



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FONOAUDIOLOGIA**

VANESSA SILVA PINTO

**AQUISIÇÃO DE EMISSÕES OTOACÚSTICAS EM MODELO
ANIMAL**

**CEILÂNDIA-DF
2017**

Aquisição de Emissões Otoacústicas em modelo animal

Vanessa Silva Pinto^{a*}, Juliana Gusmão de Araújo^b, Ana Luiza Sarkis Vieira^c, Lucieny Silva Martins Serra^d

^a *Fonoaudiologia, Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Ceilândia, DF, Brasil*

^b *Otorrinolaringologia, Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina, Brasília, DF, Brasil*

^c *Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Brasília, DF, Brasil*

^d *Fonoaudiologia, Universidade de Brasília, Faculdade de Medicina, Brasília, DF, Brasil*

* Autor para correspondência.

Email: van.est@hotmail.com (V. S. Pinto).

Observação: Este trabalho foi formatado de acordo com as normas para publicação no *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology (BJORL)*, que estão inseridas no anexo.

Resumo

Introdução: Animais são utilizados na experimentação científica há séculos, por constituírem modelos adequados para o desenvolvimento de pesquisas importantes para a humanidade. Na área da audiologia, esses animais são amplamente utilizados por permitirem o conhecimento do sistema auditivo de forma fácil e significativa. **Objetivo:** Comparar as amplitudes de resposta (relação sinal/ruído - S/R) das EOAPD (Emissões Otoacústicas por Produto de Distorção) em modelo animal com uso de dois equipamentos de coleta. **Métodos:** Estudo do tipo experimental, aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), com uma amostra constituída por 28 animais da linhagem Wistar, do gênero feminino, que foram submetidos à anestesia, à otoscopia manual e ao exame de EOAPD nas frequências de 2kHz a 8kHz, realizado nos equipamentos Otoread® e ILO®. Os resultados foram submetidos ao teste estatístico, e consideraram-se valores estatisticamente significantes aqueles em que $p \leq 0,005$. **Resultados:** Na análise realizada entre orelhas para verificar assimetria de respostas, não houve diferença estatisticamente significativa, portanto, as análises foram realizadas levando em consideração o total de 56 orelhas dos 28 animais. Em relação à comparação dos dois equipamentos utilizados, no que se refere aos valores de relação S/R, não houve diferença nas frequências de 2kHz, 6kHz e 8kHz. Na frequência de 4kHz houve diferença estatisticamente significativa, apresentando maiores respostas no equipamento Otoread®. **Conclusões:** Foi possível realizar a coleta das EOAPD nas frequências entre 2kHz a 8kHz nos dois equipamentos. As medidas da relação S/R foram utilizadas no presente estudo, pois permitiu a comparação dessas medidas em dois equipamentos distintos cumprindo com o objetivo principal do trabalho. À medida que as frequências aumentaram as respostas aumentam concomitantemente. E não houve diferença estatisticamente significativa quando comparadas as respostas da relação S/R nos dois equipamentos, exceto na frequência de 4kHz.

Palavras-chave: Modelo animal; Emissões otoacústicas por produto de distorção; Ratos Wistar.

Introdução

Historicamente, as pesquisas com modelos animais têm origem há muitos anos antes de Cristo, em um momento em que autópsias em cadáveres humanos eram proibidas. Cientistas como Alcmaeon, Aristóteles, Hipócrates, Herophilus, Herasistratus, entre outros, da Grécia Antiga, passaram a fazer vissecação e necropsia nos animais com o objetivo de encontrar semelhanças com as doenças que afetavam os humanos. Além disso, os experimentos com animais tiveram um papel importantíssimo no avanço da ciência que estudava as bactérias e afins, em que cientistas como Pasteur e Koch, no século XVIII, puderam identificar diversos micro-organismos causadores de doenças infectocontagiosas, e o mais importante, as vacinas contra essas enfermidades, utilizando diversas espécies de modelos animais como ratos, camundongos, cobaias, coelhos e hamsters^{1, 2, 3}.

Houve um avanço expressivo nos estudos com modelos animais a partir do advento da Teoria de Darwin em “*A origem das espécies*” (1859), que trouxe

a ideia de que espécies distintas possuíam um ancestral comum explicado pelo evolucionismo, e ainda, com o pressuposto de Claude Bernard, que dizia não fazer sentido as pessoas terem o direito de utilizar animais para fins domésticos, e de alimentação, e não poderem utilizar os mesmos nas pesquisas em prol da humanidade^{4, 5}.

