UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

ILKA DO AMARAL SOARES

MICROFONISMO COCLEAR DE ESTADO ESTÁVEL

Recife - 2015

ILKA DO AMARAL SOARES

MICROFONISMO COCLEAR DE ESTADO ESTÁVEL

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Ciências.

Linha de Pesquisa: Neurociências

Orientador:
Prof. Dr. Otávio Gomes Lins

Recife - 2015

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

S676m Soares, Ilka do Amaral.
Microfonismo coclear de estado estável / Ilka do Amaral Soares. – 2015.
118 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Otávio Gomes Lins.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento. Recife, 2015.
Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Potenciais microfônicos da cóclea. 2. Potenciais evocados auditivos. 3. Perda auditiva. I. Lins, Otávio Gomes (Orientador). II. Título.

612.665 CDD (22.ed.) UFPE (CCS2016-024)

Microfonismo Coclear de Estado Estável

Ilka do Amaral Soares

Aprovada em: 11/12/2015

Orientador: Prof. Dr. Otávio Gomes Lins

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Otávio Gomes Lins – Neuropsiquiatria/UFPE

Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença – Neuropsiquiatria/UFPE

Profª. Drª. Maria Lúcia Gurgel da Costa – Neuropsiquiatria/UFPE

Profª. Drª. Karina Paes Advíncula – Fonoaudiologia/UFPE

Profª. Drª. Mariana de Carvalho Leal – Otorrinolaringologia/UFPE

Visto e permitida à impressão

Coordenador(a) do PPG/POSNEURO/UFPE

Júlia e Marina, minhas filhas que tanto amo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao meu orientador Prof. Dr. Otávio Gomes Lins, por me incentivar, ensinar e principalmente por ser meu amigo.

Ao Dr. Pedro de Lemos Menezes, colaborador, incentivador e cúmplice, sem o qual esse trabalho não poderia ter sido realizado.

Aos meus pais, Wilson e Izélia que me deram a vida, educação e condições de estudo, que me apoiarem em todos os momentos da minha vida e em especial no decorrer do Doutorado. Aos meus irmãos, Izis e Itamar, pela torcida incondicional.

As amigas Elizângela Dias Camboim, Érika da Rocha Mahon e Aline Tenório Lins Carnaúba, integrantes do grupo de pesquisa em Neuroaudiologia, que colaboraram ativamente para a concretização deste trabalho.

A toda a minha turma de doutorado, em especial a Karina Paes Advíncula, que fizeram meus momentos de aulas e seminários muito agradáveis e divertidos.

A minhas amigas do Curso de Fonoaudiologia da UNCISAL, em especial a equipe da Audiologia, Lauralice Raposo Marques, Elizângela Dias Camboim, Luciana Castelo Branco e Nayyara Glícia Calheiros Flores, que muito ajudaram, tornando possível o meu afastamento para cursar o doutorado em Recife.

A todos que participaram como voluntários, sem a sua disponibilidade essa pesquisa não poderia ter sido realizada.

Aos amigos do coração, que me apoiaram e torceram pela realização dessa conquista.

Que poderei retribuir ao Senhor Deus,
por tudo aquilo que ele fez em meu favor?
Salmo 115,12-17

Resumo

Introdução: O diagnóstico precoce da perda auditiva causa um impacto na vida da família, mas por outro lado proporciona a intervenção rápida e uma melhor qualidade de vida, para isso as técnicas de diagnóstico devem ser aperfeiçoadas, trazendo mais precisão e um melhor prognóstico. **Objetivo:** Desenvolver uma técnica de estado estável para o registro do microfonismo coclear. **Métodos:** Foram analisados 26 voluntários, com limiares auditivos tonais até 25 dBNA. O estímulo foi gerado pelo sistema MASTER acoplado ao Audiômetro, com fone de inserção, dentro da cabine acústica. A seguinte derivação foi utilizada: Terra na clavícula direita, Referência G2 lóbulo contralateral e o Ativo G1 no CAE. No primeiro experimento usamos tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, modulados em 95 Hz e apresentados conjuntamente à orelha esquerda a intensidades de 60, 70 e 80 dBNPS. No segundo experimento, tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, modulados a 95 Hz, foram apresentados independentemente a orelha esquerda com uma intensidade de 80 dBNPS. Para o terceiro experimento tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz foram modulados nas frequências de 95 Hz, 130, 160, 190 e 220 Hz e apresentados conjuntamente à orelha esquerda a uma intensidade de 80 dBNPS. Todos os experimentos foram obtidos registros na presença e ausência de mascaramento e ao menos um registro com fone clipado para cada participante. **Resultados:** No primeiro experimento as amplitudes das respostas foram maiores na condição sem mascaramento e crescem com o aumento da intensidade do estímulo ($F(2,10)=11.686$, $p=0.002$). No segundo experimento a amplitude da resposta foi maior ao estímulo combinado ($F(4,4)= 7.284$, $p=0.0002$). O terceiro experimento mostrou amplitudes significativamente maiores para os estímulos modulados em 95, 130 e 160 Hz. **Conclusão:** O registro do microfonismo coclear de estado estável pode ser realizado nas intensidades de 60 a 80 dB NPS. As frequências portadoras ideais para seu registro são 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, combinadas. A frequência moduladora ideal para seu registro é de 95 Hz.

Palavras-chave: Potenciais Microfônicos da Cóclea. Potenciais Evocados Auditivos. Perda Auditiva.

Abstract

Introduction: Although early diagnosis of hearing loss has an impact on individuals and their families, it results in rapid intervention and enhanced quality of life. For this reason, diagnostic techniques should be perfected to provide a more accurate prognosis. **Objective:** Develop a steady-state technique for recording the cochlear microphonic. **Methods:** A total of 26 participants with puretone auditory thresholds up to 25 dBNA were analyzed. The stimulus was generated by the MASTER system coupled to the audiometer, using insert earphones, with subjects inside an audiometric sound booth. Electrodes were positioned as follows: ground on the right clavicle, electrode G2 (reference) on the contralateral lobe and G1 (active) in the external acoustic meatus. In the first experiment we used tones of 500, 1000, 2000 and 4000 Hz, modulated at 95 Hz and presented jointly to the left ear at intensities of 60, 70 and 80 dBNPS. In the second experiment, tones of 500, 1000, 2000 and 4000 Hz, modulated at 95 Hz, were presented separately to the left ear at an intensity of 80 dBNPS. For the third experiment tones of 500, 1000, 2000 and 4000 Hz were modulated at frequencies of 95 Hz, 130, 160, 190 and 220 Hz and presented jointly to the left ear at an intensity of 80 dBNPS. In all experiments recordings were obtained with and without masking and at least one using clip-on earphones for each participant. **Results:** In the first experiment response amplitudes were higher without masking and grew with an increase in stimulus intensity ($F(2,10)=11.686$, $p=0.002$). In the second experiment the response amplitude was greater than the combined stimulus ($F(4,4)= 7.284$, $p=0.0002$). The third experiment exhibited significantly higher amplitudes for stimuli modulated at 95, 130 and 160 Hz. **Conclusion: T**he steady-state microphonic can be recorded at intensities between 60 and 80 dB NPS. The ideal carrier frequencies for recording are 500, 1000, 2000 and 4000 Hz, combined, and the ideal modulated frequency is 95 Hz.

Keywords: Cochlear Microphonic Potentials. Evoked Potentials, Auditory. Hearing Loss.

Lista de abreviaturas

AASI	Aparelhos de amplificação sonora individual
AM	Amplitude modulada
CAE	Conduto auditivo externo
CCE	Células ciliadas externas
CCI	Células ciliadas internas
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
dB	Decibels
dB NA	Decibels de nível de audição
dBNPS	Decibels de nível de pressão sonora
DP	Desvio-padrão
ECoG	Eletrococleograma
ECoG-ET	Eletrococleografia extratimpânica
EEG	Eletroencefalograma
EOA	Emissão Otoacústica
EOAT	Emissão Otoacústica por estimulo transiente
FM	Frequência modulada
FFT	*Fast Fourier Transform*
Hz	*Hertz*
kHz	Quilohertz
MASTER	Multiple Auditory Steady-State Response
ms	Milissegundos
MC	Microfonismo coclear
MCEE	Microfonismo coclear de estado estável
NA/DA	Neuropatia/ dessincronia auditiva

nV	Nanovolts
PAC	Potencial de ação composto
PEATE	Potencial evocado auditivo de tronco encefálico
PS	Potencial de somação
REAEE	Resposta evocada auditiva de estado estável
TAN	Triagem Auditiva Neonatal
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

Lista de figuras

FIGURA 1 – TOM MODULADO EM AMPLITUDE E SUA AÇÃO NA MEMBRANA BASILAR. 27

FIGURA 2 – FUNÇÃO TRANSDUTORA DAS CÉLULAS CILIADAS. 30

FIGURA 3 – MODELO DA TRANSDUÇÃO COCLEAR DE UM TOM MODULADO EM AMPLITUDE 31

FIGURA 4 – GOLD TTE25 TIP TRODE ELECTRODE 13MM, ELETRODOS DESCARTÁVEIS DA MARCA MEDITRACE 200.....36

FIGURA 5 – MONTAGEM UTILIZADA NO REGISTRO.....37

FIGURA 6 – ESTA FIGURA ILUSTRA UM MODELO DO QUE OCORRE DURANTE O EXPERIMENTO 1. 38

FIGURA 7 – RESPOSTAS COM E SEM MASCARAMENTO. 39

FIGURA 8 – EFEITO DA FREQUÊNCIA DA PORTADORA SOBRE A AMPLITUDE DO MCEE.....41

FIGURA 9 – EFEITO DA FREQUÊNCIA DE MODULAÇÃO SOBRE A AMPLITUDE DO MCEE. 42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14

2 HIPÓTESE 17

3 OBJETIVO GERAL 18

3.1 Objetivos específicos 18

4 REVISÃO DE LITERATURA 19

4.1 Microfonismo Coclear e Eletrococleografia 19

4.2 Microfonismo Coclear e Emissões Otoacústicas 21

4.3 Microfonismo Coclear e Potencial Evocado de Tronco Encefálico (PEATE) 21

4.4 Microfonismo Coclear e neuropatia/ dessincronia auditiva 23

4.5 Resposta Evocada Auditiva de Estado Estável 25

4.6 Microfonismo coclear de estado estável 27

5 MATERIAL E MÉTODOS 33

5.1 Amostra 33

5.2 Riscos e benefícios 33

5.3 Delineamento da Pesquisa 34

5.4 Medidas analisadas neste estudo 34

5.5 Método estatístico 34

5.6 Procedimentos 35

5.6.1 Audimetria Tonal 35

5.6.2 Microfonismo coclear de estado estável 35

6 RESULTADOS 39

6.1 Experimento 1 – Investigação da possibilidade de registro do MCEE em várias intensidades 39

6.2 Experimento 2 – Investigação do efeito da frequência portadora 40

6.3 Experimento 3 – Investigação do efeito da frequência de modulação 41

7 DISCUSSÃO 42

8 CONCLUSÃO 48

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS 50

REFERÊNCIAS 51

APÊNDICE 58

Apêndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) 58

APÊNDICE B – PROTOCOLO DE PESQUISA 61
APÊNDICE C – EXEMPLOS DE EXAMES 62
APÊNDICE D – RESULTADOS INDIVIDUAIS DO MCEE 63
APÊNDICE E – ARTIGO DE REVISÃO ENVIADO PARA PUBLICAÇÃO 68
APÊNDICE F – ARTIGO COMPLETO 93

ANEXOS 111

ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEP/UFPE 111
ANEXO B – CAPÍTULO DE LIVRO PUBLICADO NO TRATADO DE AUDIOLOGIA 2015 112

1. INTRODUÇÃO

A audição é um dos principais sentidos que permite a interação do indivíduo com o mundo, portanto a identificação de perdas auditivas deve acontecer o mais precoce possível, visando minimizar alterações no desenvolvimento de fala, de linguagem, psicossocial e emocional.

Atualmente, um dos maiores desafios no diagnóstico auditivo precoce é a identificação da neuropatia/dessincronia auditiva (NA/DA). A NA/DA pode ser encontrada em adultos e crianças. É uma doença caracterizada pelo comprometimento da função auditiva periférica com preservação da integridade das células ciliadas externas (CCE) (Starr et al., 1996).

Anatomicamente a NA/DA gera uma perda da sincronia na condução nervosa, muito provavelmente relacionada com uma alteração da mielinização das fibras. Sua localização precisa não está definida e pode diferir nos diversos casos, mas acredita-se estar nas células ciliadas internas (CCI), nas sinapses entre as CCI e nervo auditivo e no próprio nervo, ou ainda, em várias dessas estruturas (Doyle et al., 1998).

A preservação da emissão otoacústica (EOA) e do microfonismo coclear (MC) na NA/DA é considerada uma evidência de que células ciliadas da cóclea apresentam função normal nesta desordem (Deltenre et al., 1997; Starr et al., 1996). Uma vez que o MC é gerado pela participação conjunta das células ciliadas internas e externas (Dallos & Cheatham, 1976) e sua ausência é compatível com alteração na função das células ciliadas.

O MC é um potencial de corrente alternada que ocorre durante a estimulação sonora e reproduz fielmente as características de forma e frequência da mesma, reflete o movimento da membrana basilar e sua origem está ligada à alteração de corrente intracelular, funcionando como “motor” contrátil das células ciliadas externas. É um fenômeno que não envolve sinapses, ou seja, ocorre dentro da escala média, antes das sinapses das células ciliadas com o nervo auditivo (Ngo et al., 2006). Seu registro aparece antes da onda I no registro do PEATE

e mantem sua latência mesmo quando a intensidade do estímulo é diminuída (Rance et al., 1999).

Desde a sua descoberta o papel do MC na audição tem gerado muitos estudos. Inicialmente achava-se que o mecanismo envolvido em sua geração serviria para estimular as terminações nervosas do nervo coclear, porém diferente dos impulsos neurais, não apresenta período de latência. Atualmente o MC é considerado anterior ao impulso neural (Anastásio et al., 2008).

O MC geralmente é avaliado por meio do Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE), ou por meio da eletrococleografia (EcoG). Seu registro atraiu novo interesse após a identificação da neuropatia/dessincronia auditiva (NA/DA).

A ECoG é uma ferramenta importante de diagnóstico para a confirmação da NA/DA, uma vez que os potenciais pré-sinápticos (MC e potencial de somação) e pós-sinápticos (potencial de ação composto) podem ser analisados separadamente pela proximidade dos eletrodos de registro nos campos geradores. Enquanto que o PEATE fornece informações limitadas sobre as atividades nervosas e células ciliadas auditivas devido a distância dos eletrodos para estes geradores, o que leva a pequenas amplitudes de registro (Stuermer et al., 2015).

A ECoG é considerada o melhor método para a avaliação dos potenciais cocleares e neurais, podendo ser registrado de forma invasiva (com eletrodo timpânico) ou não invasiva, com eletrodo posicionado no conduto auditivo externo (CAE). Essa técnica analisa o receptor coclear de maneira mais precisa e possibilita uma melhor visualização do potencial de ação composto (PAC), que representa a onda I do PEATE (Anastásio et al., 2008).

Porém tanto o PEATE quanto a EcoG dependem da interpretação do examinador, o que pode muitas vezes, dependendo da qualidade do registro dificultar o diagnóstico, por esse

motivo esse estudo se propôs desenvolver uma técnica objetiva de registro e avaliação do MC, por meio da resposta evocada auditiva de estado estável (REAEE).

As respostas evocadas auditivas de estado estável (REAEE) são potenciais evocados repetitivos cujos componentes de frequência se mantêm constantes ao longo do tempo (Regan, 1989). O estímulo utilizado são tons puros modulados em frequência, seu registro pode ser feito com o paciente acordado, em sono natural ou sedado. A captação ocorre por meio de eletrodos não invasivos fixados na região da cabeça.

A facilidade de registro e a objetividade na identificação das respostas, por meio de procedimentos estatísticos padronizados estão tornando a REAEE uma técnica cada vez mais utilizada, por acrescentar informações essências para a escolha de uma conduta terapêutica e reabilitadora eficaz em pacientes com alterações auditivas (Hall, 2006; Duarte et al., 2008; Picciotti et al., 2012; Korczak, et al., 2012).

Contudo, é preciso investigar a influência que os parâmetros envolvidos na realização da técnica REAEE tem no resultado final do exame. Esses parâmetros são: frequência portadora, frequência moduladora, seja ela isolada ou combinada, tipo de estímulo, derivação dos eletrodos, tempo de estimulação ou as técnicas de processamento utilizadas para tratar o sinal de eletroencefalograma (EEG) e detectar a resposta ao estímulo (Jonh et al. 2000; Stürzebecher et al. 2006).

2. HIPÓTESE

É possível registrar e analisar o microfonismo coclear no domínio da frequência, por meio da Resposta Evocada Auditiva de Estado Estável.

3. OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma técnica para o registro de uma versão de estado estável do microfonismo coclear.

3.1. Objetivos específicos

- Registrar o microfonismo coclear no domínio da frequência, a estímulos de diferentes intensidades;
- Definir frequência portadora ideal para o registro do microfonismo coclear de estado estável;
- Definir frequência moduladora ideal para o registro do microfonismo coclear de estado estável;

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Microfonismo Coclear e Eletrococleografia

O sistema auditivo nos permite escutar sons (Geisler, 1998). A cóclea atua como um microfone, transduzindo as variações de pressão do ar produzidas pelos sons em variações do potencial elétrico da membrana das células ciliadas. Estas variações, por sua vez, são transduzidas em disparos de potenciais de ação pelas células ganglionares. Os potenciais de ação são transmitidos pelos seus axônios no nervo auditivo ao sistema auditivo central. O eletrococleograma (ECoG) é o registro da atividade elétrica sincrônica gerada pela cóclea e segmentos iniciais do nervo auditivo durante a conversão dos sons em impulsos nervosos (Abbas & Brown, 2009). Quanto mais próximo à cóclea os eletrodos de registro forem colocados, maior será a amplitude dos potenciais registrados. Potenciais registrados no promontório são cerca de 5 vezes maiores que na membrana timpânica, 10 vezes maiores que os registrados no conduto auditivo externo e 30 vezes maiores que registrados no lóbulo da orelha ou mastoide (Coats, 1986; Bauch & Olsen, 1990; Ruth & Lambert, 1996; Haapaniemi et al., 2000). Como uma aproximação, o componente de maior amplitude do ECoG em resposta a um click de intensidade elevada tem amplitude de cerca de 15 µV se registrado no promontório, 3 µV na membrana timpânica, 1.5 µV no conduto auditivo externo e 0.5 µV no lóbulo da orelha ou mastoide (Picton, 2011).

O ECoG é constituído por 3 componentes (Schoonhoven, 2007): o microfonismo coclear (MC), o potencial de somação (PS) e o potencial de ação composto (PAC). O MC é a soma dos campos elétricos produzidos pelas oscilações do potencial de membrana de todas as células ciliadas ativadas pelos sons. O MC é gerado principalmente pelas células ciliadas das regiões basais da cóclea (Sohmer et al., 1980; Withnell, 2001), por responderem mais sincronicamente ao estímulo e por situarem-se mais próximas ao eletrodo de registro. O MC fornece uma medida direta da função das células ciliadas. A origem do PS não é bem

conhecida e provavelmente inclui a assimetria do MC e a despolarização da região basal das células ciliadas e processos periféricos das células ganglionares. O PAC é a soma dos campos elétricos produzidos pelos potenciais de ação das células ganglionares ativadas pelos sons.

Os três componentes do ECoG podem ser dissecados através de algumas técnicas simples. O MC acompanha a polaridade do estímulo sonoro, enquanto o PS e o PAC têm sempre a mesma polaridade, independentemente da polaridade do estímulo. A amplitude do PAC decresce substancialmente com o aumento da frequência de estimulação (pois as células ganglionares não conseguem disparar consistentemente potenciais de ação em resposta a estímulos de 100 Hz ou mais), enquanto a amplitude do MC e do PS é relativamente inalterada pelo aumento da frequência de estimulação. O registro a frequências altas de estimulação apresenta PAC de amplitude reduzida, permitindo uma melhor visualização do MC e do PS (Chiatrian et al., 1985). Finalmente, o mascaramento com ruído de banda larga elimina o PAC sem afetar o MC e o PS, pois impede o disparo sincrônico de potenciais de ação sem alterar o potencial receptor. Registrando-se em presença de mascaramento suficiente para eliminar a percepção do estímulo obtém-se o MC e o PS sem o PAC.

Porém para garantir a confiabilidade da eletrococleografia extratimpânica (ECoG-ET) na avaliação do MC nos pacientes com NA/DA, é necessário aplicar um protocolo apropriado. Deve-se utilizar o estímulo *tone burst* e as polaridades rarefação e condensação devem ser usadas para confirmação da inversão do registro confirmando assim a presença do MC. Deve-se utilizar fones de inserção nos registros, para a confirmação da resposta biológica, permitida por meio do bloqueio do seu tubo, o que descarta possibilidade de gravação de artefato elétrico nesses registros (Anastasio et al., 2008).

4.2. Microfonismo Coclear e Emissões Otoacústicas

As EOAs são sons de baixa intensidade gerados na cóclea e captadas no meato acústico externo. São gerados a partir da vibração da cóclea normal (células ciliadas externas), de maneira espontânea ou por estimulação sonora, são retransmitidas de forma eferente, passando pela orelha média, e captadas no meato acústico externo. Assim como o MC, as EOA também são geradas nas células ciliadas externas e por esse motivo encontram-se presentes em indivíduos normais (Spinelli et al., 2001).

A presença de respostas das EOA e ausência ou grave alteração do PEATE é um sinal patognomônico da NA/DA, porém, vários estudos mostram que com o passar dos anos e a evolução da NA/DA, a EOA pode desaparecer. Alguns pesquisadores sugerem que essa ausência da EOA pode ocorrer devido a falta de estímulo no auditivo nervo deficiente (Simmons & Beauchaine, 2000). Outros acreditam que o uso de prótese auditiva pode causar um trauma induzido por ruído nas células ciliadas externas (Doyle et al., 1998). A perda secundária de EOA dificulta a identificação da NA/DA e contribui para a subestimação de sua prevalência.

Outra avaliação que pode ser realizada a partir das EOA é o efeito de supressão, que ocorre como resultado da ativação da via eferente medial descendente do feixe olivococlear. Pacientes com NA/DA apresentam EOAT presentes e ausência de supressão (Parra et al., 2003).

