	1,06273172	0,15501535
Amplitude G	31	2,07419355	1,8975366	0,34080763
Ondul.muq.G	32	5,065625	4,28610729	0,75768388
Ampl. Dr	34	10,7116667	2,06121341	0,35349518
Ondul.muq.D	32	6,60625	4,11472082	0,72738675
F0 moy.	50	181,20818	48,8328349	6,90600574
Jit.%	50	2,43216	2,02076976	0,28578
FluctuationF0 (demi-tons)	50	5,89654	5,7722236	0,81631569
Ecart type F0	50	11,43526	22,4284334	3,17185947
Bruit/signal (NHR)	50	0,15776	0,08700869	0,01230489
Shim%	50	5,38186	4,66923584	0,66032966
TMP	37	11,7806486	5,87472776	0,96579929
Débit aérien moyen	37	0,25786486	0,17511983	0,02878952
Pression ss-gl.	36	10,7116667	4,02389612	0,67064935

## Tableau II

### Groupe implanté : moyennes préopératoires

	N	Moyenne	Ecart-type	St.Error Mean
G	32	2,59375	0,61483672	0,1086888
R	32	2,5625	0,66901468	0,1182662
B	32	1,5625	1,0140147	0,17925417
A	32	0,5625	0,91360682	0,16150439
S	32	2,0625	1,10533895	0,19539817
I	32	2,5	0,71842121	0,12700013
Fermeture glottique	31	3,7516129	1,29199354	0,23204889
Ampl. G	12	1,84166667	2,95802709	0,85390887
Ondul. muq. G	12	1,425	2,82106524	0,81437139
Ampl. D	24	1,49166667	1,66600712	0,34007228
Ondul.muq. D	24	1,84583333	3,0879822	0,63033173
F0 moy.	33	189,261212	55,3520347	9,63555246
Jit%	32	2,9359375	1,9312955	0,34140804
Fluctuation F0 (demi-tons)	32	6,4278125	4,76794994	0,84286243
Ecart-type F0	33	9,81818182	12,7258542	2,21528687
Bruit/signal NHR	32	0,15803125	0,0776271	0,01372266
Shim%	32	5,140625	3,3847437	0,59834381
TMP	18	10,2261111	3,50037332	0,8250459
Débit aérien moyen	19	0,21710526	0,09269238	0,02126509
Pression ss-gl.	19	10,77	2,89098983	0,66323855

**Tableau III : Valeurs préopératoires : t de Student**

	Valeur de t	df	Signification(p)
G	-3.5532	80	.00064
R	-3.0856	80	.00278
S	-2.4528	80	.016
I	-2.9831	78.37	.0038
Ondul.muq.G	3.272	30.24	.002
Ondul.muq.D	4.945	53.98	<.001
Ampl. D	2.349	54.89	.022

Niveau de signification :  $p < .05$

## ***2. Les résultats postopératoires immédiats***

Bien que nous demandions aux patients d'être examinés 15 jours après leur intervention pour leur 1<sup>ier</sup> bilan post-opératoire, les valeurs postopératoires immédiates sont obtenues de 1 à 6 semaines après l'intervention microchirurgicale.

L'Analyse de Variance permet des comparaisons des valeurs des variables entre les groupes (F « groupe ») et entre les moments d'examens (F « pré-post »). Elle montre aussi si la différence observée entre les valeurs préopératoires et postopératoires (F « pré-post ») sont différentes selon le groupe (F « pré-post/groupe », effet d'interaction).

Les valeurs de Fisher-Snedecort (F) et le niveau de signification (significatif si  $p < .05$ ) sont présentés dans le tableau IV.

L'Analyse de Variance est également présentée individuellement pour chaque variable étudiée.

### ***✚ Les différences entre les groupes :***

Certaines variables sont plus élevées au sein du groupe implanté : il s'agit de G, R, S, I. Certaines variables sont plus faibles dans le groupe implanté : les ondulations muqueuses droite et gauche, ainsi que l'amplitude droite.

### ***✚ L'effet de la microchirurgie sur les variables étudiées :***

Toutes les caractéristiques vidéostroboscopiques et acoustiques sont modifiées significativement par l'intervention microchirurgicale, à l'exception de NHR ( $p = 0.09$ ), FO moyenne ( $p = 0.840$ ) et asthénie subjective (A) ( $p = 0.191$ ).

Les valeurs de G, R, B, S, I, jitter %, shimmer%, fluctuation de F0, écart-type de F0, débit aérien moyen et pression sous-glottique diminuent significativement après la microchirurgie.

La fermeture glottique ainsi que les amplitudes vibratoires et ondulations muqueuses bilatérales augmentent significativement dans les 2 groupes.

La fonction phonatoire évolue significativement dans les 2 groupes : le temps maximum de phonation augmente, alors que le débit aérien moyen et la pression sous-glottique diminuent.

**✚ L'effet du groupe associé à l'effet de la microchirurgie (effet d'interaction) :**

Il n'y a que très peu de différences évolutives entre les 2 groupes : seul le shimmer% et l'ondulation muqueuse gauche évoluent différemment. Le shimmer% diminue moins dans le groupe implanté ( $p = 0.049$ ), mais l'ondulation muqueuse augmente plus dans le groupe implanté ( $p = 0.007$ ).

**Tableau IV**  
**Résultats postopératoires immédiats:Analyse de Variance**

	F Pré-post op	Sig. Pré-post op	F Pré-postop- groupe	Sig. Pré- post/groupe
G	103.236	.000	.583	.447
R	139.733	.000	.192	.663
B	13.202	.000	2.457	.121
A	1.736	.191	.367	.547
S	41.563	.000	.291	.591
I	108.758	.000	.115	.735
Fermeture glottique	35.084	.000	.877	.352
Ampl.G	82.763	.000	3.126	.085
Ondul.muq.G	72.524	.000	8.203	.007
Ampl. D	35.838	.000	.807	.373
Ondul.muq.D	25.830	.000	.283	.597
F0 moyenne	.041	.840	.163	.687
Jit.%.	7.377	.008	.923	.340
Fluctuation de FO (demi- tons)	5.277	.024	.677	.413
Ecart-type F0	4.711	.033	1.593	.211
Bruit/signal NHR	2.937	.328	.968	.328
Shim%	10.807	.002	4.006	.049
TMP	4.265	.045	.042	.839
Débit aérien moyen	7.420	.009	.401	.530
Pression ss- gl.	8.975	.005	.043	.837

## Grade: G

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	47,677	1	47,677	103,236	,000
pré_post * groupe	Linear	,269	1	,269	,583	,447
Error(pre_post)	Linear	36,484	79	,462		

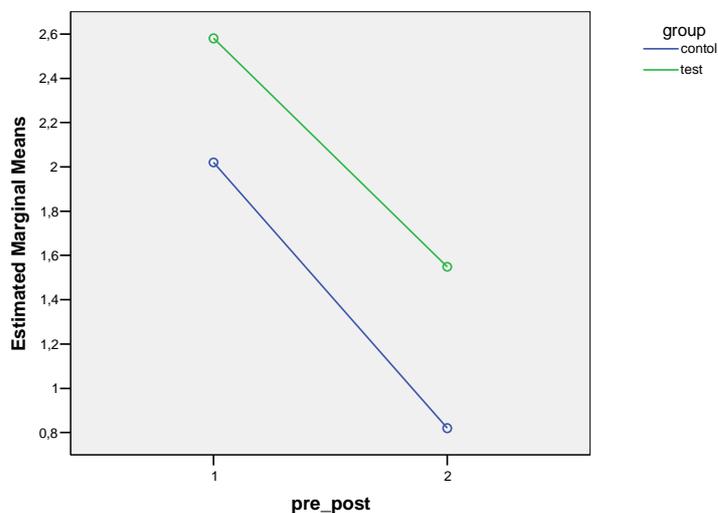
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	464,688	1	464,688	691,319	,000
group	15,898	1	15,898	23,652	,000
Error	53,102	79	,672		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Dans chacun des deux groupes, la variable voit ses valeurs diminuer sous l'effet de l'opération. La différence est très significative ( $F = 103,236$ ;  $df = 1$ ;  $P < 0.001$ ). Les deux groupes sont différents ( $F = 23,652$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.001$ ) mais se comportent de manière similaire: aucun effet d'interaction n'est observé ( $F = 0.583$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.437$ ). L'absence d'effet d'interaction montre que les deux groupes certes différents avant l'opération le restent après : la supériorité des valeurs de la variable dans le groupe implanté demeure après l'opération.

## Roughness (Raucité): R

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	68,344	1	68,344	139,733	,000
pré_post * groupe	Linear	,094	1	,094	,192	,663
Error(pre_post)	Linear	38,150	78	,489		

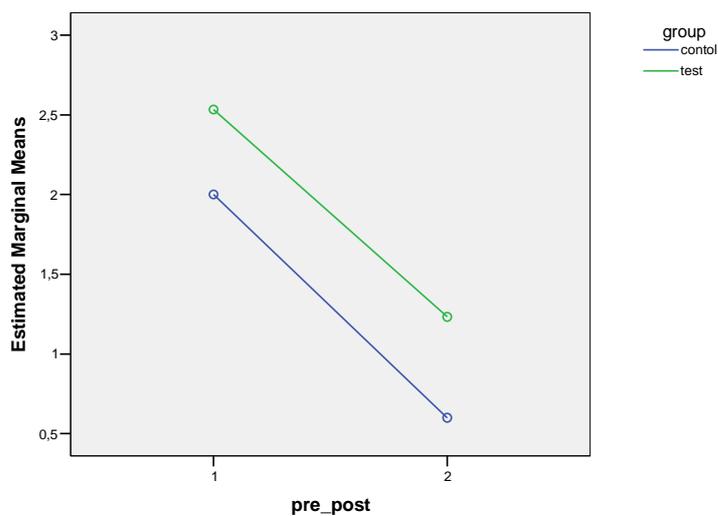
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	380,010	1	380,010	488,451	,000
groupe	12,760	1	12,760	16,402	,000
Error	60,683	78	,778		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



La variable subit, dans chacun des deux groupes, l'effet du traitement opératoire : celui-ci est significatif ( $F = 139,733$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.001$ ). L'effet de l'opération est le même dans les deux groupes, puisqu'on ne constate aucun effet d'interaction ( $F = 0.192$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.663$ ). La supériorité significative des valeurs de la variable dans le groupe implanté ( $F = 16,402$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.001$ ) est donc constante : elle ne subit pas d'effet de l'opération.

## Breathiness : B

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	13,202	1	13,202	28,785	,000
pré_post * groupe	Linear	1,127	1	1,127	2,457	,121
Error(pre_post)	Linear	35,773	78	,459		

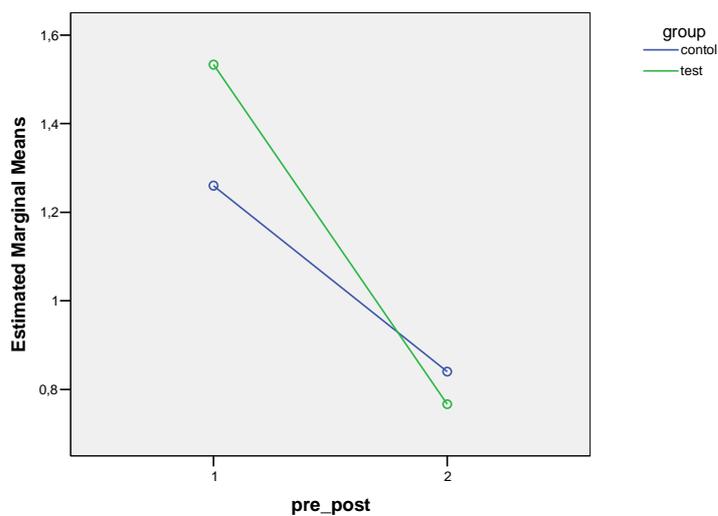
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	181,500	1	181,500	286,579	,000
groupe	,375	1	,375	,592	,444
Error	49,400	78	,633		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Les valeurs de la variable sont significativement diminuées par l'opération ( $F = 28,795$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.001$ ). Si le graphique suggère un rapport différent entre groupe contrôle et groupe implanté d'une part en phase préopératoire et d'autre part en phase postopératoire, l'analyse de variance ne confirme pas la significativité de cette différence ( $F = 2,457$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.121$ ). On remarquera, par ailleurs, que les groupes ne sont pas significativement différents entre eux, dans l'ensemble ( $F = .592$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.444$ ). Il n'y a donc pas lieu de considérer qu'il existerait des différences entre groupes qui varieraient sous l'effet de l'opération.

## Asthenia :A

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	,570	1	,570	1,736	,191
pré_post * groupe	Linear	,120	1	,120	,367	,547
Error(pre_post)	Linear	25,623	78	,329		

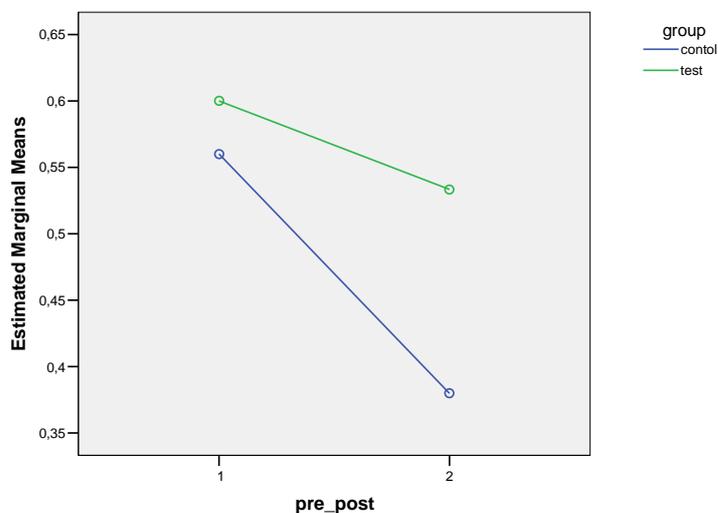
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	40,300	1	40,300	45,463	,000
groupe	,350	1	,350	,395	,531
Error	69,143	78	,886		

### Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Au contraire de ce que semble suggérer l'observation directe des moyennes par le graphique, on n'observe ici aucun effet significatif, ni entre les phases pré- et postopératoires ( $F = 1,736$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.191$ ), ni entre les groupes ( $F = 0.395$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.531$ ); il n'existe pas non plus d'effet d'interaction ( $F = 0.367$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.547$ ).

## Strain : S

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

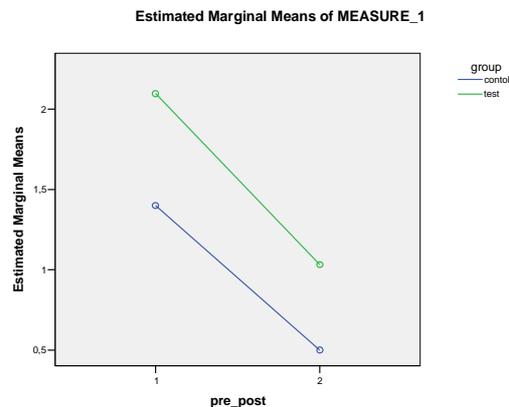
Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	36,926	1	36,926	41,563	,000
pré_post * groupe	Linear	,259	1	,259	,291	,591
Error(pre_post)	Linear	70,185	79	,888		

### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	241,983	1	241,983	180,360	,000
groupe	14,453	1	14,453	10,772	,002
Error	105,992	79	1,342		



L'opération exerce un effet significatif sur la variable : les valeurs sont sensiblement plus élevées avant l'opération qu'après ( $F = 41,563$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.001$ ). On note par ailleurs que les deux groupes, dans l'ensemble, sont différents : les valeurs du groupe implanté sont supérieures à celles du groupe contrôle ( $F = 10,772$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.002$ ). Aucun effet d'interaction n'est observé ( $F = 0.291$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.591$ ) et il y a donc lieu de conclure que les deux groupes évoluent de manière parallèle sous l'effet de l'opération.

## Instability :I

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	62,269	1	62,269	108,758	,000
pré_post * groupe	Linear	,066	1	,066	,115	,735
Error(pre_post)	Linear	44,086	77	,573		

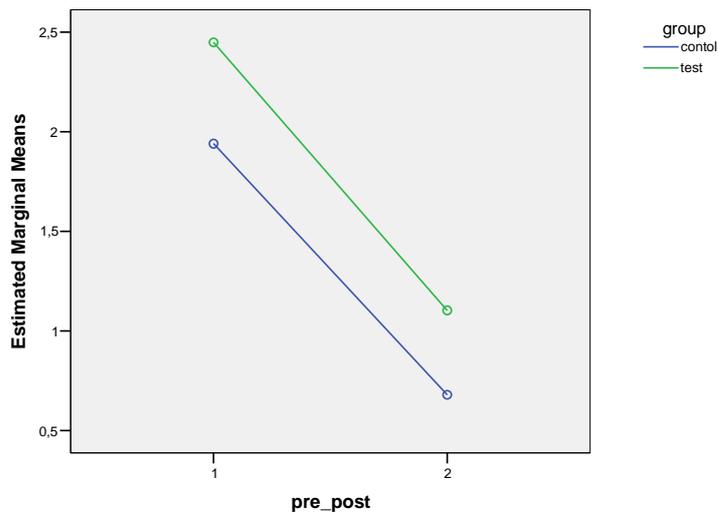
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	349,562	1	349,562	376,576	,000
groupe	7,967	1	7,967	8,583	,004
Error	71,476	77	,928		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



L'opération exerce un effet significatif sur la variable, dont les valeurs sont supérieures en phase préopératoire ( $F = 108,758$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.001$ ). On note, par ailleurs, que, dans l'ensemble, les deux groupes sont différents, le groupe implanté ayant généralement des valeurs supérieures à celles du groupe témoin ( $F = 8,583$ ;  $df = 1$ ;  $p = 0.004$ ). L'évolution des deux groupes sous l'effet de l'opération est identique, aucun effet d'interaction n'étant observable ( $F = 0.115$ ,  $df = 1$ ;  $p = 0.735$ ).

## Fermeture glottique

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	24,278	1	24,278	35,084	,000
pré_post * groupe	Linear	,607	1	,607	,877	,352
Error(pre_post)	Linear	49,132	71	,692		

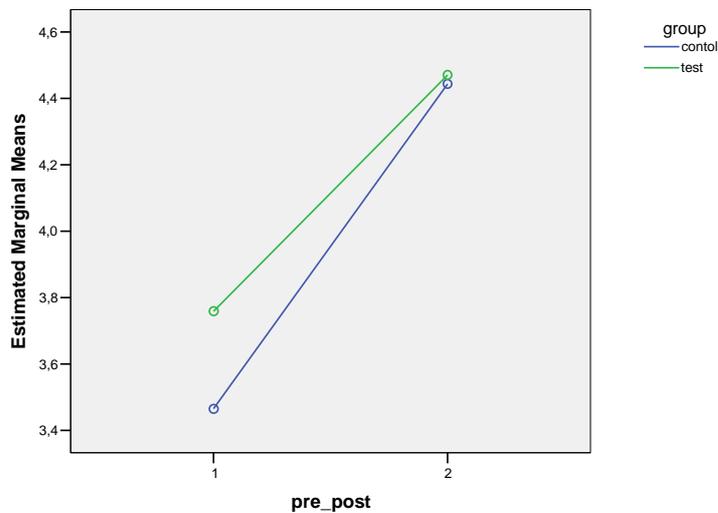
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	2215,571	1	2215,571	2773,057	,000
groupe	,876	1	,876	1,097	,299
Error	56,726	71	,799		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Sous l'effet de l'opération, les valeurs de la variable augmentent significativement ( $F = 35,034$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0.001$ ). Les deux groupes, dans l'ensemble, ne sont pas différents ( $F = 1,097$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.299$ ). Par ailleurs, aucun effet d'interaction significatif n'apparaissant ( $F = 0.877$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.352$ ), il n'y a pas lieu de conclure à des différences entre moments qui varieraient selon le groupe.

## L'amplitude vibratoire G

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	136,904	1	136,904	82,763	,000
pré_post * groupe	Linear	5,171	1	5,171	3,126	,085
Error(pre_post)	Linear	61,204	37	1,654		

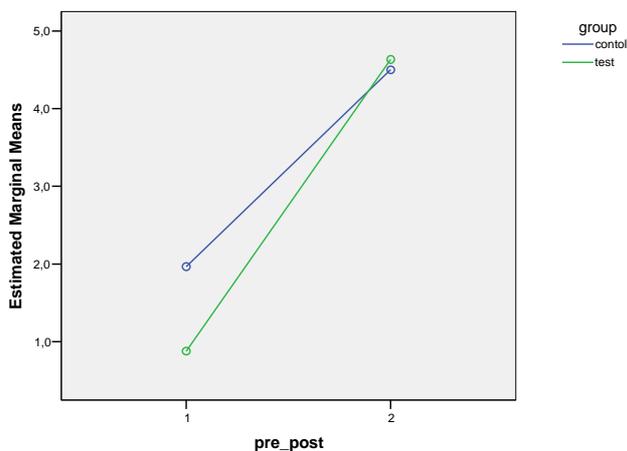
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	496,617	1	496,617	194,984	,000
groupe	3,161	1	3,161	1,241	,272
Error	94,238	37	2,547		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



L'opération accroît significativement les valeurs de la variable ( $F = 82,763$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0,001$ ). Les deux groupes ont des valeurs similaires ( $F = 1,241$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0,272$ ). Par ailleurs, les deux groupes tendent à se comporter de la même façon sous l'effet de l'opération ( $F = 3,126$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0,085$ ) : la probabilité de l'hypothèse nulle associée à l'effet d'interaction étant localisée dans la zone de faible significativité (entre .05 et .10), il peut néanmoins être intéressant d'observer les tendances révélées par l'analyse descriptive ; on constate ainsi que la tendance à la significativité de l'interaction va dans le sens d'un équilibrage des deux groupes en phase postopératoire alors qu'au moment de l'examen préopératoire, les valeurs de la variable dans le groupe contrôle étaient supérieures à celle du groupe implanté.

## L'ondulation muqueuse gauche

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	618,774	1	618,774	72,524	,000
pré_post * groupe	Linear	69,992	1	69,992	8,203	,007
Error(pre_post)	Linear	315,685	37	8,532		

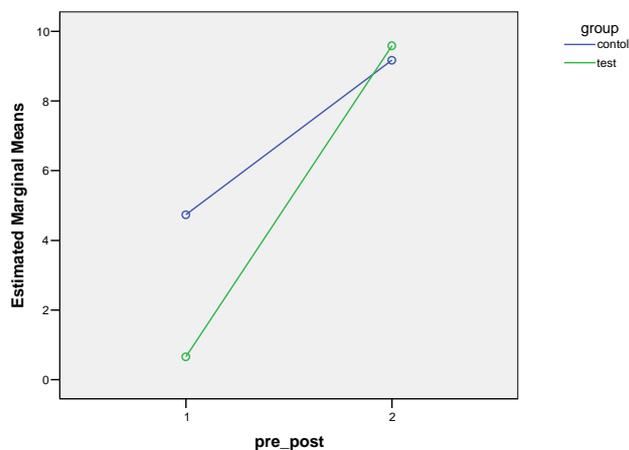
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	2019,590	1	2019,590	194,964	,000
groupe	46,510	1	46,510	4,490	,041
Error	383,275	37	10,359		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



On observe ici une différence d'ensemble entre les deux groupes ( $F = 4,490$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.041$ ). Cette différence, vu les valeurs des moyennes, ne peut être imputée qu'à la supériorité des valeurs de la variable dans le groupe contrôle lors de la phase préopératoire. En effet, en phase postopératoire, la moyenne du groupe contrôle est très légèrement inférieure à celle du groupe implanté. On note par ailleurs que l'opération exerce un effet significatif sur les valeurs de la variable ( $F = 72,524$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0.001$ ). Par ailleurs, comme on pouvait s'y attendre au vu des différences intergroupes et intermoments, on observe un effet d'interaction significatif ( $F = 8,203$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.007$ ). On constate donc que si les valeurs de la variable, en phase préopératoire, étaient supérieures dans le groupe contrôle, en phase postopératoire, la relation s'est inversée.

## L'amplitude vibratoire droite

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	74,929	1	74,929	35,838	,000
pré_post * groupe	Linear	1,688	1	1,688	,807	,373
Error(pre_post)	Linear	112,901	54	2,091		

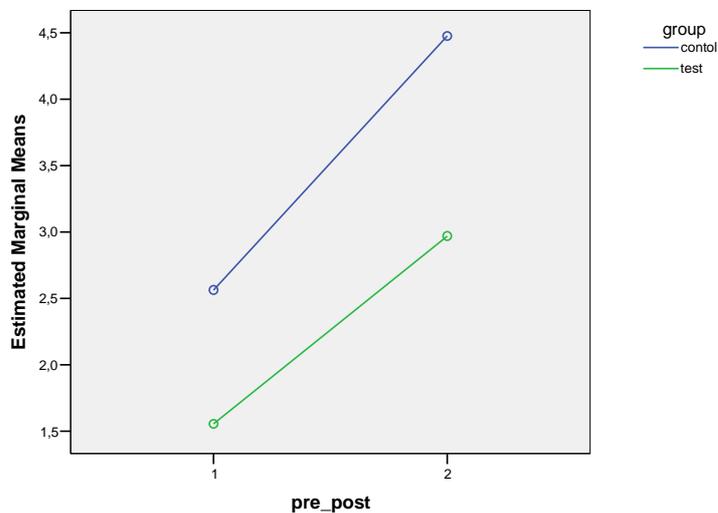
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	906,465	1	906,465	240,866	,000
groupe	42,807	1	42,807	11,375	,001
Error	203,222	54	3,763		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Les valeurs de la variable sont, en général, supérieures dans le groupe contrôle à celle du groupe implanté ( $F = 11,375$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.001$ ). Dans les deux groupes, l'opération exerce un effet significatif ( $F = 35,838$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0.001$ ). Cependant, cet effet est similaire dans les deux groupes, puisqu'on n'observe pas d'effet d'interaction significatif ( $F = 0.807$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.373$ ).

## L'ondulation muqueuse droite

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	275,771	1	275,771	25,830	,000
pré_post * groupe	Linear	3,017	1	3,017	,283	,597
Error(pre_post)	Linear	555,174	52	10,676		

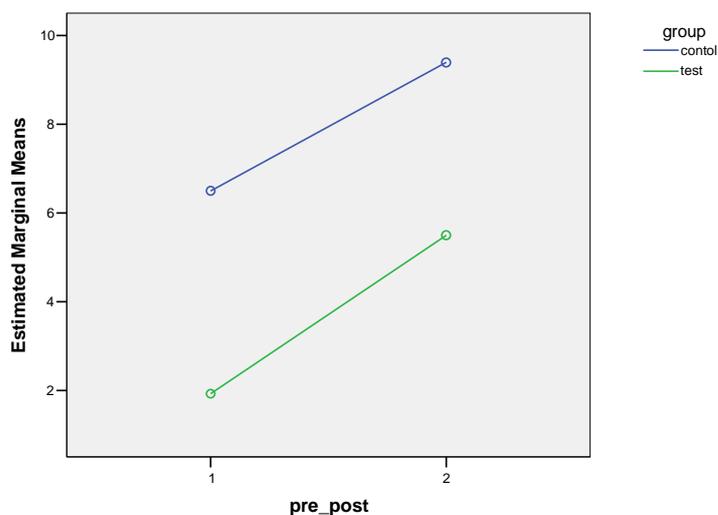
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	3586,798	1	3586,798	255,017	,000
groupe	473,104	1	473,104	33,637	,000
Error	731,377	52	14,065		

### Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Les valeurs de la variable dans le groupe contrôle sont supérieures à celles observées dans le groupe implanté ( $F = 33,637$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0.001$ ). L'opération exerce un effet significatif qui se traduit par un accroissement des valeurs des variables en phase postopératoire ( $F = 25,830$  ;  $df = 1$  ;  $p < 0.001$ ). L'effet de l'opération est identique dans les deux groupes, puisque l'interaction n'est pas significative ( $F = 0.283$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.597$ ).