Atualmente, os modelos animais são utilizados em diversos ramos de pesquisas, principalmente nas áreas das ciências biológicas e biomédicas. Esse uso ocorre devido à possibilidade de uma análise detalhada das manifestações biológicas e comportamentais, além de permitir a observação de processos patológicos ou naturais, que, em muitos casos, assemelha-se aos seres humanos⁶.

Em todo o mundo, milhões de estudos utilizando animais vêm sendo desenvolvidos a cada ano. Estima-se que cerca de 75 a 100 milhões de animais vertebrados sejam utilizados para fins científicos neste século⁷.

Experimentos com modelos animais permitiram aos pesquisadores descobertas importantes por meio de pesquisas nas ciências básicas e na área médica, dentre as quais se destacam: a descoberta da circulação sanguínea, dos antibióticos, dos mecanismos das enfermidades infecciosas, anestésicos para cirurgias, transplante de órgãos, sistema de suporte vida para neonatos, entre outras⁸.

As vantagens em utilizar modelos animais em pesquisas, principalmente os roedores, estão relacionadas com a facilidade de manejo e domesticação, prolificidade, docilidade, baixo consumo alimentar, fisiologia conhecida, ciclo reprodutivo curto, precocidade, nutrição variada, adaptação ao cativeiro e sociabilidade².

Os estudos na área da audiolologia utilizando modelos animais incluem os procedimentos de avaliação do sistema auditivo, dentre eles estão: a análise histológica⁹, o reflexo de Preyer¹⁰, as EOAPD^{11,12}, as Emissões Otoacústicas Transientes (EOAT)¹³ e o Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE)^{14,15}. Esses estudos vêm sendo desenvolvidos para entender melhor os temas relacionados à exposição ao ruído¹⁶, otoproteção¹⁷, novos modelos animais¹⁸, ototoxicidade^{19, 20}, novos genes da surdez²¹, presbiacusia²², plasticidade do sistema nervoso auditivo central (SNAC)²³, regeneração celular²⁴, zumbido^{25, 26}, equilíbrio²⁷, hiperbilirrubinemia²⁸ e privação de ferro²⁹.

A avaliação auditiva por meio das EOAPD tem grande aplicabilidade nesses experimentos, pois permite a caracterização da morfologia funcional das células ciliadas externas (CCE), são significativas em animais de laboratório, e por isso, se tornam um importante instrumento na avaliação³⁰, além de serem fáceis de mensurar e interpretar os resultados. O conhecimento detalhado da amplitude de resposta (relação S/R) das EOAPD desses modelos animais, bem como protocolos de pesquisa bem definidos e de fácil replicação em diversos equipamentos são de fundamental importância para o desenvolvimento de pesquisas audiológicas nessa área. Desse modo, o objetivo deste estudo foi comparar a amplitude de resposta (relação S/R) das EOAPD em modelo animal com uso de dois equipamentos de coleta.

Métodos

Trata-se de um estudo do tipo experimental, desenvolvido a partir de um projeto multidisciplinar denominado “O papel da melatonina na prevenção da ototoxicidade da cisplatina”. A equipe envolvida nesse estudo é composta por: médicos, médicos veterinários, patologistas e fonoaudiólogos. Os protocolos destes estudos foram conduzidos com a aprovação do Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob protocolo UnbDoC n^o: 7117/2015.

A amostra foi composta por 28 animais da linhagem Wistar, com idade de 2 meses e 15 dias, com média de peso de 190g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Goiás. Foram mantidos no biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília em condições normais de iluminação, com livre acesso à alimentação e água, em ciclos naturais de sono e vigília, mantidos em caixas, divididos em grupos e manuseados segundo as normas preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) encontradas no site www.cobea.org.br.

Os animais foram inicialmente pesados para verificar o peso médio para cálculo da administração da anestesia. Posteriormente, foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina (65 mg/kg [50 mg/ml]) e Xylasina (6,5 mg/kg [20mg/ml]).

Depois de estarem anestesiados e antes da realização do teste de EOAPD, os animais foram submetidos à otoscopia manual, realizada por Otorrinolaringologista para avaliação do conduto auditivo externo e membrana timpânica. Foram excluídos do estudo animais com alterações de orelha externa e média e com EOAPD ausentes.