4.3. Microfonismo Coclear e Potencial Evocado de Tronco Encefálico (PEATE)

O PEATE avalia a integridade da via auditiva desde o nervo auditivo até o tronco encefálico e ocorre durante os 8 milessegundos (ms) após o estímulo (Picton et al., 1974). Os resultados obtidos são interpretados por meio do tempo despendido entre o estímulo sonoro

oferecido e o aparecimento das cinco deflexões positivas, as ondas I, II, III IV e V e o intervalo entre elas, denominados de Latências Absolutas e Latências Interpicos, respectivamente (Hassan et al., 1997).

É analisado por meio da morfologia, latência e amplitude das ondas, da relação da amplitude das ondas I e V, da relação latência / amplitude, do limiar de resposta eletrofisiológica, dos intervalos interpicos e da comparação binaural (Hall, 1992).

O exame do PEATE é considerado muito eficiente no diagnóstico de disfunções neurológicas e de déficits periféricos, além de apresentar boa sensibilidade e especificidade para diferenciar a afecção do nervo auditivo da afecção coclear (Mallison, 1986; Flabiano et al., 2003).

Mudanças nas características do clique podem influenciar o diagnóstico, trazendo novos dados sobre o funcionamento auditivo, como a inversão da polaridade, que ajuda na visualização do microfonismo coclear; e a alteração da frequência de apresentação do clique, que facilita a análise da sincronia neural (Fávero et al., 2007).

Os pacientes com NA/DA podem apresentar um MC mais longo, que pode ser confundido com uma possível resposta do nervo auditivo no PEATE. Ao inverter a polaridade do estímulo, a resposta também será invertida quando se trata do MC, porém essa mudança não altera a polaridade se for resposta do nervo auditivo. Esse método deve ser sempre usado como forma de sensibilização do exame e detecção de respostas mais confiáveis (Spinelli et al., 2001).

No PEATE para assegurar que as respostas obtidas são realmente neurofisiológicas auditivas e não de artefatos elétricos, é ideal utilizar o procedimento de bloquear o tubo plástico do fone de inserção e assim confirmar a presença do MC (Starr et al., 1996).

O PEATE não obtém uma análise tão detalhada do MC quanto a ECoG, pois na maioria das vezes o estímulo utilizado é o click, entretanto de acordo com a literatura para

melhor análise da amplitude e morfologia do MC, o *tone burst*, é o estímulo mais indicado (Roland et al., 1995).

4.4. Microfonismo Coclear e neuropatia/ dessincronia auditiva

O termo neuropatia auditiva foi utilizado pela primeira vez por Starr et al. 1996, para definir um grupo de pessoas com sintomas auditivos, mas que tinham em comum o funcionamento normal da cóclea apesar de apresentar alteração da função do nervo coclear. Além de características clínicas de dificuldade de compreensão das palavras, principalmente em ambientes ruidosos, apesar de responder a estímulos sonoros em alguns casos.

Entretanto alguns anos depois sugeriram que o termo neuropatia auditiva fosse substituído por dessincronia auditiva, uma vez que o nervo coclear nem sempre está lesado. Mas, os dois termos continuaram sendo utilizados em trabalhos científicos, porém atualmente surgiu uma terceira denominação, a neuropatia/ dessincronia auditiva (NA/DA) (Starr et al., 1996; Ngo et al., 2006).

O diagnóstico é feito por meio de exames audiométricos e eletrofisiológicos, sendo encontrados, em geral, limiares auditivos elevados, discriminação de fala incompatível com os limiares tonais, reflexo acústico quase sempre ausente, emissões otoacústicas (OEA) presentes e potencial evocado de tronco encefálico (PEATE) ausente ou muito alterado, porém com aparecimento do MC robusto, evidenciado no próprio PEATE ou no ECoG, sugerindo função das células ciliadas externas normais, porém com distúrbio da condução neural (Starr et al., 1996; Hood, 1998; Berlin et al., 1999, Hood, 2015). Outro dado encontrado em exames seria a ausência da supressão eferente da EOA por estimulo transiente (EOAT) com apresentação de ruído bilateral, contra lateral ou ipsi lateral (Berlin et al., 1999).

Atualmente algun estudos relacionam a NA/DA com mutações genéticas, bem documentadas com provas de padrões de herança recessiva, dominante, e mitocondriais, e

ocorrência de perda auditiva sindrômica e não sindrômica. Um exemplo é o gene otoferlina, cujas mutações estão associadas com a NA/DA. Otoferlina desempenha um papel na libertação de neurotransmissores no sinapse entre as CCI e do nervo auditivo (Maris et al., 2011; Hood, 2015). A NA/DA também é relatada em lactentes com fatores de risco que incluem hipoxia e hyperbilirubinemia (Rance, 1999).

Apesar de ter sido considerada inicialmente bastante rara, estima-se, que a NA/DA compreenda 5 a 15% de todas as crianças com perda auditiva sensorioneural (Berlin et al., 2010; Maris et al., 2011; Bielecki et al., 2012). A maioria destes indivíduos apresentam NA/Da bilateral (Sharma e Cardon, 2015). Os adultos podem ser identificados com a desordem mais tardiamente, quando os sintomas se tornam aparentes em relação a outros sintomas e porque eles são muitas vezes os usuários AASI (Berlin et al., 2010).

É possível que esses dados estejam subestimados, uma vez que as OEA podem desaparecer ao longo do tempo por falta de estímulo do nervo auditivo ou pelo uso de aparelhos de amplificação sonora individual (AASI) (Rance, 2005). Segundo a literatura um terço das crianças acometidas pela NA/DA perdem a EOA, o que dificulta diagnostico diferencial entre a perda sensorial e a NA/DA (Starr et al. 2003). Portanto o desenvolvimento de novos métodos clínicos poderia refinar o diagnostico diferencial da surdez sensorial, neural ou ambas (Anastasio et al., 2008). Os testes de função coclear, particularmente o MC precisam se tornar parte do protocolo de Triagem Auditiva Neonatal (TAN) em todas as crianças com PEATE ausentes ou alterados, auxiliando o diagnóstico da NA/DA (Rance et al., 1999). Nos casos de ausência da EOA, a presença do MC poderia substituir a evidência do funcionamento normal das células ciliadas no diagnóstico da NA/DA. Ressaltando apenas que a presença da EOA indica função normal das CCE, enquanto que a presença do MC demostra também a participação das células ciliadas internas (CCI) (Rose et al., 2002).

Diante de tantas dificuldades, o diagnóstico, adaptação de AASI e indicação para o implante coclear de crianças com NA/DA levam um tempo mais longo de espera quando comparadas a crianças com perda auditiva sensorioneural (Stroebel e Swanepoel, 2014).

Estudos enfocando os aspectos neurais da perda auditiva têm fornecido muitas evidências de que a privação auditiva pode ter efeitos adversos sobre a maturação do sistema auditivo central, mas esses efeitos podem ser evitados, se o tratamento adequado é fornecido no momento certo. Portanto fatores maturacionais também devem ser levados em consideração em indivíduos com NA/DA, a fim de compreender melhor a patologia e poder oferecer a melhor opção de intervenção para aqueles que sofrem destes distúrbios (Sharma e Cardon, 2015).

4.5. Resposta Evocada Auditiva de Estado Estável

As respostas evocadas auditivas de estado estável (REAEE) são respostas eletrofisiológicas a tons modulados em amplitude, frequência ou fase que podem ser registradas por eletrodos de superfície, tal como os demais potenciais evocados corticais ou de tronco cerebral. As REAEE são ondas contínuas periódicas eliciadas por tons contínuos que podem ser de amplitude ou frequência moduladas (Aoyagi et al., 1994). Estes potenciais podem ser gerados por uma ampla gama de frequências de modulação (Ferraz et al., 2002).

As REAEE podem ser evocadas por tons contínuos modulados em amplitude. Assim, uma vez que os registros são fiéis à frequência de modulação da amplitude, a apresentação simultânea de tons com diferentes modulações torna-se possível. As REAEE amplitude moduladas (AM) ocorrem em geral a partir de taxas de modulação entre 70 e 110 Hz, pois não são afetadas pelo sono natural ou induzido. Outras técnicas de modulação podem ainda ser empregadas, como a técnica de frequência modulada (FM) ou a técnica mista (AM/FM) (Lins, 2002; Ross et al., 2003; Markessis et al., 2006).

As vantagens da aplicabilidade das REAEE são: que podem ser registradas até 10 a 20 dB acima dos limiares fisiológicos usando portadoras de 0,5; 1;2 e 4 kHz; podem ser registradas em lactentes e durante o sono; reproduzem audiogramas comportamentais em pessoas com audição normal ou perda auditiva; são simples de analisar, pois utilizam estimativas claramente definidas do sinal e do ruído, pois ao ocorrerem no domínio da frequência fica mais fácil distinguí-los através de promediação e técnicas estatísticas bem definidas como o teste F e o T2; podem ser avaliadas pelo menos quatro frequências por orelha, diferindo uma oitava entre si, além de poderem ser testadas simultaneamente; os resultados podem ser apresentados em forma de um audiograma convencional e o teste pode ser automatizado (Lins, 2002). Outra vantagem definida envolve: níveis de saída maiores que estendem o campo de avaliação para perdas de graus maiores (Rance et al., 2005).

A fisiologia da REAEE se diferencia na cóclea, onde o som causa polarização e despolarização das células ciliadas internas, mas somente a despolarização produz potenciais de ação nas fibras nervosas auditivas, assim a saída da cóclea contém um padrão retificado do estímulo acústico. Em relação ao potencial microfônico gerado pelas células ciliadas externas, sua captação se torna possível devido a não-linearidade da sua curva de disparo de resposta. Neste caso o som também causa polarização e despolarização nas células ciliadas externas, porém há uma assimetria entre polarização (potencial positivo) e despolarização (potencial negativo), sendo o potencial negativo mais abrupto e com disparo de menor amplitude (Furukawa et al., 1972; Corey & Hudspeth, 1982). Este padrão de retificação faz com que a resposta gerada por um tom contínuo, modulado em amplitude, possa ser detectada como um pico espectral na frequência de modulação (Aoyagi et al., 1994).

Por se tratarem de respostas provenientes do Tronco Encefálico podem permitir o desenvolvimento de uma técnica específica de captação do MC da mesma forma que os PEATE, sendo mais uma alternativa de avaliação do potencial microfônico.

4.6. Microfonismo coclear de estado estável

A captação do MC é usualmente obtido com estímulos transientes (como clicks ou tons de curta duração) e analisado no domínio do tempo (ECoG). Entretanto este estudo aborda a obtenção do ECoG, em especial o MC, com estímulos de estado estável e sua analise no domínio da frequência. Um estímulo auditivo de estado estável frequentemente utilizado é construído modulando-se a amplitude de um tom puro a uma frequência entre 80 e 110 Hz (Lins et al., 1996). Este tipo de tom estimulará uma determinada região da membrana basilar (da figura 1) e a modulação em amplitude fará com que a intensidade da estimulação varie periodicamente, na frequência da modulação. A resposta da cóclea a este tipo de estímulo possuirá energia tanto na frequência espectral do tom quanto na frequência de modulação. O estímulo em si possui energia apenas na frequência espectral do tom e em bandas acima e abaixo desta, porém não possui energia na frequência de modulação. A energia na frequência de modulação aparecerá apenas durante o processo de transdução do estimulo pela cóclea.

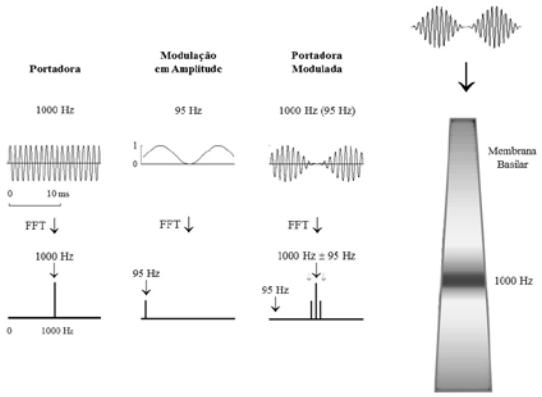


Figura 1 – Tom modulado em amplitude e sua ação na membrana basilar. Para melhor visualização somente breves segmentos (17.5 ms) das ondas são mostrados. As 3 primeiras colunas mostram que o estímulo é gerado multiplicando um tom audível (portadora) por uma onda moduladora cuja amplitude varia de 0 a 1. Na parte superior da figura estão as representações das ondas no domínio do tempo (séries temporais), enquanto na parte inferior da figura estão as representações no domínio da frequência (espectros de amplitude). O estímulo modulado em amplitude não tem energia na frequência de modulação (95 Hz). A energia nesta frequência aparecerá apenas durante a transdução coclear. O quarto direito da figura mostra que o estímulo fará vibrar com maior intensidade uma determinada região da membrana basilar, relacionada à frequência do tom (portadora). A modulação em amplitude fará com que a intensidade desta vibração varie no ritmo da modulação.

A cóclea transforma oscilações de pressão sonora em oscilações do potencial de membrana das células ciliadas. As células ciliadas fixam-se sobre a membrana basilar e seus estereocílios prendem-se na membrana tectória. O movimento da membrana basilar em resposta ao estímulo dobra os estereocílios das células ciliadas, presos na membrana tectória, de um lado para o outro. Quando a membrana basilar move para cima os estereocílios dobram no sentido contrário ao modíolo e ocorre uma despolarização da membrana da célula ciliar. O oposto ocorre quando a membrana basilar move-se para baixo: os estereocílios dobram no sentido do modíolo e ocorre uma hiperpolarização da membrana. Durante a despolarização da membrana ocorre a liberação de um neurotransmissor (provavelmente o Glutamato) pela região pré-sináptica da célula ciliar (Nouvian et al., 2006). Este promove a despolarização do processo periférico das células ganglionares e o disparo de potenciais de ação, que se propagam por seus axônios no nervo auditivo em direção ao núcleo coclear do tronco cerebral.

Existem dois tipos de células ciliadas, que desempenham funções distintas na transdução acústica. As células ciliadas internas são os receptores cocleares propriamente ditos (Vollrath et al., 2007). Cada célula ganglionar conecta-se com uma única célula ciliar interna (cada célula ciliar interna conecta-se com cerca de 20 células ganglionares). Este arranjo um-a-um é consistente com a função receptora, transdutora e codificadora da vibração de regiões específicas da membrana basilar. Porque a onda viajante distribui as frequências dos sons ao longo da membrana basilar, o conteúdo de frequência dos sons é mapeado no padrão de ativação das células ciliadas internas e das fibras aferentes do nervo auditivo, em um sistema de “linha rotulada”.

Além da capacidade de transdução do som em oscilações do seu potencial de membrana, as células ciliadas externas tem a capacidade de mudar ativamente seu comprimento em resposta a mudanças do seu potencial de membrana, como pequenos

músculos (Hudspeth, 2008). Esta capacidade transdutora e contráctil, aliada a conexão mecânica entre as células ciliadas externas e internas, funcionam como um sistema ativo amplificador e sintonizador, que aumenta grandemente a sensibilidade e a seletividade de frequência do receptor coclear, principalmente a estímulos de baixa intensidade (Hudspeth, 2008).

A transdução do som em oscilações do potencial de membrana não é linear. As oscilações do potencial de membrana das células ciliadas não são uma cópia fiel do estímulo auditivo (Russell et al., 1996). A transdução não linear introduz novos componentes de frequência no sinal transduzido. Com estímulos de baixa intensidade a magnitude do potencial de membrana acompanha de modo relativamente linear a intensidade do estímulo. Com o aumento da intensidade do estimulo a magnitude do potencial de membrana aumenta mais lentamente que o aumento da intensidade do estímulo e por fim alcança um máximo. A transdução pelas células ciliadas é, portanto, compressiva. Além disto, esta compressão é *assimétrica*, iniciando antes e sendo mais rápida durante a hiperpolarização que da despolarização da membrana da célula ciliar (Figura 2).

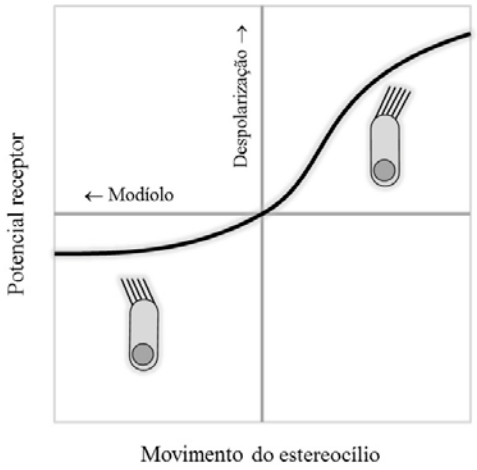


Figura 2 – Função transdutora das células ciliadas. As células ciliadas estão fixadas ao longo da membrana basilar e seus estereocílios estão presos na membrana tectorial. O movimento da membrana basilar junto com as células ciliadas montadas sobre ela provocará o movimento dos estereocílios para um lado e para o outro. A membrana da célula ciliar despolariza ou hiperpolariza dependendo do sentido que seu estereocílio dobra: Quando a membrana basilar move-se para cima os estereocílios são dobrados em direção contrária ao modíolo e a membrana a célula ciliar despolariza. O oposto ocorre quando a membrana basilar move-se para baixo: os estereocílios dobram em direção ao modíolo e a membrana a célula ciliar hiperpolariza. A relação entre o movimento do estereocílio e a mudança do potencial de membrana é não linear e assimétrica. A transdução é compressiva e a compressão é mais aguda durante a hiperpolarização que durante a despolarização da membrana da célula ciliar.

A compressão assimétrica causará o aparecimento, no sinal transduzido, de energia na frequência de modulação, energia esta que não existia no estímulo (Lins & Picton, 1995). O MC, que é o somatório do potencial receptor do conjunto das células ciliadas, possuirá energia tanto na frequência espectral do tom (resposta microfônica de seguimento de frequência) como na frequência de modulação (resposta microfônica de seguimento de envelope). Na sinapse entre a célula ciliar e a célula ganglionar acontece uma retificação completa do sinal, pois o disparo de potenciais de ação pelas células ganglionares ocorre apenas durante a despolarização da célula ciliar. Isto causará o aparecimento de ainda mais energia na frequência de modulação. As respostas neurais possuirão também energia na frequência espectral do tom (resposta neural de seguimento de frequência) e na frequência de

modulação (resposta neural de seguimento de envelope). A figura 3 apresenta um modelo do que ocorre durante a transdução coclear.

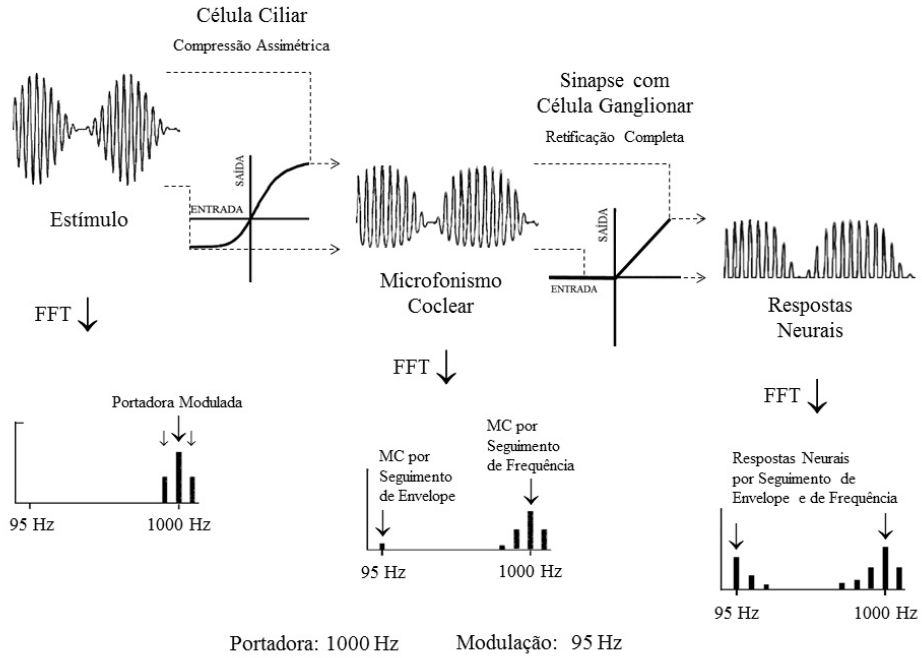


Figura 3 – Modelo da transdução coclear de um tom modulado em amplitude. As colunas ilustram o estímulo, a célula ciliar, o MC, a sinapse entre a célula ciliar e a célula ganglionar e as respostas neurais, que são o produto final da transdução coclear e o sinal de saída da cóclea pelo nervo auditivo. Os sinais são representados no domínio do tempo na parte superior da figura e no domínio da frequência na parte inferior da figura. Na coluna da esquerda é mostrado o tom modulado em amplitude. Este estímulo possui energia na frequência da portadora e em bandas laterais (905 e 1095 Hz: 1000 ± 95 Hz), porém não possui energia na frequência de modulação (95 Hz). O estímulo é transduzido pelas células ciliadas em variações do seu potencial de membrana. A transdução é não linear e compressiva. A compressão é assimétrica, sendo mais aguda durante a hiperpolarização que a despolarização da membrana da célula ciliar. O potencial receptor do conjunto das células ciliadas constitui o MC. Este já possui energia na frequência de modulação (componente de seguimento de envelope), além de nas frequências já presentes no estímulo (componentes de seguimento de frequência). Isto é mostrado no domínio do temo na parte inferior da figura. O MC é transduzido pela sinapse entre a célula ciliar e a célula ganglionar em disparos de potenciais de ação por estas últimas. Isto ocorre apenas durante a despolarização da célula ciliar, causando uma retificação completa do sinal. As respostas neurais possuem ainda mais energia na frequência de modulação (e harmônicas), além de energia na frequência da portadora e bandas laterais.

Legenda: FFT (Fast Fourier Transform): Transformada Rápida de Fourier.