## Fréquence fondamentale moyenne: F0 moyenne

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	26,819	1	26,819	,041	,840
pré_post * groupe	Linear	106,072	1	106,072	,163	,687
Error(pre_post)	Linear	49379,121	76	649,725		

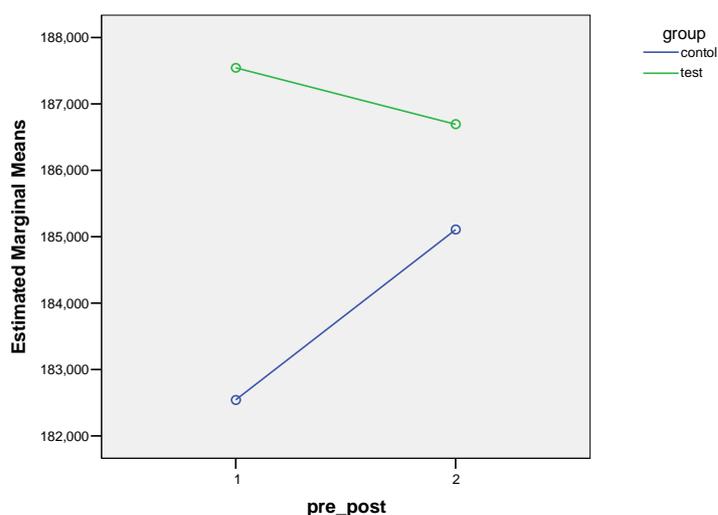
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	5013524,582	1	5013524,582	1277,206	,000
groupe	394,977	1	394,977	,101	,752
Error	298329,157	76	3925,384		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Cette variable ne subit aucun effet significatif. Aucune différence ne peut être observée ni provenant des groupes ( $F = 0.101$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.752$ ), ni sous l'effet du traitement opératoire ( $F = 0.041$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.840$ ). On ne constate non plus aucun effet d'interaction ( $F = 0.163$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.667$ ).

## Le jitter %: Jit%

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	13,726	1	13,726	7,377	,008
pré_post * groupe	Linear	1,718	1	1,718	,923	,340
Error(pre_post)	Linear	139,552	75	1,861		

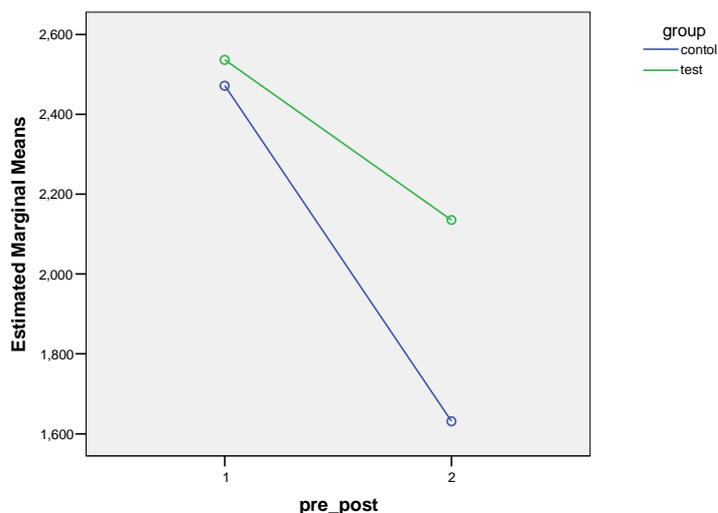
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	685,950	1	685,950	250,582	,000
groupe	2,884	1	2,884	1,053	,308
Error	205,307	75	2,737		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Les valeurs de la variable connaissent une décroissance significative sous l'effet de l'opération ( $F = 7,377$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.008$ ). Rien ne permet de conclure à une différence intergroupes ( $F = 1,053$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.308$ ) ni à un effet d'interaction ( $F = 0.923$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.34$ ). Les deux groupes ne sont différents ni dans leurs valeurs préopératoires, ni dans leur réaction sous l'effet du traitement.

## Fluctuation de F0

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	99,473	1	99,473	5,277	,024
pré_post * groupe	Linear	12,769	1	12,769	,677	,413
Error(pre_post)	Linear	1413,795	75	18,851		

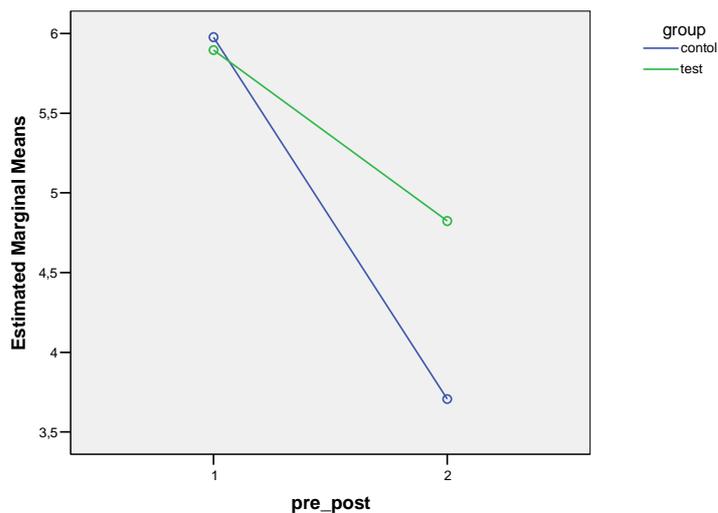
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	3708,112	1	3708,112	166,544	,000
groupe	9,558	1	9,558	,429	,514
Error	1669,881	75	22,265		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



La variable subit un effet significatif de l'opération : ses valeurs diminuent entre la phase préopératoire et la phase postopératoire ( $F = 5,277$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.024$ ). On ne constate, par ailleurs, aucun autre effet significatif, ni en ce qui concerne d'éventuelles différences entre les groupes ( $F = 0.429$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.514$ ) ni en ce qui concerne une éventuelle réaction différentielle de ceux-ci à l'opération, l'interaction n'étant pas significative ( $F = 0.677$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.413$ ).

## Écart-type de F0

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	858,181	1	858,181	4,711	,033
pré_post * groupe	Linear	290,190	1	290,190	1,593	,211
Error(pre_post)	Linear	13843,761	76	182,155		

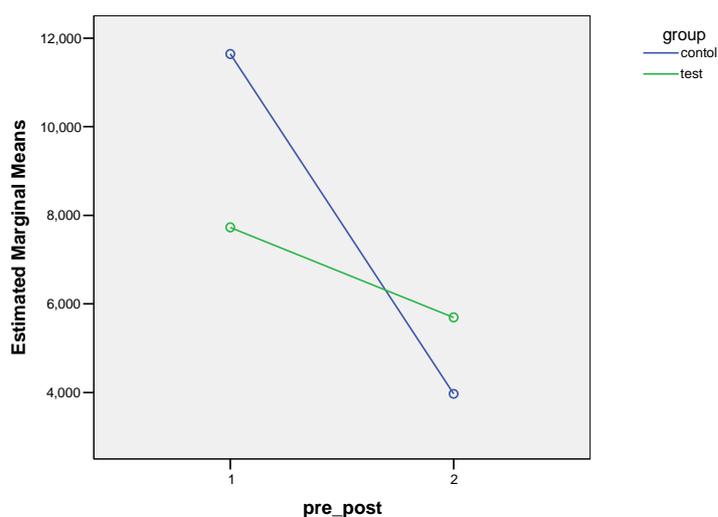
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	7676,475	1	7676,475	40,521	,000
groupe	43,740	1	43,740	,231	,632
Error	14397,636	76	189,443		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



La variable subit un effet significatif de l'opération : ses valeurs diminuent entre la phase pré- et postopératoire. Hormis cette observation, on ne constate aucun autre effet significatif, ni en ce qui concerne des différences intergroupes ( $F = 0.231$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.632$ ), ni en ce qui concerne un effet d'interaction ( $F = 1,593$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.211$ ). Les deux groupes sont donc équivalents en phase préopératoire et subissent des effets similaires du traitement.

## Le rapport bruit/signal: NHR

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	,012	1	,012	2,937	,091
pré_post * groupe	Linear	,004	1	,004	,968	,328
Error(pre_post)	Linear	,301	75	,004		

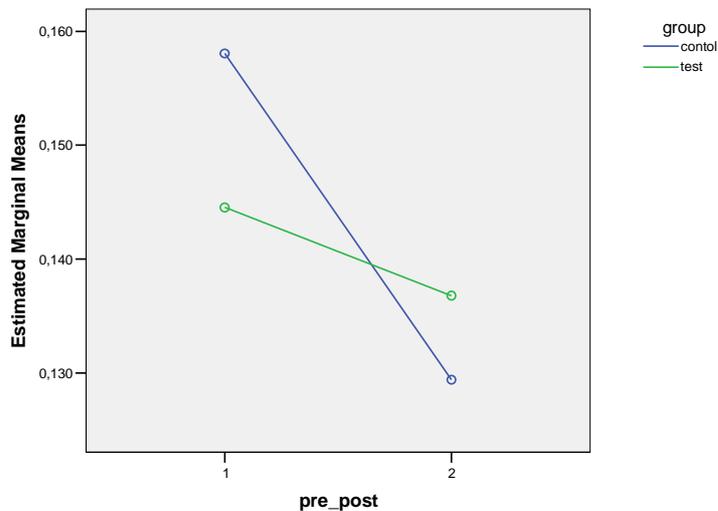
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	2,882	1	2,882	676,089	,000
groupe	,000	1	,000	,079	,779
Error	,320	75	,004		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



L'effet du traitement est très faiblement significatif ( $F = 2,937$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.091$ ) et il est donc hasardeux de le prendre en considération. On ne constate, par ailleurs, aucun effet ni inter-groupes ( $F = 0.079$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.779$ ), ni d'effet d'interaction ( $F = 0.968$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.328$ ).

## Le shimmer %: Shim%

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	86,615	1	86,615	10,807	,002
pré_post * groupe	Linear	32,106	1	32,106	4,006	,049
Error(pre_post)	Linear	593,075	74	8,015		

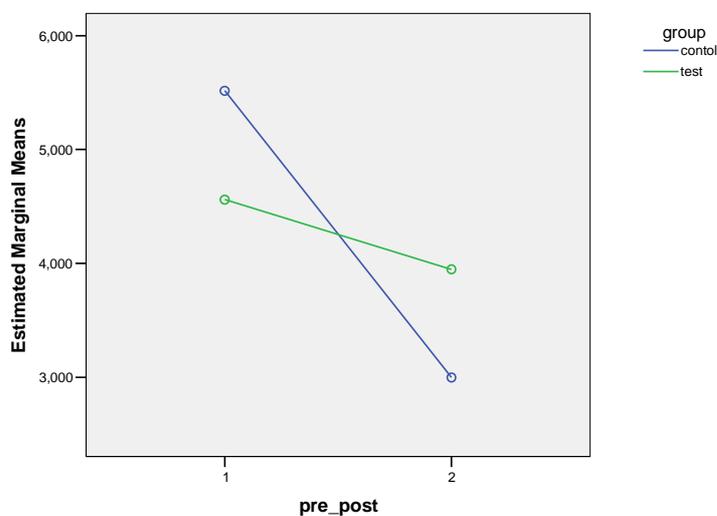
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	2562,750	1	2562,750	164,613	,000
groupe	,000	1	,000	,000	,996
Error	1152,056	74	15,568		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



La valeur de la variable décroît entre la phase préopératoire et la phase postopératoire, et ce de manière significative ( $F = 10,807$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.002$ ). Il n'existe pas de différences entre les groupes ( $F = 0$ ). On observe néanmoins un effet d'interaction significatif ( $F = 4,006$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.049$ ), qui se traduit par un renversement du rapport contrôle/implanté au passage de la phase préopératoire à la phase postopératoire. Lors du premier examen, ce sont les valeurs du groupe contrôle qui sont supérieures à celles du groupe implanté, alors qu'on observe l'inverse lors de la phase postopératoire.

## Le temps maximum de phonation : TMP

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	44,803	1	44,803	4,265	,045
pré_post * groupe	Linear	,441	1	,441	,042	,839
Error(pre_post)	Linear	462,257	44	10,506		

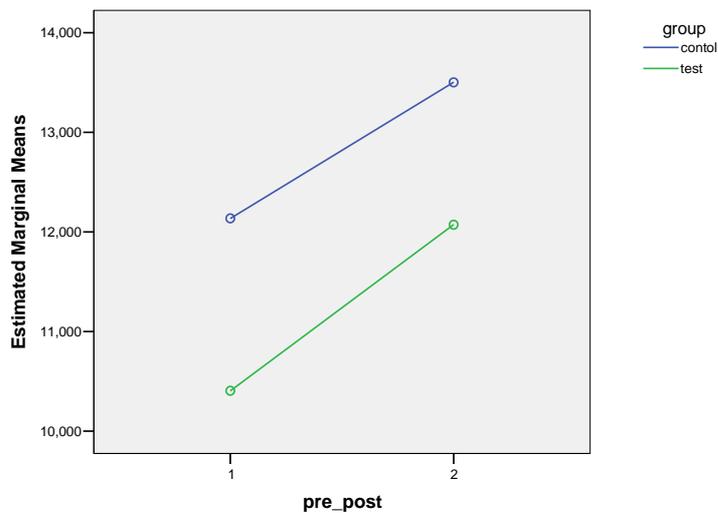
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	11273,512	1	11273,512	313,769	,000
groupe	48,573	1	48,573	1,352	,251
Error	1580,892	44	35,929		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



L'opération accroît significativement les valeurs de la variable ( $F = 4,265$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0,045$ ). Les deux groupes ne sont pas significativement différents dans l'ensemble ( $F = 1,352$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0,251$ ) ; on ne constate par ailleurs aucun effet d'interaction ( $F = 0,042$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0,839$ ).

## Le débit aérien moyen en phonation

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	,072	1	,072	7,420	,009
pré_post * groupe	Linear	,004	1	,004	,401	,530
Error(pre_post)	Linear	,417	43	,010		

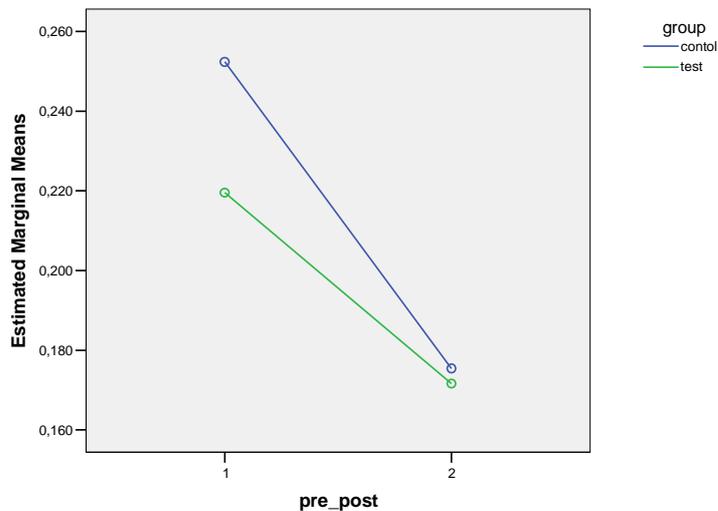
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	3,100	1	3,100	167,439	,000
groupe	,006	1	,006	,335	,566
Error	,796	43	,019		

Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Sous l'effet de l'opération, les valeurs de la variable diminuent significativement ( $F = 7,420$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.009$ ). On ne constate, par ailleurs, aucune autre différence significative, les deux groupes devant être considérés comme équivalents tant dans leurs valeurs avant et après l'opération que dans leur évolution : la différence intergroupe n'est pas significative ( $F = 0.335$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.566$ ) ni l'interaction ( $F = 0.401$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.530$ ).

## La pression sous-glottique

### Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE\_1

Source	pre_post	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pré_post	Linear	44,530	1	44,530	8,975	,005
pré_post * groupe	Linear	,212	1	,212	,043	,837
Error(pre_post)	Linear	213,346	43	4,962		

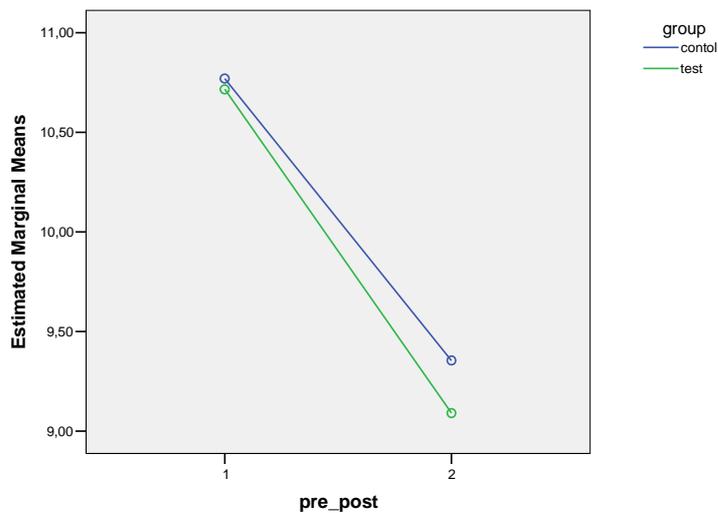
### Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE\_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	7689,089	1	7689,089	465,916	,000
groupe	,485	1	,485	,029	,865
Error	709,635	43	16,503		

### Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



Sous l'effet de l'opération, les valeurs de la variable chutent significativement ( $F = 8,975$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.005$ ). Les deux groupes ne sont pas différents quant à leur valeur pour cette variable ( $F = 0.029$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.865$ ). Ils n'évoluent pas de manière différente non plus, puisque l'interaction est non-significative ( $F = 0.043$  ;  $df = 1$  ;  $p = 0.837$ ).

### ***3. Les résultats postopératoires différés et à long terme***

Les résultats de l'analyse statistique corrélationnelle entre la valeur de la variable étudiée et le nombre de jours écoulés par rapport à la date de la microchirurgie sont présentés dans le tableau V.

***Dans le groupe implanté***, 10 corrélations sont observées : il s'agit de G, R, I, la fermeture glottique, les amplitudes vibratoires gauche et droite, l'ondulation muqueuse droite, la fluctuation de FO, l'écart-type de FO et le rapport bruit/signal (NHR).

La corrélation de la variable au temps écoulé est négative (la variable diminue au fil du temps) pour les valeurs de G, R, I, l'écart-type de FO, le rapport bruit/signal et la fluctuation de FO.

La corrélation de la variable au temps écoulé est positive (la variable augmente au fil du temps) pour les valeurs de la fermeture glottique, des amplitudes vibratoires et de l'ondulation muqueuse droite.

***Dans le groupe contrôle***, une seule variable est corrélée au temps écoulé : il s'agit de l'ondulation muqueuse gauche qui montre une corrélation positive au temps écoulé.

Tableau V

		Kendall				Spearman			
		contrôle	Signif.	implanté	Signif.	contrôle	Signif.	implanté	Signif.
Temps	Correlation Coefficient	1,000		1,000		1,000		1,000	
	Sig. (2-tailed)	.		.		.		.	
	N	60,000		74,000		60,000		74,000	
Grade G	Correlation Coefficient	0,001		-0,219		-0,002		-0,291	
	Sig. (2-tailed)	0,989	NS	0,019	*	0,991	NS	0,013	*
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Roughness R	Correlation Coefficient	0,050		-0,208		0,062		-0,267	
	Sig. (2-tailed)	0,629	NS	0,026	*	0,635	NS	0,023	*
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Breathiness B	Correlation Coefficient	-0,067		-0,068		-0,086		-0,102	
	Sig. (2-tailed)	0,516	NS	0,464	NS	0,514	NS	0,396	NS
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Asthenia A	Correlation Coefficient	0,009		-0,064		0,017		-0,076	
	Sig. (2-tailed)	0,930	NS	0,509	NS	0,900	NS	0,523	NS
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Strain S	Correlation Coefficient	0,061		-0,079		0,082		-0,113	
	Sig. (2-tailed)	0,549	NS	0,385	NS	0,535	NS	0,346	NS
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Instability I	Correlation Coefficient	-0,119		-0,198		-0,145		-0,269	
	Sig. (2-tailed)	0,253	NS	0,031	*	0,268	NS	0,022	*
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Fermeture glottique	Correlation Coefficient	-0,115		0,209		-0,173		0,295	
	Sig. (2-tailed)	0,214	NS	0,014	*	0,189	NS	0,012	*
	N	59,000		72,000		59,000		72,000	
Amplitude G	Correlation Coefficient	0,188		0,320		0,269		0,421	
	Sig. (2-tailed)	0,109	NS	0,027	*	0,093	NS	0,026	*
	N	40,000		28,000		40,000		28,000	
Ondul muq G	Correlation Coefficient	0,319		0,208		0,417		0,272	
	Sig. (2-tailed)	0,009	**	0,152	NS	0,006	**	0,162	NS
	N	42,000		28,000		42,000		28,000	
F0 moyenne	Correlation Coefficient	-0,134		-0,055		-0,203		-0,075	
	Sig. (2-tailed)	0,142	NS	0,499	NS	0,130	NS	0,530	NS
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	
Jit%	Correlation Coefficient	0,035		-0,137		0,044		-0,209	
	Sig. (2-tailed)	0,705	NS	0,091	NS	0,744	NS	0,075	NS
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	
Fluctuation F0	Correlation Coefficient	-0,020		-0,209		-0,028		-0,291	
	Sig. (2-tailed)	0,835	NS	0,012	*	0,838	NS	0,012	*
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	

Ecart-type F0	Correlation Coefficient	-0,048		-0,186		-0,081		-0,265	
	Sig. (2-tailed)	0,596	NS	0,021	*	0,551	NS	0,024	*
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	
Bruit/signal	Correlation Coefficient	0,014		-0,184		0,023		-0,254	
	Sig. (2-tailed)	0,880	NS	0,030	*	0,866	NS	0,031	*
	N	57,000		72,000		57,000		72,000	
Shim%	Correlation Coefficient	0,069		-0,085		0,102		-0,130	
	Sig. (2-tailed)	0,453	NS	0,290	NS	0,450	NS	0,274	NS
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	
TMP	Correlation Coefficient	0,016		0,027		0,017		0,042	
	Sig. (2-tailed)	0,874	NS	0,791	NS	0,909	NS	0,780	NS
	N	50,000		46,000		50,000		46,000	
Débit aérien moyen	Correlation Coefficient	-0,039		-0,086		-0,055		-0,118	
	Sig. (2-tailed)	0,694	NS	0,412	NS	0,707	NS	0,447	NS
	N	50,000		44,000		50,000		44,000	
Pression ss-glot.	Correlation Coefficient	0,008		0,112		0,004		0,186	
	Sig. (2-tailed)	0,936	NS	0,298	NS	0,978	NS	0,238	NS
	N	48,000		42,000		48,000		42,000	
Amplitude D.	Correlation Coefficient	0,071		0,351		0,108		0,482	
	Sig. (2-tailed)	0,512	NS	0,001	***	0,480	NS	0,000	***
	N	45,000		49,000		45,000		49,000	
Ondul.muq.D	Correlation Coefficient	0,093		0,297		0,120		0,390	
	Sig. (2-tailed)	0,443	NS	0,006	**	0,442	NS	0,006	**
	N	43,000		48,000		43,000		48,000	

## B. Discussion

Après un bref commentaire des résultats obtenus lors de l'étude I constituant l'étude pilote, nous discuterons et commenterons plus largement les observations réalisées lors de l'étude II. En effet, les 11 premiers patients traités ont été intégrés dans cette dernière.

### *Etude I*

#### *Implantation d'acide hyaluronique estérifié au sein de l'espace de Reinke après microchirurgie cordale : étude pilote*

Ces commentaires ont été publiés : **Finck C., Lefebvre P. « Implantation of Esterified Hyaluronic acid in Microdissected Reinke's space after Vocal Fold Microsurgery : First Clinical Experiences. » Laryngoscope 2005 ; 115 :1841-1847(Finck and Lefebvre, 2005).**

Chez ces 11 premiers patients implantés, la décision d'implantation est prise en fin d'intervention microchirurgicale et repose sur l'existence d'une importante atteinte lésionnelle destructive de l'espace de Reinke ou sur l'évaluation d'un risque adhérentiel et fibrotique postopératoire important. En raison du petit nombre de patients et du caractère inhomogène des diagnostics lésionnels, l'évaluation laryngée et vocale de chaque cas a été réalisée longitudinalement.

Lors du premier contrôle postopératoire, réalisé 1 à 2 semaines après la microchirurgie, nous observons un excellent aspect général de la corde opérée sauf chez le cas 7 qui développe une inflammation marquée associée à l'absence totale d'ondulation muqueuse. Cette inflammation est vraisemblablement attribuable à l'utilisation du laser CO2 et à la réalisation d'un flap muqueux trop latéral. Nous ne pensons pas que cette inflammation soit liée à l'implantation d'acide hyaluronique. L'aspect cordal chez ce patient était similaire à celui observé chez nos patients subissant une cordectomie laser de type I, bien que le flap ait été redrapé sur le ligament.

Chez 6 patients, l'amplitude de l'ondulation muqueuse augmente, par rapport à l'état préopératoire, dès les 2 premières semaines après l'implantation. Au fil des semaines, la souplesse tissulaire continue à s'améliorer et l'ondulation muqueuse continue à augmenter jusqu'à 38 semaines après la microchirurgie.

Le cas 4, souffrant d'un volumineux œdème de Reinke, bénéficie d'une microchirurgie bilatérale mais d'une implantation unilatérale d'AHE, car d'un côté, le redrapage du flap ne

peut être complet sur le ligament sous-jacent et on s'expose dès lors à un risque d'extrusion de l'implant d'AHE. Chez ce patient, l'amplitude vibratoire postopératoire est plus importante du côté implanté que du côté non-implanté.

Seuls trois cas (1, 2 et 4) bénéficient d'une évaluation à long terme réalisée respectivement à 16, 19 et 10 mois après l'implantation. On observe une excellente stabilité de l'image laryngée. L'amplitude vibratoire continue à augmenter légèrement dans 2 cas. On assiste surtout à une excellente tolérance du bio-implant d'AHE : il n'y a pas de rigidité tissulaire défavorable à la vibration ni de développement inflammatoire tardif tel qu'un granulome.

L'évaluation perceptuelle de la qualité vocale de ces premiers cas montre une bonne récupération vocale postopératoire. Sur l'échelle GRBASI, un grade I de sévérité dysphonique est obtenu chez 6 patients, entre 1 et 12 semaines après la microchirurgie et l'implantation d'AHE.

Une amélioration des indices d'instabilité fréquentielle (Déviation standard de F0, étendue de fluctuation de FO) est observée chez 9 patients. Le Jitter % diminue chez 6 patients. Le rapport signal-bruit régresse chez 8 patients. Les pathologies vocales étant habituellement associées à une augmentation de l'instabilité fréquentielle ainsi qu'au bruit associé à la fourniture harmonique, la diminution de la valeur de ces indices peut être interprétée comme une amélioration vocale postopératoire objective.

La tolérance à l'implantation locale d'acide hyaluronique estérifié a retenu toute notre attention. Si le caractère non-toxique (il est omniprésent dans les matrices extracellulaires corporelles) et non-immunogénique (car il ne contient pas de protéines) de la molécule d'acide hyaluronique natif est bien connu, des réactions d'hypersensibilité à des acides hyaluroniques modifiés utilisés en dermatologie dans le comblement des rides ont été rapportées (Andre, 2004;Friedman et al., 2002). Il s'agit d'inflammation survenant au site d'injection, dans les premières heures suivant celle-ci ou après un délai de 2 jours. La réaction inflammatoire est légère, associant rougeur et œdème local. Elle s'estompe rapidement, en quelques jours. Ces réactions d'hypersensibilité sont liées à la présence de contaminants protéiques bactériens au sein de la préparation d'acide hyaluronique modifié (Hylaform<sup>o</sup>, Biomatrix/Genzyme Corp, Ridgefield, New Jersey, USA et Restylane<sup>o</sup>, Q-Med AB, Upsala, Suède). En effet, ces 2 biomatériaux contiennent un acide hyaluronique produit par une fermentation bactérienne (Andre, 2004;Friedman et al., 2002).Le pourcentage des effets secondaires liés à une réaction d'hypersensibilité immédiate après injection intradermique d'un acide hyaluronique modifié est de 0.3 % (Andre, 2004). L'auteur conclut à un haut niveau de

tolérance de ce type de traitement. Il insiste sur le fait qu'il n'est pas nécessaire de réaliser de test cutané préalable à l'injection thérapeutique (Andre, 2004).

Des expérimentations animales ont évalué le devenir d'acides hyaluroniques modifiés injectés dans les cordes vocales de lapin. Il s'agissait soit d'acide hyaluronique mélangé à des dextranomes (Hallen et al., 1998), soit d'Hylaform<sup>o</sup> (Hallen et al., 1999).