Para a execução dos exames foram utilizados dois equipamentos:

Equipamento 1: OtoRead[®], da marca Interacoustics, acoplado a impressora do equipamento, no qual foram realizadas análises nas frequências compreendidas entre 2kHz e 8kHz. O estímulo consistiu de 2 tons puros (F1 e F2) cuja relação de frequência F1/F2 foi igual a 1,22. A intensidade dos estímulos foi fixada em 70 dB NPS.

Equipamento 2: Emissões Otoacústicas Evocadas (Modelo ILO292 Echoport system com o software ILO V6, Otodynamics, Herts, United Kingdom) acoplado a um computador, no qual também foram analisadas frequências compreendidas entre 2kHz e 8kHz. O estímulo consistiu de 2 tons puros (F1 e F2) cuja relação de frequência F1/F2 foi igual a 1,22. A intensidade dos estímulos foi fixada em 70 dB NPS. Foi analisado um total de 1000 aquisições.

A sonda utilizada no meato acústico externo foi adaptada em ambos os equipamentos para não causar desconforto ao animal. Foram avaliadas as EOAPD em todos os animais na seguinte ordem: Equipamento 1, EOAPD na orelha esquerda e depois na orelha direita. Em seguida a mesma análise era realizada com o equipamento 2. As EOAPD foram consideradas presentes em ambos os equipamentos quando os valores de relação S/R estivessem iguais ou maiores a 6 dB NPS.

Após os procedimentos citados anteriormente, todos os animais foram separados em grupos para que fosse dado seguimento a outro estudo.

A avaliação estatística dos valores da relação S/R foi realizada utilizando o SPSS[®] Versão 23.0. Para as comparações de valores médios dos exames dentro dos grupos (orelhas e equipamentos), foi utilizado o teste ANOVA. O

valor de $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. E as respostas consideradas para a análise descritiva foram as médias, os valores mínimos, os máximos e o desvio padrão.

Resultados

Na análise realizada entre orelhas para verificar assimetria de respostas, não houve diferença estatisticamente significativa, conforme observa-se na Tabela 1. Como não foram observadas diferenças, as análises foram realizadas levando em consideração o total de 56 orelhas dos 28 animais. A Tabela 1 mostra as médias, os valores mínimos, máximos e o desvio padrão (DP) da relação S/R nas frequências de 2kHz, 4kHz, 6kHz e 8kHz em ambas as orelhas.

Tabela 1: Médias, desvio padrão, mínimo e máximo da relação sinal/ruído das 56 orelhas.

f	ORELHA DIREITA				ORELHA ESQUERDA				P
	Média	Min	Máx	DP	Média	Min	Máx	DP	
2kHz	7,98	-10	70	13,38	5,60	-6	19	5,74	,225
4kHz	22,48	10	32	5,61	23,16	8	35	6,85	,568
6kHz	37,17	22	70	6,97	36,23	15	46	6,13	,448
8kHz	39,01	10	50	6,76	40,41	11	51	6,38	,265

A Tabela 2 mostra as médias, os valores mínimos, máximos, e o desvio padrão (DP) da relação sinal/ruído nas frequências de 2kHz, 4kHz, 6kHz e 8kHz, nos equipamentos utilizados. Em relação à comparação dos valores de relação sinal/ruído, não houve diferença entre os dois equipamentos nas frequências de 2kHz, 6kHz e 8kHz. Na frequência de 4kHz houve diferença estatisticamente significativa na comparação entre os dois equipamentos utilizados.

Tabela 2: Médias, desvio padrão, mínimo e máximo da relação sinal/ruído das 52 orelhas.

Frequências	ILO®				Otoread®				P
	Média	Min	Máx	DP	Média	Min	Máx	DP	
2kHz	5,69	-6	70	12,90	7,89	-10	22	6,78	,262
4kHz	20,67	8	31	5,54	24,96	10	35	6,22	,000*
6kHz	36,37	15	70	7,34	37,03	24	46	5,72	,596
8kHz	38,78	10	48	7,35	40,64	29	51	5,62	,136

Discussão

No presente estudo, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes no que se refere à lateralidade das respostas nos animais estudados. Na literatura, não foram encontrados estudos comparando as EOAPD entre gêneros e com relação à lateralidade em modelos animais. Alguns estudos realizados em seres humanos mostram que as Emissões Otoacústicas (EOA) apresentam maiores valores de resposta nas orelhas direitas e em indivíduos do gênero feminino^{31, 32}.