As respostas neurais de seguimento de frequência diminuem de amplitude com o aumento da frequência do tom (Moushegian et al., 1973). Neurônios auditivos isolados conseguem disparar apenas algumas centenas de vezes por segundo, porém uma população de

neurônios, cada um disparando após um determinado número de ciclos, consegue produzir respostas de seguimento de frequência até cerca de 1500 Hz. Acima desta frequência os neurônios não conseguem disparar de modo coerente e as respostas são difíceis de serem distinguidas do ruído. O componente de seguimento de frequência do microfonismo coclear acompanha frequências de praticamente todo espectro audível. As respostas neurais de seguimento do envelope não dependem da capacidade dos neurônios auditivos de seguirem pontualmente a frequência espectral do tom portador, mas de seguirem a frequência do seu envelope. As respostas auditivas neurais de segmento de envelope apresentam um pico de maior amplitude em torno de 40 Hz e outro de menor amplitude em torno de 90 Hz, porém podem ser obtidas até cerca de 500 Hz em voluntários jovens (Purcell et al., 2004).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Amostra

Foram analisados 26 voluntários adultos de ambos os gêneros.

Foram incluídos na pesquisa voluntários com limiares auditivos menores que 25 dBNA para as frequências de 250 à 8000 Hz. Foram excluídos aqueles que apresentavam exposição a ruído ocupacional ou de lazer, queixas otológicas de orelha externa, cirurgias na orelha média e/ou interna, uso de medicação ototóxica, alterações hormonais, presença de zumbido, vertigens, tonturas ou outras alterações cócleo-vestibulares.

O presente estudo teve a aprovação do CEP – UFPE, com parecer número: 728.902 (anexo A). Os participantes compareceram por demanda espontânea e foram explicados do que consistia a pesquisa por meio do TCLE (apêndice A), todas as dúvidas foram esclarecidas antes do inicio dos exames.

A coleta de dados foi realizada no 6º andar do Hospital das clínicas da UFPE, na sala de Audiometria do Ambulatório de Otorrinolaringologia.

5.2. Riscos e benefícios

A pesquisa ofereceu como risco a ocorrência de constrangimento aos participantes ao responder alguma pergunta do questionário. Apesar de não serem descritos riscos à saúde física do participante, durante a pesquisa do limiar audiométrico, realizado dentro da cabine, existiu a possibilidade do voluntário apresentar fobia devido à aversão ao confinamento ou a lugares fechados, para minimizar esse risco: o exame foi realizado com a porta da cabine aberta. Também existiu a possibilidade de desconforto ou ardor no momento da limpeza da região para a colocação dos eletrodos. Para diminuir a possibilidade de desconforto ou ardor na colocação dos eletrodos, foi utilizada uma pasta especial abrasiva.

Como benefício o participante teve sua audição testada e recebeu o resultado do seu exame.

5.3. Delineamento da Pesquisa

Estudo analítico, observacional e transversal, pois a pesquisa foi realizada em um determinado momento e de validação de procedimento de diagnóstico, uma vez que desenvolveu uma técnica para o registro do microfonismo coclear de estado estável.

5.4. Medidas analisadas neste estudo

Variáveis (dependente) analisadas: amplitude das respostas na frequência de modulação.

Variáveis (independentes): intensidade do estimulo, frequência da portadora e a frequência de modulação.

5.5. Método estatístico

Foram aplicadas técnicas de estatística descritiva, média e desvio-padrão, incluindo tabelas e gráficos ilustrativos.

O experimento 1, foi analisado com ajuda do teste de análise de variância (ANOVA) multifatorial de medições repetidas, com 3 intensidades e 2 condições, com e sem mascaramento. Os experimentos 2 e 3, foram testados utilizando-se a análise de variâncias (ANOVA) para um fator, com o teste de Post Hoc Fisher LSD. Os resultados foram considerados como significativos quando os valores de p foram menores que 0,05. O *software* utilizado para a obtenção dos cálculos foi o *Estatística 10*.

5.6. Procedimentos

O teste só foi iniciado após a checagem de todos os protocolos por meio de um *check-list* (apêndice B). Primeiramente foi feita uma otoscopia, para confirmar as boas condições do Conduto Acústico Externo (CAE).

5.6.1. Audimetria Tonal

A audiometria tonal liminar, utilizando o Audiômetro AC33 da marca *Interacoustic*, com tom puro pulsátil, foi realizada em cabine acústica, com o mesmo fone utilizado na avaliação eletrofisiológica e na mesma sessão. Os limiares foram pesquisados por meio da técnica descendente, com intervalos de 10 dB e a confirmação das respostas pela técnica ascendente, com intervalos de 5 dB. As frequências avaliadas foram: 250, 500, 1000, 2000, 4000 e 8000 Hz por via aérea. Foram incluídos no estudo os participantes com limiares auditivos até 25 dBNA na melhor orelha.

5.6.2. Microfonismo coclear de estado estável

Seguida da limpeza da pele com a pasta NUPREP e a colocação dos eletrodos, com a derivação: Eletrodo Terra na clavícula direita, Referência G2 lóbulo contralateral e o Ativo G1 no CAE da orelha analisada. O eletrodo utilizado dentro do CAE foi o *Gold TTE25 Tip Trode Electrode* 13mm, os demais foram eletrodos descartáveis da marca *Meditrace 200*.

O *TIP trode* foi desenvolvido pela *Etymotic Research laboratories* com base na construção dos fones de inserção. No seu interior, o *TIP trode* possui um tubo plástico que conduz o som e conecta-se com o tubo do fone de inserção. Para torná-lo um eletrodo, foi revestido por uma fina camada de ouro que conduz a atividade elétrica, desencadeada pelo potencial evocado auditivo, até o pré-amplificador (Rance et al., 1999), dessa forma além de desencadear o estímulo acústico também capta a atividade elétrica.

Figura 4 – Gold TTE25 Tip Trode Electrode 13mm, eletrodos descartáveis da marca Meditrace 200

A produção do estímulo e o registro e analise das respostas foram realizados utilizando-se um sistema MASTER (Multiple Auditory Steady-State Response) de pesquisa (John & Picton, 2000), acoplado ao Audiômetro AC33 *Interacoustc*. Todos os testes foram realizados com fone de inserção E.A.R. Tone 3, dentro da cabine acústica, climatizada, que seguiu as recomendações da ANSI 3.1 – 1991, o voluntário era acomodado confortavelmente em uma poltrona acolchoada reclinável e era solicitado que relaxasse o máximo, a maioria dos voluntários dormiu durante os testes, facilitando a captação das respostas.

Várias varreduras foram utilizadas para melhorar a relação sinal-ruído. O número máximo de varreduras utilizadas em média foram 36 para obtenção do valor de $p < 0,05$. Quando atingido o nível de significância esperado, o mesmo foi confirmado em pelo menos 2 varreduras subsequentes. A coleta foi interrompida na presença de alta taxa de estímulos rejeitados.

A figura 4 ilustra a colocação dos eletrodos de registro. O eletrodo “ativo” (eletrodo de inserção Gold TTE25 Tip-Trode Electrode) foi colocado no interior do conduto auditivo esterno esquerdo conectado ao fone (EAR Tone 3). O campo elétrico do MC é orientado transversalmente, no sentido da orelha contralateral. Para maximizar a captação do MC o eletrodo de referência foi fixado no lóbulo da orelha contralateral. O eletrodo terra foi colocado na clavícula direita.

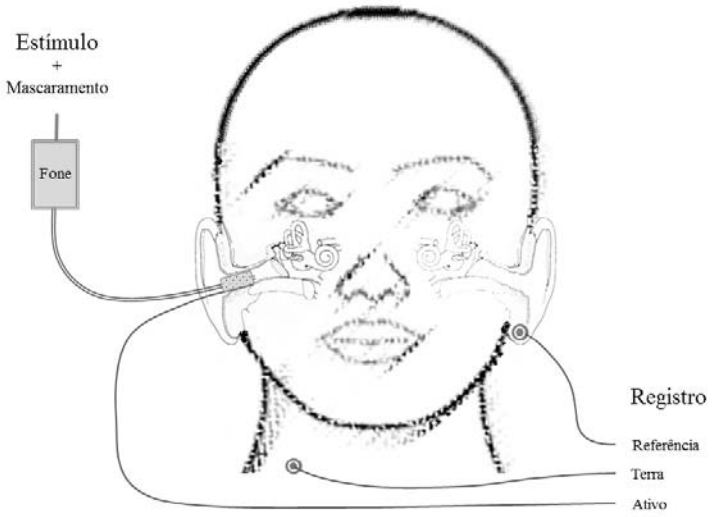


Figura 5 – Montagem utilizada no registro. O eletrodo "ativo" foi inserido no canal auditivo. O eletrodo de referência era colocado no lóbulo da orelha contralateral. O eletrodo terra era colocado na pele sobre a clavícula direita.

Para o primeiro experimento, foram usados tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz foram modulados na mesma frequência (95 Hz) e apresentados conjuntamente à orelha esquerda a intensidades de 60, 70 e 80 dBNPS. Para eliminar as respostas neurais o estímulo foi apresentado na presença de ruído branco com a menor intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo pelo voluntário. Esta intensidade variou entre 10 a 20 dB acima da intensidade que o estímulo foi apresentado. Foram obtidos registros na presença e ausência de mascaramento. Também foram obtidas respostas com o tubo do fone de inserção clipado com uma pinça.

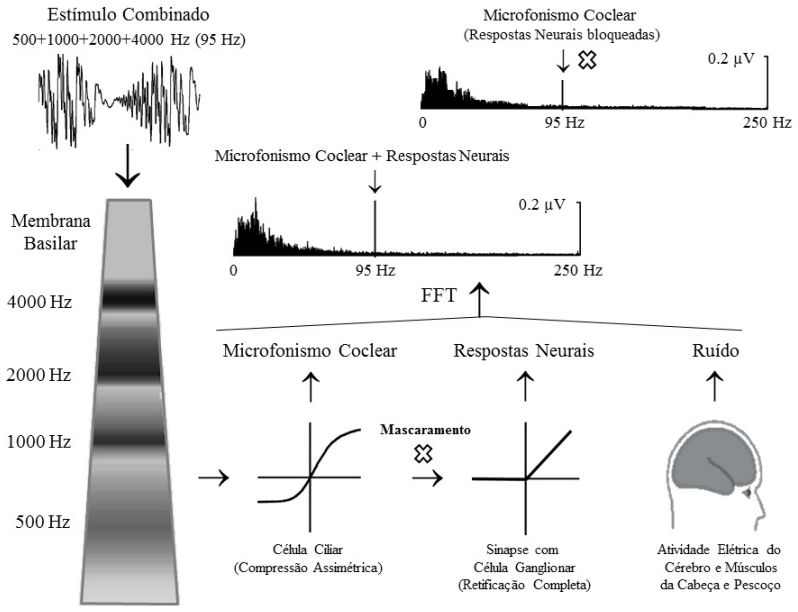


Figura 6 – Esta figura ilustra um modelo do que ocorre durante o experimento 1. O estímulo composto de tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz vibra seus respectivos segmentos ao longo da membrana basilar, estimulando as células ciliadas situadas nestes segmentos. As células ciliadas transduzem as vibrações em variações do seu potencial de membrana gerando o MC. As células ganglionares disparam potenciais de ação durante a despolarização das células ganglionares iniciando as respostas neurais. O MC, as respostas neurais e o ruído produzido pelo cérebro, músculos da cabeça e pescoço e outras fontes constituem o sinal captado pelos eletrodos de registro. No domínio da frequência a resposta aparece como um pico em 95 Hz (frequência que o tom foi modulado), enquanto o ruído distribui-se ao longo de todo o espectro. Na ausência de mascaramento a resposta é composta pelo MC e as respostas neurais. Na presença de mascaramento (⊠) as respostas neurais são suprimidas restando o MC.

A figura 6 representa um modelo teórico do experimento. Os tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz estimulam suas respectivas regiões da membrana basilar e a modulação da amplitude faz com que a intensidade da estimulação varie a 95 Hz.

No segundo experimento, tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, modulados a 95 Hz, foram apresentados independentemente a orelha esquerda com uma intensidade de 80 dBNPS. Estes estímulos também foram apresentados conjuntamente, como no experimento anterior.

Para o terceiro experimento tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz foram modulados nas frequências de 95 Hz, 130, 160, 190 e 220 Hz e apresentados conjuntamente à orelha esquerda a uma intensidade de 80 dBNPS.

6. RESULTADOS

A idade dos indivíduos avaliados variou entre 18 e 59 anos (média: 35,4 anos, desvio-padrão (DP) = 10,43 anos).

6.1. Experimento 1 – Investigação da possibilidade de registro do MCEE em várias intensidades

O primeiro experimento visou estudar especificamente o componente de seguimento de envelope do MC de estado estável.

O grupo foi formado por 6 participantes, foram avaliadas 6 orelhas, sendo preferencialmente a orelha esquerda ou a orelha com os melhores limiares auditivos.

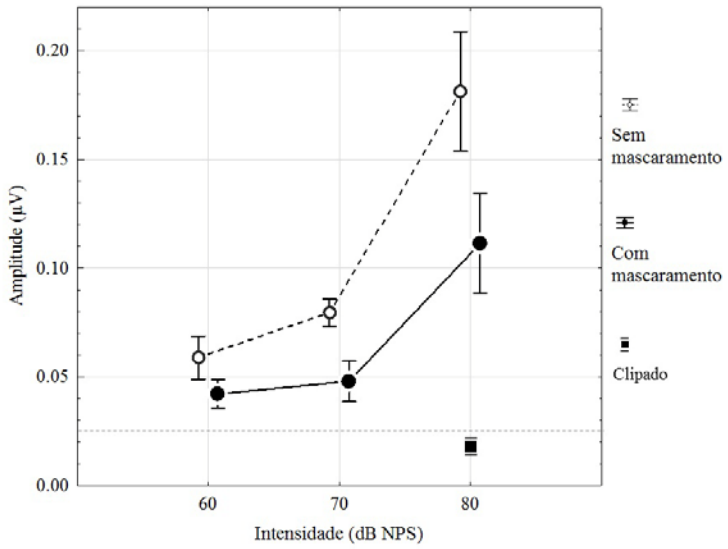


Figura 7 – Respostas com e sem mascaramento. Médias (± erro padrão) das amplitudes das respostas auditivas de estado estável em resposta a tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz modulados em amplitude a 95 Hz, apresentadas à orelha esquerda com intensidades de 60, 70 e 80 dBNPS e registradas utilizando a montagem ilustrada na figura 4. As repostas foram obtidas na ausência (círculos sem preenchimento) e na presença (círculos preenchidos) de ruído branco com intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo pelo voluntário. O quadrado preenchido representa os registros obtidos com o tubo do fone clipado por uma pinça. A linha tracejada horizontal representa a amplitude média do ruído residual no final dos registros, estimado pelas amplitudes dos componentes espectrais de frequência situados em uma faixa 4 Hz abaixo e acima da frequência de modulação. As respostas com mascaramento têm cerca de 60% das amplitudes das respostas sem mascaramento.

A figura 7 mostra um modelo teórico do experimento. Os tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz estimulam suas respectivas regiões da membrana basilar e a modulação da amplitude faz com que a intensidade da estimulação varie a 95 Hz.

As amplitudes das respostas foram maiores na condição sem mascaramento e crescem com o aumento da intensidade do estímulo. Uma analise de variância (ANOVA) multifatorial de medições repetidas mostrou uma interação significativa ($F(2,10)=11.686$, $p=0.002$) entre condição (com e sem mascaramento) e intensidade do estímulo (60, 70 e 80 dBNPS). A análise post-hoc (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores das respostas sem mascaramento nas intensidades de 70 e 80 dBNPS. As amplitudes em 80 dBNPS foram significativamente maiores que as amplitudes em 70 e 60 dB, em ambas as condições. A diferença entre as amplitudes das repostas em 70 e 60 dBNPS alcançou significância apenas na condição sem mascaramento. O p crítico considerado foi de 0.05.

A amplitude da resposta cresceu bem mais rapidamente entre 70 e 80 dB NPS que entre 60 e 70 dB NPS, tanto na condição com como sem mascaramento (6.3 versus 0.6 nV/dB e 10.2 versus 2.1 nV/dB, respectivamente). Uma ANOVA fatorial de medições repetidas apresentou efeitos principais significativos para faixa de intensidade ($F(1,5)=7.668$, $p=0.039$) e presença ou não de mascaramento ($F(1,5)=19.951$, $p=0.007$), sem interação significativa entre as condições ($F(1,5)1.555$, $p=0.268$).

6.2. Experimento 2 – Investigação do efeito da frequência portadora

O segundo experimento verificou os efeitos da frequência da portadora no MC de estado estável. Dez voluntários participaram dos registros. Neste experimento utilizou-se apenas a condição com mascaramento, como demonstra a figura 8. As mesmas condições de registro do experimento anterior foram utilizadas.

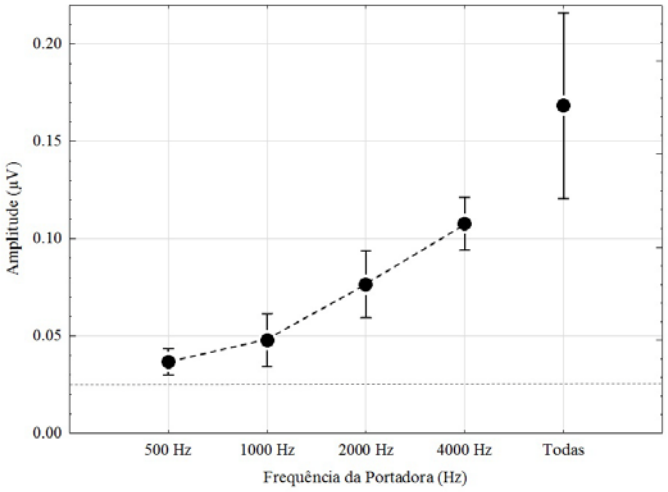


Figura 8 – Efeito da frequência da portadora sobre a amplitude do MCEE. Os tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, todos modulados a 95 Hz, foram apresentados independentemente a orelha esquerda a uma intensidade de 80 dBNPS, na presença de ruído branco de intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo. Os tons foram também apresentados conjuntamente. As amplitudes crescem com a frequência da portadora. A amplitude da resposta ao estímulo combinado é maior que a amplitude da resposta a qualquer frequência isolada.

A amplitude da resposta cresce com a frequência da portadora (500 Hz < 1000 Hz < 2000 Hz < 4000 Hz). A amplitude da resposta ao estímulo combinado é maior que a amplitude da resposta ao estímulo de 4000 Hz, porém é menor que a soma das amplitudes dos estímulos isolados. A analise de variância (ANOVA) simples de medições repetidas foi significativa ($F(4,4)= 7.284$, $p=0.0002$). A análise post-hoc (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores das respostas ao estímulo combinado que aos estímulos isolados. A amplitude da resposta ao estímulo de 4000 Hz é significativamente maior que aos estímulos de 1000 e 500 Hz.

6.3. Experimento 3 – Investigação do efeito da frequência de modulação

O terceiro experimento foi realizado para investigar o efeito da frequência de modulação sobre as respostas. Os voluntários e o protocolo de registro foram os mesmos do experimento anterior. A Figura 9 mostra os resultados.

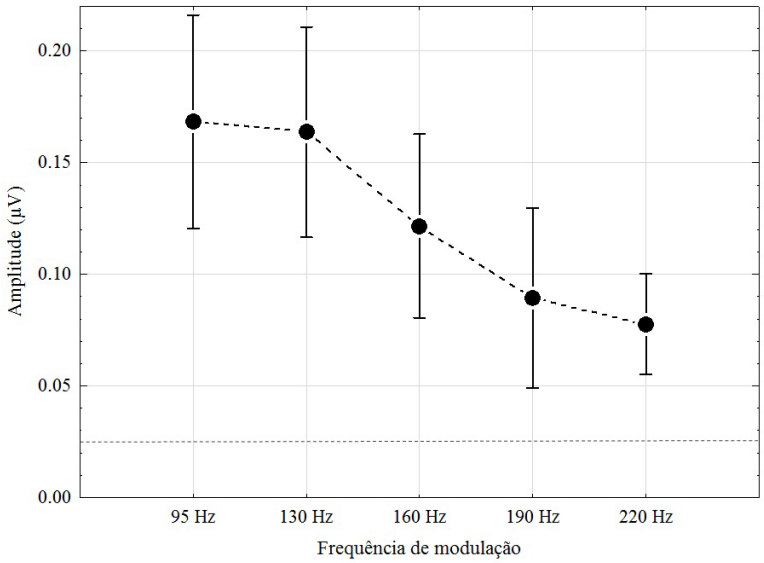


Figura 9 – Efeito da frequência de modulação sobre a amplitude do MCEE. O estímulo combinado foi modulado a 95, 1230, 160, 190 e 220 Hz e apresentado a uma intensidade de 80 dBNPS a orelha esquerda na presença de ruído branco de intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo. As amplitudes diminuem significativamente com frequências de modulação acima de 160 Hz.

Respostas significativas puderam ser obtidas com frequências de modulação até 220 Hz. A amplitude da resposta decresce significativamente com frequências de modulação acima de 160 Hz. A analise de variância (ANOVA) simples de medições repetidas foi significativa ($F(4,4)=3.304$, $p=0.0210$) e a análise post-hoc (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores para os estímulos modulados em 95, 130 e 160 Hz que em 190 e 220 Hz. Nas frequências portadoras de 95, 130, 160 Hz as amplitudes não foram significativamente diferentes.

7. DISCUSSÃO

A escolha da derivação visou uma captação mais adequada do MC, uma vez que os campos elétricos gerados pelo gânglio espiral, nervo auditivo e núcleo coclear são também transversais, apontando para a orelha contralateral. Os campos elétricos gerados pelo lemnisco lateral e córtex auditivo são verticais, apontando para o vértex. A derivação transversal utilizada minimiza a captação de campos verticais, usualmente de amplitudes bem maiores que os campos transversais (Herdman et al., 2002).

A derivação utilizada para o registro e a estimulação a ritmos rápidos reduziram a contribuição dos componentes neurais a resposta captada: a derivação transversal minimizou a contribuição das fibras ascendentes do lemnisco medial (com campo elétrico de orientação ortogonal ao MC) e a frequência rápida de estimulação (95 Hz) diminuiu a contribuição do gânglio espiral, nervo auditivo e núcleo coclear (com campos elétricos de orientação semelhante ao MC).

O eletrodo ativo no CAE garantiu uma resposta mais robusta, pois o eletrodo se encontra próximo ao centro gerador “a cóclea”. O MC obtido a partir de gravações no promontório é reconhecido como um forte potencial (Eggermont, 1976), originário principalmente a partir da ativação das CC localizadas na região mais basal da cóclea, com a CCE que contribuem essencialmente para a produção de uma resposta (Dallos, 1983). A avaliação de outros potenciais evocados como o PEATE e EcoG com o eletrodo ativo inserido no CAE também apresenta o registro da resposta do MC maior (Starr et al., 1996; Riazi e Ferraro, 2008; Anastasio, 2008; Masood et al., 2012; Stuermer et al., 2015).