L'Hylaform<sup>o</sup> n'a induit aucun phénomène inflammatoire immédiat (examen histologique réalisé 1 jour après l'injection) ni retardé (examens histologiques réalisés 1 mois, 3 mois, 6 mois, 12 mois après l'injection) dans ce modèle animal (Hallen et al., 1999). Il n'y a eu aucune réaction à cellules géantes ni de granulome.

Quant à l'acide hyaluronique mélangé aux dextranomes, la réaction inflammatoire est très minime lors de l'examen histologique de la corde vocale injectée pratiqué une semaine après l'injection (Hallen et al., 1998). Cette même étude animale montre l'absence de réaction inflammatoire tardive et granulomateuse ainsi que l'absence de réaction contre corps étranger 3 mois et 6 mois après l'injection (Hallen et al., 1998).

L'observation de nos patients montre une très bonne tolérance immédiate et retardée de l'implant résorbable d'acide hyaluronique modifié (Merogel<sup>o</sup>) qui, tout comme l'Hylaform<sup>o</sup> et le Restylane<sup>o</sup>, contient un acide hyaluronique produit par fermentation bactérienne. Les 11 cas implantés de cette étude pilote, hormis le cas n<sup>o</sup>7, qui souffre d'une inflammation temporaire et résolutive en 15 jours, sont caractérisés par un aspect lisse, hydraté et non inflammatoire de la corde vocale implantée.

Ces premiers résultats sont dès lors très encourageants et nous permettent de conclure que l'implantation d'AHE au sein de l'espace de Reinke, après une microchirurgie réalisée afin de corriger une lésion cordale bénigne, est bien tolérée et que, par ailleurs, nous obtenons une souplesse satisfaisante de la couverture cordale, particulièrement dans des cas où la rigidité tissulaire était importante avant le geste chirurgical. Or, c'est précisément l'amélioration postopératoire de l'ondulation muqueuse et de l'ampleur vibratoire qui sont capitales dans l'amélioration vocale postopératoire (Woo et al., 1994). Néanmoins, l'absence de comparaison à l'évolution postopératoire de patients non-implantés rend l'évaluation du rôle de l'acide hyaluronique impossible à appréhender.

Ces premiers résultats doivent donc être complétés par une seconde étude dont les buts essentiels sont : la confirmation de l'innocuité de la technique et du rôle favorable joué par l'acide hyaluronique implanté sur l'évolution fonctionnelle des patients. Cette dernière doit, par ailleurs, être soumise à une évaluation statistique.

## ***Etude II***

### ***Implantation d'acide hyaluronique estérifié lors de la microchirurgie des lésions cordales bénignes : étude prospective et contrôlée de l'évolution laryngée et vocale.***

**Finck C., Harmegnies B., Remacle A., Lefebvre P. « Implantation of Esterified Hyaluronic Acid in Microdissected Reinke's Space after Vocal Micro-surgery : a Controlled and Prospective Study of Laryngeal and Voice Evolution »**

Cette seconde étude fait tout naturellement suite aux premières conclusions précédemment publiées en 2005, dans notre étude pilote (Finck and Lefebvre, 2005). L'évaluation de l'impact fonctionnel d'une pathologie vocale bénigne, et donc de l'efficacité d'un traitement appliqué (comme la microchirurgie), est une tâche complexe (Uloza, 1999; Dejonckere et al., 2001). Les raisons en sont que l'évaluation porte à la fois sur la vibration laryngée, « la qualité vocale » et le rendement aérodynamique de la production vocale. De plus, de nombreuses techniques et méthodes sont disponibles dans ces 3 domaines d'investigation. La qualité d'une voix est certainement la chose la plus difficile à qualifier car si la voix possède des caractéristiques physiques mesurables telles que la fréquence et l'intensité, il n'existe pas actuellement de test permettant de définir ce qu'est une « bonne » voix (Potsma GN, 1998). Est-ce sa puissance, sa couleur, sa résistance, sa clarté, sa hauteur, son étendue ?

Etonnamment, l'oreille nous fournit une « photographie » vocale quasi instantanée alors même que les analyses acoustiques et aérodynamiques objectivantes doivent être multiples pour rendre compte de seulement quelques caractéristiques vocales.

L'European Laryngological Society (ELS) a ressenti le besoin de définir un protocole des différentes techniques utilisables, afin d'évaluer les résultats de traitements phonochirurgicaux. Le but de ce protocole est de pouvoir comparer plus aisément les résultats obtenus et publiés par différentes équipes chirurgicales (Dejonckere et al., 2001). Notre protocole d'évaluation en est très proche, à la différence près que nous n'avons pas mesuré l'étendue vocale ni eu recours à une évaluation subjective par le patient lui-même.

Suivi à la consultation de phoniatrie, chaque patient a bénéficié lors de chaque visite d'une batterie de tests la plus complète possible, telle qu'elle a été exposée au chapitre V. Tous ont subi un examen préopératoire et un examen postopératoire, et dans la mesure du possible, plusieurs examens différés. Le nombre et le moment de ces examens dépendent de la compliance aux rendez-vous fixés et de la disponibilité de l'examineur. La difficulté

d'observer les patients à des intervalles précis et donc à standardiser leur suivi postopératoire, est un problème bien connu dans les études cliniques telles que celle-ci, et d'autres auteurs y ont été bien sûr confrontés (Zeitels et al., 1997).

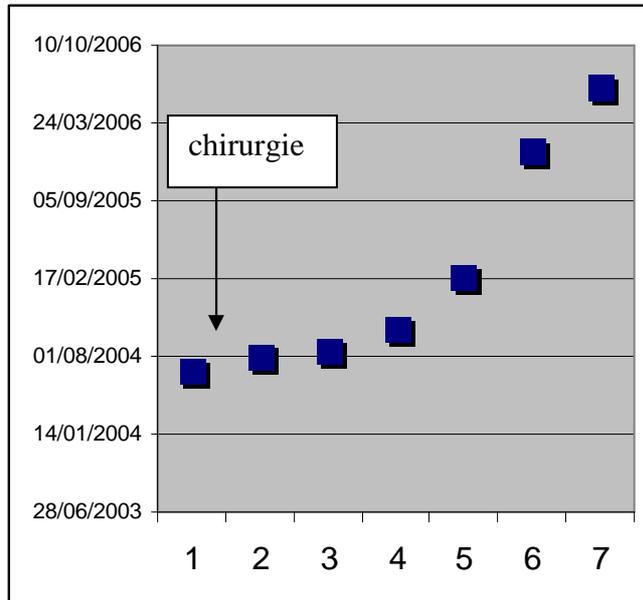


Schéma d'observation d'un patient

Le suivi des 83 patients s'est déroulé sur 4 ans. Les interventions microchirurgicales incluses dans cette étude ont été pratiquées entre le 14/2/2003 et le 16/2/2007.

Rappelons que parmi les 83 patients, 33 d'entre eux (groupe implanté) ont bénéficié d'une implantation d'acide hyaluronique estérifié en fin d'intervention microchirurgicale. 50 patients (groupe contrôle) n'ont pas bénéficié d'implantation d'acide hyaluronique estérifié.

Les diagnostics préopératoires sont inhomogènes : il n'y pas de pseudokystes dans le groupe implanté alors qu'il n'y a pas de lésion destructive de l'espace de Reinke (sulcus, vergeture, kyste ouvert, fibrose sous-épithéliale) dans le groupe contrôle.

Les critères d'implantation de l'acide hyaluronique estérifié ont été décrits au chapitre IV de ce travail. Ces critères, liés au caractère prospectif de ce travail, expliquent le caractère inhomogène des diagnostics préopératoires des deux groupes.

Les données préopératoires montrent que la voix est subjectivement moins bonne et que l'ondulation muqueuse est moins ample au sein du groupe qui va bénéficier de l'implantation d'acide hyaluronique.

Deux études statistiques distinctes ont été pratiquées :

- 1) une analyse de variance comparant les données préopératoires aux données postopératoires
- 2) Les observations différées (en dehors de la période postopératoire immédiate) sont analysées par une étude statistique corrélacionnelle.

La première permet une étude des résultats postopératoires immédiats (obtenus au premier contrôle postopératoire, soit entre 1 et 6 semaines après la microchirurgie) , alors que la seconde permet d'évaluer l'évolution à long terme, au fil des mois, des paramètres mesurés chez les patients des deux groupes.

Les résultats des deux analyses statistiques seront commentés séparément.

### ***Résultats postopératoires immédiats***

L'analyse de variance permet d'observer une modification significative de nombreux paramètres vocaux et laryngés, telle qu'on peut l'espérer après une microchirurgie cordale (*cf* chapitres IV et V). La fermeture glottique, l'amplitude de la vibration et de l'ondulation muqueuse augmentent significativement après la microchirurgie cordale. La qualité vocale subjective, évaluée sur l'échelle GRBASI, s'améliore. L'instabilité en fréquence (Jitter%, Etendue de variation de F0, Déviation standard de F0) et l'instabilité en intensité (Shimmer%) régressent significativement dans les 2 groupes.

Les paramètres aérodynamiques sont également clairement modifiés : le débit aérien moyen et la pression sous-glottique diminuent significativement. Le temps maximum de phonation augmente également de manière significative. On assiste donc à une amélioration du rendement laryngé, et ce dans les 2 groupes.

Ces résultats immédiats nous semblent excellents si nous les comparons aux résultats chirurgicaux publiés par d'autres microchirurgiens. Les publications sur les résultats microchirurgicaux ne sont néanmoins pas légion. Nous avons pu comparer nos résultats à ceux de 4 autres séries.

1- Une étude décrit 58 patients souffrant de nodules ou de polypes. L'observation postopératoire est réalisée 2 semaines après la microchirurgie et montre une diminution significative de G, R, et B, sur l'échelle GRB. Le jitter%, le shimmer% et le niveau de bruit diminuent également significativement. L'auteur ne décrit pas sa technique chirurgicale : on

ne sait donc pas s'il réalise un microflap et dans quelle mesure il préserve la couverture cordale (Uloza, 1999).

2- Une autre étude décrit l'évolution postopératoire de 50 patients atteints de pathologie cordale bénigne, en majorité de polypes, et bien que l'auteur insiste sur l'importance que représente l'augmentation de l'ondulation muqueuse et de l'amplitude vibratoire dans l'amélioration vocale post-chirurgicale, la technique chirurgicale utilisée n'est pas décrite précisément. Les résultats postopératoires montrent une diminution du débit aérien moyen mais pas d'augmentation du temps maximum de phonation. En ce qui concerne l'évolution stroboscopique, l'auteur note que l'ondulation muqueuse est très difficile à restaurer, même partiellement, chez les patients qui présentaient une altération importante de celle-ci lors de l'examen préopératoire (4 patients opérés de sulcus), ou lorsqu'il est nécessaire de réaliser une large dissection intracordale, comme dans le cas des oedèmes de Reinke. Dans ce cas particulier, l'auteur remarque que la récupération d'une ondulation muqueuse et d'une amplitude vibratoire suffisantes est souvent lente après le traitement microchirurgical (Woo et al., 1994).

3- Une petite série de 18 patientes souffrant d'œdème de Reinke a été publiée en 1997. La technique chirurgicale est décrite in extenso et correspond exactement à celle utilisée chez nos propres patients, à l'exception de l'absence d'utilisation de colle de fibrine par l'auteur. 14 patientes ont subi une évaluation post-opératoire à 2 mois : seul le shimmer % et F0 montrent une modification postopératoire significative. La pression sous-glottique, le débit aérien moyen, le jitter% et le temps maximum de phonation ne sont pas significativement modifiés par l'intervention microchirurgicale (Zeitels et al., 1997).

4- Les résultats microchirurgicaux obtenus deux mois après une microchirurgie cordale chez des chanteurs et artistes de théâtre au sens large ont été publiés récemment. Bien que l'évaluation postopératoire soit plus tardive que la première évaluation postopératoire réalisée chez nos patients, ces résultats sont intéressants en raison du nombre de cas enrôlés (185 patients, 201 nodules, 71 polypes, 66 varices, 13 kystes, 8 kératoses, 2 granulomes, 2 oedèmes de Reinke), mais aussi parce que les techniques microchirurgicales sont identiques aux nôtres (à l'exception bien sûr de l'insertion éventuelle d'acide hyaluronique estérifié) et que les mesures des paramètres acoustiques et aérodynamiques sont réalisées avec les mêmes logiciels d'acquisition que les nôtres. Dans cette grande série, le temps maximum de phonation et F0 (chez les femmes) augmentent significativement après la microchirurgie alors que le shimmer% et la pression sous-glottique diminuent. Par contre, le jitter% ne diminue

pas significativement, tandis que le rapport signal/bruit demeure inchangé après la microchirurgie (Zeitels et al., 2002).

Comparé à ces 4 études, notre suivi clinique est particulièrement intense: à chaque consultation, nous évaluons ou mesurons 20 variables chez chacun de nos patients ! Par ailleurs, les pathologies traitées dans notre propre série sont aussi plus lourdes : elle ne contient pas moins de 21 cas de kystes ou de lésions destructrices de l'espace de Reinke (cicatrice, sulcus, vergeture, fibrose sous-épithéliale) alors que parmi les 4 séries évoquées ci-dessus, l'une ne concerne que des oedèmes de Reinke (Zeitels et al., 1997), tandis que les 3 autres portent exclusivement (Uloza, 1999) ou majoritairement (Woo et al., 1994;Zeitels et al., 2002) sur des nodules et des polypes. Nos propres résultats apparaissent dès lors particulièrement favorables.

En tout état de cause, il convient de demeurer circonspect face à ce genre de séries lorsque le ou les auteurs ne jugent pas opportun de spécifier exactement la technique microchirurgicale utilisée. En effet, celle-ci est susceptible de modifier considérablement l'évolution fonctionnelle des patients et donc de biaiser toute comparaison qui négligerait ce facteur.

L'évaluation au cours de cette période postopératoire immédiate doit par ailleurs tenir compte, chez les patients implantés, à la fois de la cicatrisation en cours et des caractéristiques visco-élastiques de l'acide hyaluronique estérifié présent au sein de la couverture cordale. C'est la première fois qu'un bio-implant constitué d'acide hyaluronique modifié est utilisé aussi superficiellement dans les cordes vocales humaines. Les premières observations postopératoires sont éminemment rassurantes. En effet, alors que leur dysphonie préopératoire était plus marquée, les patients implantés évoluent aussi bien que les patients du groupe contrôle, tant en ce qui concerne les paramètres stroboscopiques que vocaux. C'est la constatation d'une très bonne souplesse de la couverture cordale en vidéostroboscopie qui représente, à nos yeux, le résultat le plus important. Nous savons que l'introduction d'un bioimplant dans la structure laminaire entraîne inévitablement une modification des caractéristiques biomécaniques de la corde implantée (Dahlqvist et al., 2004;Chan and Titze, 1999a). Cette modification peut être à l'origine soit d'une facilitation de la phonation, soit d'une détérioration de l'aisance phonatoire (Dahlqvist et al., 2004;Hertegard et al., 2003;Caton et al., 2007). C'est particulièrement vrai si l'implant est placé dans la couverture cordale, car c'est elle qui est le vibreur principal. Les propriétés naturelles d'étirement de la couverture cordale sont essentielles à la propagation de l'ondulation muqueuse cordale et

donc les capacités d'étirement du bioimplant doivent si possible être du même ordre (Chan and Titze, 1999b).

Notre choix d'un acide hyaluronique modifié s'appuie sur une série d'études ciblées portant sur les caractéristiques visco-élastiques de différents bio-matériaux susceptibles d'être utilisés en laryngologie.

Des explorations rhéologiques, à faible fréquence d'oscillation, ont été pratiquées sur la couverture cordale obtenue de larynx humains frais (Chan and Titze, 1999b) et des mesures du même type ont eu lieu sur différents bioimplants (le téflon (Mentor Inc, Hingham, Ma, USA), la gélatine (Gelfoam<sup>o</sup>, Upjohn Co, Kalamazoo, MI, USA), le collagène (Zyplast<sup>o</sup>, Collagen corporation, Palo Alto, California, USA), la graisse (graisse abdominale humaine obtenue de cadavres frais), l'acide hyaluronique (solutions d'hyaluronate de poids moléculaire 3 à 6x 10<sup>6</sup> Da à 0.01%-0.1%-0.5%-1%), l'acide hyaluronique associé à de la fibronectine (hyaluronate 0.01%-0.1%-0.5% mélangé à de la fibronectine humaine). Le téflon, la gélatine, le collagène, la graisse démontrent tous une viscosité et une rigidité bien supérieures à celles mesurées au niveau de la couverture cordale. Par contre, la solution d'acide hyaluronique avec ou sans fibronectine et à une concentration de 0.5 à 1%, possède les mêmes caractéristiques rhéologiques que la couverture cordale (Chan and Titze, 1999a). Les autres biomatériaux sont beaucoup trop rigides et visqueux (Chan and Titze, 1999a). L'acide hyaluronique est dès lors considéré comme un implant favorable non seulement en raison de ses capacités de modulation des processus de cicatrisation mais aussi de ses caractéristiques visco-élastiques (Chan et al., 2001; Chan and Titze, 1999a).

Ces premières études rhéologiques ont été suivies par d'autres, plus récentes, utilisant des fréquences oscillatoires supérieures se rapprochant des fréquences d'oscillation naturelles des cordes vocales humaines : selon les auteurs, les résultats rhéologiques de ces expérimentations peuvent d'ailleurs être extrapolées jusqu'à des fréquences oscillatoires de 1000 Hz (Klemuk and Titze, 2004). A nouveau, d'un point de vue biomécanique, ce sont les préparations à base d'acide hyaluronique modifié (acide hyaluronique thiolé et modifié par liaisons croisées (Klemuk and Titze, 2004), Restylane<sup>o</sup> (Caton et al., 2007)(Q-Med AB, Upsala, Suède)(Caton et al., 2007), Hylaform<sup>o</sup> (Caton et al., 2007)(Biomatrix/Genzyme Corp, Ridgefield, New Jersey, USA) qui possèdent les caractéristiques de viscosité et de rigidité les plus proches de celles de la couverture cordale humaine, alors que les biomatériaux constitués de collagène (Zyderm<sup>o</sup>, McGhan Medical corp, Fremont USA), d'alloderme humain (Cymetra<sup>o</sup>, Lifecell corp, Branchburg, New Jersey, USA), d'hydroxylapatite (Radiess<sup>o</sup>, Bioform Medical, Franksville, WI, USA) s'avèrent beaucoup

plus rigides et visqueux (Caton et al., 2007;Klemuk and Titze, 2004). Cymetra°, Restylane° et Hylaform° sont des biomatériaux au départ destinés au traitement des rides. Radiesse° (Rosen and Thekdi, 2004), Hylaform° (Hertegard et al., 2002;Hertegard et al., 2004) et Cymetra° (Pearl et al., 2002) sont jusqu'ici utilisés en laryngologie comme implants d'augmentation volumique cordale en cas de paralysie cordale ou d'atrophie cordale.

Dans un modèle animal (le lapin), des mesures rhéologiques réalisées sur les cordes vocales injectées d'hylan (Hylaform° Biomatrix/Genzyme Corp, Ridgefield, New Jersey, USA), de téflon (Teflon, Ethicon), et de collagène (Zyplast°, Collagen Corp, Palo Alto, Californie USA) ont montré de très grandes différences biomécaniques selon le type d'implant utilisé : la viscosité des cordes injectées reste très proche de celle des cordes saines s'il s'agit de l'hylan. Par contre, la viscosité cordale augmente considérablement si l'injection est pratiquée avec du téflon ou du collagène (Hertegard et al., 2003).

Des résultats rhéologiques du même ordre sont observés 6 mois après l'injection intracordale chez le même modèle animal. Cette fois, les cordes vocales sont injectées avec de l'acide hyaluronique modifié (Hylaform° Biomatrix/Genzyme Corp, Ridgefield, New Jersey, USA), avec de l'acide hyaluronique mélangé avec des dextranomères (Copolymer Deflux°, Q-Med AB, Upsala, Suède), du téflon (Teflon, Ethicon) ou du collagène (Zyplast°, Collagen Corp, Palo Alto, Californie USA). Les cordes injectées avec les dérivés d'acide hyaluronique possèdent la même viscosité dynamique que les cordes vocales saines, non injectées. Au contraire, les cordes injectées avec le téflon ou le collagène montrent une viscosité dynamique élevée, bien au-dessus des valeurs obtenues chez les cordes vocales non-injectées (Dahlqvist et al., 2004).

Ces explorations rhéologiques montrent l'intérêt croissant pour la recherche de biomatériaux compatibles avec une utilisation très superficielle dans la lamina propria cordale, afin de traiter un espace de Reinke déficitaire dans une cicatrice cordale ou un sulcus. L'ensemble des résultats publiés dans ces études montre que les biomatériaux constitués d'acide hyaluronique modifié sont d'excellents candidats à une utilisation superficielle au sein de la lamina propria cordale et cette éventualité est envisagée par plusieurs auteurs (Caton et al., 2007;Hallen et al., 1999;Chan et al., 2001;Chan and Titze, 1999a;Gray et al., 1999;Chan and Titze, 1998)

Nos observations vidéo-stroboscopiques postopératoires précoces confirment les données évoquées ci-dessus et plaident en faveur de caractéristiques visco-élastiques favorables de l'implant d'acide hyaluronique estérifié. Si ce dernier s'était avéré trop visqueux ou trop rigide, nous aurions observé une absence d'ondulation muqueuse ou une

détérioration de celle-ci lors du premier contrôle postopératoire. Cependant, le risque d'une augmentation même transitoire de la rigidité cordale nous a paru très faible, voire négligeable, étant donné l'intensité de l'altération tissulaire opérée.

Par ailleurs, notre utilisation de l'acide hyaluronique estérifié au sein de la couverture cordale n'est pas pratiquée dans le but de remplacer purement et simplement l'espace de Reinke détruit ou altéré mais bien de moduler sa cicatrisation et si possible de créer des conditions propices à son éventuelle régénérescence : le caractère résorbable de l'implant et son action temporaire ont aussi leur importance dans la décision d'une utilisation au sein de la couche superficielle de la lamina propria.

Le temps de résidence, au sein de la corde vocale, de l'implant d'acide hyaluronique estérifié que nous utilisons, n'est pas connu. L'observation de l'aspect laryngé chez nos patients implantés montre, dans un petit nombre de cas, la persistance d'une voussure cordale, à l'endroit de l'implantation, jusqu'à la 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> semaine postopératoire. Macroscopiquement, chez ces patients, l'implant est, semble-t-il, toujours présent à ce moment.

### ***Résultats postopératoires différés et à long terme.***

Une des originalités de notre travail est de réaliser un suivi clinique à long terme de l'évolution vocale et laryngée de nos patients. Nous n'avons pas limité l'évaluation de nos résultats à la seule période postopératoire immédiate alors que c'est habituellement le cas au sein des publications traitant de la microchirurgie des lésions cordales bénignes (Woo et al., 1994;Uloza, 1999;Zeitels et al., 1997;Zeitels et al., 2002).

Ce suivi prolongé est important pour deux raisons :

- l'évolution à long terme des patients subissant une microchirurgie cordale n'est pas connue.

- l'implantation d'acide hyaluronique estérifié au sein de la corde opérée est réalisée afin de modifier le phénotype des fibroblastes au sein de la couverture cordale. Un processus régénératif est susceptible de ne montrer ses effets qu'à long terme.

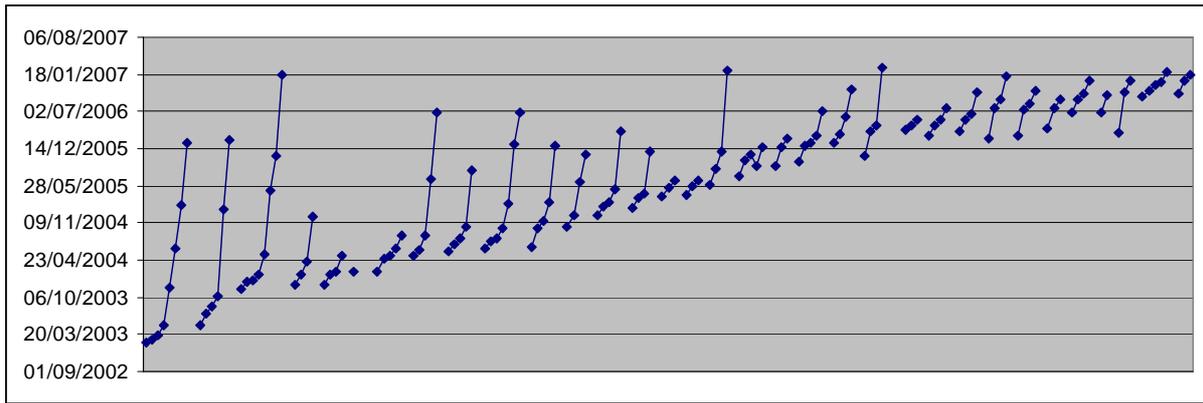
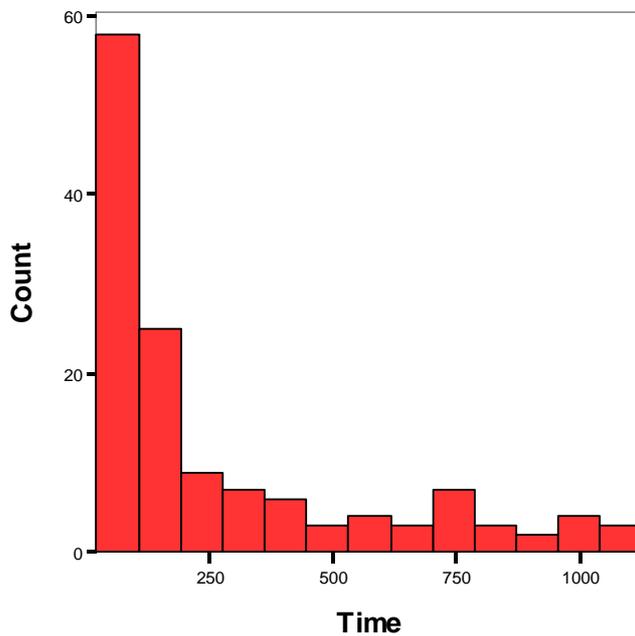


Schéma général des examens pour l'ensemble des patients du groupe implanté. L'étude s'est déroulée sur une période de 4 ans, la première intervention incluse dans cette étude s'étant déroulée le 14/02/03 et la dernière le 16/02/07

Nous sommes malheureusement confrontés, comme dans toute étude clinique, à la compliance de nos patients : les acquisitions de données se raréfient au cours du temps et les patients ne sont jamais examinés au même moment.



Le graphique ci-dessus montre la raréfaction des données acquises au fil du temps, dans notre série.

Nous ne pouvons, pour ces raisons, utiliser une méthode d'analyse statistique comme l'analyse de variance : cela nécessiterait la définition de périodes d'observation bien trop larges pour avoir une quelconque signification. En effet, des données acquises à 6 mois ne sont pas représentatives du même stade évolutif tissulaire que des données acquises à 12 mois. Pour ces raisons, nous avons opté non pas pour une analyse de variance mais pour une étude de corrélation. Nous sommes intéressés par l'évolution temporelle et fonctionnelle de nos patients : l'acide hyaluronique implanté exerce-t-il une action favorable ? Modifie-t-il l'évolution fonctionnelle ?

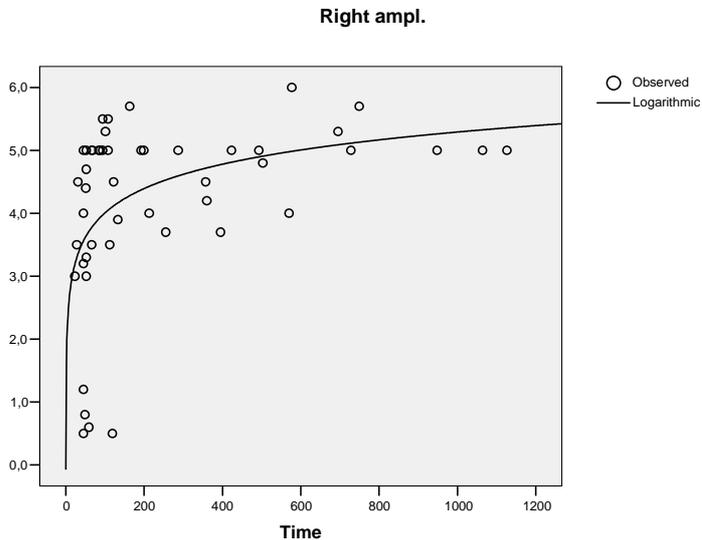
Pour chaque variable vocale ou laryngée étudiée, nous allons évaluer si celle-ci évolue dans le temps, autrement dit :

- y a-t-il une relation significative entre sa valeur et le nombre de jours écoulés depuis la microchirurgie cordale.
- s'il existe une relation entre la valeur de la variable et le temps écoulé depuis l'intervention, est-ce une relation positive (une augmentation de la valeur) ou une relation négative (une diminution de la valeur) ?