A medida de referência das EOA utilizada neste estudo foi a relação S/R pois, de acordo com a literatura, são medidas confiáveis e amplamente utilizadas na avaliação clínica dos exames em seres humanos³³.

A escolha do uso de mais de um equipamento neste estudo ocorreu em virtude da necessidade de comparar os valores de um equipamento considerado padrão ouro (ILO[®]), amplamente utilizado em vários estudos de EOA, com os valores de outro equipamento (Otoread[®]), utilizado rotineiramente na clínica para triagem auditiva neonatal (TAN). Nenhum estudo em modelo animal que utilizasse o equipamento Otoread[®] foi encontrado na revisão de literatura, porém, os resultados apresentados neste trabalho permitiram analisar a viabilidade do uso desse equipamento de TAN, com respostas tão fidedignas como as encontradas no ILO[®], que é considerado padrão ouro.

Os protocolos de aquisição de EOAPD utilizados neste estudo foram escolhidos de acordo com outros estudos previamente realizados. Em uma pesquisa desenvolvida com o objetivo de verificar o efeito do extrato de romã na redução da ototoxicidade induzida por cisplatina, os pesquisadores utilizaram 06 ratos Wistar no grupo controle. As avaliações das EOAPD foram realizadas com o equipamento ILO V6 da Otodynamics, e as análises foram realizadas com 1.000 aquisições. Os resultados das EOAPD nas frequências de 4kHz, 6kHz e 8kHz mostraram uma equivalência com as do presente estudo, tanto no ILO V6 quanto no Otoread^{®34}.

Outro estudo realizado com ratos Wistar, cujo objetivo foi o de avaliar a sensibilidade das EOAPD na detecção da ototoxicidade secundária a diferentes doses e formas de administração de cisplatina, o protocolo adotado utilizou 1.000 aquisições, e considerou como resultado a relação S/R de no mínimo 6 dB NPS³⁵, assim como o protocolo do presente trabalho.

A metodologia de aquisição de EOAPD utilizada neste estudo também foi a mesma realizada em uma pesquisa recente, que verificou o efeito terapêutico da timoquinona na perda auditiva induzida por trauma acústico em modelo animal. Os autores utilizaram o equipamento ILO V6 da Otodynamics, e avaliaram as frequências de 1kHz a 6kHz. Os valores médios das EOAPD no grupo controle ficaram entre -5 e 25 dB, e a análise foi realizada utilizando a relação S/R como resposta. Os valores médios das EOAPD do presente estudo com o equipamento similar ficaram entre 5 dB e 39 dB. Já a coleta realizada com o equipamento Otoread[®] apresentou valores médios entre 7 e 40 dB. Ambos os equipamentos utilizados neste estudo obtiveram médias mais altas, porém, destaca-se que as medidas apresentadas neste estudo foram coletadas a partir da frequência de 2kHz, em que as amplitudes das EOAPD começam a aumentar significativamente em comparação as frequências mais baixas³³.

Um outro equipamento (Madsen Capella) foi utilizado em um estudo acerca da otoproteção da curcumina e da vitamina E na ototoxicidade induzida

por cisplatina. Foram avaliadas as EOAPD nas frequências de 2kHz a 6kHz, onde pode-se verificar claramente o aumento do valor da relação S/R nas frequências a partir de 2kHz¹¹. O mesmo equipamento foi utilizado em outra pesquisa sobre o efeito da aplicação de betametasona transtimpânica na orelha interna de ratos, e foi observado comportamento semelhante no que se refere ao aumento de valores de EOAPD a partir de 2kHz, e com valores mais baixos nas frequências de 996Hz e 1000Hz⁹.

Os valores das EOAPD nesta pesquisa mostraram-se maiores nas frequências a partir de 2kHz. Esse achado também esteve presente em outros estudos, nos quais os níveis de ruído são mais intensos nas frequências mais baixas^{11, 34, 36, 37}. O nível de ruído mais intenso nas frequências mais baixas acontece em virtude das proporções do meato auditivo externo dos ratos, que fazem com que a obtenção das EOAPD abaixo da frequência de 2kHz, tenham respostas que se equiparam com as do ruído^{38, 39}.