As respostas neurais foram reduzidas pela estimulação em ritmos rápidos – 95 Hz (Chatrian et al., 1982) e suprimidas pela apresentação do estímulo em presença de ruído branco com intensidade suficiente para impedir a percepção do estímulo pelo voluntário (Starr et al., 1996).

As células ciliadas das regiões estimuladas transduzem o estímulo sonoro em oscilações do seu potencial de membrana. A transdução assimétrica compressiva liberará energia na frequência de modulação (componente de seguimento de envelope do MC). Na sinapse com as células ganglionares haverá uma retificação completa do sinal transduzido e liberação de mais energia na frequência de modulação (componente de seguimento de envelope das respostas neurais). A resposta captada pelos eletrodos é uma soma do MC, das repostas neurais e do ruído produzido pelo cérebro, músculos da cabeça e outras fontes (Berlin et al., 1998). Com a apresentação do estímulo na presença do mascaramento as respostas neurais são extintas e apenas o MC será captado.

Experimentos usando o mascaramento ipsi lateral demonstraram que as respostas são realmente originarias do MC (Starr et al., 1996; Herdman et al., 2002). A redução da resposta causada pelo mascaramento resulta na mudança de latência neural, mas não nas respostas sensoriais (Berlin et al., 1998).

Para afastar qualquer possibilidade da interferência de artefatos elétricos e garantir a discriminação entre respostas genuínas neurofisiológicas auditivas foi utilizada a técnica de bloquear o tubo do fone “clipar” (saída do estímulo acústico), dessa forma a resposta desapareceu em todos os casos, confirmando que os dados obtidos eram realmente do MC. Porém ao clipar o tubo de inserção é preciso ter cuidado para não mover o transdutor ou os eletrodos, pois isso mudaria qualquer artefato de estímulo, introduzir elementos de incerteza na interpretação da presença do MC (Lightfoot et al., 2011).

Outros estudos realizaram a técnica de clipagem ao avaliar o MC por meio do PEATE a fim de impedir o estímulo acústico de atingir o canal do ouvido, com todos os outros estímulos e condições de gravação inalteradas (Deltenre et al., 1997; Rance, 2005; Masood et al., 2012).

O primeiro experimento demonstrou que o componente de seguimento de envelope do MC obtido com um estímulo de estado estável constituído por tons audíveis modulados em amplitude pode ser registrado e analisado no domínio da frequência. A amplitude da resposta com mascaramento é cerda de 60% da amplitude da resposta sem mascaramento. Isto sugere que boa parte da resposta obtida sem mascaramento é potencial microfônico.

Com intensidades baixas e moderadas apenas células ciliadas próximas da região da membrana basilar estimulada pela frequência da portadora são ativadas, pois a cóclea atua como um filtro passa-banda. Quando a intensidade ultrapassa 70 dB NPS a cóclea passa a atuar como um filtro passa-baixa e células ciliadas situadas bem acima da frequência da portadora são estimuladas. A soma das variações de potenciais de membrana das células ciliadas ocorreria mais efetivamente nas regiões basais de alta frequência da membrana basilar, pela maior sincronia entre os potenciais (Lins, 2002).

Para a REAEE a amplitude cresce 1.9 nV/dB entre 20 e 70 dB NPS, de modo razoavelmente linear. Após 70 dB NPS a amplitude cresce quatro vezes mais rapidamente: 7.8 nV/dB. Esta diferença é maior para os estímulos com portadoras de frequência mais baixa: 500 Hz > 1000 Hz > 2000 Hz. Provavelmente porque o crescimento mais rápido da amplitude das respostas após 70 dB NPS seja causado por estímulos de fibras do nervo auditivo com frequências características acima da frequência da portadora (Lins, 2002).

As frequências portadoras apresentam amplitudes maiores nas frequências médias (1000 e 2000 Hz), decrescendo significativamente nas baixas (500 Hz) e altas frequências (4000 Hz). Atribuindo esse comportamento à diminuição do tempo de ativação da membrana basilar, em cada ciclo de estimulação por frequências altas. No caso das frequências portadoras baixas, embora o tempo de ativação seja maior, os neurônios respondem a fases diferentes de modo que a superposição das respostas seja atenuada (Picton et al., 2003).

Ao estimular o ouvido uma “onda viajante” forma-se na membrana basilar da cóclea. Esta onda viajante terá maior amplitude determinada região ao longo da membrana basilar, relacionada diretamente a frequência da portadora. Ao diminuir a frequência do estímulo diminui também o pico da amplitude da onda viajante, que atravessa da base para o ápice da cóclea. Tons de alta frequência estimulam principalmente as regiões basais enquanto tons de frequência mais baixos estimulam regiões mais apicais, estimulando assim populações diferentes de células ciliadas internas (Lins 2002).

A maior amplitude do componente de seguimento do envelope do MC para portadoras de frequências mais elevadas pode relacionar-se a que as células ciliadas do segmento basal da membrana basilar (ativadas pelas frequências altas) serem estimuladas mais sincronicamente do que as células ciliadas do segmento apical (ativadas pelas frequências baixas). Além disto, elas situam-se mais próximas ao eletrodo de registo. Com intensidades elevadas de estimulação tons de baixa frequência estimularão também regiões de alta frequência da cóclea, porém o possível ganho de amplitude pela maior área estimulada da membrana basilar será anulado pelo cancelamento causado pela diferença de fase entre diferentes regiões da membrana basilar.

As frequências portadoras apresentam amplitudes maiores nas frequências médias (1000 e 2000 Hz), decrescendo significativamente nas baixas (500 Hz) e altas frequências (4000 Hz). Esse comportamento é atribuído à diminuição do tempo de ativação da membrana basilar, em cada ciclo de estimulação por frequências altas. Portanto frequências portadoras baixas, embora o tempo de ativação seja maior, os neurônios respondem a fases diferentes de modo que a superposição das respostas é atenuada (Picton et al., 2003).

Apesar da amplitude da resposta ao estímulo combinado ser maior que as respostas aos estímulos isolados, esta amplitude é menor que a soma algébrica das amplitudes das respostas aos estímulos isolados, pois a soma das amplitudes das ondas viajantes da

membrana basilar é vetorial e não modular. Dependendo da relação entre as fases das ondas nas diferentes regiões da membrana basilar pode haver soma (em caso de fases iguais), subtração (em caso de fases opostas) ou valores intermediários entre a soma e a subtração (em caso de diferenças intermediárias entre as fases).

A frequência portadora pode ser avaliada de forma isolada ou combinada (vários estímulos apresentados a uma orelha ou ambas). O estímulo combinado demonstra o potencial para reunir mais informações em um curto período de tempo, acelerando assim o tempo de teste (Ferraz et al., 2002). A apresentação combinada não causa uma diminuição da amplitude, em uma ou ambas as orelhas, desde que as frequências portadoras estejam separadas por pelo menos uma oitava (John et al., 1998; Herdmann et al., 2003).

As amplitudes das respostas auditivas neurais de seguimento de envelope possuem um pico de maior amplitude em torno de 40 Hz e outro de menor amplitude iniciando em torno de 80 Hz e prolongando-se até cerca de 200 Hz, porém podem ser obtidas até cerca de 500 Hz em indivíduos jovens (Purcell et al., 2004).

Em torno de 25 e 70 Hz as amplitudes são muito baixas e difíceis de serem distinguidas do ruído. Estes efeitos da frequência da modulação sobre a amplitude da resposta são relacionados a características dos geradores neurais do tronco cerebral e córtex auditivo, provavelmente uma combinação de superposição de respostas transientes ao início de cada ciclo de modulação e da atividade de populações neuronais respondendo especificamente ao envelope do estímulo.

O MC é uma resposta não neural, mediada por oscilações do potencial de membrana das células ciliadas. A latência do MC é muito pequena (ordem de microssegundos) em comparação as latências das respostas neurais (ordem de milissegundos). O MC não é resultante de uma simples transdução passiva. As células ciliadas externas, principais geradoras do MC, possuem capacidade contráctil e fazem parte de um complexo sistema ativo

de *feedback* eletromecânico envolvendo a membrana tectória, a membrana basilar e as células ciliadas internas.

Novos experimentos especificamente desenhados para estudar o efeito da frequência de modulação sobre o MC de estado estável podem lançar luzes sobre este interessante problema. As respostas microfônicas puderam ser obtidas com facilidade com modulações até 220 Hz, embora as amplitudes tenham caído significativamente após 160 Hz. É possível que a frequência relativamente baixa da conversão analógica-digital (1000 Hz) e o filtro passa-baixa de 300 Hz tenham diminuído artificialmente a amplitude das respostas acima de 180 Hz.

A amplitude da resposta diminuiu com o aumento da frequência moduladora, provavelmente porque a resposta do MC é gerada na base da cóclea, região responsável pelas altas frequências, onde a sincronia é maior. Os estudos em animais mostraram que o MC gravado a partir da janela redonda é originado por geradores localizados na base da cóclea (Withnell, 2001).

A versão retificada do tom modulado em amplitude tem um componente espectral na frequência na qual o tom foi modulado (ausente no estímulo original). Este componente representa a transdução do estímulo pela cóclea e por isso pode ser utilizado para avaliar a sensibilidade da cóclea a este estimulo (Lins, 2002).

8. CONCLUSÃO

A técnica para o registro de uma versão de estado estável do microfonismo coclear apresenta características promissoras para o estudo do microfonismo coclear e diagnóstico diferencial da neuropatia auditiva.

1. Seu registro pode ser realizado nas intensidades de 60 a 80 dB NPS.
2. A frequência portadora ideal para seu registro é 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, combinadas.
3. A frequência moduladora ideal para seu registro é de 95 Hz.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o MC pode melhorar a sensibilidade e especificidade de identificação desordens auditivas, tem havido um número limitado de estudos que investigam o MC nos seres humanos. A escassez de pesquisas com registros de MC pode ser devida em parte à variabilidade que ocorre com as amplitudes em orelhas normais e anormais, bem como a dificuldade técnica de separar o MC do artefato de estímulo (Ferraro e Durrant, 2002).

A fisiologia das CCI e dos seus neurônios aferentes correspondentes é analisada a partir da gravação do potencial de ação composto (CAP) do nervo auditivo. Enquanto que a fisiologia os CCE deve ser avaliada por meio do registro do MC (Poch-Broto et al., 2009). Portanto a possibilidade de estudos diretos do MC pode mostrar como a atividade fisiológica das CCE é essencial no processo auditivo.

O MCEE por se tratar, contudo, de um procedimento recente, espera-se que esse estudo possa não somente mostrar seu valor no diagnóstico de alterações cocleares, como também contribuir num futuro próximo para o diagnóstico rápido e preciso da NA/DA, ao implantar esta nova técnica aos protocolos de diagnóstico auditivo neonatal, umas vez que pode ser registrado durante o sono.

REFERÊNCIAS

Anastasio RTA, Alvarenga KF, Costa Filho AO. Eletrococleografia extratimpânica na neuropatia/dessincronia auditiva. Rev Bras Otorrinolaringol 2008;74(1):132-6.

Aoyagi M, Kiren T, Furuse H, Fuse T, Suzuki Y, Yokota M, Koike Y. Pure-Tone threshold prediction by 80Hz amplitude-modulation following response. Revista Acta Otolaryngology (Stockh) Supplement. 1994;504:7-14.

Berlin CI, Bordelon J, St. John P, Wilensky D, Hurley A, Kluka E, Hood LJ Reversing click polarity may uncover auditory neuropathy in infants. Ear and Hearing 1998;19:37–47.

Berlin CI, Hood LJ, Morlet T, Wilensky D, Li L, Mattingly KR, Taylor-Jeanfreau J, Keats BJ, John PS, Montgomery E, Shallop JK, Russell BA, Frisch SA. Multi-site diagnosis and management of 260 patients with auditory neuropathy/dys-synchrony (auditory neuropathy spectrum disorder). Int. J. Audiol. 2010;49(1):30-43.

Bielecki I, Horbulewicz A, Wolan T. Prevalence and risk factors for auditory neuropathy spectrum disorder in a screened newborn population at risk for hearing loss. Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. 2012;76(11):1668-70.

Corey DP, Hudspeth AJ. Analysis of the microphonic potential of the bullfrogs sacculus. Revista The Journal of Neuroscience. 1982;3(5):942-961.

Dallos P. Cheatham MA. Production of cochlear potentials by inner and out hair cells. Journal of the Acoustical Society of America. 1976;60, 510–2.

Dallos P. Some electrical circuit properties of the organ of Corti. I. Analysis without reactive elements. Hear Res. 1983;12:89-120.

Deltenre P, Mansbach AL, Bozet C, Clercx A, Hecox KE. Auditory neuropathy: a report on three cases with early onsets and major neonatal illnesses. ElectroencephalogrClinNeurophysiol. 1997;104(1):17-22.

Deltenre P, Mansbach AL, Bozet C, Barthelemy P, Paulissen D, Renglet T. Auditory neuropathy with preserved cochlear microphonics and secondary loss of otoacoustic emissions. Audiology 1999;38:187-95.

Doyle KJ, Sininger Y, Starr A. Auditory Neuropaty in Childhood. Laryngoscope. 1998;108:1374-7.

Duarte Jl, Alvarenga Kf, Garcia Tm, Costa Filho Oa, Lins Og. A resposta auditiva de estado estável na avaliação auditiva: aplicação clínica. Pro Fono. 2008;20(2):105-10.

Eggermont JJ. Electrocochleography. In: Keidel WD, NeffWD, editors. Handbook of sensory physiology. Berlin: Auditorysystem, Springer Verlag. 1976;625-705.

Fávero ML, Silva FLC, Tabith Júnior A, Nicastro FS, Gudmond MC, Spinelli M. Mudanças no parâmetro do clique durante a captação do BERA. Rev. Brasileira de Otorrinolaringologia. 2007;73(1):7-11.

Ferraro JA, Durrant JD. Electrocochleography. In: Katz J. ed. Handbook of Clinical Audiology. 5th edition. Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins. 2002;249–273.

Ferraz OB, Freitas SV, Marchiori LLM. Análise das respostas obtidas por potenciais evocados auditivos de estado estável em indivíduos normais. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. 2002;68(4):480-486.

Flabiano FC, Leite RA, Matas CG. Audiometria de Tronco Encefálico em adustos audiologicamente normais: comparação das latências absolutas das ondas I, III, V, interpicos I-III, III-V, I-V, amplitudes das ondas I, III, V e relação da amplitude V/I, obtidas em dois equipamentos diferentes. Acta ORL. 2003;(2)21.

Furukawa T, Ishii Y, Matsuura S. An analysis of microphonic potencials of the sacculus of goldfish. Revista Japan Journal of Physiology. 1972;22:603-16.

Gorga MP, Reiland JK, Beauchaine KA. Auditory brainstem response in a case of high-freqüency conductive hearing loss. J Speech Hear Disord 1985;50:346-50.

Hall JW, New Handbook for Auditory Evoked Responses. Boston: Pearson Education. 1992. p.724-34.

Hall JW. Introduction to Auditory Evoked Responses Measurement. In: Hall JW III. New Handbook of Auditory Evoked Responses. Boston: Allyn and Bacon; 2006;58-108.

Hassan S, Dimitrov R, Munhoz MSL, Caovilla HH. Da influência do gênero, da intensidade do estímulo e do perímetro cefálico nas latências da Audiometria de Tronco Encefálico. Acta Awho. 1997;16(4):150-60.

Herdman AT, Picton TW, Stapells DR. Place specificity of multiple auditory steady-state responses. J Acoust Soc Am. 2002;112(4):1569-82.

Hood LJ. Auditory neuropathy: what is it and what can we do about it? Hear J 1998;51(8):10-8.

Hood LJ. A review of objective methods of evaluating auditory neural pathways. Laryngoscope. 1999;109(11):1745-8.

Hood LJ. Auditory Neuropathy/Dys-Synchrony Disorder Diagnosis and Management. Otolaryngol Clin N Am. 2015.

John MS, Picton TW. Human auditory steady-state responses to amplitude-modulated tones: phase and latency measurements. Hearing Research. 2000;141:57-79.
Korczak P, Smart J, Delgado R, Strobel Tm, Bradford C. Auditory Steady-State Responses. J Am Acad Audiol. 2012;23:146-70.

Lightfoot G, Stevens J, Sutton G, Brockbank C, Mason S. Guidelines for Cochlear Microphonic Testing. Newborn hearing screening and assessment. 2011.

Lins OG, Picton T. Auditory steady-state responses to multiple simultaneous stimuli. Electroencephalography and clinical Neurophysiology. 1996 (1995) 420-32.

Lins OG. Audiometria Fisiológica Tonal Utilizando Respostas de Estado Estável auditivas do tronco cerebral. 116 f. Tese de doutorado em medicina (Escola Paulista de Medicina). 2002.

Mallinson BR. Brainstem auditory evoked potentials in the assessment of hearing. S Afr Med J. 1986,69: 813-16.

Markessis E, Poncelet L, Colin C, Coppens A, Hoonhorst I, Deggouj N, Deltenre P. Auditory steady-state evoked potentials (ASSEPs): a study of optimal stimulation parameters for frequency-specific threshold measurement in dogs. Clinical Neurophysiology. 2006;117:1760-71.

Masood A, Teal PD, Hollitt C. A non-invasive Cochlear Microphonic measurement system. Medical Engineering & Physics. 2012;34:1191-95.

Maris M, Venstermans C, Boudewyns AN. Auditory neuropathy/dyssynchrony as a cause of failed neonatal hearing screening. Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. 2011;75 (7):973-5.

Ngo RYS, Tan HKK, Balakrishnan A, et al. Auditory neuropathy/auditory dys-synchrony detected by universal newborn hearing screening. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2006;70:1299-306.

Parra, Viviane M., Matas, Carla G. and Neves, Ivone F. Estudo de caso: neuropatia auditiva. Rev. Bras. Otorrinolaringol. 2003;69(2):283-88.

Picciotti PM, Giannantonio S, Paludetti G, Conti G. Steady state auditory evoked potentials in normal hearing subjects: evaluation of threshold and testing time. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2012;74(6):310-4.

Picton TW, Hillyard SA, Kraus HI, Galambos R. Human Arditory Evoked Potentials. I Evaluation of Components. Electroencephalorgraphy and Clinical Neurophisiology. 1974;36:179-90.

Picton TW, John MS, Dimitrijevic A, Purcell DW. Human auditory steady-state responses. Inter J Audiol. 2003;42(4):177-219.

Poch-Broto J, Carricondo F, Bhathal B, Iglesias MC, Pez-Moya JL, Rodriguez F, Sanjua J, Gil-Loyzaga P. Cochlear microphonic audiometry: a new hearing test for objective diagnosis of deafness. Acta Oto-Laryngologica. 2009;129:749-54.

Rance G, Beer DE, Cone-Wesson B, Shepherd RK, Dowell RC, King AM, et al. Clinical findings for a group of infants and young children with auditory neuropathy Ear Hear. 1999;20(3):238-52.

Rance G. Auditory neuropathy/dys-synchrony and its perceptual consequences. Trends Amplif 2005;9:1-43.

Regan, D. Human brain electrophysiology: Evoked potentials and evoked magnetic fields. Science and medicine. Elsevier. 1989:167-209.

Riazi M, Ferraro JA. Observations on Mastoid versus Ear Canal Recorded Cochlear Microphonic in Newborns and Adults. J Am Acad Audiol. 2008;19:46–55.

Roland PS, Yellin MW, Meyerhoff WL, Frank T. Simultaneous comparison between transtympanic and extratympanic electrocochleography. Am J Otol. 1995;16(4):444-50.

Rose K, Hood LJ, Berlin CI. Overview of the evolution of auditory neuropathy-Its diagnosis and management. ASHA. 2002; 12: 3-11.

Ross B. Draganova R. Picton TW. Pantev, C. Frequency specificity of 40-Hz auditory steady-state responses. Hearing Research, Nova York. 2003;186:57-68.

Santarelli R, Arslan E. Electrocochleography in auditory neuropathy. Hear Res. 2002;170:32-47.

Sharma A, Cardon G. Cortical development and neuroplasticity in Auditory Neuropathy Spectrum Disorder. Hearing Research. 2015:1-12.

Simmons JL, Beauchaine KL. Auditory neuropathy: case study with hyperbilirubinemia. J Am Acad Audiol. 2000;11:337-47.

Spinelli M, Fávero-Breuel ML, Silva CMS. Neuropatia auditiva: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. Rev. Bras. Otorrinolaringol., Nov 2001;67(6):863-867.

Star A, Picton TW, Sininger Y, Hood L, Berlin CI. Auditory Neuropathy. Brain 1996;119:741-53.

Starr A, Picton TW, Sininger Y, Hood LJ. and Berlin, C.I. Auditory neuropathy. Brain. 1996;119:741-753.

Stroebel D, Swanepoel DW. Does parental experience of the diagnosis and intervention process differ for children with auditory neuropathy? International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. 2014;78:2210-5.

Stuermer KJ, Beutner D, Foerst A, Hahn M, Lang-Roth R, Walger M. Electrocochleography in children with auditory synaptopathy/ neuropathy: Diagnostic findings and characteristic parameters. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. 2015;79;139-45.

Stürzebecker E. Cebulla M. Pschirrer U. Efficient stimuli for recording of the amplitude-modulation following response (AMFR). Audiology. 2011;40:63-68.

Vollrath MA, Kwan KY, Corey DP. The micromachinery of mechanotransduction in hair cells. Annu Rev Neurosci. 2007;30:339-65.

Withnell RH. Brief report: the cochlear microphonic as an indication of outer hair cell function. Ear Hear. 2001;22:75-7.

APÊNDICE

Apêndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa Microfonismo Coclear de Estado Estável: um instrumento para diagnóstico da Neuropatia Auditiva, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) Ilka do Amaral Soares, Rua da Harmonia nº460, ap301, Casa Amarela, Recife, PE, CEP:52051-390, fone (82)91171349 (inclusive ligações a cobrar), e-mail ilkaamaralsoares@gmail.com, e está sob a orientação de: Otávio Gomes Lins, Telefones para contato: (81) 91383591, e-mail oglins@hotmail.com.