Cette procédure est réalisée dans chaque groupe séparément, le groupe contrôle de 50 patients et le groupe implanté de 33 patients. Comme nous l'avons décrit précédemment, seules les évaluations obtenues à partir et au-delà du 2<sup>ième</sup> contrôle postopératoire sont utilisées dans cette étude de corrélation.

Nous avons utilisé deux coefficients de corrélation (coefficient de Kendall et coefficient de Spearman) non paramétriques car la relation entre le temps écoulé et la valeur de la variable étudiée n'est vraisemblablement pas linéaire.

Pour illustrer cette relation non linéaire, nous montrons dans le graphique ci-dessous l'évolution de l'amplitude vibratoire droite en fonction du temps.



Les corrélations observées dans chaque groupe sont ensuite comparées.

Nous observons un comportement très différent : le groupe de patients implantés continue d'améliorer 10 variables sur les 20 variables évaluées et quantifiées, alors que le groupe contrôle n'améliore significativement qu'une seule variable. Autrement dit, le groupe implanté manifeste une évolution significative et favorable au fil du temps, bien au-delà de la période postopératoire immédiate. Le groupe contrôle, quant à lui, ne témoigne d'aucune évolution des paramètres vocaux et laryngés quantifiés lors de ce suivi à long terme.

L'explication de cette évolution différente pourrait être une atteinte plus sévère du groupe implanté, et donc une amélioration plus lente des paramètres vocaux et laryngés. Cela pourrait expliquer partiellement l'évolution de G, R, S, I et des caractéristiques stroboscopiques droites qui étaient moins bonnes au sein du groupe implanté lors de l'examen préopératoire. Mais cette vision nous paraît insuffisante et réductrice : certaines variables étaient altérées de manière équivalente dans les deux groupes lors de l'examen préopératoire et n'évoluent favorablement qu'au sein du groupe implanté. Mais surtout, les deux groupes évoluent de la

même manière lors du premier examen postopératoire (analyse de variance des résultats postopératoires immédiats, *cf* plus haut). Le groupe contrôle n'est certes pas « normalisé » après la microchirurgie et s'il ne s'agissait que d'une évolution retardée, elle devrait également s'observer dans le groupe contrôle.

On peut donc raisonnablement envisager une action favorable de l'acide hyaluronique estérifié sur le processus de cicatrisation intratissulaire : une lente amélioration de la souplesse de la couverture cordale se fait jour, grâce à une reconstitution au moins partielle d'une matrice extracellulaire par des fibroblastes dont le phénotype a été modifié par la présence d'un taux élevé d'acide hyaluronique au sein de la plaie microchirurgicale. Nous pourrions donc expliquer l'évolution particulière de notre groupe implanté par un véritable processus régénératif au sein de l'espace de Reinke. Ce processus ne peut être que lent, connaissant le caractère pauci-cellulaire de cette couche tissulaire, et donc n'est pas perceptible lors du premier contrôle postopératoire : à ce moment, les deux groupes évoluent de manière identique.

Un processus régénératif du même type, induit par un acide hyaluronique modifié par liaisons croisées (Restylane°, Q-Med AB, Upsala, Suède) vient d'être démontré au sein du tissu cutané humain : son injection au sein du derme stimule la synthèse de molécules matricielles, notamment collagéniques, par les fibroblastes cutanés (Wang et al., 2007). Les fibroblastes de la lamina propria cordale ont certainement des caractéristiques phénotypiques différentes, comme vient notamment de le montrer une étude animale sur l'utilisation d'injection de fibroblastes au sein de cordes iatrogéniquement lésées : *in vitro*, les fibroblastes cordaux produisent plus d'acide hyaluronique que les fibroblastes cutanés (Krishna et al., 2006).

Un processus régénératif induit par un acide hyaluronique modifié a aussi été observé dans un modèle animal : un hylan injecté profondément dans la lamina propria cordale induit la production par les fibroblastes, qui envahissent l'hylan injecté, de matrice extracellulaire néoformée. L'hylan injecté agit donc comme un « recruteur » fibroblastique. Les fibroblastes recrutés produisent alors une matrice extracellulaire riche en collagène et en acide hyaluronique (Hallen et al., 1999). Pour cette raison, les auteurs concluent que l'hylan utilisé (Hylaform°) pourrait être utilisé au sein des couches les plus superficielles de la lamina propria (Hallen et al., 1999).

Notre travail soulève la question du temps de résidence nécessaire à l'acide hyaluronique estérifié pour induire un processus régénératif suffisant. Dans les études sur la cicatrisation cutanée, les effets favorables d'un acide hyaluronique exogène ne se manifestent

que si celui-ci est présent au sein de la plaie durant une période prolongée (Balazs EA, 2000). Au vu des connaissances réduites sur les processus de réparation tissulaires au sein de la lamina propria cordale mais aussi en raison du fait que nous ne connaissons pas la durée de résidence locale de l'acide hyaluronique estérifié que nous utilisons, il est impossible de fournir une réponse à cette interrogation. Nous avons néanmoins le sentiment, au vu de l'observation des cas les plus sévères de cicatrice cordale ou de vergeture, que la persistance de l'implant utilisé est encore insuffisant. Il est en effet logique de penser que la modulation de la cicatrisation par un acide hyaluronique exogène est influencée par la composition du tissu au sein duquel il est implanté, et en particulier de la composition cellulaire locale : en cas d'espace de Reinke totalement détruit au départ, la recolonisation locale par des fibroblastes peut ne pas se faire assez rapidement, c'est-à-dire avant que l'implant ne soit totalement résorbé.

Outre le temps de résidence au sein du tissu, le poids moléculaire de l'acide hyaluronique exogène est important. Les acides hyaluroniques de haut poids moléculaire (>1.000.000 Da) ont la réputation de favoriser la contraction de la plaie et de réduire l'angiogenèse (Breuing et al., 1992). Par contre, les acides hyaluroniques de petit poids moléculaire stimulent l'angiogenèse dans des modèles animaux (Arnold et al., 1995). Bien que nous utilisions un acide hyaluronique de petit poids moléculaire (seulement 20000 Da), nous n'avons pas observé d'hypervascularisation permanente chez aucun de nos cas traités, mais il s'agit bien sûr d'une observation macroscopique de l'aspect cordal et nous ne disposons évidemment pas d'un examen histologique. Un effet micro-angiogénique reste donc toutefois possible mais il échappe à notre observation.

En ce qui concerne la tolérance à l'acide hyaluronique estérifié utilisé, le suivi de nos 33 patients a montré un seul cas de réaction inflammatoire prolongée et de cicatrisation longue et difficile, chez une patiente opérée de kyste muqueux intracordal. Une réaction inflammatoire importante est observée au 1<sup>er</sup> contrôle postopératoire et va persister de longues semaines. L'inflammation et la diminution de l'ondulation muqueuse de surface sont toujours présentes 8 mois après la microchirurgie, bien que la qualité vocale soit néanmoins satisfaisante. Une investigation d'intolérance ou d'allergie à l'acide hyaluronique estérifié, à la colle de fibrine ou à l'adrénaline utilisés durant la microchirurgie cordale a été réalisée chez ce patient et s'est avérée négative. L'étiologie de ce phénomène reste mystérieuse : il pourrait s'agir d'une surinfection de la plaie opératoire chez une patiente qui, il est vrai, n'a pas respecté le repos vocal postopératoire et qui n'a pas suivi le traitement médicamenteux prescrit en postopératoire chez tous nos patients. Il pourrait aussi s'agir d'une réaction

d'hypersensibilité telle qu'elle est rapportée lors des injections intradermiques d'hylans avec une prévalence de 0.3 % (Andre, 2004;Friedman et al., 2002).

Chez les 32 autres cas implantés, nous n'avons observé aucune inflammation immédiate ou retardée. Nous n'avons jamais observé de développement de granulome.

Cette excellente tolérance de l'acide hyaluronique modifié a aussi été observée lors de l'utilisation d'un hylan (Hertegard et al., 2002) (1 série de 60 patients suivis pendant 1an) ou d'acide hyaluronique mélangé à des dextranomes (Hallen et al., 2001) (1 série de 14 patients suivis pendant 2 ans ½) dans la chirurgie d'augmentation volumique cordale. Dans les 2 séries publiées, il n'y a aucune complication rapportée hormis 3 cas présentant une inflammation légère au site d'injection de l'hylan, et qui a été spontanément résolutive. Un suivi à 2 ans de patients ayant bénéficié d'une injection intracordale d'hylan n'a montré aucun effet néfaste du traitement (Hertegard et al., 2004).

## Articles de référence

Andre P (2004) Evaluation of the safety of a non-animal stabilized hyaluronic acid (NASHA - Q-Medical, Sweden) in European countries: a retrospective study from 1997 to 2001. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 18:422-425.

Arnold F, Jia C, He C, Cherry GW, Carbow B, Meyer-Ingold W, Bader D, West DC (1995) Hyaluronan, heterogeneity, and healing: the effects of ultrapure hyaluronan of defined molecular size on the repair of full-thickness pig skin wounds. *Wound Repair Regen* 3:299-310.

Balazs EA LN (2000) Hyaluronan: aiming for perfect skin regeneration. In: Scarless wound healing (Garg HG, ed), pp 143-160. New York: Marcel Dekker.

Breuing K, Eriksson E, Liu P, Miller DR (1992) Healing of partial thickness porcine skin wounds in a liquid environment. *J Surg Res* 52:50-58.

Caton T, Thibeault SL, Klemuk S, Smith ME (2007) Viscoelasticity of hyaluronan and nonhyaluronan based vocal fold injectables: implications for mucosal versus muscle use. *Laryngoscope* 117:516-521.

Chan RW, Gray SD, Titze IR (2001) The importance of hyaluronic acid in vocal fold biomechanics. *Otolaryngol Head Neck Surg* 124:607-614.

Chan RW, Titze IR (1999b) Viscoelastic shear properties of human vocal fold mucosa: measurement methodology and empirical results. *J Acoust Soc Am* 106:2008-2021.

Chan RW, Titze IR (1998) Viscosities of implantable biomaterials in vocal fold augmentation surgery. *Laryngoscope* 108:725-731.

Chan RW, Titze IR (1999a) Hyaluronic acid (with fibronectin) as a bioimplant for the vocal fold mucosa. *Laryngoscope* 109:1142-1149.

Dahlqvist A, Garskog O, Laurent C, Hertegard S, Ambrosio L, Borzacchiello A (2004) Viscoelasticity of rabbit vocal folds after injection augmentation. *Laryngoscope* 114:138-142.

Dejonckere PH, Bradley P, Clemente P, Cornut G, Crevier-Buchman L, Friedrich G, Van De HP, Remacle M, Woisard V (2001) A basic protocol for functional assessment of voice pathology, especially for investigating the efficacy of (phonosurgical) treatments and evaluating new assessment techniques. Guideline elaborated by the Committee on Phoniatics of the European Laryngological Society (ELS). *Eur Arch Otorhinolaryngol* 258:77-82.

Finck C, Lefebvre P (2005) Implantation of esterified hyaluronic acid in microdissected Reinke's space after vocal fold microsurgery: first clinical experiences. *Laryngoscope* 115:1841-1847.

Finck C. (2005) Structure cordale et pathologies vocales. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 126, 5: 295-300.

Friedman PM, Mafong EA, Kauvar AN, Geronemus RG (2002) Safety data of injectable nonanimal stabilized hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. *Dermatol Surg* 28:491-494.

Gray SD, Titze IR, Chan R, Hammond TH (1999) Vocal fold proteoglycans and their influence on biomechanics. *Laryngoscope* 109:845-854.

Hallen L, Dahlqvist A, Laurent C (1998) Dextranomers in hyaluronan (DiHA): a promising substance in treating vocal cord insufficiency. *Laryngoscope* 108:393-397.

Hallen L, Johansson C, Laurent C (1999) Cross-linked hyaluronan (Hylan B gel): a new injectable remedy for treatment of vocal fold insufficiency--an animal study. *Acta Otolaryngol* 119:107-111.

Hallen L, Testad P, Sederholm E, Dahlqvist A, Laurent C (2001) DiHA (dextranomers in hyaluronan) injections for treatment of insufficient closure of the vocal folds: early clinical experiences. *Laryngoscope* 111:1063-1067.

Harmegnies B, Landercy A.,(1988) Intra-speaker variability of the long term speech spectrum. *Speech Communication*,7: 81-86.

Hertegard S, Dahlqvist A, Laurent C, Borzacchiello A, Ambrosio L (2003) Viscoelastic properties of rabbit vocal folds after augmentation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 128:401-406.

Hertegard S, Hallen L, Laurent C, Lindstrom E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist A (2002) Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 112:2211-2219.

Hertegard S, Hallen L, Laurent C, Lindstrom E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist A (2004) Cross-linked hyaluronan versus collagen for injection treatment of glottal insufficiency: 2-year follow-up. *Acta Otolaryngol* 124:1208-1214.

Klemuk SA, Titze IR (2004) Viscoelastic properties of three vocal-fold injectable biomaterials at low audio frequencies. *Laryngoscope* 114:1597-1603.

Krishna P, Rosen CA, Branski RC, Wells A, Hebda PA (2006) Primed fibroblasts and exogenous decorin: potential treatments for subacute vocal fold scar. *Otolaryngol Head Neck Surg* 135:937-945.

Pearl AW, Woo P, Ostrowski R, Mojica J, Mandell DL, Costantino P (2002) A preliminary report on micronized AlloDerm injection laryngoplasty. *Laryngoscope* 112:990-996.

Potsma GN, Courey MS, Ossoff RH (1998) The Professional Voice. In: *Otolaryngology & Head Neck Surgery* (Cummings et al, eds), pp 2055-2072. St Louis: Mosby.

Rosen CA, Thekdi AA (2004) Vocal fold augmentation with injectable calcium hydroxylapatite: short-term results. *J Voice* 18:387-391.

Uloza V (1999) Effects on voice by endolaryngeal microsurgery. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 256:312-315.

Wang F, Garza LA, Kang S, Varani J, Orringer JS, Fisher GJ, Voorhees JJ (2007) In vivo stimulation of de novo collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photodamaged human skin. *Arch Dermatol* 143:155-163.

Woo P, Casper J, Colton R, Brewer D (1994) Aerodynamic and stroboscopic findings before and after microlaryngeal phonosurgery. *J Voice* 8:186-194.

Zeitels SM, Hillman RE, Bunting GW, Vaughn T (1997) Reinke's edema: phonatory mechanisms and management strategies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 106:533-543.

Zeitels SM, Hillman RE, Desloge R, Mauri M, Doyle PB (2002) Phonomicrosurgery in singers and performing artists: treatment outcomes, management theories, and future directions. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 190:21-40.

## Conclusion

La microchirurgie cordale des lésions bénignes s'avère être une chirurgie fonctionnelle efficace : elle améliore rapidement, dès le premier examen postopératoire, la qualité vocale et le rendement phonatoire des patients opérés.

L'originalité de notre travail réside dans l'utilisation d'un dérivé d'acide hyaluronique afin de moduler le processus de cicatrisation postopératoire : c'est la première fois que ce type de technique est mis en oeuvre, les travaux précédemment publiés par d'autres auteurs ne portant que sur des études *in vitro* ou sur modèles animaux. Notre travail constitue dès lors un premier pas vers une microchirurgie cordale non pas seulement fonctionnelle, mais aussi régénérative. En effet, nous nous sommes appuyés sur l'influence bénéfique que peut exercer la composition de la matrice extracellulaire sur le fonctionnement cellulaire cordal.

Les résultats obtenus sont très intéressants puisqu'ils montrent une amélioration post-opératoire, non seulement précoce mais aussi retardée, chez des patients implantés dont la souplesse cordale était, en phase pré-opératoire, sévèrement altérée. L'amélioration continue observée, au fil d'une longue période de temps, chez les seuls patients implantés, est à nos yeux le résultat le plus surprenant et le plus enthousiasmant. Cette observation constitue un argument important en faveur d'un processus de cicatrisation régénératif dans l'espace de Reinke traité par notre technique originale d'implantation d'acide hyaluronique estérifié.

Notre travail nous a permis d'appréhender la complexité de la structure et de la physiologie tissulaire cordale. Il soulève aussi de nombreuses questions qui dans l'avenir, doivent faire l'objet de projets de recherches fondamentales : quels sont les mécanismes de l'homéostasie de la composition de la matrice extracellulaire du tissu cordal sain ? quelles sont les dérégulations à l'origine du développement des pathologies cordales bénignes ? quelle est l'influence des contraintes mécaniques sur la composition matricielle cordale ? quelle est l'influence du bagage génétique sur le développement des lésions bénignes ? quels sont les processus de cicatrisation du tissu cordal humain ?

De même que, dans un passé récent, les connaissances approfondies de la structure laminaire cordale ont profondément modifié le geste microchirurgical, ce sont les réponses à ces questions qui permettront- c'est notre vœu le plus cher- à la microchirurgie cordale d'évoluer vers une chirurgie de plus en plus régénérative.

## **Annexes**

# Annexe 1

*The Laryngoscope*  
Lippincott Williams & Wilkins, Inc.  
© 2005 The American Laryngological,  
Rhinological and Otolaryngological Society, Inc.

## Implantation of Esterified Hyaluronic Acid in Microdissected Reinke's Space after Vocal Fold Microsurgery: First Clinical Experiences

Camille Finck, MD; Philippe Lefebvre, MD, PhD

**Objective:** In this pilot study are presented the first clinical experiences of the use of a resorbable bioimplant made of esterified hyaluronic acid inserted in the microdissected superficial layer of the lamina propria (SLLP), also called Reinke's space, after a flap excision procedure for a benign vocal fold lesion. Laryngeal and vocal evolution of implanted patients are depicted and discussed. **Study Design:** Eleven bio-implants have been inserted in microdissected SLLP of 11 cases presenting with benign vocal fold lesions. The surgical procedure consisted of the excision of primary lesion by a microflap technique immediately followed by implantation of esterified hyaluronic acid in Reinke's space. **Methods:** All patients underwent rigid laryngoscopy and a microsurgical procedure under general anesthesia. The cordal lesion was treated with cold instrumentation of Bouchayer (7 cases) or with a mixed technique using CO<sub>2</sub> laser (4 cases). After the classical freeing-up of Reinke's space and the creation of a mucosal flap, a few fibers of esterified hyaluronic bioimplant are gently arranged in Reinke's space before redraping the ligament and closing the cordal incision with a few drops of fibrin glue. Laryngeal and vocal assessments were performed pre- and postoperatively in all patients using videostroboscopy as well as perceptual and objective voice evaluation. All patients were followed in a longitudinal manner: between two and five postoperative evaluations were performed. The longest follow-up was 19 months and the shortest 2 months. **Results:** All cases exhibited postsurgical improvement of the pliability of the SLLP. None of them developed an adverse scarring process. Improvement

of SLLP's pliability was maintained in time in all cases. Vocal improvement was observed in all. Temporary inflammation was noted in one case. There were no serious adverse effects apparent during the follow-up period. **Conclusion:** Bio-implantation of esterified hyaluronic acid in Reinke's space is technically easy and well tolerated. All treated cases exhibited postoperative good pliability of the SLLP compared with their preoperative evaluation. **Key Words:** Esterified hyaluronic acid, SLLP, Reinke's space, vocal fold microsurgery, vocal fold bio-implantation.

*Laryngoscope*, 115:1841-1847, 2005

### INTRODUCTION

Normal human vocal folds (VF) have a very specialized and unique laminar histologic architecture. Under the squamous epithelium lie the three layers of connective tissue called the lamina propria (LP). Those layers have a distinct structure and also different mechanical properties. The superficial layer of the lamina propria (SLLP), also called Reinke's space, is located just under the epithelium. More deeply located, the intermediate layer rich in elastic fibers and the deep layer rich in collagen fibers, form together the vocal ligament. Under the LP lies the thyroarytenoid muscle or vocal muscle.

In the body-cover model of vibration proposed by Hirano,<sup>1</sup> the cover is composed of the epithelium and the SLLP. In this model, the natural pliability of the SLLP is essential to normal voice production. The cellular composition of SLLP is very sparse, made of fibroblasts and macrophages. Its "jelly like" structure is caused by a very loose elastic and collagen fibrous scaffolding and by the interstitium molecules of the extracellular matrix (ECM). Among those molecules, hyaluronic acid or hyaluronan (HA), a glycosaminoglycan, which is a normal constituent of the ECM everywhere in the body, appears to play an important role in determining the biological, mechanical, and wound healing characteristics of the SLLP.<sup>2</sup> HA is a high molecular weight glycosaminoglycan first described by Meyer and Palmer<sup>3</sup> in 1934 who extracted the molecule

From the Department of Otorhinolaryngology, University of Liège, Liège, Belgium.

Editor's Note: This Manuscript was accepted for publication May 27, 2005.

This work was made possible thanks to a grant from University of Liège/CHU (FIRS 4757) and to a research grant from Schering Plough.

Send Correspondence to Dr. Camille Finck, Department of Otorhinolaryngology, CHU Sart Tilman, University of Liège, B-4000 Liège, Belgium. E-mail: camille.finck@chu.ulg.ac.be

DOI: 10.1097/01.mlg.0000173158.22274.8d

*Laryngoscope* 115: October 2005

Finck and Lefebvre: Esterified HA in Microdissected Reinke's Space

1841

Copyright © The American Laryngological, Rhinological and Otolaryngological Society, Inc. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

from the vitreous humor of the eye. HA influences the thickness of the LP: men possess a thicker LP compared with women, and this could be caused by a three to four-fold amount of HA in the men's LP.<sup>4</sup>

HA not only influences thickness of SLLP but also its visco-elastic characteristics: HA is necessary to maintain both optimal viscosity and stiffness of SLLP. In 1999, Gray et al.<sup>5</sup> showed that the removal of HA from the SLLP of two human cadavers increased the tissue viscosity by two to fourfold. Stiffness of the SLLP is also influenced by the amount of HA present, which in turn influences the stability of the frequency of vibration: a less stiff SLLP leads to a more unstable vibratory rate. In 2001, Chan et al.<sup>6</sup> demonstrated that removal of HA from the LP of five adult male cadavers decreased the stiffness of the VF cover by an average of 35% and increased dynamic viscosity by 70%.

HA deeply influences cell behavior and appears to be an important regulator of wound repair and of morphogenetic events. Previous studies have shown that HA influences collagen deposition and that high levels of HA reduce scar tissue formation with less fibrosis and less contracture.<sup>7</sup>

The growing knowledge of the natural biomechanical properties of the VF main vibrator, the mucosal cover, has influenced the microsurgical procedures for the treatment of benign VF lesions: restoration of mucosal vibratory function is known to be the most important goal to achieve to improve not only the quality of voice but the aerodynamic effectiveness of the laryngeal vibrator and hence the ease of phonation. Many authors have stressed the importance of preserving as much SLLP as possible during cordal microsurgery.<sup>8,9</sup> When SLLP is damaged to a sufficient extent, its molecular structure is modified: the normal proteoglycans and glucosaminoglycans such as HA are replaced by collagen fibers and fibronectin<sup>8,10</sup> and scar tissue is created, resulting in increased stiffness of the mucosal cover and reduced mucosal motion during cordal oscillation<sup>11</sup> because of the change in the viscoelastic properties of the scarred mucosal cover.

In our personal experience, even extremely careful VF microsurgery represents a potential risk of local adhesion of the epithelial basal membrane to the ligament: in case of wide dissection of the Reinke's space (such as in microsurgical treatment of Reinke's edema), in case of a greater loss of tissue than expected inside the SLLP (such as in microdissection of type III intracordal cysts),<sup>8</sup> or when the microsurgically treated pathology is primarily characterized by an absence of normal SLLP (such as in submucosal localized fibrosis or like in type II vergeture).

Knowing the favorable and important biological and mechanical roles played by HA in normal SLLP, we have been interested in using an HA-derivative bioimplant in those surgical cases where a deeply damaged SLLP is observed. The implant should be resorbable to play only a temporary role: it should prevent the early adhesion of the epithelial basement membrane to the underlying ligament and if possible allow a better healing process of the SLLP.

Many exogenous HA preparations are commercially available and have been proven to be nontoxic and non-antigenic because of the absence of proteins, as well as

perfectly biocompatible. They have been used extensively, for many years, in many surgical specialties such as ophthalmic, gynecologic, abdominopelvic, plastic, and osteoarthritic surgery.<sup>12</sup> The objectives of the current prospective study are to evaluate the laryngeal function and vocal results obtained after implantation of a modified HA bioimplant, esterified hyaluronic acid (EHA), under the mucosal flap, in the Reinke's space, after a microsurgical procedure.

## MATERIALS AND METHODS

### Subjects

Eleven patients (3 men and 8 women) who underwent a microsurgical procedure on their vocal cords were selected for treatment between February 14, 2003 and October 1, 2004. All of them presented with benign lesions of the VFs and underwent a microsurgical procedure and implantation of EHA in Reinke's space. Diagnosis, sex, age, surgical technique (with or without laser), and personal characteristics are depicted in Table I. Two cases benefited from a bilateral procedure, but only one side was implanted.

### Procedure

All patients underwent general anesthesia and routine laryngeal intubation (tracheal tube size: 5.5–6.5). A direct laryngoscopy was performed in all patients (Kojansasser type laryngoscope, Storz 8590C and 8590B). The microsurgical procedure was done under  $\times 25$  magnification (Microscope Leica M655). The cordal lesion was treated either with cold instrumentation of Bouchayer only (Microfrance) or with CO<sub>2</sub> Laser (Sharplan 40C). The surgical procedure accomplished the classical liberation of Reinke's space and the creation of a mucosal flap to redrape the cordal ligament. For the patients with Reinke's edema, after suctioning of the submucosal edema, care was taken not to sacrifice too large an amount of mucosa to be able to close the incision without any superficial defect.

The decision to use a bioimplant made of EHA was taken at the time of the surgical procedure and was linked to an estimated higher surgical damage to the SLLP. A few fibers of EHA bioimplant are taken with the microforceps and gently arranged in Reinke's space between the ligament and the mucosal flap. The cordal mucosal flap is then precisely closed above the implant and maintained in place by using two or three drops of Fibrin glue (Tissuel DUO 500<sup>®</sup>, 0.5 mL Baxter, Deerfield, IL). Surgical photographs of the procedure performed in case 11 suffering of left VF mucous cyst are presented in Figure 1.

Postoperatively, all patients were advised to adhere to a vocal rest for 8 days. Perioperatively, they received a 125 mg intravenous injection of methylprednisolone. Medical postoperative treatment consisted of degenerative oral methylprednisolone, clobutinal hydrochloride, paracetamol, and amoxiclavulanate for 1 week.

### Bioimplant

The commercially available EHA presents as a fiber material made of HYAFF (Fidia Advanced Biopolymers, Abano, Terme, Italy). The HYAFF polymers are modified HA derived by esterification of the carboxyl group of the glucuronic acid moiety of the polymer with linear or aromatic alcohols. The EHA implant used in this study is HYAFF 11 (MeroGel), in which 100% of carboxyl groups of HA are esterified with benzyl alcohol and is a registered trade mark of Medtronic Xomed, Jacksonville, FL.