Em outro estudo realizado com 20 ratos Wistar, cujo objetivo foi o de verificar os efeitos ototóxicos do ácido bórico sobre a função das células ciliadas externas, os autores utilizaram EOAPD nas frequências de 2kHz, 3kHz, 4kHz, 6kHz e 8kHz. O equipamento utilizado nesse estudo também foi o Madsen Capella, e os valores médios obtidos diferiram do presente estudo na frequência de 2kHz, que tiveram média de 12 dB em ambas as orelhas. No presente estudo, as médias encontradas na frequência de 2kHz foram de 5,6 dB no ILO[®], e de 7,8 dB no Otoread[®]. Já no restante das frequências avaliadas, houve correspondência entre os equipamentos em ambos os estudos. Na frequência de 4kHz no estudo de Salihoglu et al. (2017), a média das EOAPD em ambas as orelhas foi em torno de 23 dB em um equipamento de diagnóstico (Madsen Capella), neste estudo, as médias mostram valores estatisticamente significantes. Na frequência de 6kHz a média ficou em 32 dB, enquanto que nesta pesquisa, a média do equipamento ILO[®] foi de 36 dB e no Otoread[®] foi de 37 dB. Por último, na frequência de 8kHz, o estudo de Salihoglu et al (2017), mostrou média de 38 dB e o presente estudo mostrou a mesma média de 38 dB no ILO[®] e 40 dB no Otoread[®]³⁶.

É possível verificar na literatura estudos realizados com diversos equipamentos de Emissões Otoacústicas Evocadas, no entanto, nenhum deles havia sido realizado com equipamento de triagem auditiva (Otoread[®]), ou similar. A maioria dos estudos publicados é feito em equipamentos de diagnóstico e de alto padrão e custo, como por exemplo, o ILO[®] e o Capella[®].

Nesta pesquisa foi possível verificar que, assim como na triagem em recém-nascidos, os exames realizados com os animais no equipamento de triagem (Otoread[®]) tiveram tempo médios de execução menor, quando comparado ao equipamento de diagnóstico (ILO[®]). Não foram achados estudos que fizessem essa comparação entre tempo de realização do exame. O fato do equipamento de triagem auditiva não sofrer tantas interferências de ruídos externos e ambientais, pode ser uma explicação para esse fato.

A realização do exame de EOA nos modelos animais com uso de equipamento de triagem pode ser uma possibilidade viável, quando o objetivo for exclusivamente o acompanhamento do estado da cóclea com um protocolo que não haja necessidade de modificações de parâmetros do exame. Para estudos nos quais seja necessário modificar tipo de estímulo, intensidades, padronizar protocolos diferentes dos oferecidos de fábrica, recomenda-se o uso

de equipamento de diagnóstico (ILO®), uma vez que a maior parte dos equipamentos de triagem não permite esse tipo de ajuste.

Conclusões

É possível a análise das EOAPD nas frequências entre 2kHz a 8kHz nos dois equipamentos em modelo animal.

A relação sinal/ruído é uma medida confiável e permitiu a comparação dessas medidas em dois equipamentos distintos cumprindo com o objetivo principal do trabalho.

À medida que as frequências aumentam as respostas aumentam concomitantemente.

Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparadas as orelhas direita e esquerda da amostra.

Não houve diferença estatisticamente significativa quando comparadas as respostas da relação sinal/ruído nos dois equipamentos, exceto na frequência de 4kHz.

Conflitos de interesse: nenhum.

Referências

1. De Luca RR. Manual para técnicos de bioterismo. 2a ed. São Paulo: Winner Graph; 1996. p. 220.
2. Andrade A. O Bioterismo: evolução e importância. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Available from SciELO Books <http://books.scielo.org>.
3. Gomez RGG, Tomaz CAB. Aspectos éticos da experimentação com animais não humanos. In: Guilhem D, Zicker F, editores. Ética na pesquisa em saúde: avanços e desafios. Brasília: Letras Livres; 2007. p. 195-216.
4. Darwin C. A origem das espécies. São Paulo: Martin Claret; 2004.
5. Goldim JR, Raymundo MM. Pesquisa em saúde e os direitos dos animais. 2ª ed. Porto Alegre: HCPA; 1997.
6. Fagundes DJ, Taha MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. Acta Cir Bras. 2004;19(1):59-65.
7. Baumans V. Use of animals in experimental research: an ethical dilemma? Gene Ther. 2004;11:64-6.
8. Matfield M. The ethics of animal research. Exp Anim. 1996;45(3):209-15.
9. Özel HE, Özdoğan F, Gülşen Gürgen S, Esen E, Selçuk A, Genç S. Effect of transtympanic betamethasone delivery to the inner ear. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2016 Oct;273(10):3053-61. doi: 10.1007/s00405-016-3905-9.
10. Oliveira JAA, Canedo DM, Rossato M. Otoproteção das células ciliadas auditivas contra a ototoxicidade da amicacina. Rev Bras Otorrinolaringol. 2002;68 (1):7-13. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-72992002000100002>.