Este Termo de Consentimento pode conter informações que o/a senhor/a não entenda. Caso haja alguma dúvida, pergunte à pessoa que está lhe entrevistando para que o/a senhor/a esteja bem esclarecido (a) sobre sua participação na pesquisa. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, caso aceite em fazer parte do estudo, rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr. (a) não será penalizado (a) de forma alguma. Também garantimos que o (a) Senhor (a) tem o direito de retirar o consentimento da sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Este estudo tem como objetivo desenvolver e testar uma técnica para o registro de uma versão de estado estável do microfonismo coclear, para auxiliar no diagnóstico da neuropatia auditiva. O estudo se faz necessário, pois esse exame irá ajudar no diagnóstico de alterações auditivas na população em geral e principalmente em recém-nascidos.

Será realizada avaliação da audição, por meio dos seguintes procedimentos: potenciais evocados de tronco encefálico e de estado estável, testes que avaliam estruturas responsáveis pela audição por meio de eletrodos colados a sua pele, na região da cabeça.

Os exames realizados nesta pesquisa são utilizados nas avaliações da audição em todo o mundo e não existem referências na literatura sobre problemas físicos ou psicológicos associados à eles. Esclarecemos ainda que nenhum dos referidos exames cause dor, a curto ou longo prazo. Pode ocorrer apenas desconforto ou ardor durante a limpeza da pele para a colocação dos eletrodos na captação dos potenciais evocados, porém para diminuir o desconforto será utilizada uma pasta especial abrasiva ao invés de palha de aço, que é comumente utilizada.

Para o participante o benefício será o acompanhamento de sua função auditiva e em caso de presença de perda o encaminhamento médico especializado (otorrinolaringologia e neurologia). A pesquisa possibilitará um melhor conhecimento do exame de PEAEE enquanto alternativa no diagnóstico de neuropatia auditiva.

A sua participação na pesquisa constará da realização das avaliações citadas. Estas avaliações deverão ser realizadas em um dia e os resultados das mesmas analisados e entregues ao senhor(a).

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados em computador pessoal, protegido por senha, sob a responsabilidade do pesquisador, no endereço (acima informado), pelo período mínimo de 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidos pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br).

_____

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo Microfonismo Coclear de Estado Estável: um instrumento para diagnóstico da Neuropatia Auditiva, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento).

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

Apêndice B – Protocolo de pesquisa

Data: ___/___/___
Nome:_____Idade:_____
Fone: _____ E-mail:_____Otoscopia:_____

Audiometria	250	500	1000	2000	4000	8000Hz
OD						
OE						

Check list:

Ligar equi.	Audio	Limpeza	Calibrar VU	Fone	Fios	EEG	PA1	PA2

Eletrodos: Terra – clavícula D; Ref. G2 – lóbulo contralateral; Ativo G1 – CAE

Hora do inicio do exame: _____ Hora do final do exame: _____

FM	FP	Int	Masc	Amp	Fase	P valor	Ruído	*SI	*SF	Arquivo

*Legenda: S-sig = sweep significante / S-final = sweep final

Apêndice C – Exemplos de exames

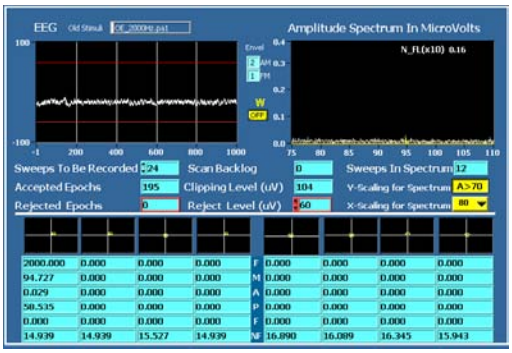


Figura 10 – MCEE registrado na frequência portadora de 2KHz, frequência moduladora de 95Hz e com intensidade de 80dBNPS na orelha esquerda. Com uso do mascaramento ipsi lateral.

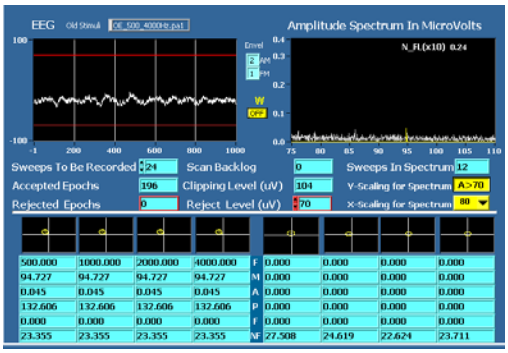


Figura 11 – MCEE registrado na frequência portadora de 500 a 4000 Hz, combinada, frequência moduladora de 95Hz e com intensidade de 80dBNPS na orelha esquerda. Com uso do mascaramento ipsi lateral.

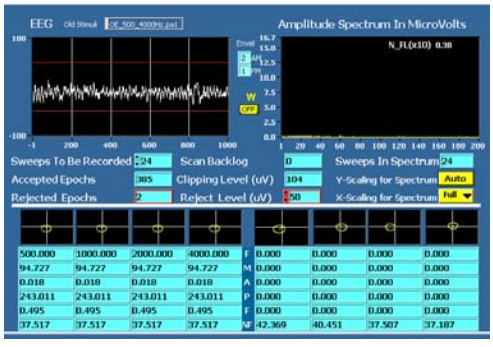


Figura 12 – MCEE registrado na frequência portadora de 500 a 4000 Hz, combinada, frequência moduladora de 95Hz e com intensidade de 80dBNPS na orelha esquerda. Com uso do mascaramento ipsi lateral e clipado.

Apêndice D – Resultados individuais do MCEE

Experimento 1

SUJ	ID	SEX	ORL	INT	FM	FP	CLIP	MASC	AMP	FASE	P-valor	S/R	SW
1	38	F	E	60	95	COMB	N	0	0,13	120,481	0	0,056	12
1	38	F	E	60	95	COMB	N	80	0,063	196,169	0,006	0,048	16
1	38	F	E	70	95	COMB	N	0	0,081	61,066	0,002	0,056	13
1	38	F	E	70	95	COMB	N	90	0,083	120,882	0	0,048	12
1	38	F	E	80	95	COMB	N	0	0,195	68,915	0	0,051	12
1	38	F	E	80	95	COMB	N	100	0,125	104,037	0	0,05	12
1	38	F	E	80	95	COMB	S	100	0,044	155,145	0,038	0,043	36
2	42	F	E	60	95	COMB	N	0	0,035	39,179	0,014	0,029	18
2	42	F	E	60	95	COMB	N	75	0,051	163,052	0	0,03	14
2	42	F	E	70	95	COMB	N	0	0,074	71,78	0	0,034	10
2	42	F	E	70	95	COMB	N	85	0,067	144,087	0	0,041	10
2	42	F	E	80	95	COMB	N	0	0,119	123,69	0	0,043	10
2	42	F	E	80	95	COMB	N	95	0,126	144,947	0	0,045	10
2	42	F	E	60	95	COMB	S	75	0,064	154,171	0,022	0,057	36
3	35	F	E	60	95	COMB	N	0	0,03	-80,455	0,018	0,025	17
3	35	F	E	60	95	COMB	N	80	0,018	175,256	0,268	0,027	36
3	35	F	E	70	95	COMB	N	0	0,052	93,839	0,006	0,04	15
3	35	F	E	70	95	COMB	N	90	0,06	229	0,001	0,039	10
3	35	F	E	80	95	COMB	N	0	0,113	90,974	0	0,051	10
3	35	F	E	80	95	COMB	N	95	0,048	69,832	0,007	0,037	13
3	35	F	E	60	95	COMB	S	80	0,022	144,775	0,604	0,053	36
4	40	F	E	60	95	COMB	N	0	0,152	232,265	0	0,048	10
4	40	F	E	60	95	COMB	N	70	0,045	87,594	0,02	0,039	19
4	40	F	E	70	95	COMB	N	0	0,096	213,873	0	0,046	10
4	40	F	E	70	95	COMB	N	80	0,04	-77,991	0,023	0,035	18
4	40	F	E	80	95	COMB	N	0	0,304	-72,605	0	0,057	10
4	40	F	E	80	95	COMB	N	90	0,202	-71,861	0	0,049	10
4	40	F	E	60	95	COMB	S	70	0,027	155,031	0,025	0,024	27
5	28	F	E	60	95	COMB	N	0	0,072	-67,506	0	0,033	10
5	28	F	E	60	95	COMB	N	80	0,048	147,754	0,015	0,04	15
5	28	F	E	70	95	COMB	N	0	0,08	-10,44	0	0,044	10
5	28	F	E	70	95	COMB	N	90	0,021	157,494	0,025	0,019	16
5	28	F	E	80	95	COMB	N	0	0,173	37,116	0	0,043	10
5	28	F	E	80	95	COMB	N	100	0,056	199,034	0,032	0,052	30
5	28	F	E	60	95	COMB	S	80	0,048	175,485	0,017	0,041	29
6	38	F	E	60	95	COMB	N	0	0,034	-87,445	0,032	0,032	27
6	38	F	E	60	95	COMB	N	80	0,028	90,458	0,06	0,029	36
6	38	F	E	70	95	COMB	N	0	0,09	214,389	0	0,048	10
6	38	F	E	70	95	COMB	N	90	0,032	225,275	0,046	0,031	25

6	38	F	E	80	95	COMB	N	0	0,174	243,152	0	0,048	10
6	38	F	E	80	95	COMB	N	100	0,039	181,272	0,014	0,032	27
6	38	F	E	60	95	COMB	S	80	0,007	-25,05	0,889	0,003	36

Legenda: SUJ=sujeito, ID=idade, SEX=sexo,ORL=orelha, INT=intensidade, FM=frequência portadora, FP=frequência moduladora, CLIP=clipado, MASC=mascaramento, AMP=amplitude, S/R=relação sinal ruído, SW=sweeps, F=feminino, E=orelha esquerda, COMB=500, 1000, 2000 e 4000Hz combinadas, N=não, S=sim.

Experimento 2 e 3

SUJ	ID	SEX	ORL	INT	FM	FP	CLIP	MASC	AMP	FASE	P-valor	S/R	SW
1	21	F	E	80	95	0,5	N	90	0,007	218,69	0,868	21%	15
1	21	F	E	80	95	1	N	90	0,028	256,33	0,099	88%	22
1	21	F	E	80	95	2	N	90	0,006	-4,83	0,871	19%	16
1	21	F	E	80	95	COMB	N	90	0,036	132,69	0,010	124%	24
1	21	F	E	80	95	COMB	N	90	0,053	40,84	0,027	110%	15
1	21	F	E	80	95	COMB	S	90	0,028	226,08	0,565	43%	12
1	21	F	E	80	95	130	N	90	0,047	-37,48	0,014	118%	33
1	21	F	E	80	95	160	N	90	0,062	238,40	0,005	135%	19
1	21	F	E	80	95	190	N	90	0,007	-82,00	0,792	26%	12
1	21	F	E	80	95	220	N	90	0,059	-44,87	0,007	128%	10
2	38	F	E	80	95	0,5	N	90	0,058	138,36	0,038	105%	32
2	38	F	E	80	95	1	N	90	0,080	176,40	0,000	222%	12
2	38	F	E	80	95	2	N	90	0,072	-69,00	0,000	164%	12
2	38	F	E	80	95	COMB	N	90	0,023	216,51	0,316	61%	36
2	38	F	E	80	95	COMB	N	90	0,089	43,48	0,000	165%	12
2	38	F	E	80	95	COMB	S	90	0,023	209,63	0,403	55%	36
2	38	F	E	80	95	130	N	90	0,082	-28,14	0,002	144%	12
2	38	F	E	80	95	160	N	90	0,064	123,86	0,000	200%	15
2	38	F	E	80	95	190	N	90	0,029	26,00	0,032	107%	23
2	38	F	E	80	95	220	N	90	0,047	-6,43	0,010	124%	15
3	59	F	E	80	95	0,5	N	90	0,01	149,65	0,811	27%	12
3	59	F	E	80	95	1	N	90	0,01	47,09	0,737	31%	12
3	59	F	E	80	95	2	N	90	0,05	117,56	0,008	127%	16
3	59	F	E	80	95	COMB	N	90	0,15	90,12	0,000	345%	12
3	59	F	E	80	95	COMB	N	90	0,28	50,07	0,000	632%	12
3	59	F	E	80	95	COMB	S	90	0,02	187,06	0,319	62%	36
3	59	F	E	80	95	130	N	90	0,15	255,70	0,000	471%	12
3	59	F	E	80	95	160	N	90	0,11	-88,25	0,000	253%	12
3	59	F	E	80	95	190	N	90	0,05	219,03	0,005	132%	18
3	59	F	E	80	95	220	N	90	0,09	2,80	0,000	354%	12
4	41	F	E	80	95	0,5	N	90	0,02	177,55	0,028	1,13	12
4	41	F	E	80	95	1	N	90	0,02	-38,69	0,228	0,70	12
4	41	F	E	80	95	2	N	90	0,55	146,27	0,006	1,13	19
4	41	F	E	80	95	COMB	N	90	0,09	94,08	0,001	0,42	18
4	41	F	E	80	95	COMB	N	90	0,05	34,14	0,020	1,15	29
4	41	F	E	80	95	COMB	S	90	0,01	154,63	0,792	0,28	22
4	41	F	E	80	95	130	N	90	0,06	-72,84	0,000	2,17	15
4	41	F	E	80	95	160	N	90	0,06	225,73	0,000	1,62	11
4	41	F	E	80	95	190	N	90	0,05	106,73	0,007	1,31	15
4	41	F	E	80	95	220	N	90	0,02	-2,07	0,028	1,13	21
5	40	F	E	80	95	0,5	N	90	0,04	184,94	0,012	123%	15

5	40	F	E	80	95	1	N	90	0,02	1,65	0,467	51%	12
5	40	F	E	80	95	2	N	90	0,05	62,61	0,020	115%	18
5	40	F	E	80	95	4	N	90	0,07	71,15	0,000	200%	14
5	40	F	E	80	95	COMB	N	90	0,06	24,45	0,024	112%	18
5	40	F	E	80	95	COMB	S	90	0,03	141,91	0,311	62%	36
5	40	F	E	80	95	130	N	90	0,05	-72,20	0,012	121%	19
5	40	F	E	80	95	160	N	90	0,10	244,99	0,000	223%	15
5	40	F	E	80	95	190	N	90	0,05	194,91	0,015	117%	12
5	40	F	E	80	95	220	N	90	0,03	12,25	0,008	124%	10
6	44	F	E	80	95	0,5	N	90	0,06	153,03	0,004	135%	10
6	44	F	E	80	95	1	N	90	0,10	254,50	0,000	229%	12
6	44	F	E	80	95	2	N	90	0,06	-22,13	0,002	150%	16
6	44	F	E	80	95	4	N	90	0,28	-83,84	0,000	812%	13
6	44	F	E	80	95	COMB	N	90	0,51	263,89	0,000	1310%	12
6	44	F	E	80	95	COMB	S	90	0,04	141,17	0,055	100%	36
6	44	F	E	80	95	130	N	90	0,38	80,89	0,000	758%	13
6	44	F	E	80	95	160	N	90	0,48	-88,76	0,000	1461%	12
6	44	F	E	80	95	190	N	90	0,44	132,57	0,000	1136%	12
6	44	F	E	80	95	220	N	90	0,26	-32,84	0,000	1727%	12
7	37	M	E	80	95	0,5	N	90	0,025	96,36	0,460	50%	12
7	37	M	E	80	95	1	N	90	0,018	-70,20	0,728	32%	12
7	37	M	E	80	95	2	N	90	0,105	1,65	0,004	138%	14
7	37	M	E	80	95	4	N	90	0,054	115,67	0,021	113%	14
7	37	M	E	80	95	COMB	N	90	0,412	207,69	0,000	654%	12
7	37	M	E	80	95	COMB	S	90	0,013	235,13	0,873	22%	36
7	37	M	E	80	95	130	N	90	0,448	199,55	0,000	679%	12
7	37	M	E	80	95	160	N	90	0,090	173,02	0,005	132%	13
7	37	M	E	80	95	190	N	90	0,074	85,42	0,007	130%	19
7	37	M	E	80	95	220	N	90	0,072	128,56	0,000	176%	11
8	26	M	E	80	95	0,5	N	90	0,03	114,75	0,019	119%	21
8	26	M	E	80	95	1	N	90	0,01	254,73	0,573	43%	36
8	26	M	E	80	95	2	N	90	0,03	79,23	0,001	147%	10
8	26	M	E	80	95	4	N	90	0,13	42,16	0,000	315%	13
8	26	M	E	80	95	COMB	N	90	0,06	88,85	0,004	138%	18
8	26	M	E	80	95	COMB	S	90	0,05	182,19	0,005	133%	14
8	26	M	E	80	95	130	N	90	0,09	-84,81	0,000	223%	13
8	26	M	E	80	95	160	N	90	0,03	165,12	0,000	254%	15
8	26	M	E	80	95	190	N	90	0,01	14,14	0,565	43%	12
8	26	M	E	80	95	220	N	90	0,04	-87,50	0,002	148%	12
9	21	M	E	80	95	0,5	N	90	0,06	122,83	0,001	161%	14
9	21	M	E	80	95	1	N	90	0,03	227,97	0,008	126%	19
9	21	M	E	80	95	2	N	90	0,04	3,54	0,001	152%	13
9	21	M	E	80	95	4	N	90	0,06	45,65	0,000	255%	13
9	21	M	E	80	95	COMB	N	90	0,06	27,26	0,000	163%	16

9	21	M	E	80	95	COMB	S	90	0,03	130,85	0,035	106%	14
9	21	M	E	80	95	130	N	90	0,03	251,98	0,000	236%	14
9	21	M	E	80	95	160	N	90	0,08	187,12	0,000	335%	11
9	21	M	E	80	95	190	N	90	0,03	151,77	0,043	104%	19
9	21	M	E	80	95	220	N	90	0,04	-27,86	0,001	158%	14
10	18	F	E	80	95	0,5	N	90	0,06	228	0,00	1,40	13
10	18	F	E	80	95	1	N	90	0,14	14	0,00	2,96	15
10	18	F	E	80	95	2	N	90	0,06	39	0,01	1,26	17
10	18	F	E	80	95	4	N	90	0,26	82	0,00	5,45	12
10	18	F	E	80	95	COMB	N	90	0,53	52	0,00	10,82	11
10	18	F	E	80	95	COMB	S	90	0,04	226	0,20	0,71	15
10	18	F	E	80	95	130	N	90	0,40	229	0,00	8,61	12
10	18	F	E	80	95	160	N	90	0,14	40	0,00	2,88	13
10	18	F	E	80	95	190	N	90	0,11	-69	0,00	2,65	11
10	18	F	E	80	95	220	N	90	0,13	120	0,00	5,65	11

Legenda: SUJ=sujeito, ID=idade, SEX=sexo,ORL=orelha, INT=intensidade, FM=frequência portadora, FP=frequência moduladora, CLIP=clipado, MASC=mascaramento, AMP=amplitude, S/R=relação sinal ruído, SW=sweeps, F=feminino, M=masculino, E=orelha esquerda, COMB=500, 1000, 2000 e 4000Hz combinadas, N=não, S=sim.

Apêndice E – Artigo de revisão enviado para publicação

Resumo

Introdução: A Neuropatia/Dessincronia Auditiva é uma doença caracterizada pela presença das Emissões Otoacústicas e do Microfonismo Coclear, com ausência ou grave alteração do Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico, limiares auditivos incompatíveis com limiares vocais e reflexos acústicos alterados. O estudo do Microfonismo Coclear parece ser a ferramenta mais importante para um diagnóstico preciso desta patologia. **Objetivo:** verificar por meio de uma revisão integrativa as características do Microfonismo Coclear na Neuropatia/Dessincronia Auditiva. **Método:** Levantamento bibliográfico nas plataformas Pubmed e Bireme e nas bases de dados MedLine, LILACS e SciELO, com buscas padronizadas até julho de 2014, utilizando-se palavras-chave. Para a seleção e avaliação dos estudos científicos levantados, foram estabelecidos critérios, contemplando os aspectos: autor, ano/local, grau de recomendação/nível de evidência científica, objetivo, amostra, faixa etária, média de idade em anos, testes, resultados e conclusão. **Resultados:** Dos 1959 artigos encontrados, 1914 foram excluídos pelo título, 20 pelo resumo, 9 pela leitura do artigo, 2 eram repetidos e 14 foram selecionados para o estudo. **Conclusão:** A presença do Microfonismo Coclear é um achado determinante no diagnóstico diferencial da Neuropatia/Dessincronia auditiva. O protocolo de registro do Microfonismo Coclear deve contar com o uso de fones de inserção, a inversão da polaridade e o bloqueio do tubo do estímulo para impedir a interferência de artefato elétrico. A amplitude do Microfonismo Coclear na Neuropatia/Dessincronia auditiva não apresenta diferença significante entre a amplitude do Microfonismo Coclear em ouvintes normais. A duração do Microfonismo Coclear é maior em indivíduos com Neuropatia/Dessincronia auditiva.

Palavras-chave: Microfonismo Coclear, Potencial Microfônico Coclear, Perda Auditiva.

Abstract

Introduction: Auditory Neuropathy/Dyssynchrony is a disease characterized by the presence of Otoacoustic Emissions and Cochlear Microphonism, with the absence or severe alteration of Brainstem Evoked Auditory Potential, auditory thresholds incompatible with vocal thresholds and altered acoustic reflexes. The study of Cochlear Microphonism seems to be the most important tool for an accurate diagnosis of this pathology. **Objective:** determine the characteristics of Cochlear Microphonism in Auditory Neuropathy/Dyssynchrony using an integrative review. **Methods:** Bibliographic survey of Pubmed and Bireme platforms and MedLine, LILACS and SciELO data banks, with standardized searches up to July 2014, using keywords. Criteria were established for the selection and assessment of the scientific studies surveyed, considering the following aspects: author, year/place, degree of recommendation/level of scientific evidence, objective, sample, age range, mean age, tests, results and conclusion. **Results:** Of the 1959 articles found, 1914 were excluded for the title, 20 for the abstract, 9 for the text of the article, 2 for being repeated and 14 were selected for the study. **Conclusion:** The presence of Cochlear Microphonism is a determining finding in the differential diagnosis of Auditory Neuropathy/Dyssynchrony. The protocol for the determination of Cochlear Microphonism must include the use of insert earphones, inverted polarity and blocking the stimulus tube to impede electrical artefact interference. The amplitude of Cochlear Microphonism in Auditory Neuropathy/Dyssynchrony shows no significant difference from that of normal hearers. The duration of Cochlear Microphonism is longer in individuals with Auditory Neuropathy/Dyssynchrony.