When placed in contact with the human body fluids, the fiber-like material transforms itself into a highly hydrated gel,

		Diagnostic	Voice Professional	Smoking Habit	Age	Unilateral Microsurgery	Bilateral Microsurgery	Biointplant	Laser
Case 1	M	Right submucosal fibrosis	Yes	No	51	X		Right	No
Case 2	M	Right intracordal open cyst	No	Stopped (in 1994)	74	X		Right	No
Case 3	F	Right intracordal organized hematoma	No	No	47	X		Right	No
Case 4	F	Bilateral Reinke's edema	No	Yes	66		X	Left	Yes
Case 5	F	Bilateral Reinke's edema, left open cyst, and localized vergeture	No	Yes	44	X		Left	Yes
Case 6	F	Right intracordal open cyst, bilateral laryngitis	Yes	No	27	X		Right	No
Case 7	F	Bilateral Reinke's edema	No	Yes	70		X	Left	Yes
Case 8	F	Right Reinke's edema	No	Stopped	44	X		Right	Yes
Case 9	F	Left cordal vergeture	No	No	35	X		Left	No
Case 10	M	Left cordal vergeture, right sulcus	No	No	12	X		Left	No
Case 11	F	Left mucous cyst	Yes	No	55	X		Left	No

which is then totally degradable through hydrolysis of the ester bond, releasing free alcohol and HA. The two molecules are then metabolized in the body through their normal metabolic degradation pathways.<sup>13</sup>

### Laryngoscopic Examination

All patients underwent a general ear, nose, and throat clinical examination. Videolaryngostroboscopy was performed preoperatively and postoperatively. We used a Wolff rigid 70° endoscope 4450.47 connected to a Wolff laryngostroboscope 5052. All patients were videotaped on an Olympus camera Visera OTV. 57. Videotapes of each patient were acquired using a video recorder Panasonic AG-5700. Video printouts of a Sony UP-3000P video printer were conserved for data files. Topical anesthesia of the pharynx (xylocaine 10% spray) was used. The patients were asked to sustain an /s/ at different pitches.

Amplitude of vibration and of mucosal wave as well as

symmetry, inflammation, presence of a glottic gap, and of VF deformation are the videostroboscopic findings that were taken into account. Amplitude of vibration, mucosal wave and glottic gap were evaluated on an analogic scale.

For amplitude vibration and mucosal wave, we used a 10 cm scale. Amplitude of vibration is considered normal if noted at 5, increased if above 5, and decreased below 5.

Mucosal wave is considered normal if noted at 10. Every value between 10 and 0 is considered a decreased wave. A wave noted 0 is a completely absent wave.

For glottic closure, a scale of 5 cm is used. Glottic closure is considered complete at 5 and diminished if noted between 0 and 5.

### Voice Evaluation

The voices were recorded in a soundproof booth on a Kay Elemetrics Computerized Speech Lab with a Kay Elemetrics head-mounted microphone. The distance between the mouth and the microphone was approximately 3 cm. Three sustained vowels /a/ and five standardized texts for French were recorded at each visit. We used the GRBASI scale for the subjective evaluation of the patient's voice quality, after listening to the five productions of the standardized texts: G(grade), B(roughness), B(breathiness), A(athonia), S(train), I(nstability). Each item is quoted as 0 (normal), 1 (light), 2 (moderate), and 3 (severe).

Software from Kay Elemetrics, Multi-Dimensional Voice Program (MDVP) was used to obtain voice quality objective data. Measurements of average fundamental frequency (average Fo), of highest and lowest fundamental frequency (Fhi, Flo), SD of Fo (STD), phonatory Fo range (PFR), jitter ratio (Jitt), and noise-to-harmonic ratio (NHR), were derived from 3 second segments of each of the sustained /a/. For patient 3, the preoperative objective voice evaluation was obtained from the CSL Main Program Software because intensity of voice was too low to permit the use of MDVP Software.

### RESULTS

All the results obtained can be organized in accordance with the time spent after surgery:

1. Early postoperative evaluation (EPOE): between 1 and 2 weeks after surgery.

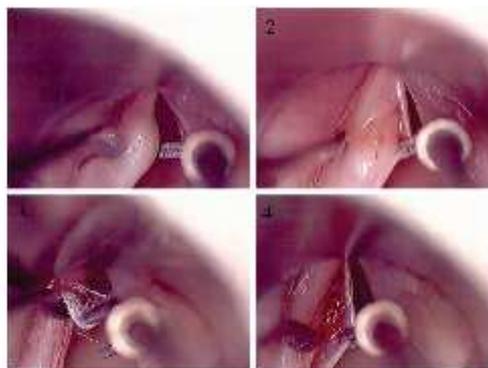


Fig. 1. Surgical photographs of case 11's procedure (left vocal fold [VF] mucous cyst). (1) Preoperative microlaryngoscopic view of left VF mucous cyst. (2) Opening of the Reinke's space. (3) Presentation of MeroGel fibers before insertion in the microdissected superficial layer of the lamina propria. (4) MeroGel implant placed under the mucosal flap.

2. Intermediate postoperative evaluation (IPOE): between 3 and 4 weeks after surgery.
3. Late postoperative evaluation (LPOE): between 7 and 12 weeks after surgery.
4. Long-term postoperative evaluation (LTPOE): between 15 and 38 weeks after surgery.
5. Very long-term postoperative evaluation (VLTPOE): available in 3 cases, between 10 and 19 months.

Preoperative values for case 7 are obtained after her first microsurgery on the right VF (cure of a huge Reinke's edema) with no bioimplantation realized on that right VF. No serious adverse effect was noted during the observation period.

#### Laryngoscopic Examination

Figure 2 shows the videostroboscopic findings of the 11 cases in three separate graphs.

**Inflammation.** Only case 7 suffered from a significant inflammation after treatment: the VF appeared deprived of any vibratory movement or mucosal wave at EPOE. Voice rest for 2 weeks and a medical treatment consisting of methylprednisolone and ultrasonic humidifying solution (propylene glycol 5% in a physiologically balanced salt solution) permitted the patient to regain an almost normal wave at IPOE.

**Vocal fold general aspect.** Concerning the general appearance of the treated VF observed at the EPOE, all of them except case 7 already exhibited a noninflammatory, smooth, well-hydrated, good looking aspect at rest. This was particularly striking in the two worst cases: case 3 suffering from an intracordal organized hematoma and case 10 suffering from an extremely deep and long vegetature.

A slight convexity of the implanted VF was visible at EPOE in case 1, 2, and 10 but rapidly disappeared and was no longer visible at IPOE. Case 3 still exhibited a very slight deformation of the free margin of the treated VF at LPOE. In case 11, who was suffering from an anterior left mucous cyst, comparison of the general aspect of the treated VF at EPOE and LPOE shows a change in the color of the surgical zone together with a straighter upper lip of the VF.

**Amplitude of vibration.** Amplitude of vibration increased after bio-implantation in all of the eight cases who had a decreased preoperative amplitude. We lack EPOE for case 4, whereas case 9 exhibited extreme tension and vocal inhibition, which lead to the impossibility to obtain normal vibration and stroboscopic assessment. The 3 cases who experienced a decreasing amplitude after surgery had a preoperative increased vibratory amplitude (cases 5, 7, and 8).

**Mucosal wave.** Preoperatively, a mucosal wave was absent or decreased in 8 of 11 cases (cases 1, 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11) and normal in 3 of 11 cases (cases 4, 7, and 8). The cases with a normal preoperative mucosal wave were those with Reinke's edema. All cases with a decreased wave experienced an increasing mucosal wave after microsurgery and bio-implantation. Case 7, who suffered from a significant inflammatory response at the early postsurgical check up, with no mucosal wave visible at the time, regained an almost normal wave at the IPOE.

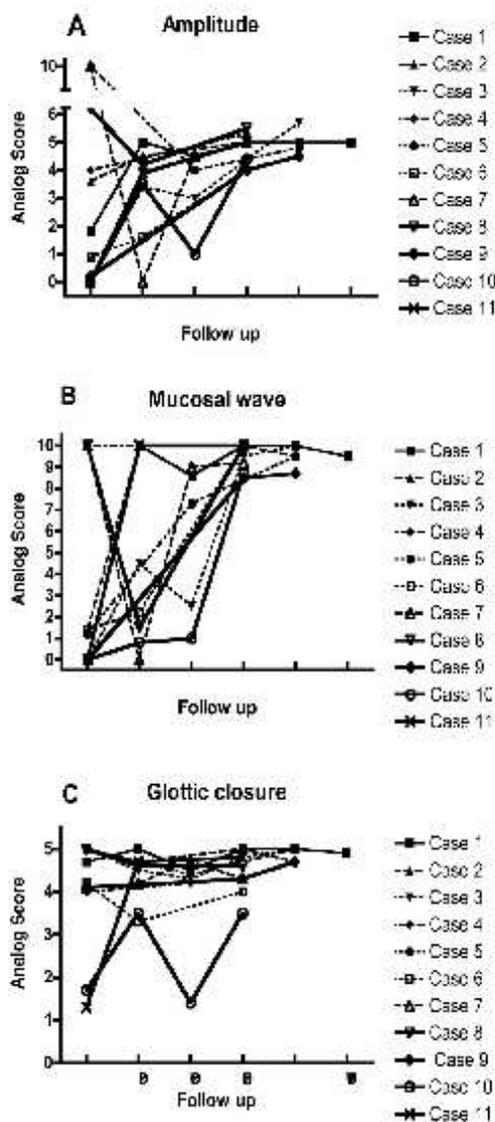


Fig. 2. Videostroboscopic data. (A) Amplitude of vibration. (B) Amplitude of mucosal wave. (C) Glottic closure. PREO = preoperative evaluation; EPOE = early postoperative evaluation; IPOE = intermediate postoperative evaluation; LPOE = late postoperative evaluation; LTPOE = long-term postoperative evaluation; VLTPOE = very long-term postoperative evaluation.

**Glottic closure.** Glottic closure improved in 6 of 11 cases (cases 1, 4, 7, 9, 10, 11), was unchanged in 2 cases (cases 3 and 5), and was slightly diminished after surgery in 3 cases of 11 (cases 2, 6, 8).

### Voice Evaluation

**Perceptual voice evaluation.** Table II depicts the perceptual voice evaluation of the cases according to the time of surgery.

All our cases experienced a progressive improvement of voice with the passage of time after the microsurgical procedure. A grade 1 dysphonia was achieved by 6 of 11 cases in a period of time ranging from 1 to 12 weeks. The worst result was observed in case 10 and case 5, who still exhibit a grade 3 dysphonia at LTPOE and LPOE, respectively.

**Objective voice quality data.** Objective voice quality data are presented in Figure 3. The values are the mean of the  $\nu$  values obtained from the three consecutive sustained /a/ measured on the MDVP software.

STD and PFR show a depressive pattern after microsurgery and bio-implantation in 9 cases/11 cases (cases 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11). Case 5 is the only patient exhibiting an increase in the value of STD and PFR. Case 10 exhibits very fluctuant values.

Considering LPOE and LTPOE, Jitt diminished in six cases (cases 2, 3, 7, 8, 9, 11), increased in two cases (cases 5 and 6), and was almost unchanged in two cases (cases 1, 4, and 10).

NHR shows a decreased pattern after microsurgery and bio-implantation in 8 cases of 11 (cases 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9) and an increase in 2 cases (cases 6 and 10) at the LTPOE. NHR is almost unchanged in case 11, after an initial drop of its value. The best result was obtained in patient 3.

### DISCUSSION

The objective of this pilot study is to evaluate the laryngeal function and vocal results obtained after insertion of a resorbable EHA implant under the mucosal flap, in the Reinke's space, at the end of a microsurgical procedure for benign cordal lesions. The decision of using the implant was in all cases guided by the estimated risk of a too important damage to the SLLP, primary or postsurgical, which could preclude favorable postsurgical vibratory evolution. Because of the small size of this series and the

inhomogeneous nature of the treated pathologies, evaluation of the results obtained will be performed in a longitudinal perspective.

All the observed cases showed an early excellent general aspect of the treated VF, except case 7, who experienced inflammation. All cases showed an excellent postoperative mucosal wave and vibratory amplitude. In all observed cases, mucosal wave improvement had reached its maximum rating at LPOE or LTPOE, whereas early improvement was already seen in six cases.

Case 4, who underwent bilateral microsurgical treatment for a severe Reinke's edema, exhibited a better amplitude of vibration on the bioimplanted side compared with the side that was not implanted. Unilateral insertion of EHA was realized on one side because one mucosal flap was tighter, and we were concerned with the risk of extrusion of the bioimplanted material on that side.

### Bioimplantation is Well Tolerated, the General Aspect of Treated VF Being Excellent; Inflammation has been Observed in Only Case 7

In this particular case, we believe that the use of the CO<sub>2</sub> laser combined with an initially too lateral mucosal incision with exposition of the vocal ligament probably played the major role in the development of a considerable inflammatory response. The appearance of the VF was similar to inflammatory responses observed in our experience after laser cordectomies type I.

### Time Evolution of Laryngeal Images Shows Excellent Early but also Long-Term Tolerance of EHA Bioimplant

The VLTPOE available in three cases (1, 2, and 4) shows an excellent stability of the laryngeal image with a slight continued increase of the amplitude of movement in case 2 and 4, who are finally rated as having a lateral movement of vibration slightly above the normal amplitude. Case 4 also reached complete glottic closure at that very long-term evaluation. No adverse local reactions such as granuloma or stiffness have been observed in any of our cases.

TABLE II.  
Perceptual Voice Evaluation: GRBASI Scale.

	Preoperative Evaluation	EPOE	IPOE	LPOE	LTPOE	VLTPOE
Case 1	220023	110011	110000	110000	110011	111001 (16 months)
Case 2	220022	221010	-	110011	110011	110011 (19 months)
Case 3	331033	121012	212112	111022	000001	
Case 4	331033	-	211103	111001	-	000000 (10 months)
Case 5	331013	-	111001	-	320011	
Case 6	231013	110102	-	111112	-	
Case 7	330002	332303	111001	110001	110001	
Case 8	320011	211011	-	221001		
Case 9	333033	3-3-	-	211032	111121	
Case 10	333033	321223	222132	323233		
Case 11	333033	111131	-	111101		

GRBASI = grade, roughness, breathiness, asthenia, strain, instability; EPOE = early postoperative evaluation; IPOE = intermediate postoperative evaluation; LPOE = late postoperative evaluation; LTPOE = long-term postoperative evaluation; VLTPOE = very long-term postoperative evaluation.

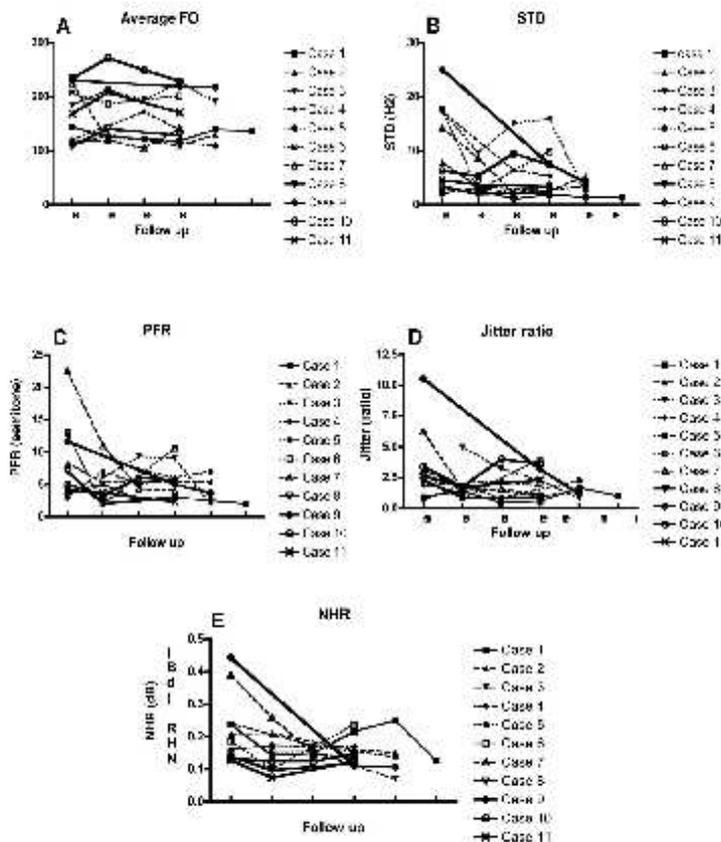


Fig. 3. Objective voice data. (A) Average fundamental frequency (Fo). (B) Standard deviation of Fo (STD). (C) Phonatory fundamental frequency range (PFR). (D) Jitter ratio. (E) Noise-to-harmonic ratio (NHR). PREO = preoperative evaluation; EPOE = early postoperative evaluation; IPOE = intermediate postoperative evaluation; LPOE = late postoperative evaluation; LTPOE = long-term postoperative evaluation; VLTPOE = very long-term postoperative evaluation.

In the field of laryngology, previous animal studies investigated the fate of modified HA injected in the VFs of an animal model: dextranomers in hyaluronic (DiHa) and hylan B gel, a cross-linked HA (Hylaform, Biomatrix Inc., Ridgefield, NJ,) injected in rabbit VFs were shown to be nontoxic and free of allergic as well as foreign body reactions.<sup>14,15</sup> Hylan B gel, largely used in the treatment of wrinkles, did not induce any inflammatory reaction when injected in the rabbit VF. Those HA derivatives have then been used in augmentative surgery as injectable materials in patients suffering of glottic insufficiency, with very good results on videostroboscopic parameters.<sup>16,17</sup> In the case of hylan B gel, the authors noted a few patients with early signs of inflammation (within a week after injection), but all cases resolved without sequelae within 30 days.

The biopolymer used in this study (MeroGel) and the Hylan B gel (Hylaform) are both obtained from rooster combs, but modification of the molecule of HA is different: esterification in the first case and cross-linking in the second case. Hylaform presents as an injectable gel,

whereas MeroGel is a solid, fiber material. The site of biimplantation in the present study is the microdissected SLLP and not the muscle vocalis or the vocal ligament such as in previous clinical studies. It is the first time that exogenous HA has been placed extremely superficially in the human VF, immediately under the mucosal flap, and in this aspect, the fiber presentation of the EHA implant is important because it allows us to arrange it precisely before closure of the mucosal flap. The goal is also very different: we plan on a temporary action and not on a long-term residence of the HA implant in the treated VF, explaining our choice for a resorbable implant, whereas previous studies are planning on persistence of implanted modified HA.

One question raised by these clinical observations is of course the estimated time of residence of the EHA implant in the Reinke's space. According to the manufacturer of MeroGel, the implant dissolves in 2 weeks in the nose and in 6 weeks in the ear. From the observation of the laryngeal image, we interpret the disappearance of a slight convexity of the treated VF observed in three of our

cases as the probable resorption of the inserted EHA implant: this would mean that 3 to 4 weeks are necessary for the resorption of the implant. The estimated time of residence of EHA used in this study is far enough for the goal pursued: creation of a temporary physical barrier between epithelial basement membrane and the VF ligament and creation of optimal conditions for the healing process inside the SLLP. Several recent animal studies show that levels of HA are decreased in injured VF in the early days after injury.<sup>18,19</sup> The authors believe that low HA level produces a less than optimal environment for normal tissue regeneration and may contribute to formation of scar tissue. They state that those studies could provide a rationale reason to increase HA in acute VF scar to improve postoperative vocal outcomes.

#### Perceptual Voice Evaluation Shows Good Voice Recovery after Microsurgery and Bioimplantation

Laryngeal pathologies are usually associated with an elevation of the value of Jitt, STD, PFR, and NHR. Vocal improvement is therefore linked to a postoperative lowering of their value. Lowering of STD, PFR, and NHR shows objective vocal evolution that can be interpreted as vocal improvement in 9 cases of 11 for STD, PFR, and NHR. Jitt values exhibit less favorable vocal evolution in our series.

From the results obtained in our series of 11 consecutive EHA bio-implants, we can conclude that the EHA implant is safe and well tolerated in the micro dissected SLLP. We observed good to excellent pliability of the VF cover after treatment, especially in very bad cases such as huge organized hematoma, deep intracordal cysts, and extremely deep vergeture. Those results are encouraging and could be linked to a temporary raise of the level of HA thanks to the insertion of exogenous modified HA, which eventually favors an optimal healing and reconstitution of a new SLLP in the treated VF. Of course, the small size of this series and the absence of control cases forbid us to conclude to an improvement of SLLP's pliability because of the use of such an implant. Nevertheless, the use of such an implant easy to arrange under the mucosal flap, because of its fiber structure, could be an important help in the treatment or the prevention of cordal scars. The implant would cushion the dissected scarred mucosa and maybe favor regeneration of a thicker and more pliable SLLP. Previous studies evaluating viscoelastic shear properties of various implantable biomaterials already stressed that biomechanically speaking, HA could be a potentially optimal bio-implant for the surgical management of VF mucosa defects and LP deficiencies.<sup>17,20,21</sup>

#### CONCLUSION

In this pilot study, the use of exogenous modified HA in the microdissected SLLP of 11 consecutive cases treated for benign VF lesions showed no adverse reaction during the time of follow-up (between 8 weeks and 19 months). Excellent pliability of the mucosal cover was obtained postoperatively, particularly in cases where mucosal stiffness was extremely important preoperatively.

These good results obtained in these first clinical experiences have to be confirmed by larger series and long-term follow-up in the latest treated cases. Controlled studies are necessary in the future to evaluate the role of implantation of modified HA in microdissected SLLP on the phonatory and mucosal pliability outcomes.

#### BIBLIOGRAPHY

- Hirano M. Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variations. *Folia Phoniatr (Basel)* 1974;26: 89-94.
- Ward PD, Thibeault SL, Gray SD. Hyaluronic acid: its role in voice. *J Voice* 2002;16:303-309.
- Meyer K, Palmer JW. The polysaccharide of the vitreous humor. *J Biol Chem* 1934;107:629-634.
- Butler JE, Hammond TH, Gray SD. Gender related differences of hyaluronic acid distribution in the human vocal fold. *Laryngoscope* 2001;111:907-911.
- Gray SD, Titze IR, Chan RW, Hammond T. Vocal folds proteoglycan and their influence on biomechanics. *Laryngoscope* 1999;109:845-854.
- Chan RW, Gray SD, Titze IR. The importance of hyaluronic acid in vocal folds biomechanics. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001;124:607-614.
- Balaszea Larsen NE. Hyaluronan: aiming for perfect skin regeneration. In: Garg HG, Longaker MT, eds. *Scarless Wound Healing*. New York: Marcel Dekker, 2000;143-160.
- Ford CN. Advances and refinements in phonosurgery. *Laryngoscope* 1999;109:1891-1900.
- Courey MS, Garrett CG, Osoff RH. The medial microflap for excision of benign vocal fold lesions. *Laryngoscope* 1997; 107:340-344.
- Bless DM, Rousseau B, Welham N, et al. Fibronectin and adhesion molecules on canine scarred vocal folds. *Laryngoscope* 2003;113:966-972.
- Benninger MS, Alessi D, Archer S, et al. Vocal fold scarring: current concepts and management. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;115:474-482.
- Asari A. Medical applications of hyaluronan. *Glycoforum Web Site*. Accessed March 7, 2006. Available at <http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA12/HA12E.html>.
- Medtronic Xomed Menlog technical monograph. *Medtronic Xomed Web Site*. Available at: <http://www.medtronic.com>.
- Hallén L, Dahlqvist A, Laurent C. Dextranomers in hyaluronan (DIHA): a promising substance in treating vocal cord insufficiency. *Laryngoscope*. 1998;108:393-397.
- Hallén L, Johansson C, Laurent C. Cross-linked hyaluronan (hylan B Gel): a new injectable remedy for treatment of vocal fold insufficiency—an animal study. *Acta Otolaryngol (Stock)* 1999;119:107-111.
- Hallén L, Testad P, Soderholm E, et al. DIHa (dextranomers in hyaluronan) injections for the treatment of insufficient closure of the vocal folds: early clinical experiences. *Laryngoscope* 2001;111:1063-1067.
- Hertegård S, Hallén L, Laurent C, et al. Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 2002;112:2211-2219.
- Thibeault SL, Rousseau B, Welham NV, et al. Hyaluronan levels in acute vocal fold scar. *Laryngoscope* 2004;114: 760-764.
- Rousseau B, Sohn J, Montsquin DW, et al. Functional outcomes of reduced hyaluronan in acute vocal fold scar. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004;113:767-776.
- Chan RW, Titze IR. Viscosities of injectable biomaterials in vocal fold augmentation surgery. *Laryngoscope* 1998;108: 725-731.
- Hertegård S, Dahlqvist A, Laurent C, et al. Viscoelastic properties of rabbit vocal folds after augmentation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:401-406.

## Annexe 2

**Finck C., « Structure cordale et pathologies vocales. » Rev Laryngol Otol Rhinol.2005; 126, 5:295-300 (Finck 2005)**

### **STRUCTURE CORDALE ET PATHOLOGIES VOCALES**

#### ABSTRACT

Nos connaissances de la structure cordale normale ont profondément évolué depuis la description par Hirano en 1974 de l'organisation laminaire des tissus de la corde vocale normale, et, en particulier, du tissu conjonctif cordal, la lamina propria.

La composition de la matrice extracellulaire de la lamina propria est essentielle dans la détermination des caractéristiques viscoélastiques du tissu. Ceci revêt une importance considérable au sein de la couche la plus superficielle de la lamina propria, l'espace de Reinke qui constitue, avec l'épithélium, le vibreur principal.

En dehors de tout processus pathologique, la nature gélatineuse de l'espace de Reinke est créée par une structure fibreuse très lâche et par un équilibre entre les différentes protéines interstitielles représentées par des protéoglycans tels que la décorine et l'acide hyaluronique, et par des glycoprotéines telles que la fibronectine.

En cas de pathologie vocale, le trauma vibratoire induit des modifications moléculaires au sein de la matrice extracellulaire de l'espace de Reinke qui sont à l'origine d'une diminution des capacités vibratoires de ce dernier. A terme, différentes lésions bénignes, telles qu'un nodule, peuvent alors se former au sein de l'espace de Reinke.

La compréhension approfondie de la dynamique de la réparation tissulaire et des processus pathologiques au sein de l'espace de Reinke sont à la base des progrès possibles dans le traitement et la prévention des pathologies cordales bénignes.

Les caractéristiques histologiques et viscoélastiques des lésions nodulaires cordales et des cicatrices cordales ainsi que les implications thérapeutiques chirurgicales de ces lésions, sont décrites.

Les dernières recherches dans le domaine de la reconstitution de l'espace de Reinke altéré par un processus pathologique sont évoquées.

Mots clés :structure cordale, espace de Reinke, matrice extracellulaire cordale , acide hyaluronique , acide hyaluronique estérifié.

## Abstract

Our knowledge of vocal fold structure has profoundly evolved since the description by M.Hirano in 1974 of the laminar organization of the connective tissue of the human vocal fold , the lamina propria.

The molecular composition of the extracellular matrix (ECM) of the lamina propria is essential in determining the viscoelastic properties of the tissue. This is particularly true in the superficial layer of the lamina propria ( also called Reinke's space). With the epithelium, Reinke's space constitutes the vocal fold main vibrator. In normal subjects, the jelly like structure of the Reinke's space is due to a very loose fibrous scaffolding and to a balance between the interstitial proteins of the ECM : proteoglycans like decorin and hyaluronic acid and glycoproteins like fibronectin.

Vibratory trauma leads , in disease states , to molecular modification of the extracellular matrix of Reinke's space resulting in benign cordal lesions like nodules, submucosal fibrosis and vocal folds scars.

Improving the knowledge of the homeostasis of Reinke's space ECM can lead to improvement of the therapeutic and prevention strategies of vocal fold benign lesions.

The main histologic and viscoelastic characteristics, as well as surgical treatment of cordal nodular lesions and scars are described.

The recent researches in the field of regeneration of Reinke's space are evoked.

Key words: Vocal fold, SLLP, Reinke's space, hyaluronic acid, esterified hyaluronic acid

Texte

En dépit d'une anatomie macroscopique simple (un épithélium, un ligament, un muscle), la corde vocale est une structure très complexe à l'échelon tissulaire et moléculaire. Les processus de turn-over tissulaire, de réparation et de destruction de l'organe vibrant n'ont pas encore livré tous leurs secrets malgré de nombreuses études au cours des 15 dernières années dans des domaines tels que l'histologie, la biomécanique, la biologie moléculaire, « l'engineering » moléculaire et tissulaire. Néanmoins, l'attitude thérapeutique face aux pathologies vocales bénignes et en particulier l'attitude microchirurgicale, a considérablement évolué grâce à ces connaissances nouvelles.

La structure cordale est une structure laminaire unique dans le monde animal : sous l'épithélium de surface, le tissu conjonctif, encore appelé lamina propria, est organisé en couches successives dont la structure moléculaire est différente de la surface vers la profondeur et c'est cette structure très particulière qui va permettre d'expliquer les capacités biomécaniques naturelles de la corde vocale. Le tissu conjonctif sous-épithélial ou lamina propria et la zone jonctionnelle entre l'épithélium et cette dernière, la membrane basale, sont les structures qui nous intéressent particulièrement, car la plupart des altérations cordales bénignes rencontrées quotidiennement aux consultations de phoniatrie sont en fait des lésions sous-épithéliales constituant des altérations de la matrice extracellulaire de la lamina propria ou des altérations de l'organisation et de la structure de la membrane basale épithéliale.