11. Soyaliç H, Gevrek F, Koç S, Avcu M, Metin M, Aladağ İ. Intraperitoneal curcumin and vitamin E combination for the treatment of cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2016 Oct;89:173-8. doi: 10.1016/j.ijporl.2016.08.012.
12. Wan G, Corfas G. Transient auditory nerve demyelination as a new mechanism for hidden hearing loss. *Nature Communications*. 2017;8:14487. doi:10.1038/ncomms14487.
13. Hong BN, Nam YH, Woo SH, Kang TH. Chlorogenic acid rescues sensorineural auditory function in a diabetic animal model. *Neuroscience Letters* 640 (2017) 64–69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2017.01.030>.
14. Hu H, Ye B, Zhang L, et al. Efr3a Insufficiency Attenuates the Degeneration of Spiral Ganglion Neurons after Hair Cell Loss. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017;10:86. doi:10.3389/fnmol.2017.00086.
15. Nhan C, Bezdjian A, Alarfaj A, Daniel SJ. Can floseal™ be applied safely during otologic surgery? Assessment of ototoxicity in a chinchilla animal model. *Journal of Otolaryngology - Head & Neck Surgery*. 2017;46:24. doi:10.1186/s40463-017-0203-5.
16. Jin SG, Kim MJ, Park SY, Park SN. Stress hormonal changes in the brain and plasma after acute noise exposure in mice. *Auris Nasus Larynx*. 2017 Jun;44(3):272-276. doi: 10.1016/j.anl.2016.07.013.
17. Hyppolito MA, Oliveira JAA. Ototoxicidade, otoproteção e autodefesa das células ciliadas da cóclea. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2005; 38 (3/4): 279-289. DOI: <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v38i3/4p279-289>.
18. Todd DW, Philip RC, Niihori M, Ringle RA, Coyle KR, Zehri SF, et al. A Fully Automated High-Throughput Zebrafish Behavioral Ototoxicity Assay. *Zebrafish*. 2017 May 18. doi: 10.1089/zeb.2016.1412.
19. Caballero M, Mackers P, Reig O, Buxo E, Navarrete P, Blanch JL, et al. The Role of Audiometry prior to High-Dose Cisplatin in Patients with Head and Neck Cancer. *Oncology*. 2017 May 17. doi: 10.1159/000468522.
20. Majumder P, Moore PA, Richardson GP, Gale JE. Protecting Mammalian Hair Cells from Aminoglycoside-Toxicity: Assessing Phenoxybenzamine's Potential. *Front Cell Neurosci*. 2017 Apr 18;11:94. doi: 10.3389/fncel.2017.00094.
21. Li S, Peng Q, Liao S, Li W, Ma Q, Lu X. A reverse dot blot assay for the screening of twenty mutations in four genes associated with NSHL in a Chinese population. *PLoS One*. 2017 May 15;12(5):e0177196. doi: 10.1371/journal.pone.0177196.
22. Chen X, Zhao X, Cai H, Sun H, Hu Y, Huang X, et al. The role of sodium hydrosulfide in attenuating the aging process via PI3K/AKT and CaMKK β /AMPK pathways. *Redox Biol*. 2017 Apr 25;12:987-1003. doi: 10.1016/j.redox.2017.04.031.
23. Liu JF, Dai JS, Wang NY. Advances in effect of nilateral auditory deprivation on sound localization. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2017 Feb 7;52(2):136-142. doi: 10.3760/cma.j.issn.1673-0860.2017.02.018.
24. Warchol ME, Stone J, Barton M, Ku J, Veile R, Daudet N, et al. ADAM10 and γ -Secretase Regulate Sensory Regeneration in the Avian Vestibular Organs. *Dev Biol*. 2017 May 16. pii: S0012-1606(17)30125-2. doi: 10.1016/j.ydbio.2017.05.014.
25. Tagoe T, Deeping D, Hamann M. Saturation of long-term potentiation in the dorsal cochlear nucleus and its pharmacological reversal in an experimental model of tinnitus. *Experimental Neurology* 292 (2017) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.02.011>.