Keywords: Cochlear Microphonism, Cochlear Microphonic Potential, Hearing Loss.

Introdução

O termo Neuropatia Auditiva (NA) foi utilizado pela primeira vez em 1996, para definir um grupo de pessoas com sintomas auditivos, mas que tinham em comum o funcionamento normal da cóclea apesar de apresentar alteração da função do nervo coclear. Além disso, apresentavam como característica clínica dificuldade de compreensão das palavras, principalmente em ambientes ruidosos, apesar de responder a estímulos sonoros em alguns casos[1]. Entretanto denominação mais usual atualmente é neuropatia/dessincronia auditiva (NA/DA).

Os achados dos exames em geral refletem ausência ou grave alteração no Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE) quando as Emissões Otoacústicas (EOA) e ou o Microfonismo Coclear (MC) estão preservados, indicando uma função desordenada do Nervo Auditivo, com função normal das Células Ciliadas (CC)[1,2,3,4].

Muitas vezes é difícil determinar exatamente o início da NA/DA, porém a patologia pode ocorrer em todas as idades[4]. Sua prevalência foi estimada em 11% em um grupo de 109 crianças deficientes auditivas, que falharam na triagem auditiva neonatal (TAN) e no PEATE[5]. Outro estudo refere uma prevalência semelhante de 8,44% de 379 crianças avaliadas com alteração do PEATE[4].

O MC é um potencial gerado a partir das células ciliadas externas (CCE) e células ciliadas internas (CCI) da cóclea e sua ausência é compatível com alteração na função dessas células[2,6]. Descrito ainda como uma atividade elétrica que antecede as sinapses das CC com o nervo auditivo, por esse motivo seu registro aparece antes da onda I no registro do PEATE e mantem sua latência mesmo quando a intensidade do estímulo é diminuída[5].

Ainda não estão disponíveis dados relativos aos parâmetros do MC em indivíduos com audição normal ou com perdas auditivas. Entretanto, as gravações do MC atraíram novo interesse após a identificação da NA/DA[1], pois a relação entre a coclear e um estímulo

acústico tem sido usada no diagnóstico diferencial de NA/DA, uma vez que a presença do MC serve como evidência de integridade das CCE[7].

A literatura recomenda que os testes de função coclear, particularmente o MC, torne-se parte do protocolo da TAN (Triagem Auditiva Neonatal) em todas as crianças com PEATE ausentes ou alterados, auxiliando o diagnóstico da NA/DA[5].

O objetivo do estudo é verificar por meio de uma revisão integrativa as características do Microfonismo Coclear na Neuropatia/Dessincronia Auditiva.

Métodos

O processo metodológico caracterizou o presente estudo em uma revisão integrativa, com intuito de reunir dados de pesquisas que auxiliem a compreensão do tema, de maneira sistemática e ordenada, auxiliando dessa forma o aprofundamento do conhecimento das características do Microfonismo Coclear na Neuropatia/Dessincronia Auditiva.

A revisão integrativa foi orientada a partir de buscas eletrônicas nas plataformas Pubmed e Bireme e nas seguintes bases de dados: MedLine, LILACS e SciELO - Regional. A busca dos dados foi iniciada e concluída no mês de julho de 2014. Foram selecionados para a análise, os estudos publicados nos idiomas inglês, espanhol ou português. Não houve restrição quanto ao ano de publicação, ou seja, foram analisados os estudos publicados até julho de 2014, sendo os artigos selecionados posteriormente por critérios de inclusão e exclusão.

A estratégia de busca realizada foi por meio do cruzamento dos descritores (DeCS e MeSH), assim como para os termos-livres, que são os termos não encontrados no DeCS e MeSH, mas que tem relevância para a pesquisa. Os descritores utilizados para localização dos estudos foram *Cochlear Microphonic e Cochlear Microphonic Potential* e os termos livres utilizados foram *Auditory Neuropathy e Auditory Dyssynchrony*.

Estratégia de busca

A estratégia de busca foi direcionada mediante uma questão específica: “Quais são as características do microfonismo coclear, na neuropatia/dessincronia auditiva?”. Visando identificar os artigos pertinentes com a questão proposta, foi elaborada uma estratégia de busca, empregando os descritores em grupos, com no mínimo, duas palavras-chave. Os cruzamentos foram: *Cochlear Microphonic / Auditory Neuropathy /Auditory Dyssynchrony/ Cochlear Microphonic* AND *Auditory Neuropathy* OR *Auditory Dyssynchrony/ Cochlear Microphonic Potential / Auditory Neuropathy / Auditory Dyssynchrony/ Cochlear Microphonic Potential* AND *Auditory Neuropathy* OR *Auditory Dyssynchrony.*

Critérios de seleção

Critérios de inclusão

Foram incluídos os artigos com as seguintes características: ser artigo original, relato de caso ou revisão de literatura; ter como sujeitos de pesquisa indivíduos diagnosticados com neuropatia auditiva.

Critérios de exclusão

Foram excluídos dessa revisão os artigos que não descrevem os achados da avaliação audiológicas nos indivíduos com NA/DA.

Identificação, seleção e inclusão dos estudos

A pesquisa foi realizada por dois pesquisadores de forma independente e os pontos de conflitos foram discutidos em reuniões específicas. A partir da aplicação da estratégia de busca contendo os descritores definidos, a seleção dos artigos encontrados foi realizada em três etapas:

1. Identificação e leitura dos títulos nas diferentes bases eletrônicas de dados. Foram excluídos aqueles que claramente não se enquadravam a qualquer um dos critérios de inclusão deste estudo.

2. Leitura dos resumos dos estudos selecionados na primeira etapa. Da mesma forma, foram excluídos aqueles que claramente não se adequavam a qualquer um dos critérios de inclusão pré-estabelecidos.

3. Todos os estudos que não foram excluídos nessas duas primeiras etapas foram lidos na íntegra para seleção dos que seriam incluídos nesta revisão.

Todos os estudos utilizados atenderam aos critérios de inclusão definidos no início do protocolo metodológico do presente estudo, no sentido de responderem à pergunta que norteou esta revisão integrativa. Os principais dados de cada artigo foram detalhadamente coletados e inseridos em um banco de dados no programa *Microsoft Office Excel 2011*.

Para uma melhor apresentação dos resultados, optou-se por considerar as seguintes variáveis dos artigos selecionados: autor, ano/local, tipo de estudo, grau de recomendação/nível de evidência científica, objetivo, amostra, faixa etária, média de idade em anos, testes realizados, resultados e conclusão.

Quanto ao nível de evidência científica, foi utilizada a Classificação de *Oxford Centre for Evidence-Based Medicine*[8].

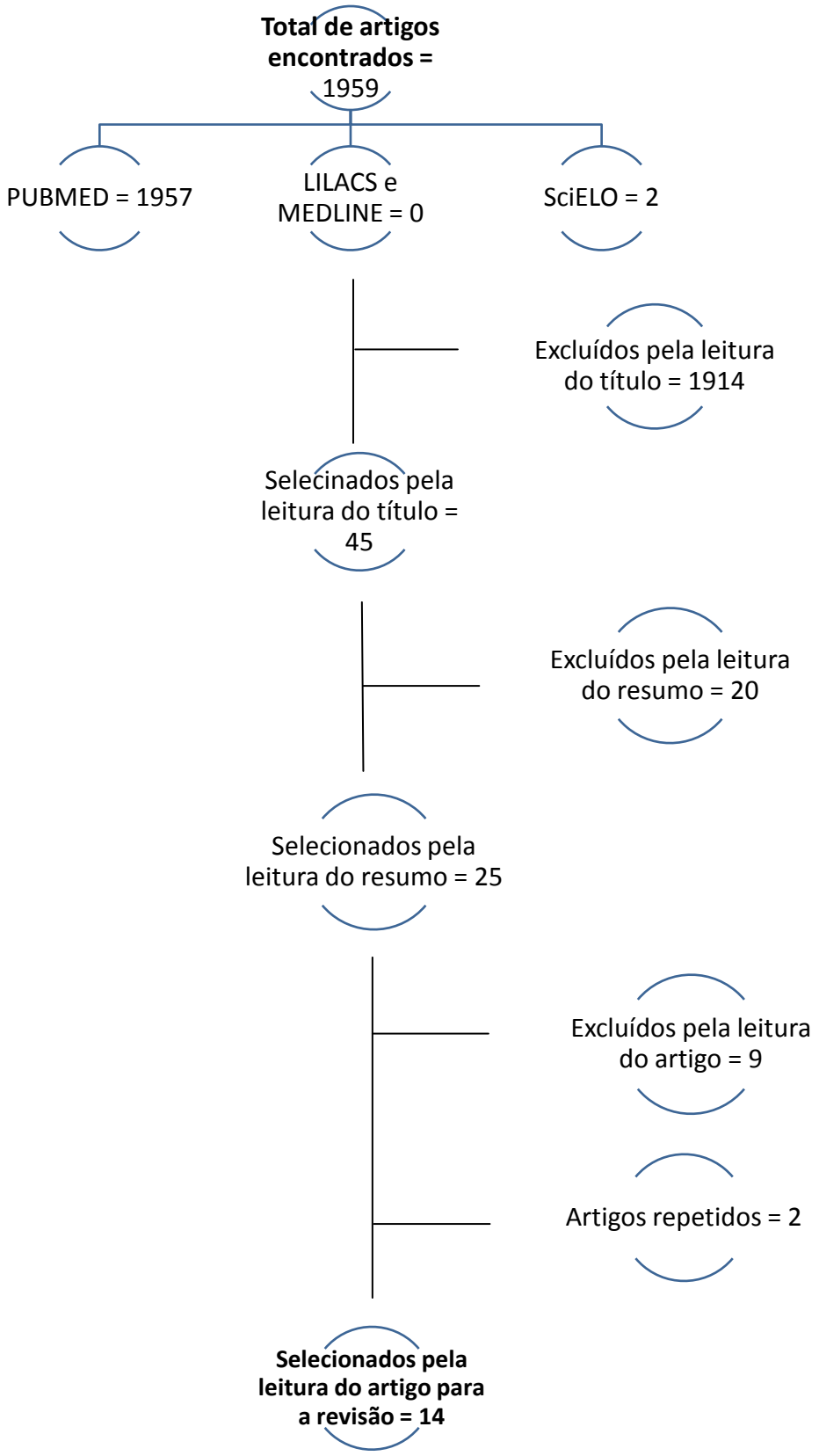
Resultados

De acordo com os cruzamentos realizados, foi encontrado um total de 1959 artigos nas buscas eletrônicas. Seguindo os critérios de exclusão e inclusão definidos no método e subtraídas às referências repetidas constantes em mais de uma base de dados, foi selecionado um total de 14 artigos.

Na base de dados MedLine, via PubMed, cruzando-se as palavras-chave e os termos livres, foram encontrados 1959 artigos, dos quais 1913 trabalhos foram excluídos pelo título, 44 resumos foram lidos e 25 artigos foram selecionados para leitura na íntegra. Destes 25, 2 eram artigos repetidos e 9 foram excluídos. Nas bases de dados LILACS e MedLine via Bireme não foram encontrados artigos para essa busca. Já na base de dados SciELO, foram encontrados dois artigos, um foi excluído pelo título e o outro foi excluído pela leitura na íntegra.

O fluxograma a seguir (Figura 1) apresenta uma síntese do processo de obtenção dos artigos selecionados para a revisão integrativa.

Figura 1 – Fluxograma de artigos encontrados, incluídos e excluídos na revisão integrativa.



A tabela 1 é uma síntese com características dos estudos incluídos na revisão integrativa.

Tabela 1. Síntese com características dos estudos incluídos na revisão.

Autor	Ano/ local	Tipo de estudo	Grau de recomendação/ Nível de evidência científica	Objetivo	Amostra	Faixa etária em anos	Média de idade em anos	Testes	Resultados	Conclusão
Deltenre et al	1997/Bélgica	Estudo de caso	C/4	Descrever uma nova forma de disfunção auditiva caracterizada por PEATE ausentes,com evidência de função das células ciliadas externas da cóclea, do potencial microfônico coclear e EOA preservadas	3	0 a 4 meses	Não foi referido	PEATE (clipado), EOA, Imitanciometria	EOA presente, PEATE ausente com presença do MC, audição residual em um dos casos na Audiometria Comportamental, timpanogramas normais e reflexos acústicos contra laterais presentes	As EOA e o PEATE sozinhos podem indicar uma situação incomum, porém a constatação só ocorre com a gravação do MC. O reconhecimento do potencial microfônico isolado a partir de gravações de rotina facilitada pelo uso da inversão das polaridades pode ser valioso para a avaliação neurofisiológica da audição periférica

										e por isso é altamente recomendável
Santarelli & Arslan	2002/ Itália	Estudo de caso	C/4	Descrever os achados obtidos na Ecog em 5 pacientes, um adulto e quatro crianças, com PEATE ausentes e presença de EOAPD	5	3 meses a 19 anos	Não foi referido	Ecog T, PEATE clique EOAPD, Imitanciometria, Audiometria Comportamental, Audiometria Vocal	Em alguns casos a Ecog T foi a única ferramenta de diagnóstico confiável para detectar uma lesão periférica como a disfunção do gerador de tronco cerebral	A Ecog T na NA fornece uma avaliação confiável da função periférica auditiva. Possibilitando algumas hipóteses sobre o local da lesão
Rapin & Gravel	2003/USA	Revisão da literatura	D5	Identificar um termo adequedo para patologias que afetam a via auditiva central no tronco cerebral e no cérebro de forma seletiva	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	A neuropatia auditiva pura é rara, em muitos casos, tanto o 8º nervo e a via auditiva central ou, em alguns casos, CC contribuem para o atípico déficit auditivo e compreensão da fala	O termo NA não é indicado para casos em que a predominância de patologia é no tronco cerebral e deve ser reservado para pacientes em com evidências de que a patologia envolve as células do gânglio espiral ou seus axônios
Berlin et al	2003/USA	Revisão da literatura	D5	Estudo do diagnóstico e	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Os estudos dos últimos 20 anos	As tentativas para caracterizar vários

				gerenciamento da NA					mostram que, embora a avaliação eletroacústica possa oferecer bons diagnóstico, estas respostas são produtos de um complexo processo fisiológico e não são necessariamente os verdadeiros indicadores de percepção	aspectos do perfil da NA tem demonstrado que os resultados apresentam um padrão fisiológico comum, devido aos diferentes processos patológicos ou diferente graus de acometimento
Rance	2005/Austrália	Revisão da literatura	D5	Estudar os mecanismos da NA, tipo de disfunção, o perfil clínico dos pacientes e principalmente as consequências da percepção de NA, que são bastante diferentes daquelas associadas com PASN	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Otoscopia, Ecog T, PEATE clique, EOAPD, Imitanciometria	Os resultados mostram que em todos pacientes a amplitude e o limiar MC são criticamente dependente do limiar PAC, mostrando uma relação do MC tanto com as CCE quanto com as CCI	A presença de uma patologia do SNC parece melhorar amplitude do MC. Em alguns casos o desaparecimento ao longo do tempo da EOAPD sugere que as alterações na amplitude e duração do MC em pacientes com NA, resultam de uma combinação de

										perda das CCE e alteração do sistema eferente
Santarelli et al	2006/ Itália	Transversal observacional	C4	Avaliar a amplitude do MC e os limiares auditivos de orelhas normais e de orelhas com variados graus de elevação na gravação do Potencial de Ação e comparar com os valores correspondentes em um grupo de pacientes com NA	522	7 meses a 47 anos	3,1 anos	Audiometria tonal e vocal, imitanciometria, EOA e PEATE	A amplitude MC foi significativamente maior nos pacientes com patologia do SNC que nos com audição normal. Respostas do MC foram detectados em todos auditivo pacientes com NA, com amplitudes e limites semelhantes aos calculados por ouvintes normais. A duração do MC foi significativamente maior no grupo com NA	1. Detecção MC não é uma característica distintiva de NA; 2. Pacientes com patologia do SNC apresentaram aumento em amplitude e duração do MC, possivelmente devido à disfunção do sistema eferente; 3. A duração, alta frequência e amplitude do MC foram semelhantes nos pacientes ouvintes normais e com NA. Isto pode resultar de uma combinação variável do tipo de lesão do sistema

										eferente e perda de CCE
Anastasio et al	2008/Brasil	Relato de caso	D5	Demonstrar a aplicabilidade clínica da Ecog-ET no diagnóstico diferencial da NA quando comparada ao PEATE	1	4 anos	Não de aplica	EOA, PEATE click, PEATE 0,5 e 1KHz tom pip e exame de imagem	Uma criança com 4 anos de idade, com diagnóstico de NA realizou a Ecog-ET com tone burst de 2000Hz nas polaridades de rarefação e condensação	A Ecog-ET permitiu uma análise mais detalhada do MC quando comparada ao PEATE tendo, portanto aplicabilidade clínica na investigação da função coclear na NA
Ahmmed et al	2008/Reino Unido	Relato de caso	C4	Estudar o dilema de diagnóstico em torno da presença de CM juntamente com elevação significativa dos limiares no PEATE em bebês que falham na TAN	1	6 semanas	Não se aplica	EOAT, Ecog, PEATE, por clique, por VO e tone burst (500, 1000 e 2000 Hz)	PASN diagnosticada através de história clínica e familiar, exame físico e de imagem que mostrou aquedutos vestibulares alargados. Presença de MC na presença de limiares muito altos no PEATE clique e a obtenção dos limiares para e	Há uma necessidade de revisão no protocolo de TAN/NA existente no Reino Unido e uma nova pesquisa para estabelecer parâmetros para a auxiliar no diagnóstico diferencial do MC. Uma abordagem audiológica e

									no PEATE por tom pip 0,5 kHz pode não ser adequado para diferenciar entre PASN e outros condições associadas com NA	médica holística é essencial para gerenciar os bebês que falham na TAN.
Riazi & Ferraro	2008/USA	Relato de casos	C4	Avaliar técnicas que podem otimizar a gravação do MC em seres humanos. Por meio de uma variedade de parâmetros de estímulo e condições de blindagem que visam inibir / reduzindo artefato que pode contaminar o CM	11	7 crianças e 4 adultos	Não refere	EOAT, Ecog, PEATE, por clique e tone burst (500, 1000 e 2000Hz)	Os resultados sugerem que é mais fácil separar o MC do artefato de estímulo usando um eletrodo no Canal Auditivo e estímulos tone burst. Além disso, a blindagem eletromagnética e aterramento dos cabos de força e o transdutor acústico foram eficazes na redução e / ou eliminação artefato de estímulo	Os resultados deste estudo normativo podem ajudar a melhorar o diagnóstico do MC em NA e outros distúrbios relacionados com a audição
Talaat et al	2009/Egito	Estudo de prevalência	B2B	Detectar a prevalência da NA entre crianças e	112	6-32 meses	19 meses	Audiometria comportamental ou de Reforço	15 pacientes foram diagnosticados de acordo com nossos	A prevalência de NA no grupo de estudo foi de

				jovens com perda de auditiva de grau severo a profundo				Visual, PEATE por clique e tone burst (500Hz), Imitanciometria	critérios para o diagnóstico	13,4%. Recomendamos o registro do MC para serem testados rotineiramente durante a avaliação do PEATE sempre que os resultados obtidos forem alterados
Mo et al	2010/China	Transversal observacional	C4	Descrever os achados audiológicos da NA	48	6-58 meses	Não foi referido	Audiometria comportamental, EOAPD, PEATE por clique e Imitanciometria	Havia 40 crianças com um perfil de NA bilateral e 8 casos unilaterais, nas orelhas contralaterais desses casos, havia 3 orelhas com limiares no PEATE melhor do que 30 dB NHL, o que indica a função auditiva normal, e 5 com PEATE ausente ou severamente alterado. Além	Os resultados audiológicos neste grupo de crianças apresentam variabilidade em relação aos limiares do PEATE e a morfologia das ondas, os limiares comportamentais e presença de MC e EOAPD. Isso pode refletir a natureza heterogênea da NA. Além disso, as patologias

									disso, 4 crianças foram diagnosticadas como Deficiencia do Nervo Auditivo após mais investigação usando ressonância magnética ouvido interno	concomitantes do ouvido interno ou distúrbio no ouvido médio pode revelar NA. PEATE ausente ou severamente alterado juntamente com presença MC são as medidas mais confiáveis para detectar NA
Shi et al	2012/China	Transversal observacional	C4	Investigar as características e significado clínico do MC no diagnóstico de NA entre lactentes e crianças	36	3 meses a 9 anos	3 anos	Audiometria comportamental, EOAPD, PEATE por clique e Imitanciometria	Não houve diferença significativa na duração ou amplitude do MC entre o grupo com NA o grupo de ouvintes normais. Porém as amplitudes do MC com NA e EOAPD ausentes foram significativamente menores que nos ouvintes normais	O MC pode é muito importante no diagnóstico de NA. As amplitudes máximas do MC foram sempre encontrados em torno de 0,6 ms. É mais útil para o diagnóstico da NA a análise dos padrões de amplitudes do MC e das funções das CCE e CCI juntas

Liu et al	2012/China	Retrospectivo de coorte transversal	C4	Explorar possível correlação entre a deficiência do nervo coclear NA unilateral	85	2-23 anos	Não foi referido no	Audiometria Tonal, EOAPD, EOAT, PEATE por clique e Imitanciometria	Oito casos foram diagnosticados com NA unilateral causada por deficiência do nervo coclear. 7 tiveram timpanograma tipo "A" com EOA normal bilateral, o ultimo tinha timpanograma unilateral tipo "B", EOA ausente e MC presente, de acordo com alteração da orelha média. PEATE ausentes em todos os pacientes e as respostas neuronais a partir da cóclea não foram revelados quando vistas por meio de ressonância magnética do canal auditivo interno	A deficiência do nervo coclear pode ser vista pela evidência eletrofisiológica e pode ser um importante causa de NA unilateral. A ressonância magnética do canal auditivo interno é recomendado para o diagnóstico desta doença

Penido & Issac	2013/Brasil	Estudo de Coorte	C4	Determinar a prevalência da NA em sujeitos com PASN	2292	0-95 anos	Não foi referido	Audiometria tonal e vocal; Imitanciometria; EOA; PEATE e do MC	1,2% apresentaram NA. Desses 29,6% tinham PANS leve; 55,5% moderada; 7,4% grave e 7,5% profunda. 14,8% estavam entre 0 e 20 anos, 33,4% entre 21 e 40 anos, 44,4% entre 41 e 60 anos e 7,4% acima de 60 anos	A prevalência da NA foi de 1,2% em sujeitos com PASN

*PEATE - potencial evocado auditivo de tronco encefálico; EOA - emissões otoacústicas; EOAT – emissões otoacústicas transientes; EOAPD - emissões otoacústicas produto de distorção; MC - microfonismo coclear; NA - neuropatia auditiva; DA – dessincronia auditiva; TAN – triagem auditiva neonatal; Ecog - eletrococleografia ; EcogT – eletrococleografia timpânica; EcogET - eletrococleografia extratimpânica; PASN – perda auditiva sensorioneural; CCE – células ciliadas externas; CCI – células ciliadas internas; PAC – Potencial de Ação Composto.