### **La Structure cordale normale**

C'est en 1975 que Hirano (1) a publié ses travaux sur l'organisation très spécialisée et unique de l'architecture histologique des cordes vocales. Il a montré que sous l'épithélium pavimenteux stratifié de 0,05 mm se situait un tissu conjonctif (la lamina propria) organisé en

trois couches successives qui diffèrent entre elles par la composition en protéines fibreuses de leur matrice extracellulaire.

La couche la plus superficielle, appelée espace de Reinke ou, pour les Anglo-Saxons, SLLP (superficial layer of the lamina propria), est localisée juste sous l'épithélium et mesure 0.3 à 0.5 mm d'épaisseur. Cet espace tissulaire est caractérisé par une architecture fibreuse très lâche : il y a peu de fibres élastiques et de fibres collagènes.

La couche intermédiaire de la lamina propria est riche en fibres élastiques.

La couche profonde est riche en fibres collagènes.

La couche intermédiaire et la couche profonde de la lamina propria constituent ensemble le ligament vocal. Enfin, sous le ligament vocal sont situées les fibres musculaires du muscle vocal, le muscle thyro-aryténoïdien interne.

En raison de leur composition particulière, chacune des couches de la lamina propria possède des caractéristiques visco-élastiques propres. Celles-ci, à savoir la raideur et la viscosité tissulaires, augmentent en s'éloignant de la surface vers la profondeur de la corde vocale. Hirano a associé à la structure laminaire cordale un modèle vibratoire fondé sur les caractéristiques visco-élastiques propres à chaque couche de la lamina propria : c'est la théorie du corps et de la couverture cordales. Dans ce modèle, la couverture est souple, peu rigide et capable de se déplacer avec un certain degré de liberté sur un corps cordal plus rigide. La couverture est constituée de l'épithélium et de l'espace de Reinke. Le corps cordal est constitué de la couche profonde de la lamina propria et du muscle vocal. La couche intermédiaire de la lamina propria est une zone transitionnelle en termes de caractéristiques visco-élastiques.

Au sein de ce modèle vibratoire, le maître vibreur est la couverture cordale.

L'espace de Reinke possède une structure gélatineuse expliquant sa souplesse et son aisance à se laisser déformer sous l'impulsion de la pression aérienne sous-glottique. C'est l'espace

magique permettant l'ondulation muqueuse que nous pouvons observer en stroboscopie. L'existence d'une ondulation muqueuse ample et souple est indispensable à une production sonore aisée, ne requérant qu'une pression sous-glottique minimale (2). Toute augmentation de la viscosité ou de la raideur de ce tissu s'associe à une détérioration de l'ondulation muqueuse et à la nécessité d'augmenter la pression sous-glottique phonatoire. Ceci conduit à une phonation moins rentable d'un point de vue aérodynamique et plus fatigante.

Au sein de l'espace de Reinke, la structure fibreuse est très lâche et il s'agit aussi d'un espace paucicellulaire, mais c'est dans la composition particulière en molécules interstitielles de la matrice extracellulaire qu'il faut trouver l'explication à ses caractéristiques visco-élastiques favorables.

Des recherches récentes se sont en effet intéressées aux molécules présentes entre les fibres et les cellules de la lamina propria : les protéines interstitielles. Outre de nombreuses molécules de petit poids moléculaire (ions, glucides, lipides), il s'agit essentiellement de structures protéiques. On trouve dans la lamina propria, des protéoglycans (la décorine, l'acide hyaluronique et la fibromoduline) et des glycoprotéines, dont la mieux représentée est la fibronectine (2).

Toutes ces protéines interstitielles ont des propriétés mécaniques qui jouent un rôle déterminant dans les capacités oscillatoires des cordes. Produites par les fibroblastes, elles affectent la viscosité, l'hydratation et l'épaisseur du tissu. De plus, elles affectent aussi par les interactions qu'elles entretiennent entre elles et avec les protéines fibreuses ainsi qu'avec les cellules, la densité et la taille des fibres collagènes. Les protéoglycans de la lamina propria cordale ont, comme tous les protéoglycans du corps humain, atteint un haut niveau de sophistication et remplissent de multiples rôles : fonction de support ou de suppression de la croissance tissulaire, modulation des fonctions de cicatrisation, liaison aux facteurs de croissance et délivrance de ceux-ci aux cellules, exerçant par là une véritable fonction de filtre

biologique. Les protéoglycans influencent les communications entre les fibroblastes et l'espace extra-cellulaire et possèdent aussi des capacités d'adhésion.

Les recherches récentes ont démontré que tout comme les protéines fibreuses, ces protéines interstitielles ont au sein de la lamina propria cordale, une organisation laminaire.

La décorine est un protéoglycan de petit poids moléculaire qui apparaît comme très spécifique de l'espace de Reinke. Elle se lie aux protéines fibreuses, elle régule la production et l'assemblage des fibres collagènes en diminuant la taille de celles-ci lorsqu'elles se trouvent en forte concentration au sein d'un tissu. Ce rôle de la décorine est vraisemblablement très favorable au sein de l'espace de Reinke et ceci explique peut-être que peu de phénomènes cicatriciels s'installent après traitement microchirurgical cordal lorsque la dissection intracordale est la plus superficielle possible et s'écarte le plus possible de la zone du ligament vocal.

L'acide hyaluronique est quant à lui une molécule très importante de la matrice extracellulaire de la lamina propria. Il s'agit d'un volumineux glycosaminoglycan qui est omniprésent dans les matrices extracellulaires corporelles. L'acide hyaluronique a été décrit pour la première fois par Meyer et Palmer (3) en 1934 et est constitué par la répétition d'un grand nombre d'unités disaccharidiques constituées d'acide glucuronique et de N-acétyl-glucosamine. La structure disaccharidique peut se répéter jusqu'à obtenir des poids moléculaires entre 10000 et 4.000.000 de daltons. Lorsque l'acide hyaluronique se trouve placé dans une solution physiologique, il se lie à un grand nombre de molécules d'eau en prenant une forme globulaire lâche et poreuse, tout en occupant un volume important. Cette structure macromoléculaire poreuse de l'acide hyaluronique en solution va permettre à l'eau, aux électrolytes et aux molécules de petite taille moléculaire de se déplacer librement au sein de sa structure macromoléculaire. Pour ces raisons, l'acide hyaluronique influence les phénomènes osmotiques ainsi que le transport et la concentration moléculaire d'autres

composants de la matrice extracellulaire (4). Omniprésent dans les matrices extracellulaires corporelles, ses caractéristiques chimiques expliquent sans doute sa concentration élevée dans des tissus très spécialisés où il peut jouer le rôle d'une molécule de remplissage (comme dans l'humeur vitrée de l'œil), d'un rétenteur d'humidité (comme dans le derme cutané), de molécule absorbant les chocs (comme dans le liquide synovial).

Dans la lamina propria cordale, il va se trouver particulièrement associé à l'espace de Reinke et à la couche intermédiaire de la lamina propria (2, 5, 6). Il y est nécessaire au maintien d'une élasticité et d'une rigidité optimales du tissu : Hammond et al. ont démontré que l'enlèvement de l'acide hyaluronique de l'espace de Reinke de cordes vocales cadavériques humaines augmentait la viscosité du tissu d'un facteur 3 à 4 et diminuait la rigidité d'environ 35 % (2,6). Ceci est extrêmement important, car toute modification de la viscosité de l'espace de Reinke va affecter la pliabilité de la couverture cordale. Une rigidité optimale est par ailleurs nécessaire à la stabilité fréquentielle vibratoire.

La fibromoduline quant à elle est très spécifique des couches intermédiaire et profonde de la lamina propria et donc de la région du ligament vocal. Elle est structurellement très semblable à la décorine, mais localisée de manière très différente au sein de la corde. Son association à la zone ligamentaire permet d'envisager un éventuel rôle de graissage et d'aide au déplacement des fibres collagènes et élastiques les unes par rapport aux autres (2).

Quant à la fibronectine, elle est une glycoprotéine ubiquitaire dans la lamina propria. Elle est présente depuis l'espace de Reinke jusqu'à la zone ligamentaire. Cette large protéine interstitielle possède des capacités d'adhésion importantes et elle s'attache aisément au collagène ainsi qu'aux autres protéoglycans (2). Une de ses caractéristiques essentielles est sa capacité de résistance à la déformation. Présente naturellement au sein de l'espace de Reinke, elle joue probablement au sein de cet espace, le rôle d'une protéine de remplissage en l'absence d'une quantité importante de protéines fibreuses. D'un point de vue biomécanique,

c'est une étude de Thibeault et al. en 2002 qui a démontré qu'une expression plus grande du RNA messenger pour la fibronectine est associée à une diminution de l'ondulation muqueuse dans des processus pathologiques tels que polypes et œdèmes de Reinke (7).

Bien que naturellement présente dans la corde vocale saine, c'est dans les processus cicatriciels qu'elle joue un rôle prépondérant : la fibronectine précède le dépôt de collagène. La présence de fibronectine en excès au sein de la couverture cordale s'associe à une diminution des capacités vibratoires du tissu et joue donc un rôle défavorable en augmentant la raideur et la viscosité tissulaires.

Enfin, une structure importante de la corde vocale saine est la membrane basale épithéliale qui amarre l'épithélium pavimenteux stratifié à l'espace de Reinke. Gray (8) a très précisément décrit l'organisation moléculaire complexe de la membrane basale épithéliale qui attache les cellules basales de l'épithélium à la masse relativement amorphe de l'espace de Reinke. Des filaments d'ancrage descendent des hémidesmosomes des cellules basales vers une zone constituée de collagène de type IV, la lamina densa, très spécifique des membranes basales en général. Cette lamina densa est elle-même amarrée à l'espace de Reinke par des fibres d'amarrage constituées de collagène de type VII, formant des boucles au travers desquelles passent des fibres collagènes de l'espace de Reinke. Cette extraordinaire structure permet au tissu épithélial de ne pas être désinséré de l'espace de Reinke lors de la vibration cordale. Les altérations éventuellement congénitales ou génétiques de la structure de la lamina densa et du collagène constituant les fibres d'amarrage et les filaments d'ancrage peuvent constituer une cause innée du développement d'une pathologie cordale bénigne telle qu'un nodule (9).

## Les modifications de la structure cordale lors d'une pathologie cordale bénigne

Dans le cas de pathologies cordales bénignes, il est étonnant de constater que les patients vont évoluer soit vers une destruction de l'espace de Reinke et une détérioration de la souplesse tissulaire sous la forme d'un nodule, d'une fibrose sous-muqueuse, d'une vergeture ou d'une cicatrice cordales, soit au contraire évoluer vers une augmentation du volume de la matrice extracellulaire comme nous l'observons dans les cas d'œdème de Reinke, d'œdème fusiforme ou de lésion pseudokystique. Et pourtant, tous ces patients partagent la même étiologie présidant au développement d'une lésion cordale bénigne : il s'agit du traumatisme vibratoire induit par l'usage vocal important ou excessif. Ces lésions correspondent à une rupture de l'homéostasie de la matrice extracellulaire cordale, en particulier au sein de la couverture cordale. Les mécanismes qui président à cette dérégulation sont toujours incompris.

Néanmoins, les traitements microchirurgicaux appliqués aux lésions cordales bénignes ont considérablement évolué au cours des dernières années en raison d'une meilleure compréhension, bien qu'imparfaite, des altérations structurelles cordales associées à différents processus pathologiques. De manière tout à fait logique, il apparaît d'emblée que traiter un espace de Reinke "excédentaire" comme dans les cas d'œdème, est plus simple que traiter et opérer un espace de Reinke partiellement ou complètement détruit quand à sa structure moléculaire normale, car les bons résultats microchirurgicaux sont liés à la récupération d'une ondulation muqueuse visible à la vidéostroboscopie, laquelle ondulation est tributaire du maintien de la structure moléculaire complexe et fragile de l'espace de Reinke (10).

### Le nodule

Que se passe-t-il en cas de pathologie nodulaire cordale ? Il s'agit de la pathologie organique la plus courante lors des consultations phoniatriques. Des notions anciennes décrivaient toujours un épaississement épithélial et parfois un œdème ou une hyalinisation du

chorion. Ces notions histopathologiques sont liées à des techniques histologiques qui colorent l'épithélium, mais qui malheureusement donnent très peu de renseignements sur l'espace de Reinke qui paraît vide et amorphe. Par ailleurs, les colorations utilisées, notamment l'hématoxyline éosine, ne permettent pas de visualiser la membrane basale épithéliale. Il a fallu attendre 1995 pour disposer de techniques de coloration utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre la fibronectine et le collagène de type IV. Le collagène de type IV est, comme décrit plus haut, associé à la lamina densa de la membrane basale. Dans les pathologies nodulaires, d'une part, il existe un dépôt beaucoup plus important de fibronectine non seulement dans l'espace de Reinke, mais aussi dans la région de la membrane basale épithéliale et, d'autre part, les colorations mettant en évidence le collagène de type IV sont de faible intensité, alors que la membrane basale épithéliale apparaît épaissie. Les auteurs interprètent ce marquage peu intense de la zone de la membrane basale comme un possible assemblage incomplet de la protéine collagénique et la largeur de la zone de marquage évoque pour eux une désorganisation sévère et extensive de la région de la membrane basale (11). Sur base de ces observations histopathologiques, les auteurs envisagent comme mécanisme physiopathologique possible des lésions nodulaires, un trauma répétitif de la membrane basale et de l'espace de Reinke tel que les capacités de réparation tissulaire normale du patient sont dépassées et qu'une réponse tissulaire anormale se déclenche aboutissant à une réponse fibroblastique accompagnée d'un dépôt excessif de fibronectine. Dans cette vision physiopathologique, le nodule est surtout une pathologie sous-épithéliale et non, comme précédemment décrit, un épaississement épithélial de surface. La pathologie nodulaire, comme Zeitels l'a bien montré, envahit et restreint l'épaisseur de l'espace de Reinke sain sous le nodule. Les cas les plus difficiles sont ceux de patients dont tout l'espace de Reinke est remplacé par un dépôt fibronectinique au niveau du nodule. Ce remplacement plus ou moins

complet de l'espace de Reinke par l'épaississement nodulaire peut être évalué en vidéostroboscopie.

#### La cicatrice cordale.

La définition d'une cicatrice est l'existence d'un tissu fibreux remplaçant le tissu normal détruit par le traumatisme ou la maladie. Au sein des cordes vocales, la cicatrice est une altération et une destruction de l'espace de Reinke sain et de ses macromolécules normales, qui sont remplacées par un tissu cicatriciel induisant la perte de la pliability naturelle de la couverture muqueuse et la destruction de l'interface entre la couverture et le corps cordal. Ce sont les études animales qui ont permis de mieux comprendre les différents événements moléculaires et tissulaires successifs qui vont aboutir, très précocement après le traumatisme, à une diminution de la souplesse tissulaire et ce, même avant la phase finale de remodelage cicatriciel qui se caractérise par un dépôt collagénique épais. La cicatrice cordale est un phénomène dynamique évoluant dans le temps. C'est dans une étude animale très récente, réalisée chez le lapin, que l'on a observé une diminution extrêmement précoce de la quantité d'acide hyaluronique au sein de la corde vocale lésée iatrogéniquement (12). L'acide hyaluronique a été mesuré par étude immuno-histologique et par test Elisa. Le contenu en acide hyaluronique est significativement plus bas dans la corde vocale lésée comparativement à la corde saine aux jours 3, 10 et 15 après le traumatisme.

Cette évolution du taux d'acide hyaluronique au sein du tissu cicatriciel cordal et ce, dans les tous premiers jours après le traumatisme, se retrouve dans l'évolution des plaies cutanées : une élévation temporaire du taux d'acide hyaluronique est observée durant les premiers jours après le traumatisme et cette augmentation transitoire est ensuite suivie par une décroissance du taux d'acide hyaluronique sous les valeurs normales. Or, on sait que l'acide hyaluronique, outre ses caractéristiques viscoélastiques et biomécaniques favorables, joue également un rôle dans la modulation de la réponse cicatricielle du tissu : il crée une matrice

très hydratée qui peut être pénétrée aisément par les fibroblastes dont il réduit la production de collagène. Cette caractéristique a été démontrée sur des études in vitro pratiquées avec des fibroblastes cutanés. Les effets favorables de grandes quantités d'acide hyaluronique dans le développement d'un processus cicatriciel peu fibrotique se retrouvent également dans le processus cicatriciel fœtal dont la caractéristique principale est en effet l'absence de phénomène fibrotique. La haute concentration d'acide hyaluronique chez le fœtus est l'une des conditions favorisant une évolution cicatricielle de bonne qualité, c'est à dire caractérisée par peu ou pas de cicatrice (13).

Dans des études animales réalisées chez le lapin et le chien, deux mois après le traumatisme cordal, on observe une augmentation de la fibronectine et du procollagène, une diminution du collagène et de l'élastine, une désorganisation des fibres collagènes et élastiques ainsi qu'une augmentation de la raideur et de la viscosité tissulaires. La décorine et la fibromoduline voient leur taux diminuer au sein de la corde vocale iatrogéniquement blessée (14).

Une des grandes découvertes de ces études est que les caractéristiques viscoélastiques de la corde vocale cicatricielle se dégradent bien avant que le collagène n'apparaisse en excès. Il faut voir là essentiellement le rôle d'un dépôt excessif de fibronectine, qui tout comme dans les pathologies nodulaires décrites plus tôt jouent un rôle important dans l'augmentation de la raideur et de la viscosité du tissu. La fibronectine et son accumulation précoce au sein de la cicatrice est donc le premier stade défavorable du processus cicatriciel cordal (14).

Enfin, la cicatrice cordale, du moins chez le lapin et le chien, paraît atteindre son stade définitif à 6 mois post trauma. A ce moment, la densité du procollagène, de l'élastine et de l'acide hyaluronique n'est pas significativement différente de la corde saine. Les caractéristiques cicatricielles sont cette fois une augmentation du collagène. Celui-ci va se déposer au sein de la matrice de fibronectine observée plus tôt au cours de l'évolution

naturelle du processus cicatriciel. Les fibres élastiques, quant à elles, apparaissent fragmentées et désorganisées. L'ensemble de ces caractéristiques moléculaires et tissulaires va augmenter la raideur et la viscosité du tissu cicatriciel (15,16).

### **Implications thérapeutiques**

Il ressort de l'ensemble des études qui viennent d'être décrites, que la vibration cordale normale dépend de manière critique de la composition moléculaire de la matrice extracellulaire de l'espace de Reinke. Le but poursuivi par le microchirurgien sera de préserver à tout prix cet espace de Reinke. L'acte microchirurgical cordal doit donc tenter à la fois de libérer l'espace de Reinke du processus pathologique occupant (qu'il s'agisse d'un œdème, d'un dépôt nodulaire ou d'un kyste intra-cordal) et de préserver l'espace de Reinke sain situé tout à côté de la lésion (17). Ce grand principe a conduit à utiliser des techniques de micro-flap de plus en plus proches du bord libre de manière à préserver au maximum la plus grande surface et le plus grand volume d'une structure laminaire normale (18). La résection tissulaire épithéliale devra si possible toujours être minimale afin que l'incision soit fermée totalement en fin d'intervention, dans le but d'éviter tout processus cicatriciel par deuxième intention, ce dernier s'accompagnant inévitablement d'une destruction localisée de la structure laminaire normale de la matrice extracellulaire. Tout stripping épithélial large est à proscrire aussi bien dans le traitement de la pathologie nodulaire que dans celui de l'œdème de Reinke. Dans le cas particulier du nodule, une dissection sous-épithéliale stricte telle que pratiquée par Zeitels (19) est certainement la technique la plus élégante actuellement. Néanmoins, malgré toute la prudence requise lors des interventions microchirurgicales, toute microchirurgie n'échappe pas au risque d'induire un processus tissulaire cicatriciel dont les caractéristiques viscoélastiques peuvent être défavorables à la production d'une bonne ondulation muqueuse de surface et donc à l'obtention d'une voix de bonne qualité en postopératoire. Le risque d'une

cicatrice cordale après microchirurgie est certainement plus élevé lorsque l'on traite une altération primaire de l'espace de Reinke où la structure moléculaire saine a d'emblée disparu en raison du processus pathologique initial : il peut s'agir d'une fibrose sous-muqueuse, d'un sulcus, ou d'une vergeture. Le risque cicatriciel paraît également beaucoup plus élevé si l'on doit pratiquer une dissection large ou profonde de l'espace de Reinke conduisant à une profonde altération de la structure moléculaire comme dans la microchirurgie de kystes intracordaux s'enfonçant profondément dans le ligament ou lors de la correction chirurgicale d'un œdème de Reinke.

C'est ce risque cicatriciel qui n'est jamais nul qui m'a conduite à rechercher une technique adjuvante qui pourrait permettre de diminuer les processus cicatriciels au sein de la couverture cordale. D'un point de vue théorique, il ressort des connaissances récentes que pour éventuellement diminuer l'incidence d'une rigidité cicatricielle cordale, il serait intéressant d'augmenter le taux de décorine, de fibromoduline ou d'acide hyaluronique et, au contraire, de diminuer le taux de fibronectine et de fibrose secondaire.

Je me suis intéressée à l'acide hyaluronique compte tenu de ses propriétés biomécaniques favorables et de ses capacités de modulation de la réponse cicatricielle. J'ai utilisé un bio-implant d'acide hyaluronique estérifié (HYAFF Medtronic Xomed MeroGel<sup>®</sup>, Jacksonville, Fl) qui est placé dans l'espace de Reinke disséqué en fin d'intervention microchirurgicale juste sous le flap muqueux avant la fermeture de l'incision cordale par de la colle de fibrine. Depuis 2003, ce bio-implant a été utilisé chez 17 patients traités dans notre service pour différentes pathologies cordales bénignes. Il s'agit d'un matériel fibreux qui se transforme au contact des fluides corporels en un gel. Les fibres sont aisément disposées sous le flap muqueux (à la différence d'un produit injectable) et ce bio-implant résorbable crée une barrière physique temporaire entre le micro-flap muqueux et le ligament sous-jacent. Une étude longitudinale évaluant les caractéristiques vidéostroboscopiques mais aussi vocales des

11 premiers patients a été décrite dans une autre publication (20). Le bioimplant est très bien toléré et n'a pas induit de phénomène granulomateux chez aucun de nos patients (durée du suivi médical : 2 à 19 mois). Les résultats obtenus chez ces 17 patients sont encourageants. Ce bio-implant peut probablement aider à favoriser une cicatrisation plus favorable en permettant de créer un environnement fortement hydraté favorisant la migration fibroblastique tout en empêchant une adhésion rapide de la membrane basale épithéliale au ligament sous-jacent.

Précédemment, une étude randomisée prospective utilisant soit un acide hyaluronique modifié soit du collagène bovin comme implant dans une chirurgie d'augmentation cordale dans le traitement d'insuffisance glottique, soit paralytique, soit post-cicatricielle, a démontré une meilleure fonction cordale chez les patients traités par acide hyaluronique modifié (21).

L'étude pilote que j'ai menée sur l'utilisation très superficielle d'un bio-implant d'acide hyaluronique modifié se présentant sous forme de fibre aisément utilisable en microchirurgie, s'intègre dans les recherches actuelles qui visent à moduler la production fibroblastique de matrice extracellulaire au sein de cordes vocales altérées. De nombreux auteurs, et en particulier Thibeault et al. (12), qui ont observé la diminution très précoce de l'acide hyaluronique au sein de cordes vocales lésées chez des animaux d'expérience, ont suggéré le rôle favorable probable que pourrait jouer une élévation temporaire du taux d'acide hyaluronique intracordal grâce à un apport exogène de cette molécule. Cet apport doit être précoce après la lésion cordale, dès les premiers jours post trauma et si possible perdurer au moins 2 semaines. Un acide hyaluronique modifié est, dans ce cas plus intéressant qu'un acide hyaluronique natif dont la demi-vie est très courte (48 h chez le lapin) (22). De l'observation de mes patients ayant bénéficié d'une implantation intracordale en fin d'intervention chirurgicale, on peut penser que l'implant persiste dans le tissu 3 à 4 semaines avant d'être

résorbé complètement. Ce temps de rémanence est suffisant pour le but poursuivi, à savoir une modulation précoce de la réponse cicatricielle cordale.

De récentes études animales s'intéressent actuellement à l'utilisation de facteurs de croissance comme le Hepatocyt Growth Factor (HGF) qui chez des lapins a favorisé un meilleur processus cicatriciel avec moins de dépôt collagénique et une couverture muqueuse qui s'est avérée moins rigide et moins visqueuse que le groupe qui n'a pas été traité par le facteur de croissance HGF (23).

## CONCLUSION

Des progrès considérables ont été réalisés ces dernières années dans la compréhension de la structure cordale normale et pathologique. C'est la découverte des processus régulateurs de la production de la matrice extracellulaire qui nous conduira vraisemblablement à des progrès thérapeutiques futurs en nous permettant d'induire ou d'influencer la régénération d'une matrice extracellulaire de bonne qualité avec des caractéristiques viscoélastiques proches de la normale dans le décours de traitements microchirurgicaux. Une autre voie de recherche est la création ou la production d'un bio-implant possédant les caractéristiques moléculaires et visco-élastiques les plus proches possibles de celle de l'espace de Reinke sain de manière à pouvoir purement et simplement le remplacer lorsqu'il est détruit ou absent.

## Bibliographie

1. Hirano M. Morphological structure of the vocal cord as a vibrator and its variations. *Folia Phoniatica (Basel)* 1974;26: 89-94.
2. Gray SD, Titze IR, Chan RW, Hammond T. Vocal folds proteoglycan and their influence on biomechanics. *Laryngoscope* 1999;109:845-854.
3. Meyer K, Palmer JW. The polysaccharide of the vitreous humor. *J Biol Chem.*1934; 107:629-634.
4. Hascall VC, Laurent TC. Hyaluronan:structure and physical properties[Glycoforum Web site].Dec15,1997.  
<http://www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA01/HA01E.html>
5. Ward PD, Thibeault SL, Gray SD. Hyaluronic acid: its role in voice. *J Voice* 2002;16(3):303-309.
6. Chan RW, Gray SD, Titze IR. The importance of hyaluronic acid in vocal folds biomechanics. *Otol Laryngol Head Neck Surg* 2001;124(6):607-614.
7. Thibeault SL, Gray SD, Wenhua L, Ford CN, Marshall ES, R.Kim D. Genotypic and phenotypic expression of vocal fold polyps and Reinke's edema: a preliminary study.*Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:302-309.
8. Gray SD. Basement membrane zone injury in vocal nodules. In : Gauffin J, Hammarberg B, eds San Diego, Singular Publishing Group. *Vocal fold physiology : acoustic, perceptual and physiological aspects of voice mechanisms*, 1994.
9. Gray SD. Cellular physiology of the vocal folds. *Otolaryngologic Clinics of North America* 2000;33: 679-697.
10. Woo P, Casper J, Colton R, Brewer D. Aerodynamic and stroboscopic findings before and after microlaryngeal phonosurgery. *J Voice* 1994; 8 (2):186-194.

11. Gray SD, Hammond E, Hanson DF. Benign pathologic responses of the larynx. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104 :13-18.
12. Thibeault SL, Rousseau B, Welham NV, Hirano S, Bless DM.. Hyaluronan levels in acute vocal fold scar. *Laryngoscope* 2004; 114:760-764.
13. Longaker MT, Chiu ES, Adzick NS, Stern M, Harrison MR, Stern R. Studies in Fetal Wound healing. *Ann. Surg.* April 1991, 292-296.
14. Thibeault SL, Bless DM, Gray SD. Interstitial protein alterations in rabbit vocal fold with scar. *J. Voice* 2003; 17: 377-383.
15. Hirano S, Bless DM, Rousseau B, Welham N, Scheidt T, Ford CN. Fibronectin and adhesion molecules on canine scarred vocal folds. *Laryngoscope* 2003.113:966-972.
16. Rousseau B, Hirano S, Chan RW, Welham NV, thibeault SL, Ford CN, Bless DM. Characterization of chronic vocal fold scarring in a rabbit model. *J. Voice* 2003; 18:116-124.
17. Ford CN. Advances and refinements in phonosurgery. *Laryngoscope* 1999; 109: 1891-1900.
18. Courey MS, Garrett CG, Ossoff RH. The medial microflap for excision of benign vocal fold lesions. *Laryngoscope* 1997 ; 107(3):340-344.
19. Zeitels SM, Hillman RE, Desloge R, Mauri M, Doyle P. Phonomicrosurgery in singers and performing artists: treatment outcomes, management strategies, and future direction *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:21-40.
20. Finck C, Lefebvre P. Implantation of esterified hyaluronic acid in micro-dissected Reinke's space after vocal fold microsurgery: first clinical experiences. *Laryngoscope* 2005; 115: 1841-1847.
21. Hertegard S, Hallén L, Laurent C, Lindström E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist A. Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 2002; 112(12):2211-2219.