26. Ghazaleh N, Zwaag WV, Clarke S, Ville DV, Maire R, Saenz M. High-Resolution fMRI of Auditory Cortical Map Changes in Unilateral Hearing Loss and Tinnitus. *Brain Topogr.* 2017 Feb 6. doi: 10.1007/s10548-017-0547-1.
27. Makowiec K, McCaslin DL, Jacobson GP, Hatton K, Lee J. Effect of Electrode Montage and Head Position on Air-Conducted Ocular Vestibular Evoked Myogenic Potential. *Am J Audiol.* 2017 May 16;1-9. doi: 10.1044/2017_AJA-16-0108.
28. Gökdoğan Ç, et al. Auditory evoked potentials in a newborn Wistar rat model of hyperbilirubinemia. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology.* Volume 82, Issue 2, March–April 2016, Pages 144-150. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2015.10.008>.
29. Yu F, Hao S, Yang B, Zhao Y, Zhang W, Yang J. Mild Maternal Iron Deficiency Anemia Induces Hearing Impairment Associated with Reduction of Ribbon Synapse Density and Dysregulation of VGLUT3, Myosin VIIa, and Prestin Expression in Young Guinea Pigs. *Neurotox Res.* 2016 May;29(4):594-604. doi: 10.1007/s12640-016-9609-5.
30. Freitas MR, et al. Papel da apoptose na ototoxicidade por cisplatina em ratos. *Braz. j. otorhinolaryngol.* 2009, vol.75, n.5, pp.745-752. <http://dx.doi.org/10.1590/S1808-86942009000500022>.
31. Durante AS, Carvalho RMM, Costa FS, Soares JC. Características das emissões otoacústicas por transientes em programa de triagem auditiva neonatal. *Pró-Fono R. Atual. Cient., Barueri (SP),* v. 17, n. 2, p. 133-140, maio-ago. 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-56872005000200002>.
32. Gkoritsa E, Korres S, Psarommatis I, Tsakanikos M, Apostolopoulos N, Ferekidis E. Maturation of the auditory system: 1. Transient otoacoustic emissions as an index of inner ear maturation. *Int J Audiol.* 2007; 46(6):271-6. DOI:10.1080/14992020701261397.
33. Ogurlu M, Celebi Erdivanli O, Tumkaya L, Ozgur A, Ozergin Coskun Z, Terzi S, et al. The therapeutic effect of thymoquinone on acoustic trauma-induced hearing loss in rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2017 Feb;274(2):743-749. doi: 10.1007/s00405-016-4319-4.
34. Yazici ZM, Meric A, Midi A, Arınc YV, Kahya V, Hafız G. Reduction of cisplatin ototoxicity in rats by oral administration of pomegranate extract. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2012 Jan;269(1):45-52. doi: 10.1007/s00405-011-1582-2.
35. Freitas MR, et al. Avaliação da sensibilidade das emissões otoacústicas produtos de distorção e dos potenciais auditivos evocados de tronco encefálico na ototoxicidade por cisplatina em ratos. *Braz. j. otorhinolaryngol.* 2009, vol.75, n.4, pp.476-484. <http://dx.doi.org/10.1590/S1808-86942009000400002>.
36. Salihoglu M, et al. Ototoxicity of boric acid powder in a rat animal model. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjorl.2017.03.010>.
37. Sjostrand AP, Dogan R, Kocyigit A, Karatas E, Budak BB, Ozturan O. Therapeutic efficacy of Ginkgo biloba for early-period noise-induced hearing loss: An experimental animal study. *Am J Otolaryngol.* 2016 Sep-Oct;37(5):416-24. doi: 10.1016/j.amjoto.2016.05.004.
38. Gorga MP, et al. Identification of neonatal hearing impairment: distortion product otoacoustic emissions during the perinatal period. *Ear Hear.* 2000 Oct;21(5):400-24.
39. Hyppolito MA, Oliveira AA, Lessa RM, Rossato M. Otoproteção da amifostina aos efeitos ototóxicos da cisplatina: estudo em cobaias albinas por emissões otoacústicas produtos de distorção e microscopia eletrônica de varredura. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.* 2005, vol.71, n.3, pp.268-273. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-72992005000300002>.