Discussão

Em virtude do crescimento recente de estudos na área de NA, destacam-se nesta revisão pesquisas entre os anos de 1996 e 2014. Todos os artigos selecionados relacionam a NA com o registro do MC, por meio de dois testes específicos, o PEATE e a Ecog, utilizando-se métodos invasivo ou não invasivo, além de outros testes que avaliam a função auditiva.

Houve um maior investimento em pesquisas nessa área no final da década de 90, quando a NA foi descrita[1]. Desde então os estudos buscam explicar como ocorre na NA, a localização da lesão, fatores de risco, prevalência e testes diagnósticos mais precisos.

Com relação à localização, a literatura aponta uma ampla possibilidade, uma vez que a lesão pode ocorrer em diversas estruturas ou em mais de uma ao mesmo tempo, como nas CCI, fibras do nervo auditivo, ou nas suas sinápses[10]. Outro estudo sugere que há uma anormalidade no sistema auditivo, localizada no VIII nervo, neurônios ganglionares, nas CCI, entre as suas sinapses ou de uma combinação entre eles[1].

Os fatores de risco estão em geral ligados a problemas neonatais como prematuridade, baixo peso, anóxia, hipóxia, hiperbilirrubinemia, necessidade de ventilação mecânica e hemorragia intracraniana[11], além de desordens genéticas e mitocondriais[23] e de história familiar positiva para problemas auditivos[3,13].

De acordo com os estudos apresentados nessa revisão, a prevalência de NA entre crianças e jovens com perda de auditiva de grau severo a profundo foi de 13,4%[10] e de 1,2% em indivíduos com PANS[20]. A prevalência também foi descrita em de crianças com critérios de risco para NA de 1 em 433 (0,23%) e no grupo de crianças com déficit de audição permanente foi de 1 em 9 (11,01%)[5]. Outro estudo refere a prevalência de 8,44% em um grupo de 379 crianças com alteração do PEATE[4].

Há uma concordância na literatura compulsada em relação aos achados de exames em pacientes com neuropatia, que apresentam EOA e MC presentes, PEATE ausente ou muito

alterado e Reflexos Acústicos ausentes[9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22]. Na Audiometria o padrão descrito é perda auditiva permanente ou flutuante de vários graus, com configuração plana ou ascendente[13,15]. Além de dificuldade de percepção de fala, principalmente com ruído[9,10,11,12,13,14,15,21,22]. As EOA estão presentes, entretanto podem desaparecer com o decorrer dos anos[14]. Os resultados de exames eletrofisiológicos objetivos como presença de EOAT, PEATE ausente ou muito alterado e presença do MC tem surgido como primeira ferramenta de diagnóstico para NA em lactentes[4,24]. Além disso, os pacientes com NA possuem uma alteração do efeito supressor das EOA provocado pelas vias auditivas eferentes[25]. A ausência da supressão das EOA sugere que a função olivococlear eferente está alterada[24].

Diante dos achados dos exames da função auditiva, a presença do MC passa a ser o achado determinante no diagnóstico diferencial da NA[14].

O protocolo utilizado para registrar o MC por meio da Ecog ou do PEATE deve sempre optar pela inversão das polaridades, usadas para confirmação da inversão do registro e, portanto, da confirmação do MC[14,15,17,20,21]. Além disto, a utilização de fones de inserção é importante para possibilitar o bloqueio do tubo plástico, imprescindível para a confirmação da resposta biológica, descartando a presença de artefato elétrico do sinal[15,18,20]. Os fones de inserção sempre devem ser usados no PEATE para permitir os que artefatos de estímulo sejam separados dos potenciais cocleares[2]. Outro estudo também confirmou a resposta do MC fechando o tubo de estímulo para evitar o sinal acústico de atingir o canal auditivo, abolindo os artefatos[5].

Alguns estudos referem o uso da Ecog como teste de diagnóstico da NA. Porém há relatos de que a Eletrococleografia Transtimpânica (EcogT) é a ferramenta padrão ouro para avaliar o MC[10,14,15], pois a Ecog permite uma análise mais detalhada da função coclear em relação ao PEATE[10,15]. Entretanto as gravações no promontório são consideradas mais

sensíveis do que no canal auditivo e isso resulta numa melhor relação sinal-ruído, pois o MC surge em primeiro lugar a partir das porções mais basais da cóclea, com uma contribuição insignificante das regiões apicais[7].

Em um dos estudos revisado não foi encontrada diferença significante entre a amplitude do MC em ouvintes normais e indivíduos com NA. As amplitudes máximas de MC para quase todos os pacientes foram em torno de 0,6 ms após o estímulo[20]. A literatura refere que o MC em indivíduos com NA são especialmente proeminentes e persistem vários milissegundos após um estímulo transiente[2,24]. Outro estudo relatou que a média das amplitudes do MC de 0,4 ms em pacientes com NA, significantemente maiores do que aqueles em pessoas com audição normal[24].

A duração do MC foi maior no grupo com NA que no grupo de ouvintes normais[14,20]. Em pacientes com NA no PEATE o MC aparece amplo, podendo durar até 4 a 6 ms, podendo ser confundido, com atividade elétrica do tronco cerebral, porém não sofre alteração com a diminuição da intensidade, mas sim com a inversão da polaridade do estímulo[25].

De uma maneira geral, a literatura compulsada concorda quanto a localização, fatores de risco e os achados clínicos da NA e refere que seu diagnóstico diferencial é confirmado a partir do registro do MC, pois mesmo em estado avançado da NA o MC permanece presente.

Nesta revisão foram encontrados estudos que descrevem os exames mais utilizados para descrever as características do Microfonismo Coclear na Neuropatia/Dessincronia Auditiva, para tanto vários tipos de estudos foram selecionados, o que pode parecer uma limitação, porém, por outro lado, pode apresentar diferentes perspectivas sobre o tema, levando sempre em consideração os critérios de seleção previamente definidos.

Conclusão

A partir dos estudos incluídos nesta revisão de literatura, é possível concluir que:

- A presença do MC é um achado determinante no diagnóstico diferencial da NA.
- O protocolo de registro do MC deve contar com o uso de fones de inserção, a inversão da polaridade e o bloqueio do tubo do estímulo para impedir a interferência de artefato elétrico.
- A amplitude do MC na NA não apresenta diferença significante entre a amplitude do MC em ouvintes normais.
- A duração do MC é maior em indivíduos com NA.

Referências

1. Starr, A, Picton, TW, Sininger, Y, Hood, LJ, Berlin, CI. Auditory neuropathy. Brain. 1996; 119: 741–53.
2. Berlin CI, Bordelon J, St. John P, Wilensky D, Hurley A, Kluka E, et al. Reversing click polarity mayuncover auditory neuropathy in infants. Ear Hear. 1998; 19: 37–47.
3. Madden C, Rutter M, Hilbert L, Greinwald JH Jr, Choo DI. Clinical and audiological features in auditory neuropathy. Arch Otolaryngol Neck Surg. 2002; 128: 1026-30.
4. Foerst A, Beutner D, Lang-Roth R, Huttenbrink KB, Von Wedel H, Walger M. Prevalence of auditory neuropathy/synaptopathy in a population of children with profound hearing loss. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2006; 70: 1415–22.
5. Rance G, Beer D, Cone-Wesson B. Clinical findings for a group of infants and young children with auditory neuropathy. Ear Hear. 1999; 20: 238–52.
6. Dallos P, Cheatham MA. Production of cochlear potentials by inner and out hair cells. J. Acoust. Soc. Am. 1976; 60: 510–12.
7. Withnell RH. Brief report: the cochlear microphonic as an indication of outer hair cell function. Ear Hear. 2001; 22: 75-7.
8. Oxford Centre for Evidence-based Medicine (CEBM). Centre for Evidence Based Medicine. Levels of Evidence. 2009
9. Deltenre P, Mansbach AL, Bozet C, Clercx A, Hecox KE. Auditory neuropathy: a report on three cases with early onsets and major neonatal illnesses. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1997; 104: 17-22.
10. Santarelli R, Arslan E. Electrocochleography in auditory neuropathy. Hear Res. 2002; 170: 32-47.
11. RapinI, Gravel J. "Auditory neuropathy": physiologic and pathologic evidence calls for more diagnostic specificity. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2003; 67: 707-28.

12. Berlin CI, Hood L, Morlet T, Rose K, Brashears S. Auditory neuropathy/dys-synchrony: diagnosis and management. Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 2003; 9: 225-31.
13. Rance G. Auditory neuropathy/dys-synchrony and its perceptual consequences. Trends Amplif. 2005; 9: 1-43.
14. Santarelli R, Scimemi P, Dal Monte E, Arslan E. Cochlear microphonic potential recorded by transtympanic electrocochleography in normally-hearing and hearing-impaired ears. Acta Otorhinolaryngol Ital. 2006; 26: 78-95.
15. Anastasio AR, Alvarenga KF, Costa Filho OA. Extratympanic electrocochleography in the diagnosis of auditory neuropathy/auditory dyssynchrony. Braz J Otorhinolaryngol. 2008; 74: 132-6.
16. Ahmmed A, Brockbank C, Adshead J. Cochlear microphonics in sensorineural hearing loss: lesson from newborn hearing screening. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2008; 72: 1281-5.
17. Riazi M, Ferraro JA. Observations on mastoid versus ear canal recorded cochlear microphonic in newborns and adults. J Am Acad Audiol. 2008;19: 46-55.
18. Talaat HS, Kabel AH, Samy H, Elbadry M. Prevalence of auditory neuropathy (AN) among infants and young children with severe to profound hearing loss. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2009; 73: 937-9.
19. Mo L, Yan F, Liu H, Han D, Zhang L. Audiological results in a group of children with auditory neuropathy spectrum disorder. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2010; 72: 75-9.
20. Shi W, Ji F, Lan L, Liang SC, Ding HN, Wang H, et al. Characteristics of cochlear microphonics in infants and young children with auditory neuropathy. Acta Otolaryngol. 2012; 132: 188-96.

21. Liu C, Bu X, Wu F, Xing G. Unilateral auditory neuropathy caused by cochlear nerve deficiency. Int J Otolaryngol. 2012; 914986.

22. Penido RC, Isaac ML. Prevalence of auditory neuropathy spectrum disorder in an auditory health care service. Braz J Otorhinolaryngol. 2013; 79: 429-33.

23. Ngo RYS, Tan HKK, Balakrishnan A, Lim SB, Lazaroo DT. Auditory neuropathy/auditory dys-synchrony detected by universal newborn hearing screening. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2006; 70: 1299–306.

24. Starr A, Sininger Y, Nguyen T, Michalewski HJ, Oba S, Abdala C. Cochlear receptor (microphonic and summating potentials, otoacoustic emissions) and auditory pathway (auditory brain stem potentials) activity in auditory neuropathy. Ear Hear. 2001; 22: 91–9.

25. Spinelli M, Breuel MLF, Silva CMS. Neuropatia auditiva: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. Rev Bras Otorrinolaringol. 2001; 67: 863-7.

Apêndice F – Artigo completo

Título:

Microfonismo Coclear de Estado Estável

Introdução

A audição é um dos principais sentidos que permite a interação do indivíduo com o mundo, portanto a identificação de perdas auditivas deve acontecer o mais precoce possível, visando minimizar alterações no desenvolvimento de fala, de linguagem, psicossocial e emocional.

Atualmente, um dos maiores desafios no diagnóstico auditivo precoce é a identificação da neuropatia/dessincronia auditiva (NA/DA). A NA/DA pode ser encontrada em adultos e crianças. É uma doença caracterizada pelo comprometimento da função auditiva periférica com preservação da integridade das células ciliadas externas (CCE) (Starr et al., 1996; Sharma e Cardon, 2015).

A preservação da emissão otoacústica (EOA) e do microfonismo coclear (MC) na NA/DA é considerada uma evidência de que células ciliadas da cóclea apresentam função normal nesta desordem (Deltenre et al., 1997; Starr et al., 1996). Uma vez que o MC é gerado pela participação conjunta das células ciliadas internas e externas (Dallos & Cheatham, 1976) e sua ausência é compatível com alteração na função das células ciliadas.

Desde a sua descoberta o papel do MC na audição tem gerado muitos estudos. Inicialmente achava-se que o mecanismo envolvido em sua geração serviria para estimular as terminações nervosas do nervo coclear, porém diferente dos impulsos neurais, não apresenta período de latência. Atualmente o MC é considerado anterior ao impulso neural (Anastásio et al., 2008).

O MC geralmente é avaliado por meio do Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE), ou por meio da eletrococleografia (EcoG). Seu registro atraiu novo interesse após a identificação da neuropatia/dessincronia auditiva (NA/DA). Porém tanto o PEATE quanto a EcoG dependem da interpretação do examinador, o que pode muitas vezes, dependendo da qualidade do registro dificultar o diagnóstico, por esse motivo esse estudo se propôs desenvolver uma técnica objetiva de registro e avaliação do MC, por meio da resposta evocada auditiva de estado estável (REAEE).

A facilidade de registro e a objetividade na identificação das respostas, por meio de procedimentos estatísticos padronizados estão tornando a REAEE uma técnica cada vez mais utilizada, por acrescentar informações essências para a escolha de uma conduta terapêutica e reabilitadora eficaz em pacientes com alterações auditivas (Hall, 2006; Duarte et al., 2008; Picciotti et al., 2012; Korczak, et al., 2012).

Portanto o objetivo deste estudo é desenvolver uma técnica para o registro de uma versão de estado estável do microfonismo coclear. Pois é preciso investigar a influência que os parâmetros envolvidos na realização da técnica REAEE tem no resultado final do exame. Esses parâmetros são: frequência portadora, frequência moduladora, seja ela isolada ou combinada, tipo de estímulo, derivação dos eletrodos, tempo de estimulação ou as técnicas de processamento utilizadas para tratar o sinal de eletroencefalograma (EEG) e detectar a resposta ao estímulo (Jonh et al. 2000; Stürzebecher et al. 2006).

Revisão de literatura

A cóclea atua como um microfone, transduzindo as variações de pressão do ar produzidas pelos sons em variações do potencial elétrico da membrana das células ciliadas. Estas variações, por sua vez, são transduzidas em disparos de potenciais de ação pelas células ganglionares. Os potenciais de ação são transmitidos pelos seus axônios no nervo auditivo ao sistema auditivo central.

O eletrococleograma (ECoG) é o registro da atividade elétrica sincrônica gerada pela cóclea e segmentos iniciais do nervo auditivo durante a conversão dos sons em impulsos nervosos (Abbas & Brown, 2009). Quanto mais próximo à cóclea os eletrodos de registro forem colocados, maior será a amplitude dos potenciais registrados. O componente de maior amplitude do ECoG em resposta a um click de intensidade elevada tem amplitude de cerca de 15 µV se registrado no promontório, 3 µV na membrana timpânica, 1.5 µV no conduto auditivo externo e 0.5 µV no lóbulo da orelha ou mastoide (Picton, 2011).

O ECoG é constituído por 3 componentes (Schoonhoven, 2007): o microfonismo coclear (MC), o potencial de somação (PS) e o potencial de ação composto (PAC). O MC é a soma dos campos elétricos produzidos pelas oscilações do potencial de membrana de todas as células ciliadas ativadas pelos sons. O MC é gerado principalmente pelas células ciliadas das regiões basais da cóclea (Sohmer et al., 1980; Withnell, 2001), por responderem mais sincronicamente ao estímulo e por situarem-se mais próximas ao eletrodo de registro. O MC fornece uma medida direta da função das células ciliadas.

Os pacientes com NA/DA podem apresentar um MC mais longo, que pode ser confundido com uma possível resposta do nervo auditivo no PEATE. Ao inverter a polaridade do estímulo, a resposta também será invertida quando se trata do MC, porém essa mudança não altera a polaridade se for resposta do nervo auditivo. Esse método deve ser sempre usado

como forma de sensibilização do exame e detecção de respostas mais confiáveis (Spinelli et al., 2001).

As respostas evocadas auditivas de estado estável (REAEE) são respostas eletrofisiológicas a tons modulados em amplitude, frequência ou fase que podem ser registradas por eletrodos de superfície, tal como os demais potenciais evocados corticais ou de tronco cerebral. As REAEE são ondas contínuas periódicas eliciadas por tons contínuos que podem ser de amplitude ou frequência moduladas (Aoyagi et al., 1994).

A fisiologia da REAEE se diferencia na cóclea, onde o som causa polarização e despolarização das células ciliadas internas, mas somente a despolarização produz potenciais de ação nas fibras nervosas auditivas, assim a saída da cóclea contém um padrão retificado do estímulo acústico. Em relação ao potencial microfônico gerado pelas células ciliadas externas, sua captação se torna possível devido a não-linearidade da sua curva de disparo de resposta. Neste caso o som também causa polarização e despolarização nas células ciliadas externas, porém há uma assimetria entre polarização (potencial positivo) e despolarização (potencial negativo), sendo o potencial negativo mais abrupto e com disparo de menor amplitude (Furukawa et al., 1972; Corey & Hudspeth, 1982). Este padrão de retificação faz com que a resposta gerada por um tom contínuo, modulado em amplitude, possa ser detectada como um pico espectral na frequência de modulação (Aoyagi et al., 1994).

Material e Métodos

O presente estudo teve a aprovação do CEP – UFPE, com parecer número: 728.902.

Foram analisados 26 voluntários de ambos os gêneros, com limiares auditivos tonais menores que 25 dBNA para as frequências de 250 à 8000 Hz. Foram excluídos aqueles que apresentavam exposição a ruído ocupacional ou de lazer, cirurgias na orelha média e/ou interna, mais de três infecções de orelha média, uso de medicação ototóxica, alterações hormonais, presença de zumbido, vertigens, tonturas ou outras alterações cócleo-vestibulares.

Primeiramente foi feita uma otoscopia e uma audiometria tonal. Seguida da limpeza da pele com a pasta NUPREP e a colocação dos eletrodos, com a derivação: Eletrodo Terra na clavícula direita, Referência G2 lóbulo contralateral e o Ativo G1 no CAE da orelha analisada. O eletrodo utilizado dentro do CAE foi o *Gold TTE25 Tip Trode Electrode* 13mm, os demais foram eletrodos descartáveis da marca *Meditrace 200*.

A produção do estímulo e o registro e analise das respostas foram realizados utilizando-se um sistema MASTER (Multiple Auditory Steady-State Response) de pesquisa (John e Picton, 2000), acoplado ao Audiômetro AC33 *Interacoustc*. Todos os testes foram realizados com fone de inserção E.A.R. Tone 3, dentro da cabine acústica.

O número máximo de varreduras utilizadas em média foram 36 para obtenção do valor de $p < 0,05$. Quando atingido o nível de significância esperado, o mesmo foi confirmado em pelo menos 2 varreduras subsequentes. A coleta foi interrompida na presença de alta taxa de estímulos rejeitados.

Para o primeiro experimento, foram usados tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz foram modulados na mesma frequência (95 Hz) e apresentados conjuntamente à orelha esquerda a intensidades de 60, 70 e 80 dBNPS. Para eliminar as respostas neurais o estímulo foi apresentado na presença de ruído branco com a menor intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo pelo voluntário. Esta intensidade variou entre 10 a 20 dB acima da

intensidade que o estímulo foi apresentado. Foram obtidos registros na presença e ausência de mascaramento. Também foram obtidas respostas com o tubo do fone de inserção clipado com uma pinça.

No segundo experimento, tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, modulados a 95 Hz, foram apresentados independentemente a orelha esquerda com uma intensidade de 80 dBNPS. Estes estímulos também foram apresentados conjuntamente, como no experimento anterior.

Para o terceiro experimento tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz foram modulados nas frequências de 95 Hz, 130, 160, 190 e 220 Hz e apresentados conjuntamente à orelha esquerda a uma intensidade de 80 dBNPS.

Resultados

A idade dos indivíduos avaliados variou entre 18 e 59 anos (média: 35,4 anos, desvio-padrão (DP) = 10,43 anos).

O primeiro experimento visou estudar especificamente o componente de seguimento de envelope do MC de estado estável. O grupo foi formado por 6 participantes, foram avaliadas 6 orelhas, sendo preferencialmente a orelha esquerda ou a orelha com os melhores limiares auditivos.

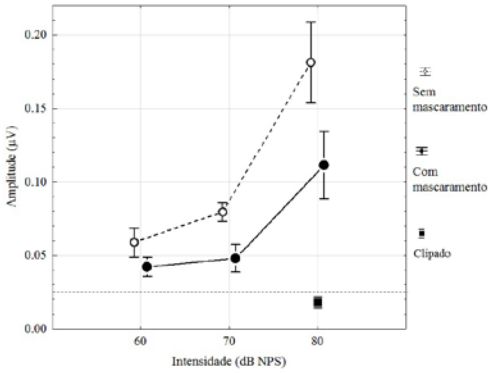


Figura 1 – Respostas com e sem mascaramento. Médias (± erro padrão) das amplitudes das respostas auditivas de estado estável em resposta a tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz modulados em amplitude a 95 Hz, apresentadas à orelha esquerda com intensidades de 60, 70 e 80 dBNPS e registradas utilizando a montagem ilustrada na figura 4. As repostas foram obtidas na ausência (círculos sem preenchimento) e na presença (círculos preenchidos) de ruído branco com intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo pelo voluntário. O quadrado preenchido representa os registros obtidos com o tubo do fone clipado por uma pinça. A linha tracejada horizontal representa a amplitude média do ruído residual no final dos registros, estimado pelas amplitudes dos componentes espectrais de frequência situados em uma faixa 4 Hz abaixo e acima da frequência de modulação. As respostas com mascaramento têm cerca de 60% das amplitudes das respostas sem mascaramento.