22. Hallén L, Dahlqvist A, Laurent C. Dextranomers in hyaluronan (DIHA): a promising substance in treating vocal cord insufficiency. *Laryngoscope* 1998; 108 :393-397.
23. Hirano S, Bless DM, Rousseau B, Welham N, Montequin D, Chan RW, Ford CN. Prevention of vocal fold scarring by topical injection of Hepatocyt Growth Factor in a rabbit model. *Laryngoscope* 2004; 114: 548-556.

## Annexe 3

### **Implantation of Esterified HA in Microdissected Reinke's Space After Vocal**

### **Fold Micro-surgery : a Controlled and Prospective Study of Laryngeal and Voice**

#### **Evolution.**

Finck C.\*,MD, Harmegnies B.\*\* ,PhD, Remacle A.\* , Lefebvre Ph.\* ,MD,PhD.

\*Department of Otorhinolaryngology, University of Liège, Belgium.

\*\* Speech Sciences Laboratory , Académie Universitaire Wallonie-Bruxelles, Belgium.

#### **Introduction**

Microsurgical procedures for benign vocal fold (VF) lesions aim at improving the mechanical properties of the laryngeal vibrator. Restoring a good pliability of the Superficial Layer of the Lamina Propria (SLLP) is essential. In normal VFs, the SLLP, also *called Reinke's space*, demonstrates favourable biomechanical properties in terms of viscosity and stiffness thanks to its cellular and molecular composition: few fibroblasts and macrophages are surrounded by a very loose elastic and collagen fibrous scaffolding and by interstitium molecules of the ExtraCellular Matrix (ECM). Among those molecules, an equilibrium between glycosaminoglycans like Hyaluronic Acid (HA) and decorin, and glycoproteins like fibronectin is necessary to maintain the “jelly like” structure favourable to vibration. HA is a high molecular weight glycosaminoglycan which is a normal component of the ECM everywhere in the body. Because of its molecular structure and binding to a large amount of water molecules, HA plays an important role in determining the mechanical characteristics of the SLLP (1). It influences the thickness of the LP: men possess a thicker LP compared to women and this could be due to a three- to fourfold amount of HA in the men's LP (2). HA is necessary to maintain both optimal viscosity and stiffness of SLLP. In 1999, Gray, Titze, Chan and Hammond showed that the removal of HA from the SLLP of two human cadavers increased the tissue viscosity by two- to fourfold (3). Stiffness of the SLLP is also influenced by the amount of HA present : in 2001, Chan, Gray and Titze demonstrated that removal of

HA from the LP of 5 adult male cadavers decreased the stiffness of the VF cover by an average of 35 % but increased dynamic viscosity by 70 % (4). Decreased stiffness leads to unstable vibratory rate while increased viscosity reduces pliability and hence, mucosal cover travelling wave. But one of the very interesting characteristics of HA is its influence on cell behaviour and regulation of wound repair and of morphogenetic events. Previous studies have shown that HA influences collagen deposition and that high levels of HA reduce scar tissue formation with less fibrosis and less contracture (5).

Because of the favourable and important biological and mechanical roles played by HA in normal SLLP, we decided to investigate the use of a HA derivative bioimplant in selected surgical cases. The implant should be resorbable in order to play only a temporary role. It should prevent the early adhesion of the epithelial basement membrane to the underlying ligament, acting as a spacer. The implant also needs to create favourable healing conditions inside the SLLP because of increased amount of hyaluronic acid present in the surgical wound as well as by creating a highly hydrated matrix favourable to the fibroblastic migration. In a previous pilot study on 11 cases, we have shown an excellent tolerance of a bioimplant made of Esterified Hyaluronic Acid (EHA), commercially known as MeroGel<sup>o</sup>( Medtronic, Xomed, Jacksonville,Fl) placed under the mucosal flap, in the Reinke's space, following a microsurgical procedure for a benign VF lesion: no adverse reaction was observed during a time of follow-up comprised between 8 weeks and 19 months(6). Also, excellent pliability of the mucosal cover is obtained postoperatively, particularly in cases where mucosal stiffness was extremely important preoperatively.

These good results obtained in these first clinical experiences needed to be confirmed by larger series and long term follow-up. The goals of the actual study are: 1) to confirm the innocuity of the technique, 2) to demonstrate the laryngeal and vocal evolution at short and long term and 3) to evaluate the eventual positive impact of EHA implantation, on the voice evolution after VF microsurgery.

## **Material and Methods**

### ***Study Design***

In this prospective, not randomized study, 83 subjects are departed into in two groups: a control group made of 50 subjects and a study group made of 33 subjects. All of them

undergo a serial follow-up. The laryngeal and vocal data obtained are carefully stored and submitted to statistical analysis.

Graph I shows the follow-up of the study group. Each lozenge represents a clinical evaluation. One pre-operative evaluation and several post-operative ones are obtained for each case. The number of post-operative evaluations depends on the moment of microsurgery and on the patient's compliance to the appointments, the first treated cases very logically exhibiting a larger number of postoperative checkups. The longest follow up is 4 years.

## ***Subjects***

### *The implanted group*

The implanted group is composed of 33 patients who underwent a VF microsurgical procedure and implantation of EHA between February 2003 and December 2006. 23 are females (70%) and 10 are males (30%).

The clinical diagnosis of the VF lesions are: 6 oedemas, 5 mucous cysts, 4 polyps, 6 nodules, 1 sulcus, 2 scars, 2 sub-epithelial fibrosis, 3 vergetures, 4 open cysts (Table I). 20% had microsurgery on the left VF, 59 % on the right VF, 21 % had bilateral procedure.

In 18%, CO<sub>2</sub> laser was used for the incision of the VF surface, the other cases were treated only with cold instrumentation.

8 patients benefited from a bilateral implantation. The first 11 cases included in our pilot study are part of this larger series.

### *The control group*

The control group is composed of 50 patients who underwent a VF microsurgical procedure without subsequent implantation of EHA between January 2004 and February 2007.

38 are females (76%) and 12 are males (24%).

The clinical diagnosis of the VF lesions are: 12 oedemas, 4 mucous cysts, 14 polyps, 7 nodules and 13 pseudo-cysts (Table I).

26% had microsurgery on the left VF, 34 % on the right VF, 40 % had bilateral procedure.

In 20%, CO<sub>2</sub> laser was used for the incision of the VF surface, the other cases were treated only with cold instrumentation.

The composition of the two groups was homogeneous concerning the sex (Chi-square= .405, df =1, p =.524), the professional voice use(Chi-square=1.02, df =1, p =.31), the side of microsurgery(Chi-square=5.45, df =2, p=.06), the use of laser(Chi-square= .07, df =1, p= .78).

The distribution of the clinical diagnosis of VF lesions was inhomogeneous (Chi-square=34.51, df =11, p= .0003).

### ***Procedure***

All patients underwent general anaesthesia and routine laryngeal intubation (tracheal tube size: 5.5 to 6.5). A direct laryngoscopy was performed in all patients (Kleinsasser type laryngoscope, Storz 8590C and 8590B).The microsurgical procedure was performed under 40 x magnification, with a 400 mm focal length (Microscope Leica M655), which corresponds to a real magnification of x10. The cordal lesion was treated either with cold instrumentation only (Bouchayer instrumentation from Microfrance and mini- microinstrumentation for laryngeal surgery from Stöpler) or with CO<sub>2</sub> Laser (Sharplan 40C). In both groups, the surgical procedures are identical, except for the use of the bioimplant of EHA.

In the cases of nodules, the procedure consisted in a sub-epithelial cleaning of the nodular SLLP with no or a minimal epithelial superficial resection in order to close perfectly the incision .

In the case of a mucosal bridge associated to a vergeture, the procedure is complex: the adherent epithelium is completely resected during the creation of a mucosal flap, then the mucosal bridge is sliced longitudinally in order to preserve the external half of its mucosal cover. This allows to have at one's disposal, an "accessory" mucosal flap, to close the incision with less tension and less concavity of the VF's free edge.

For the patients with Reinke's oedema and pseudo-cysts, after suctioning of the sub-mucosal oedema, care was taken not to sacrifice too large an amount of mucosa in order to be able to close the incision without any or minimal superficial defect.

Sessile polyps and intra-cordal haemorrhages are treated by a sub-epithelial cleaning of the SLLP of all the fibrin and fibrotic reaction. Pediculated polyps are more simply resected as a whole.

Scars and subepithelial fibrosis are treated by an elevation of the adherent epithelium from the ligament , creating a mucosal flap under which EHA can be inserted.

Mucous and epidermoid cysts are resected by a mini-microflap technique.

#### *Decision of implantation of EHA*

The decision of using EHA was taken at the time of the surgical procedure and depended on one or more of the following lesion and procedure characteristics:

1. pre-surgical lesional absence of pliable SLLP: cases of vergeture, scar, sub-epithelial fibrosis and sulcus .
2. partial replacement of pliable SLLP by fibrotic tissue: cases of rigid nodules, fibrotic polyps and organized intracordal haemorrhage, cysts surrounded by fibrosis.
3. estimated higher risk of scar, due to the difficulty of dissection in some cases.
4. feasibility: a perfect closure of the microflap is necessary.

#### *Implantation of EHA*

A few fibres of EHA bioimplant are taken with the microforceps and gently arranged in Reinke's space between the ligament and the mucosal flap. The cordal mucosal flap is then closed above the implant and maintained in place, by using two or three drops of Fibrin glue (Tissucol DUO 500°, 0,5 ml Baxter,Deerfield,Il).

#### *Postoperative care*

Postoperatively, all patients were advised to adhere to a vocal rest for 8 days. Preoperatively, they received a 125 mg IV injection of methylprednisolone. Medical postoperative treatment consisted of degressive oral methylprednisolone, clobutinol hydrochloride and paracetamol. The implanted group received amoxy-clavulanate for 1 week to prevent infection of the implant.

### ***Bioimplant***

The commercially available EHA presents as a fibre material made of an esterified hyaluronic acid or HYAFF<sup>°</sup> (Fidia Advanced Biopolymers, Abano, Terme, Italy). The hyaluronic acid (HA) is a fermentation product from *Streptococcus Equii*. The HA is then esterified on the carboxyl group of the glucuronic acid moiety of the polymer with benzyl alcohol. The EHA implant used in this study is HYAFF<sup>°</sup> 11 (MeroGel<sup>°</sup>), a 20 kDa molecule, in which 100% of carboxyl groups of HA are esterified with benzyl alcohol and is a registered trade mark of Medtronic Xomed, Jacksonville, Fl .

When placed in contact with the human body fluids, it transforms into a highly hydrated gel. HYAFF polymers are biodegradable and follow a well-characterized metabolic pathway: first occurs the hydrolysis of the ester bond, releasing free benzyl alcohol and soluble HA. The HA from the de-esterification of HYAFF<sup>°</sup> is indistinguishable from that of natural origin and undergoes the same metabolic pathways: it is degraded locally by hyaluronidase which shortens the HA chain, or by the production of radicals. Those smaller molecules enter the bloodstream and are degraded in the liver into water and dioxide. The free benzyl alcohol is degraded in the liver in benzoic acid, then conjugated with glycine, to produce hippuric acid, which is excreted in the urine.

### ***Laryngoscopic Examination***

All patients underwent a general ear, nose and throat clinical examination. Video-laryngo-stroboscopy was performed preoperatively and patients then undergo a serial postoperative evaluation. We used a Wolff rigid 70° endoscope 4450.47 connected to a Wolff laryngostroboscope 5052 or Xion's EndoSTROB digital camera. Archiving of the videostroboscopic views were done with an Olympus camera Visera OTV-57 and video-recorder Panasonic AG-5700 or with Xion's DiVAS software. Topical anaesthesia of the pharynx (xylocaine 10 % spray) was used. The patients were asked to sustain an [i] at different pitches.

Amplitude of vibration and of mucosal wave as well as symmetry, inflammation, presence of a glottic gap and of vocal fold deformation are the videostroboscopic findings that were taken into account. Amplitude of vibration, mucosal wave and glottic gap were evaluated on analogic visual scales. For amplitude vibration and mucosal wave, we used a bipolar scale: amplitude of vibration is considered normal if noted at half the continuum,

increased to the right and decreased to the left. For mucosal wave, the scale is unipolar (normal at the right end, completely absent at the left end). It is also the case for glottic closure (complete at the right end, absent at the left end).

### ***Voice Evaluation***

The voices were recorded in a soundproof booth on a Kay Elemetrics Computerized Speech Lab with a Kay Elemetrics head-mounted microphone. The distance between the mouth and the microphone was approximately 3 cm. Three sustained vowels /a/ and 5 standardized texts for French were recorded at each visit. We used the GRBASI scale for the subjective evaluation of the patient's voice quality, after listening to the 5 productions of the standardized texts: G(grade), R(roughness), B(breathiness), A(asthenia), S(strain), I (instability). Each item was quoted O (normal), 1 (light), 2 (moderate), 3 (severe).

Software from Kay Elemetrics, Multi-Dimensional Voice Program (MDVP) was used to obtain voice quality objective data. Measurements of average fundamental frequency (Average Fo), of highest and lowest fundamental frequency (Fhi, Flo), standard deviation of Fo (STD), Phonatory Fo-Range (PFR), Jitter ratio (Jitt), Noise to Harmonic Ratio (NHR), were derived from 3 second segments of each of the sustained /a/.

### ***Phonatory Function Measurements***

Measurements of Maximum Phonation Time (MPT), subglottic pressure (Subglot.pres.), and Mean Flow Rate (MFR) were realized by the use of Aerophone II.

### ***Statistical Analysis***

#### ***Pre- and early post-operative data***

Pre- and early post-operative means obtained in both groups were compared by Analysis of Variance, (SPSS software, GLM procedure, repeated measures): the dependent variable was the data under study, the independent variables were the group and the time of examination (preoperative or early postoperative data). The subjects were nested into the groups.

### *Delayed and Long Term outcome.*

Evaluation of laryngeal and vocal modifications with the passage of time after microsurgery is one of our goals, as we expect a different tissue remodelling in the two groups. Serial follow up is mandatory to demonstrate an eventual positive effect of the implantation of EHA in the micro-dissected SLLP.

The number and the moment of the post-operative evaluations being variable from a patient to another, we decided to use correlation criterias (or non parametric statistical analysis).

In this section, we decided not to take into account the immediate post-operative results but the datas obtained at least at the 2<sup>nd</sup> post-operative consultation and all the following ones. Because of the very variable moments of the post-operative appointments at our Voice Clinic, we take in consideration the number of days elapsed since microsurgery. We used the correlation criterias of Kendall and Spearman to show a possible correlation between the value of the different variables measured in our patients and the time elapsed since the VF micro-surgery. Significance level is  $p < 0.05$ .

## **Results**

### *Pre-operative datas*

Mean values of the control group are contained in the Table II. Mean values of the implanted group are contained in Table III.

The Student's t-test shows some significant differences between the 2 groups. Subjective voice ratings G,R,S,I are significantly higher, in the pre-operative period, while the mucosal waves and the right amplitude of vibration are significantly lower , in the patients who will benefit from EHA implantation.

The t values and level of significance are presented in Table IV. All the other obtained data show no significant difference, in the pre-operative period, between the implanted and control group.

### ***Early post-operative results.***

The first post-operative data were obtained between 1 and 6 weeks after the VF microsurgery, although the patients were advised to present at the Voice Clinic 2 weeks after surgery.

An Analysis of Variance allows a between-time and between-group comparison. The Fisher Snedecor F values and significance levels are presented in Table V,  $df = 1$ . All videostroboscopic and voice data are significantly modified by the microsurgical procedure except NHR ( $p = .09$ ), Av.FO ( $p = .840$ ) and Asthenia(A) ( $p = .191$ ). We observe a postoperative significant decrease of G, R, B, S, I, Jitter%, Phonatory FO range, St.Deviation of F0, MFR, and of the subglottic pressure.

A post-operative increase of glottic closure ( $p < .001$ ), MPT( $p = .04$ ), Right amplitude and mucosal wave( $p < .001$ ), Left amplitude and mucosal wave ( $p < .001$ ) is observed .

There is no difference between the 2 groups, regarding the impact of the microsurgery, except for the left mucosal wave which is increasing more in the implanted group ( $p = .007$ ) and Shim% which is decreasing less in the implanted group ( $p = .049$ ) (Graph II and III).

### ***Delayed and Long Term outcome.***

Results are presented in Table VI.

10 significant correlations between time elapsed since microsurgery and the data under study are present in the implanted group: G, R, I, glottic closure, left and right amplitude of vibration, right mucosal wave, Phonatory range of FO, St dev FO, NHR. G, R, I, Phonatory range of FO, St dev FO and NHR are negatively correlated with time elapsed since microsurgery: in other words, those variables continue to diminish in the delayed and long term period only in the implanted group. Glottic closure, bilateral amplitudes of vibration and right mucosal wave exhibit a positive correlation with the time elapsed: they keep increasing in the implanted group while they are not modified in the control group.

The only data showing a positive correlation with the time elapsed in the control group is the left mucosal wave.

## **Discussion**

Immediate implantation of EHA in the microdissected Reinke's space after VF microsurgery is a technique that has been developed in our department since 2003. We have previously reported the vocal and laryngeal results obtained in a pilot study on 11 patients (6).

In this prospective study, we have applied this technique to a larger series of selected cases and compared the outcome with a control group. Implantation of exogenous modified HA in the surgical wound aims at playing the role of a spacer between the elevated mucosal flap and the underlying VF ligament and at modulating the healing and tissue repair processes by raising the local amount of HA. Previous animal studies showed that levels of HA are decreased in injured VF in the early days after injury and the authors believe that low HA level produces a less than optimal environment for normal tissue regeneration and might contribute to formation of scar tissue (7). We hypothesize that increased HA in the wound will contribute to less fibronectin and collagen deposition, less wound contracture and possibly enhanced pliability of the mucosal cover.

Due to the clinical and prospective nature of this study, pre-surgical diagnosis are inhomogeneous: there is no pseudocyst in the implanted group while there is no lesion with partial or complete destruction of SLLP (sulcus, scar, sub-epithelial fibrosis, vergeture, open cyst) in the control group. The pre-operative data show that the voice is subjectively worse in the implanted group: grade of dysphonia as well as subjective roughness, strain and instability are significantly higher. Not surprisingly, the mucosal waves observed on stroboscopy are lower in the implanted group (Table III). We decided to use esterified HA in lesions associated with significant diminution of pliability of the VF cover. This is obvious in cases with a partial or total absence of SLLP, like in sulcus, scar, subepithelial fibrosis and vergeture. In the implanted group, nodules were rigid and fibrotic compared to the control group nodules, more flexible and pliable. The polyps treated with subsequent implantation of EHA were sessile and associated with occupation of SLLP by fibrin and fibrosis sequellae of diffuse intracordal hemorrhage. The treated cysts were surrounded by thick fibrotic response making their dissection difficult and in the 6 edemas implanted with EHA, pouches of edemas were surrounded by thick fibrotic septae. These very different SLLP characteristics (absent/rigid in implanted group, excessive/highly pliable in the control group) are the driving justification for using or not the EHA implant and explain the inhomogeneity of the preoperative diagnosis in the 2 groups.

Functional assessment of voice pathology and evaluation of the efficacy of a microsurgical procedure is a difficult task because of the multidimensional character of voice function.

### ***The early post-operative results.***

The early post-operative results show expected modifications of laryngeal and voice data in both groups. Glottic closure, amplitude of vibration and mucosal waves significantly increase after microsurgery, while quality of voice is improving significantly at the subjective rating on the GRBASI scale. Frequency instability (Jit%, Phonatory F0 range, St DeviationF0) and intensity instability (Shimmer %) regress significantly in both groups. Aerodynamic data are also clearly modified by VF microsurgery: MPT increases while subglottic pressure and MFR significantly diminish. These results are in accordance with results reported in the literature. A significant decrease of the grade of hoarseness (G), roughness (R), breathiness (B), Jitter, Shimmer and noise energy is observed 2 weeks after microsurgery for nodules and polyps (8). Another study on a series of 50 patients with various benign VF pathologies (mainly polyps) shows significant lowering of mean flow rate but not of maximum phonation time (MPT) after VF microsurgery; the authors insist on the importance of improving mucosal wave and amplitude of vibration in order to improve voice (9). In a small series of 20 patients treated for Reinke's edema, a significant decrease of shimmer% is obtained, but no significant lowering of Jitter%, subglottic pressure or mean flow rate (10).

The observed results have to take into account, in the immediate post-operative period, the visco-elastic properties of the implanted esterified HA and the ongoing healing process. Implanted patients do as well as the control group while we show that they exhibit worse pre-operative subjective voice ratings and worse stroboscopic ratings. Pliability of the VF cover is good in implanted patients. This is an important finding because it is the first time, to our knowledge, that exogenous HA is used in the vibrating cover of the human VF: the implant is placed inside the micro-dissected Reinke's space and many prior studies (11,12) stressed the importance of the visco-elastic properties of biomaterials for VF procedures. If the implant is too viscous or too rigid, it will lead to lack of pliability of the VF cover, lack of vibratory movement and poor voice results which is not, fortunately, what we observe with EHA. According to the manufacturer of MeroGel<sup>o</sup>, the implant dissolves in 2 weeks in the nose and in 6 weeks in the middle ear. From the observation of the laryngeal image, we interpret the disappearance of a slight convexity of the treated VF observed in 3 of our cases as the probable resorption of the inserted EHA implant: it would mean that 3 to 4 weeks are necessary for the resorption of the implant. No previous observation is reported on the use of modified HA in the sub-epithelial portion of the human VF, all others studies reporting results

on deep injections of hyaluronan based biomaterials for the treatment of glottic insufficiency (12,,13,14), the authors observing good videostroboscopic evolution and the absence of adverse effect. According to a recent study, some hyaluronan based biomaterials exhibit visco-elastic properties which can make them suitable for superficial injection in the VF: Hylaform<sup>o</sup> and Restylane<sup>o</sup> which are dermal fillers used in the treatment of wrinkles and skin scars, were tested in vitro for their viscosity and elasticity and showed slightly higher values compared to human SLLP. Hylaform<sup>o</sup> was less viscous than Restylane and, according to the authors, a possible bio-implant for superficial use in the VFs (15).

### ***The delayed and long term results.***

The delayed and long term results have to be discussed while taking into account tissue healing and remodelling processes taking place inside the SLLP. In that time frame, the resorbable EHA has been removed from the SLLP by the natural degradation processes. The data show a very different behaviour of the implanted group in comparison with the control cases: the implanted patients exhibit a continuous improvement of 10 laryngeal and voice parameters while the control group is modifying only one stroboscopic parameter. This is a very important finding for two reasons. First, serial observations over several years of follow-up never have demonstrated continuous improvement after VF microsurgery. The published studies rather evaluate the immediate postoperative results and long term stability of the microsurgically obtained results (12, 16). Second, this continuous improvement over time is observed in the cases implanted with EHA and not in the control conditions. Does that long term evolution depend on a slower improvement of the implanted patients because of worse preoperative laryngeal conditions? This could partly explain the improvement of G, R, S, I and of right amplitude and mucosal wave which were significantly worse preoperatively in the implanted group. But this explanation is insufficient for the continuous improvement of the other measured variables and especially the objective voice variables. Moreover, all the improving laryngeal and vocal variables exhibit the same early postoperative behaviour in both groups. We think that the peculiar evolution of the EHA implanted cases is due to the improvement of tissue mechanical properties which is shown by the improvement of the stroboscopic parameters (closure, wave and vibratory amplitudes). A more favourable tissue remodelling of the SLLP in the presence of EHA implanted in the surgical wound is a possible explanation. Positive effects of HA on healing are well known and have been

extensively studied in skin tissue repair. Scarless healing of skin is observed in fetal healing and this regeneration-like tissue repair is thought to be linked to the very high concentration of HA in the amniotic fluid, for a prolonged period of time (17). Both *in vitro* and *in vivo* (animal and human) studies on skin tissues have been conducted. *In vitro*, contraction by fibroblasts was significantly reduced when concentration of HA was  $> 1\text{mg/ml}$  (18). *In vivo*, as early as the seventies, application of high molecular weight ( $>1 \times 1,000,000$  Da) purified HA to skin incisions, in different animal species, decreased granulation tissue and fibrosis (19). Subsequent studies have demonstrated that HA provides a beneficial effect on the quality of the scar tissue (5, 20). The actions of HA in the ECM are both mechanical and biological. The molecule binds to a large amount of water molecules, maintaining the volume of the extracellular space and acts as a molecular sieve capable of excluding large molecules such as fibrinogen and of modifying chemotactic gradients. HA plays a wide range of biological roles, regulating several cellular activities like cell attachment, cell proliferation, cell migration and cell differentiation. This wide range of activities results from the existence of a large number of HA-binding proteins (termed hyaladherins) that exhibit large differences in their cellular localisation, affinity, specificity and tissue expression (21). These hyaladherins are present on the cell surface of fibroblasts, neutrophils, activated T cells and macrophages. HA is therefore capable to modify the activity of those cells and to, thereby, reduce inflammation and subsequent collagen deposition. In skin tissue repair, favourable effects of exogenous HA on healing and scarring processes are achieved when the molecule is maintained at the wound site for a prolonged period of time, at least during several days(5). As stated before, from the video-stroboscopic data obtained in the immediate post-operative period, we suggest that our implant stays in place several weeks, which is a long period of time if we compare it to the time of residence of implants in skin tissue repair studies. Hardly anything is known on human VF's SLLP healing, remodelling and scarring processes, and especially nothing is known on the actual levels of HA in the wound site. It is therefore impossible to guess which time of residence of the implant is needed to favour better healing conditions in the micro-dissected SLLP. The desired time of residence of the implant could even be very different, depending on the type of pathology: we hypothesize from our clinical observations that the residence time is probably insufficient in cases of very deeply altered SLLP like scars and vergetures. Modulation of healing processes by HA in these cases might also be less efficient because of the absence of residual cellular and molecular environment in the altered SLLP, knowing that the action of HA is partly due to cell response which is context-specific (22). In a recent study, injection of cross-linked HA (Restylane<sup>o</sup>) in the

dermis of photo-damaged human skin stimulated the collagen synthesis by the dermal fibroblasts, partially restoring the lost ECM components (23). Time of residence of the exogenous HA in the wound is not the only important factor: different parameters of wound repair, like wound contraction and angiogenesis, are influenced by the molecular weight of the HA molecule. High-molecular weight HA(>1,000,000 Da) accelerates wound contraction and reduces angiogenesis(24).Conversely, low-molecular weight HA have a stimulating effect on angiogenesis as demonstrated in various animal models(25).The EHA implant used in our study is a low molecular weight modified HA, only 20,000 Da. We never observed any permanent hypervascularization in any of our patients but it is of course a clinical evaluation of the laryngeal image, without any histological analysis. A micro-angiogenesis effect is thus still possible.

Only one case of important and long lasting inflammation was observed, in a patient treated for mucous cyst: fibrinous and rigid VF is visible at the first postoperative evaluation. The patient didn't comply to vocal rest and didn't take the prescribed medications in the post-operative period. We suggest that the unfavourable evolution is due to infection of the wound. It took several weeks to observe the closure and healing. Inflammation and decreased pliability of the mucosal cover of the treated VF is still observed 8 months after microsurgery. From our datas, we can conclude that EHA implantation is well tolerated in our series.

In a dermatologic survey on the safety of injectable non-animal modified HA, published in 2004, the incidence of hypersensitivity is reported to be around 0.6% and the authors conclude to a high safety level of the HA filler in dermatology. The authors stress that no skin testing is necessary prior to the injection because the preparation, theoretically, does not contain any protein. The study described one case of hypersensitivity reaction lasting more than a year (26).

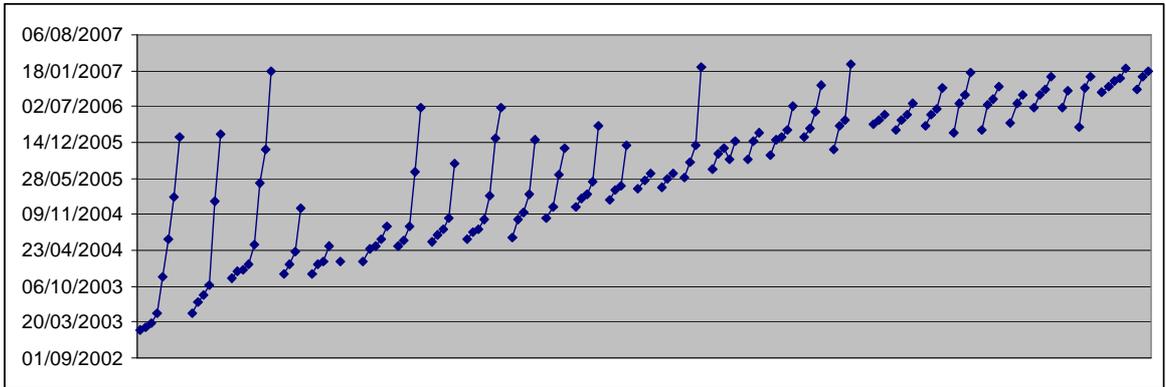
In the field of laryngology, crossed-linked hyaluronan, has then been used in augmentative surgery as an injectable material in patients suffering of glottic insufficiency, with very good results on video-stroboscopic parameters and absence of adverse side-effects(12,27).The authors noted a few patients with early signs of inflammation (within a week after injection) but all cases resolved without sequellae within 30 days. In our series, we did observe a very transient redness of the implanted region of the SLLP in 2 cases, which resolved in a few weeks. From our data, we can conclude that EHA implantation is well tolerated in our series.

## **Conclusion**

From our several years experience of the use of esterified hyaluronic acid in the microdissected SLLP at the end of a microsurgical procedure, we conclude that the use of the implant is safe and leads to good laryngeal and vocal outcomes in the treated patients. More interestingly, treated cases exhibit a continuous improvement over a long period of time. Additional clinical studies are needed to obtain a clear view on the benefits of the use of modified HA inside the microdissected SLLP at the end of a microsurgical procedure: prospective studies in large groups of well defined benign vocal fold lesions and randomized studies are mandatory.

The observations reported here are encouraging and raise many questions on the lifetime of HA implants in the SLLP, on their visco-elastic properties and modifications over time, on the modulation of healing and, possibly, on the regeneration of the SLLP.

The answers to those questions need thorough investigations *in vitro* and *in vivo* to improve our understanding of the biological maintenance of the human SLLP, both in normal and pathological states, and in healing conditions.

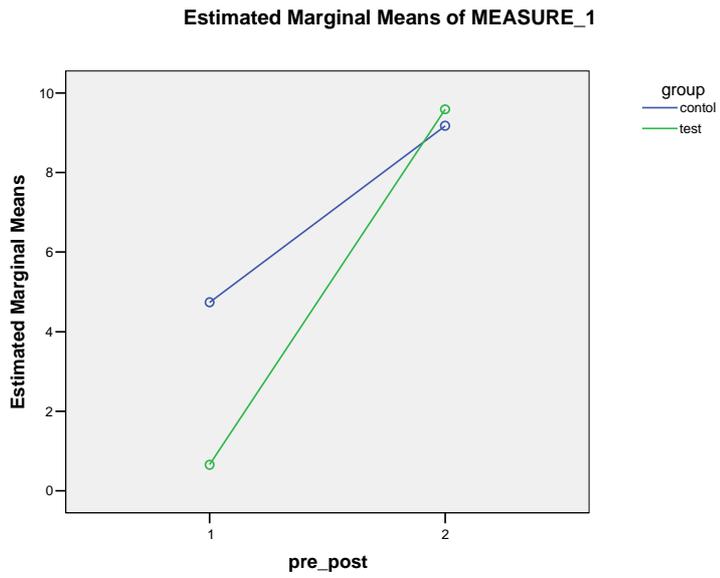


Graph I

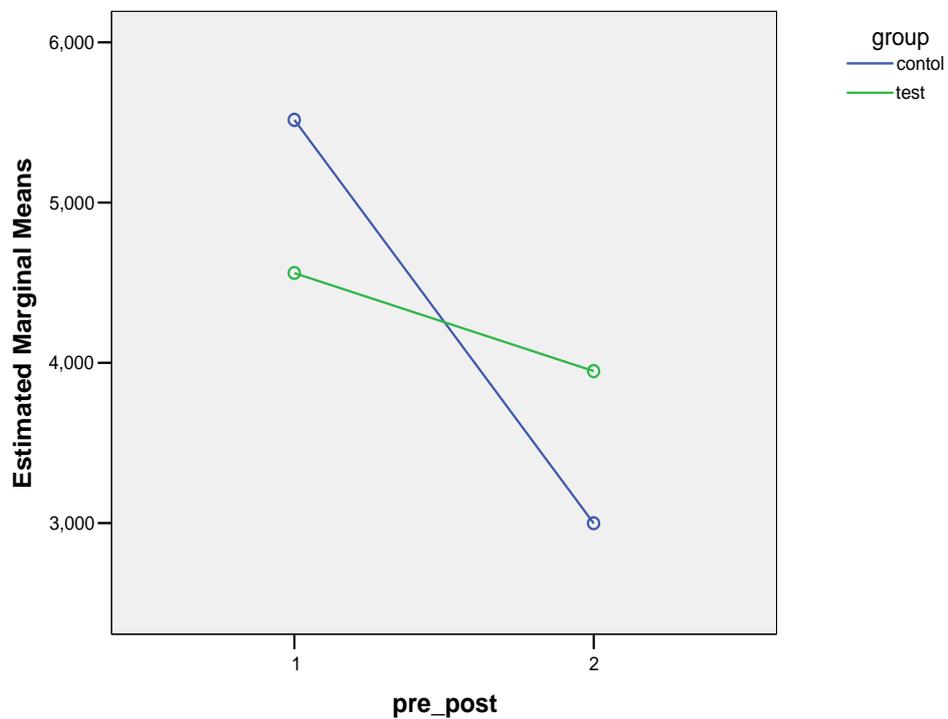
Serial follow up of the study group

Each lozenge represents a clinical evaluation: one preoperative and several postoperative ones are obtained for each patient.

*Graph II*  
*Left mucosal wave*  
*Analysis of Variance*  
*Early post-operative results*



Estimated Marginal Means of MEASURE\_1



*Graph III  
Shimmer%  
Analysis of Variance  
Early post-operative datas*

*Table I*  
*Pre-surgical diagnosis of vocal fold lesions*

Control group	EHA group
12 edemas	6 edemas
4 mucous cysts	5 mucous cysts
14 polyps	4 polyps
7 nodules	6 nodules
13 pseudo-cysts	1 sulcus
	2 VF scars
	2 sub-epithelial fibrosis
	3 vergetures
	4 open cysts

Table II  
Control Group : Pre-operative Means

	N	Mean	St.Deviation	St Error Mean
G	50	2,02	0,76904393	0,10875924
R	50	2	0,88063057	0,12453997
B	50	1,26	0,75078191	0,1061766
A	50	0,56	0,83690392	0,11835609
S	50	1,4	1,2453997	0,17612611
I	50	1,94	0,97750202	0,13823966
Glott.closure	47	3,48723404	1,06273172	0,15501535
Left ampl.	31	2,07419355	1,8975366	0,34080763
Left muc.wave	32	5,065625	4,28610729	0,75768388
Right ampl.	34	10,7116667	2,06121341	0,35349518
Right muc.wave	32	6,60625	4,11472082	0,72738675
Avg F0	50	181,20818	48,8328349	6,90600574
Jit.%	50	2,43216	2,02076976	0,28578
FO Phon.Range	50	5,89654	5,7722236	0,81631569
F0 STD	50	11,43526	22,4284334	3,17185947
NHR	50	0,15776	0,08700869	0,01230489
Shim%	50	5,38186	4,66923584	0,66032966
MPT	37	11,7806486	5,87472776	0,96579929
MFR	37	0,25786486	0,17511983	0,02878952
Sub.glott.Pres	36	10,7116667	4,02389612	0,67064935

Table III  
 Implanted Group : Pre-operative Means

	N	Mean	St.Deviation	St.Error Mean
G	32	2,59375	0,61483672	0,1086888
R	32	2,5625	0,66901468	0,1182662
B	32	1,5625	1,0140147	0,17925417
A	32	0,5625	0,91360682	0,16150439
S	32	2,0625	1,10533895	0,19539817
I	32	2,5	0,71842121	0,12700013
Glott.closure	31	3,7516129	1,29199354	0,23204889
Left ampl.	12	1,84166667	2,95802709	0,85390887
Left muc.wave	12	1,425	2,82106524	0,81437139
Right ampl.	24	1,49166667	1,66600712	0,34007228
Right muc.wave	24	1,84583333	3,0879822	0,63033173
Avg F0	33	189,261212	55,3520347	9,63555246
Jit%	32	2,9359375	1,9312955	0,34140804
F0 Phon.Range	32	6,4278125	4,76794994	0,84286243
F0 STD	33	9,81818182	12,7258542	2,21528687
NHR	32	0,15803125	0,0776271	0,01372266
Shim%	32	5,140625	3,3847437	0,59834381
MPT	18	10,2261111	3,50037332	0,8250459
MFR	19	0,21710526	0,09269238	0,02126509
Sub.glott.Pressure	19	10,77	2,89098983	0,66323855

Table IV

	T test for equality of means	df	significance
G	-3.5532	80	<.001
R	-3.0856	80	.00278
S	-2.4528	80	.016
I	-2.9831	78.37	.0038
Left muc.wave	3.272	30.24	.002
Right muc.wave	4.945	53.98	<.001
Right ampl.	2.349	54.89	.022

Pre-operative datas

Student t test for equality of means

Table V

Analysis of Variance  
Early post-operative results

	F Pre-post op	Sig. Pre-post op	F Pre-postop- group	Sig. Pre-postop- group
G	103.236	.000	.583	.447
R	139.733	.000	.192	.663
B	13.202	.000	2.457	.121
A	1.736	.191	.367	.547
S	41.563	.000	.291	.591
I	108.758	.000	.115	.735
Glott.closure	35.084	.000	.877	.352
Left ampl.	82.763	.000	3.126	.085
Left muc.wave	72.524	.000	8.203	.007
Right ampl.	35.838	.000	.807	.373
Right muc.wave	25.830	.000	.283	.597
Avg F0	.041	.840	.163	.687
Jit.%. 	7.377	.008	.923	.340
FO Phon.Range	5.277	.024	.677	.413
F0 STD	4.711	.033	1.593	.211
NHR	2.937	.328	.968	.328
Shim%	10.807	.002	4.006	.049
MPT	4.265	.045	.042	.839
MFR	7.420	.009	.401	.530
Sub.glott.Pres	8.975	.005	.043	.837

Delayed and long term post-operative results( Table VI)  
 Nonparametric correlation coefficients of Kendall and Spearman

Time	Correlation Coefficient	1,000		1,000		1,000		1,000	
	Sig. (2-tailed)	.		.		.		.	
	N	60,000		74,000		60,000		74,000	
Grade	Correlation Coefficient	0,001		-0,219		-0,002		-0,291	
	Sig. (2-tailed)	0,989	NS	0,019	*	0,991	NS	0,013	*
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Roughness	Correlation Coefficient	0,050		-0,208		0,062		-0,267	
	Sig. (2-tailed)	0,629	NS	0,026	*	0,635	NS	0,023	*
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Breathiness	Correlation Coefficient	-0,067		-0,068		-0,086		-0,102	
	Sig. (2-tailed)	0,516	NS	0,464	NS	0,514	NS	0,396	NS
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Asthenia	Correlation Coefficient	0,009		-0,064		0,017		-0,076	
	Sig. (2-tailed)	0,930	NS	0,509	NS	0,900	NS	0,523	NS
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Strain	Correlation Coefficient	0,061		-0,079		0,082		-0,113	
	Sig. (2-tailed)	0,549	NS	0,385	NS	0,535	NS	0,346	NS
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Instability	Correlation Coefficient	-0,119		-0,198		-0,145		-0,269	
	Sig. (2-tailed)	0,253	NS	0,031	*	0,268	NS	0,022	*
	N	60,000		72,000		60,000		72,000	
Glot. closure	Correlation Coefficient	-0,115		0,209		-0,173		0,295	
	Sig. (2-tailed)	0,214	NS	0,014	*	0,189	NS	0,012	*
	N	59,000		72,000		59,000		72,000	
Left ampl.	Correlation Coefficient	0,188		0,320		0,269		0,421	
	Sig. (2-tailed)	0,109	NS	0,027	*	0,093	NS	0,026	*
	N	40,000		28,000		40,000		28,000	
Left muc. Wave	Correlation Coefficient	0,319		0,208		0,417		0,272	
	Sig. (2-tailed)	0,009	**	0,152	NS	0,006	**	0,162	NS
	N	42,000		28,000		42,000		28,000	
Avg. F0	Correlation Coefficient	-0,134		-0,055		-0,203		-0,075	
	Sig. (2-tailed)	0,142	NS	0,499	NS	0,130	NS	0,530	NS
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	
Jit%	Correlation Coefficient	0,035		-0,137		0,044		-0,209	
	Sig. (2-tailed)	0,705	NS	0,091	NS	0,744	NS	0,075	NS
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	
Phon. Fun. Range	Correlation Coefficient	-0,020		-0,209		-0,028		-0,291	
	Sig. (2-tailed)	0,835	NS	0,012	*	0,838	NS	0,012	*
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	

St dev. F0	Correlation Coefficient	-0,048		-0,186		-0,081		-0,265	
	Sig. (2-tailed)	0,596	NS	0,021	*	0,551	NS	0,024	*
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	
NHR	Correlation Coefficient	0,014		-0,184		0,023		-0,254	
	Sig. (2-tailed)	0,880	NS	0,030	*	0,866	NS	0,031	*
	N	57,000		72,000		57,000		72,000	
Shim%	Correlation Coefficient	0,069		-0,085		0,102		-0,130	
	Sig. (2-tailed)	0,453	NS	0,290	NS	0,450	NS	0,274	NS
	N	57,000		73,000		57,000		73,000	
MPT	Correlation Coefficient	0,016		0,027		0,017		0,042	
	Sig. (2-tailed)	0,874	NS	0,791	NS	0,909	NS	0,780	NS
	N	50,000		46,000		50,000		46,000	
Mean FR	Correlation Coefficient	-0,039		-0,086		-0,055		-0,118	
	Sig. (2-tailed)	0,694	NS	0,412	NS	0,707	NS	0,447	NS
	N	50,000		44,000		50,000		44,000	
Subglot. pres.	Correlation Coefficient	0,008		0,112		0,004		0,186	
	Sig. (2-tailed)	0,936	NS	0,298	NS	0,978	NS	0,238	NS
	N	48,000		42,000		48,000		42,000	
Right ampl.	Correlation Coefficient	0,071		0,351		0,108		0,482	
	Sig. (2-tailed)	0,512	NS	0,001	***	0,480	NS	0,000	***
	N	45,000		49,000		45,000		49,000	
Right muc. Wave	Correlation Coefficient	0,093		0,297		0,120		0,390	
	Sig. (2-tailed)	0,443	NS	0,006	**	0,442	NS	0,006	**
	N	43,000		48,000		43,000		48,000	

Table VI

## Bibliography

1. Ward PD, Thibeault SL, Gray SD. Hyaluronic acid : its role in voice. *J Voice* 2002; 16 (3):303-309.
2. Butler JE, Hammond TH, Gray SD. Gender related differences of hyaluronic acid distribution in the human vocal fold. *Laryngoscope* 2001; 11: 907-911.
3. Gray SD, Titze IR, Chan RW, Hammond T. Vocal folds proteoglycans and their influence on biomechanics. *Laryngoscope* 1999; 109: 845-854.
4. Chan RW, Gray SD, Titze IR. The importance of hyaluronic acid in vocal folds biomechanics. *Otol Laryngol Head Neck Surg* 2001; 124(6):607-614. 7.
5. Balasz EA, Larsen NE. Hyaluronan : aiming for perfect skin regeneration. In : Garg HG, Longaker MT, eds. *Scarless Wound Healing*. 2000, New York: Marcel Dekker; 2000:143-160.
6. Finck C, Lefebvre P. Implantation of esterified hyaluronic acid in micro-dissected Reinke's space after vocal fold microsurgery: first clinical experiences. *Laryngoscope* 2005; 115: 1841-1847.
7. Thibeault SL, Rousseau B, Welham NV, Hirano S, Bless DM. Hyaluronan levels in acute vocal fold scar. *Laryngoscope* 2004; 114: 760-764.
8. Uloza V. Effects on voice by endolaryngeal microsurgery. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 1995;256 (6): 312-315.
9. Woo P, Casper J, Colton R, Brewer D. Aerodynamic and stroboscopic findings before and after micro-laryngeal phonosurgery. *J Voice* 1994; 2: 186-194.
10. Zeitels SM, Hillman RE, Bunting GW, Vaughn T. Reinke's edema: phonatory mechanisms and management strategies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106:533-543.
11. Chan RW, Titze IR. Viscosities of implantable biomaterials in vocal fold augmentation surgery. *Laryngoscope* 1998;108:725-731.

12. Hertegard S, Hallén L, Laurent C, Lindström E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist A. Cross-linked hyaluronan versus collagen for injection of glottal insufficiency: 2-year follow-up. *Acta Otolaryngol* 2004;124:1208-1214.
13. Hallén L, Testad P, Sederholm E, Dahlqvist Å, Laurent C. DiHa (Dextranomers in Hyaluronan) injections for the treatment of insufficient closure of the vocal folds: early clinical experiences. *Laryngoscope* 2001; 111: 1063-1067.
14. Hertegård S, Hallén L, Laurent C, Lindström E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist Å. Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 2002;112 (12):2211-2219
15. Caton T, Thibeault SL, Klemuk S, Smith ME. Viscoelasticity of hyaluronan and nonhyaluronan based vocal fold injectables: implications for mucosal versus muscle use. *Laryngoscope* 2007; 117:516-521.
16. Hsiung MW, Lin YS, Su WF, Lee JC, Wang HW. Fat augmentation following microsurgical removal of the vocal nodules: long term results. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 2003; 65: 169-175.
17. Longaker MT, Chiu ES, Adzick NS, Stern M, Harrison MR, Stern R. Studies in fetal wound healing. V. A prolonged presence of HA characterizes fetal wound fluid. *Ann Surg* 1991; 213: 292-296.
18. Hung-Lee LLH, Wu JH, Nimni ME. Effects of hyaluronan on collagen fibrillar matrix contraction by fibroblasts. *J Biomed Mater Res.* 1994; 28:123-132.
19. Rydell N. Decreased granulation tissue reaction after installment of hyaluronic acid. *Acta Orthop Scand* 1970; 41: 307-311
20. King SR, Hickerson WL, Proctor KG, Newsome AM. Beneficial actions of exogenous hyaluronic acid on wound healing. *Surgery* 1991;109:76-84.

21. Day AJ, Prestwitt GD. Hyaluronan-binding proteins: tying up the giant. *The Journal of Biochemistry* 2002; 277: 4585-4588 .
22. Savani RC, Bagli DJ, Harrison RE, Turley EA. The role of hyaluronan-receptor interactions in wound repair. In: Garg HG, Longaker MT, eds. *Scarless Wound Healing*. New York: Marcel Dekker; 2000:115-137.
23. Wang F, Garza LA, Kang S, Varani J, Orringer JS, Fisher GJ, Voorhees JJ. In vivo stimulation of De Novo collagen production caused by cross-linked hyaluronic acid dermal filler injections in photo-damaged human skin. *Arch Dermatol.* 2007;143: 155-163.
24. Breuing K, Eriksson E, Liu P, Miller D .Healing of partial thickness porcine wounds in a liquid environment .*J Surg Res* 1991;52:50-58.
25. Arnold F, Jia C, Cherry GW, Carbow B, Meyer-Ingold W, Bader D, West DC. Hyaluronan, heterogeneity, and healing: the effects of ultrapure hyaluronan of defined molecular size on the repair of full-thickness pig skin wounds. *Wound Rep Reg* 1995;3: 299-310.
26. André P .Evaluation of the safety of a non-animal stabilized hyaluronic acid(NASHA-Q-Medical, Sweden) in European countries: a retrospective study from 1997 to 2001.*JEADV* 2004; 18: 422-425.
27. Hertegård S, Hallén L, Laurent C, Lindström E, Olofsson K, Testad P, Dahlqvist Å. Cross-linked hyaluronan used as augmentation substance for treatment of glottal insufficiency: safety aspects and vocal fold function. *Laryngoscope* 2002;112(12):2211-2219.

# Annexe 4

## Protocole d'évaluation vidéostroboscopique

### Stroboscopic examination

Modal register fundamental frequency : \_\_\_\_\_ Hz

Symmetry	symmetrical		
	asymmetrical		
		in amplitude	
		in phase	
perfect symmetry	-----		complete assymetry
Regularity			
perfect regularity	-----		complete irregularity
Glottic closure	complete		
	incomplete		
		longitudinal	
		posterior	
		anterior	
		irregular	
		oval	
		hour-glass	
extreme lack	-----		extreme increase
		normal	
Amplitude	zero		
		normal	
			R extreme increase
			L
Mucosal wave	normal wave		
			R complete lack
			L
Inconsistance	no change		
	over time		
			completely unstable pattern
Vibration of the lesion	normal vibration		
			no vibration

## **Annexe 5**

### **Texte standardisé**

**(Pr B. Harmegnies, 1988)**

**Quand René périt, un chat esseulé grogna fort. A cet instant, Vic sortit contempler le jour naissant. A midi, nerveux, il pensa aux blés mondés de son maître et à tous ceux du pur Roi David. Et puis, les larmes aux yeux, il lut tout Kafka.**

## Annexe 6

### Définitions, unités et facteurs de conversion

#### Fréquence

1 Hertz = 1 cycle par seconde = 360 degrés/sec = 60 rpm (révolution par minute)

#### Force : masse x accélération

Se mesure en newton ou dyne

#### Pression

1 kilopascal (kPa) = 0.01 bar = 10,197 cm H<sub>2</sub>O

1 bar = 100 kPa = 1019,78 cm H<sub>2</sub>O

1 cm H<sub>2</sub>O = 0,098068 kPa

#### Stress : force/unité de surface

#### Stress tangentiel : stress de cisaillement

#### Stress perpendiculaire : compressif ou d'étirement

#### Densité

Se mesure en kg/m<sup>3</sup> ou g/cm<sup>3</sup>

Densité de l'air :  $1,14 \times 10^{-3}$  g/cm<sup>3</sup>

#### Viscosité = rapidité de la déformation d'un fluide soumis à un stress de cisaillement

Se mesure en centipoise ou dyn-s/cm<sup>2</sup>

#### Rigidité : caractérise le rapport entre la contrainte appliquée au matériau et sa déformation

Se mesure en pascal ou en Newton/mm<sup>2</sup>

#### Elasticité : propriété d'un matériau retrouvant sa forme initiale lorsque les forces auxquelles il est soumis cessent d'être appliquées

Se mesure en pascal ou Newton/mm<sup>2</sup>

# Table des matières

<b>Remerciements</b>	<b>2</b>
<b>Introduction et objectifs</b>	<b>4</b>
<b>Chapitre I</b>	<b>1. La structure cordale normale</b>
	a. l'anatomie macroscopique <b>5</b>
	b. la structure cordale normale
	- La structure laminaire :
	description princeps de Hirano <b>8</b>
	- La structure laminaire cordale en 2008 <b>10</b>
	1° Les protéines fibreuses <b>11</b>
	a. le collagène
	b. l'élastine
	2° Les molécules interstitielles <b>17</b>
	a. l'acide hyaluronique
	b. la décorine
	c. la fibromoduline
	d. le versican, l'héparan et le biglycan
	e. la fibronectine
	c. la membrane basale épithéliale <b>29</b>
	<b>2. Structure laminaire et propriétés biomécaniques</b>
	<b>Théorie de la couverture et du corps</b> <b>30</b>
	<b>3. La population cellulaire de la lamina propria</b> <b>32</b>
	<b>Articles de référence</b> <b>33</b>
<b>Chapitre II</b>	<b>La phonation normale</b> <b>37</b>
	a. L'oscillation cordale <b>38</b>
	1° Le modèle à 1 masse <b>40</b>
	2° Le modèle à 2 masses <b>45</b>
	b. Le réglage de la fréquence <b>47</b>
	c. Le réglage de l'intensité <b>51</b>

	d. La production des voyelles	54
	e. Les caractéristiques de la voix	55
	<b>Articles de référence</b>	<b>59</b>
<b>Chapitre III</b>	<b>Les pathologies cordales bénignes</b>	<b>61</b>
	1. Les lésions occupantes de l'espace de Reinke	
	a. Les kystes muqueux	63
	b. Les kystes épidermoïdes	64
	2. Les lésions destructrices de l'espace de Reinke	
	a. les sulci	66
	b. les vergetures	67
	c. Les ponts muqueux	68
	d. Les cicatrices cordales	69
	3. Les lésions occupantes et destructrices de l'espace de Reinke	
	a. les nodules vocaux	73
	b. la fibrose sous-épithéliale	77
	4. Les lésions déformantes de l'espace de Reinke	
	a. les oedèmes de Reinke	78
	b. les nodules souples	81
	c. les pseudokystes	82
	5. Les lésions hémorragiques de l'espace de Reinke	
	Les polypes	83
	<b>Articles de référence</b>	<b>85</b>
<b>Chapitre IV</b>	<b>La microchirurgie des lésions cordales bénignes et la reconstruction de l'espace de Reinke : de l'intérêt de l'utilisation d'un implant d'acide hyaluronique</b>	
	<b>a. Introduction</b>	<b>88</b>
	<b>b. La reconstitution de l'espace de Reinke : notre hypothèse</b>	<b>90</b>
	<b>c. Les techniques de dissection</b>	
	1° les lésions occupantes de l'espace de Reinke	95

2° les lésions destructrices de l'espace de Reinke	<b>97</b>
3° les lésions occupantes et destructrices	
4° les lésions déformantes	
5° les lésions hémorragiques	<b>99</b>
<b>d. L'implantation d'acide hyaluronique estérifié au sein de la plaie microchirurgicale</b>	
1° L'implant d'acide hyaluronique estérifié	
a. Introduction : les acides hyaluroniques modifiés	<b>100</b>
b. L'acide hyaluronique modifié par estérification	<b>101</b>
2° La technique d'implantation	<b>103</b>
3° La décision d'implantation d'acide hyaluronique estérifié	<b>106</b>
<b>Articles de référence</b>	<b>108</b>
<b>Chapitre V L'évaluation fonctionnelle</b>	
1. L'examen laryngé	<b>113</b>
a. l'ondulation muqueuse	<b>116</b>
b. le mouvement latéral vibratoire	<b>117</b>
c. la fermeture glottique	<b>118</b>
d. notre protocole d'évaluation stroboscopique	<b>119</b>
2. L'évaluation perceptuelle de la voix	<b>120</b>
3. L'analyse acoustique	<b>122</b>
1° la fréquence fondamentale F0	
2° les mesures de stabilité fréquentielle	<b>123</b>
3° la mesure de stabilité de l'intensité : le shimmer	<b>125</b>
4° le rapport signal- bruit	<b>126</b>
4. L'évaluation de la fonction phonatoire	
1° le temps maximum de phonation	<b>127</b>
2° l'estimation de la pression sous-glottique	<b>128</b>

	3° le débit myen aérien phonatoire	129
	<b>5. Les altérations observées en cas de pathologie cordale bénigne</b>	<b>130</b>
	<b>Articles de référence</b>	<b>131</b>
<b>Chapitre VI</b>	<b>Les études originales</b>	<b>134</b>
	<b>A. Méthodologie et résultats</b>	<b>136</b>
	<b>B. Discussion</b>	<b>182</b>
	<b>Articles de référence</b>	<b>199</b>
	<b>Conclusion</b>	<b>202</b>
	<b>Annexes</b>	<b>203</b>
	<b>Annexe 1</b>	<b>204</b>
	<b>Annexe 2</b>	<b>211</b>
	<b>Annexe 3</b>	<b>231</b>
	<b>Annexe 4</b>	<b>259</b>
	<b>Annexe 5</b>	<b>260</b>
	<b>Annexe 6</b>	<b>261</b>
	<b>Table des matières</b>	<b>262</b>