As amplitudes das respostas foram maiores na condição sem mascaramento e crescem com o aumento da intensidade do estímulo. Uma analise de variância (ANOVA) multifatorial de medições repetidas mostrou uma interação significativa ($F(2,10)=11.686$, $p=0.002$) entre condição (com e sem mascaramento) e intensidade do estímulo (60, 70 e 80 dBNPS). A análise post-hoc (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores das respostas sem mascaramento nas intensidades de 70 e 80 dBNPS. As amplitudes em 80 dBNPS foram significativamente maiores que as amplitudes em 70 e 60 dB, em ambas as condições. A

diferença entre as amplitudes das repostas em 70 e 60 dBNPS alcançou significância apenas na condição sem mascaramento. O p crítico considerado foi de 0.05.

A amplitude da resposta cresceu bem mais rapidamente entre 70 e 80 dB NPS que entre 60 e 70 dB NPS, tanto na condição com como sem mascaramento (6.3 versus 0.6 nV/dB e 10.2 versus 2.1 nV/dB, respectivamente). Uma ANOVA fatorial de medições repetidas apresentou efeitos principais significativos para faixa de intensidade (F(1,5)=7.668, p=0.039) e presença ou não de mascaramento (F(1,5)=19.951, p=0.007), sem interação significativa entre as condições (F(1,5)1.555, p=0.268).

O segundo experimento verificou os efeitos da frequência da portadora no MC de estado estável. Dez voluntários participaram dos registros. Neste experimento utilizou-se apenas a condição com mascaramento, como demonstra a figura 2. As mesmas condições de registro do experimento anterior foram utilizadas.

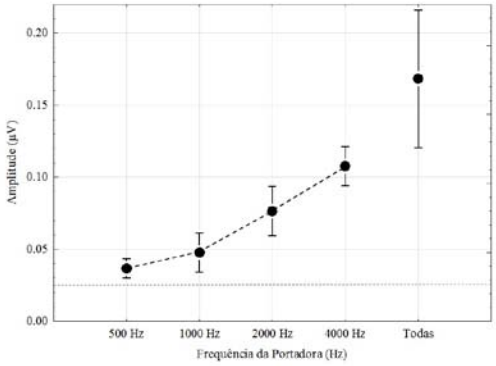


Figura 2 – Efeito da frequência da portadora sobre a amplitude do MCEE. Os tons de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, todos modulados a 95 Hz, foram apresentados independentemente a orelha esquerda a uma intensidade de 80 dBNPS, na presença de ruído branco de intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo. Os tons foram também apresentados conjuntamente. As amplitudes crescem com a frequência da portadora. A amplitude da resposta ao estímulo combinado é maior que a amplitude da resposta a qualquer frequência isolada.

A amplitude da resposta cresce com a frequência da portadora (500 Hz < 1000 Hz < 2000 Hz < 4000 Hz). A amplitude da resposta ao estímulo combinado é maior que a amplitude da resposta ao estímulo de 4000 Hz, porém é menor que a soma das amplitudes dos estímulos isolados. A analise de variância (ANOVA) simples de medições repetidas foi

significativa (F(4,4)= 7.284, p=0.0002). A análise post-hoc (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores das respostas ao estímulo combinado que aos estímulos isolados. A amplitude da resposta ao estímulo de 4000 Hz é significativamente maior que aos estímulos de 1000 e 500 Hz.

O terceiro experimento foi realizado para investigar o efeito da frequência de modulação sobre as respostas. Os voluntários e o protocolo de registro foram os mesmos do experimento anterior. A Figura 3 mostra os resultados.

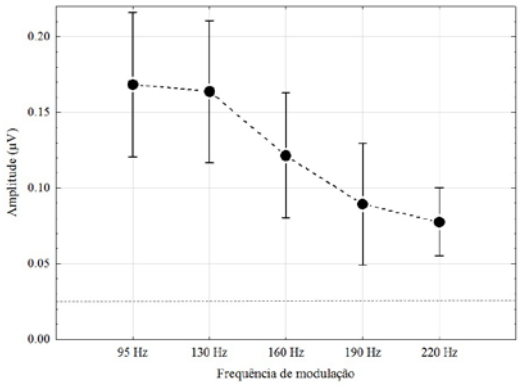


Figura 3 – Efeito da frequência de modulação sobre a amplitude do MCEE. O estímulo combinado foi modulado a 95, 1230, 160, 190 e 220 Hz e apresentado a uma intensidade de 80 dBNPS a orelha esquerda na presença de ruído branco de intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo. As amplitudes diminuem significativamente com frequências de modulação acima de 160 Hz.

Respostas significativas puderam ser obtidas com frequências de modulação até 220 Hz. A amplitude da resposta decresce significativamente com frequências de modulação acima de 160 Hz. A analise de variância (ANOVA) simples de medições repetidas foi significativa (F(4,4)=3.304, p=0.0210) e a análise post-hoc (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores para os estímulos modulados em 95, 130 e 160 Hz que em 190 e 220 Hz. Nas frequências portadoras de 95, 130, 160 Hz as amplitudes não foram significativamente diferentes.

Discussão

A escolha da derivação visou uma captação mais adequada do MC, uma vez que os campos elétricos gerados pelo gânglio espiral, nervo auditivo e núcleo coclear são também transversais, apontando para a orelha contralateral. Os campos elétricos gerados pelo lemnisco lateral e córtex auditivo são verticais, apontando para o vértex. A derivação transversal utilizada minimiza a captação de campos verticais, usualmente de amplitudes bem maiores que os campos transversais (Herdman et al., 2002).

O eletrodo ativo no CAE garantiu uma resposta mais robusta, pois o eletrodo se encontra próximo ao centro gerador “a cóclea”. O MC obtido a partir de gravações no promontório é reconhecido como um forte potencial (Eggermont, 1976), originário principalmente a partir da ativação das CC localizadas na região mais basal da cóclea, com a CCE que contribuem essencialmente para a produção de uma resposta (Dallos, 1983). A avaliação de outros potenciais evocados como o PEATE e EcoG com o eletrodo ativo inserido no CAE também apresenta o registro da resposta do MC maior (Starr et al., 1996; Riazi e Ferraro, 2002; Anastasio, 2008; Masood et al., 2012; Stuermer et al., 2015).

As respostas neurais foram reduzidas pela estimulação em ritmos rápidos – 95 Hz (Chatrian et al., 1982) e suprimidas pela apresentação do estímulo em presença de ruído branco com intensidade suficiente para impedir a percepção do estímulo pelo voluntário (Starr et al., 1996).

As células ciliadas das regiões estimuladas transduzem o estímulo sonoro em oscilações do seu potencial de membrana. A transdução assimétrica compressiva liberará energia na frequência de modulação (componente de seguimento de envelope do MC). Na sinapse com as células ganglionares haverá uma retificação completa do sinal transduzido e liberação de mais energia na frequência de modulação (componente de seguimento de envelope das respostas neurais). A resposta captada pelos eletrodos é uma soma do MC, das repostas

neurais e do ruído produzido pelo cérebro, músculos da cabeça e outras fontes (Berlin et al., 1998). Com a apresentação do estímulo na presença do mascaramento as respostas neurais são extintas e apenas o MC será captado.

Experimentos usando o mascaramento ipsi lateral demonstraram que as respostas são realmente originarias do MC (Starr et al., 1996; Herdman et al., 2002). A redução da resposta causada pelo mascaramento resulta na mudança de latência neural, mas não nas respostas sensoriais (Berlin et al., 1998).

Para afastar qualquer possibilidade da interferência de artefatos elétricos e garantir a discriminação entre respostas genuínas neurofisiológicas auditivas foi utilizada a técnica de bloquear o tubo do fone “clipar” (saída do estímulo acústico), dessa forma a resposta desapareceu em todos os casos, confirmando que os dados obtidos eram realmente do MC. Porém ao clipar o tubo de inserção é preciso ter cuidado para não mover o transdutor ou os eletrodos, pois isso mudaria qualquer artefato de estímulo, introduzir elementos de incerteza na interpretação da presença do MC (Deltenre et al., 1997; Rance, 2005; Lightfoot et al., 2011; Masood et al., 2012).

O primeiro experimento demonstrou que o componente de seguimento de envelope do MC obtido com um estímulo de estado estável constituído por tons audíveis modulados em amplitude pode ser registrado e analisado no domínio da frequência. A amplitude da resposta com mascaramento é cerda de 60% da amplitude da resposta sem mascaramento. Isto sugere que boa parte da resposta obtida sem mascaramento é potencial microfônico.

Com intensidades baixas e moderadas apenas células ciliadas próximas da região da membrana basilar estimulada pela frequência da portadora são ativadas, pois a cóclea atua como um filtro passa-banda. Quando a intensidade ultrapassa 70 dB NPS a cóclea passa a atuar como um filtro passa-baixa e células ciliadas situadas bem acima da frequência da portadora são estimuladas. A soma das variações de potenciais de membrana das células

ciliadas ocorreria mais efetivamente nas regiões basais de alta frequência da membrana basilar, pela maior sincronia entre os potenciais (Lins, 2002).

Para a REAEE a amplitude cresce 1.9 nV/dB entre 20 e 70 dB NPS, de modo razoavelmente linear. Após 70 dB NPS a amplitude cresce quatro vezes mais rapidamente: 7.8 nV/dB. Esta diferença é maior para os estímulos com portadoras de frequência mais baixa: 500 Hz > 1000 Hz > 2000 Hz. Provavelmente porque o crescimento mais rápido da amplitude das respostas após 70 dB NPS seja causado por estímulos de fibras do nervo auditivo com frequências características acima da frequência da portadora (Lins, 2002).

As frequências portadoras apresentam amplitudes maiores nas frequências médias (1000 e 2000 Hz), decrescendo significativamente nas baixas (500 Hz) e altas frequências (4000 Hz). Esse comportamento é atribuído à diminuição do tempo de ativação da membrana basilar, em cada ciclo de estimulação por frequências altas. Portanto frequências portadoras baixas, embora o tempo de ativação seja maior, os neurônios respondem a fases diferentes de modo que a superposição das respostas é atenuada (Picton et al., 2003).

Apesar da amplitude da resposta ao estímulo combinado ser maior que as respostas aos estímulos isolados, esta amplitude é menor que a soma algébrica das amplitudes das respostas aos estímulos isolados, pois a soma das amplitudes das ondas viajantes da membrana basilar é vetorial e não modular. Dependendo da relação entre as fases das ondas nas diferentes regiões da membrana basilar pode haver soma (em caso de fases iguais), subtração (em caso de fases opostas) ou valores intermediários entre a soma e a subtração (em caso de diferenças intermediárias entre as fases).

A frequência portadora pode ser avaliada de forma isolada ou combinada (vários estímulos apresentados a uma orelha ou ambas). O estímulo combinado demonstra o potencial para reunir mais informações em um curto período de tempo, acelerando assim o tempo de teste (Ferraz et al., 2002). A apresentação combinada não causa uma diminuição da

amplitude, em uma ou ambas as orelhas, desde que as frequências portadoras estejam separadas por pelo menos uma oitava (Herdman et al., 2003).

Novos experimentos especificamente desenhados para estudar o efeito da frequência de modulação sobre o MC de estado estável podem lançar luzes sobre este interessante problema. As respostas microfônicas puderam ser obtidas com facilidade com modulações até 220 Hz, embora as amplitudes tenham caído significativamente após 160 Hz. É possível que a frequência relativamente baixa da conversão analógica-digital (1000 Hz) e o filtro passa-baixa de 300 Hz tenham diminuído artificialmente a amplitude das respostas acima de 180 Hz.

A amplitude da resposta diminuiu com o aumento da frequência moduladora, provavelmente porque a resposta do MC é gerada na base da cóclea, região responsável pelas altas frequências, onde a sincronia é maior. Os estudos em animais mostraram que o MC gravado a partir da janela redonda é originado por geradores localizados na base da cóclea (Withnell, 2001).

A versão retificada do tom modulado em amplitude tem um componente espectral na frequência na qual o tom foi modulado (ausente no estímulo original). Este componente representa a transdução do estímulo pela cóclea e por isso pode ser utilizado para avaliar a sensibilidade da cóclea a este estimulo (Lins, 2002).

Conclusão

A técnica para o registro de uma versão de estado estável do microfonismo coclear apresenta características promissoras para o estudo do microfonismo coclear e diagnóstico diferencial da neuropatia auditiva.

4. Seu registro pode ser realizado nas intensidades de 60 a 80 dB NPS.
5. A frequência portadora ideal para seu registro é 500, 1000, 2000 e 4000 Hz, combinadas.
6. A frequência moduladora ideal para seu registro é de 95 Hz.

Referências bibliográficas

Anastasio RTA, Alvarenga KF, Costa Filho AO. Eletrococleografia extratimpânica na neuropatia/dessincronia auditiva. Rev Bras Otorrinolaringol 2008;74(1):132-6.

Aoyagi M, Kiren T, Furuse H, Fuse T, Suzuki Y, Yokota M, Koike Y. Pure-Tone threshold prediction by 80Hz amplitude-modulation following response. Revista Acta Otolaryngology (Stockh) Supplement. 1994;504:7-14.

Berlin CI, Bordelon J, St. John P, Wilensky D, Hurley A, Kluka E, Hood LJ Reversing click polarity may uncover auditory neuropathy in infants. Ear and Hearing 1998;19:37–47.

Corey DP, Hudspeth AJ. Analysis of the microphonic potential of the bullfrogs sacculus. Revista The Journal of Neuroscience. 1982;3(5):942-961.

Dallos P. Cheatham MA. Production of cochlear potentials by inner and out hair cells. Journal of the Acoustical Society of America. 1976;60, 510–2.

Dallos P. Some electrical circuit properties of the organ of Corti. I. Analysis without reactive elements. Hear Res. 1983;12:89-120.

Deltenre P, Mansbach AL, Bozet C, Clercx A, Hecox KE. Auditory neuropathy: a report on three cases with early onsets and major neonatal illnesses. ElectroencephalogrClinNeurophysiol. 1997;104(1):17-22.

Duarte Jl, Alvarenga Kf, Garcia Tm, Costa Filho Oa, Lins Og. A resposta auditiva de estado estável na avaliação auditiva: aplicação clínica. Pro Fono. 2008;20(2):105-10.

Eggermont JJ. Electrocochleography. In: Keidel WD, NeffWD, editors. Handbook of sensory physiology. Berlin: Auditorysystem, Springer Verlag. 1976;625-705.

Ferraro JA, Durrant JD. Electrocochleography. In: Katz J. ed. Handbook of Clinical Audiology. 5th edition. Baltimore: Lippincott, Williams and Wilkins. 2002;249–273.

Ferraz OB, Freitas SV, Marchiori LLM. Análise das respostas obtidas por potenciais evocados auditivos de estado estável em indivíduos normais. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. 2002;68(4):480-486.

Furukawa T, Ishii Y, Matsuura S. An analysis of microphonic potencials of the sacculus of goldfish. Revista Japan Journal of Physiology. 1972;22:603-16.

Hall JW. Introduction to Auditory Evoked Responses Measurement. In: Hall JW III. New Handbook of Auditory Evoked Responses. Boston: Allyn and Bacon; 2006;58-108.

Herdman AT, Picton TW, Stapells DR. Place specificity of multiple auditory steady-state responses. J Acoust Soc Am. 2002;112(4):1569-82.

John MS, Picton TW. Human auditory steady-state responses to amplitude-modulated tones: phase and latency measurements. Hearing Research. 2000;141:57-79.

Korczak P, Smart J, Delgado R, Strobel Tm, Bradford C. Auditory Steady-State Responses. J Am Acad Audiol. 2012;23:146-70.

Lightfoot G, Stevens J, Sutton G, Brockbank C, Mason S. Guidelines for Cochlear Microphonic Testing. Newborn hearing screening and assessment. 2011.

Lins OG. Audiometria Fisiológica Tonal Utilizando Respostas de Estado Estável auditivas do tronco cerebral. 116 f. Tese de doutorado em medicina (Escola Paulista de Medicina). 2002.

Masood A, Teal PD, Hollitt C. A non-invasive Cochlear Microphonic measurement system. Medical Engineering & Physics. 2012;34:1191-95.

Picciotti PM, Giannantonio S, Paludetti G, Conti G. Steady state auditory evoked potentials in normal hearing subjects: evaluation of threshold and testing time. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec. 2012;74(6):310-4.

Picton TW, Hillyard SA, Kraus HI, Galambos R. Human Arditory Evoked Potentials. I Evaluation of Components. Electroencephalorgraphy and Clinical Neurophisiology. 1974;36:179-90.

Picton TW, John MS, Dimitrijevic A, Purcell DW. Human auditory steady-state responses. Inter J Audiol. 2003;42(4):177-219.

Rance G. Auditory neuropathy/dys-synchrony and its perceptual consequences. Trends Amplif 2005;9:1-43.

Riazi M, Ferraro JA. Observations on Mastoid versus Ear Canal Recorded Cochlear Microphonic in Newborns and Adults. J Am Acad Audiol. 2008;19:46–55.

Sharma A, Cardon G. Cortical development and neuroplasticity in Auditory Neuropathy Spectrum Disorder. Hearing Research. 2015:1-12.

Spinelli M, Fávero-Breuel ML, Silva CMS. Neuropatia auditiva: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. Rev. Bras. Otorrinolaringol., Nov 2001;67(6):863-867.

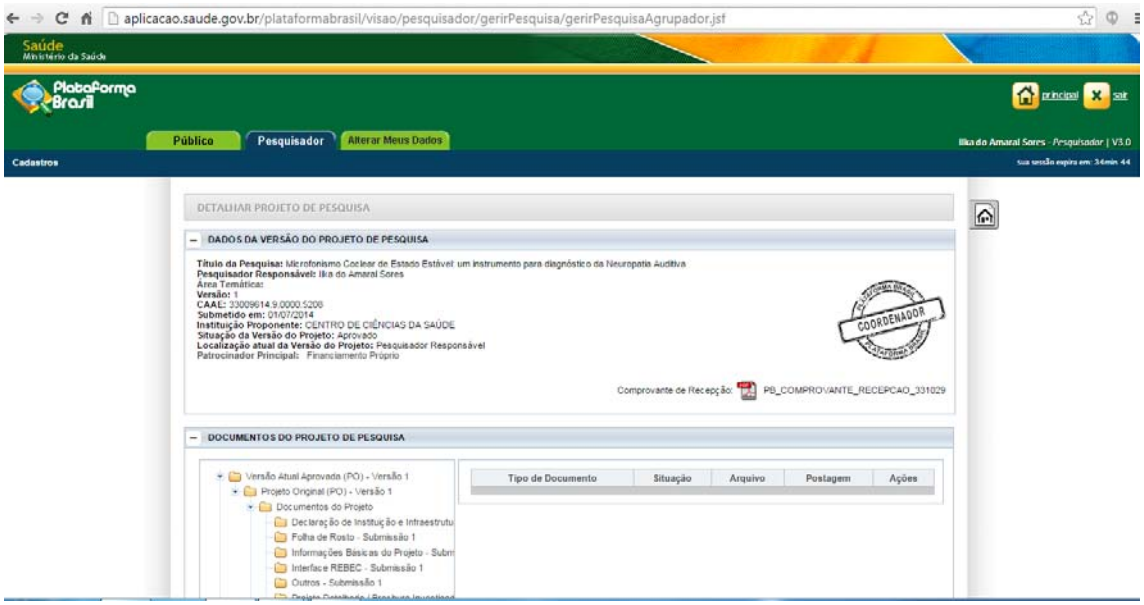
Starr A, Picton TW, Sininger Y, Hood L, Berlin CI. Auditory Neuropathy. Brain 1996;119:741-53.

Stuermer KJ, Beutner D, Foerst A, Hahn M, Lang-Roth R, Walger M. Electrocochleography in children with auditory synaptopathy/ neuropathy: Diagnostic findings and characteristic parameters. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology. 2015;79;139-45.

Withnell RH. Brief report: the cochlear microphonic as an indication of outer hair cell function. Ear Hear 2001;22:75-7.

ANEXOS

Anexo A – Aprovação do CEP/UFPE



Anexo B – Capítulo de livro publicado no Tratado de Audiologia 2015

15 Microfonismo Coclear de Estado Estável

Ilka do Amaral Soares ▪ Otávio Gomes Lins

Introdução

...auditivo nos permite escutar sons[1]. A cóclea atua ...crofone, transduzindo as variações de pressão do ...pelos sons em variações do potencial elétrico ...das células ciliares. Estas variações, por sua vez, ...em disparos de potenciais de ação pelas célu... Os potenciais de ação são transmitidos pelos ...no nervo auditivo ao sistema auditivo central. O ...grama (ECoG) é o registro da atividade elétrica ...gerada pela cóclea e segmentos iniciais do nervo ...a conversão dos sons em impulsos nervosos[2]. ...próximo à cóclea os eletrodos de registro forem ...será a amplitude dos potenciais registrados. ...registrados no promontório são cerca de 5 vezes ...membrana timpânica, 10 vezes maiores que os ...conduto auditivo externo e 30 vezes maiores que ...lóbulo da orelha ou mastoide[3-5]. Como uma ...componente de maior amplitude do ECoG em ...clique de intensidade elevada tem amplitude de ...se registrado no promontório, 3 μV na mem... 1,5 μV no conduto auditivo externo e 0,5 μV ...orelha ou mastoide[6].

...constituído por 3 componentes[7]: o microfonis... MC), o potencial de somação (PS) e o potencial ...posto (PAC). O MC é a soma dos campos elétricos ...pelas oscilações do potencial de membrana de to... ciliares ativadas pelos sons. O MC é gerado prin... pelas células ciliares das regiões basais da cóclea[8,9], ...em mais sincronicamente ao estímulo e por situ... próximas ao eletrodo de registro. O MC fornece ...direta da função das células ciliares. A origem do ...conhecida e provavelmente inclui a assimetria ...despolarização da região basal das células ciliares e ...périfericos das células ganglionares. O PAC é a soma ...elétricos produzidos pelos potenciais de ação das ...ganglionares ativadas pelos sons.

...componentes do ECoG podem ser dissecados atra... técnicas simples. O MC acompanha a polari... estímulo sonoro, enquanto o PS e o PAC têm sempre a mesma polaridade, independentemente da polaridade do estímulo. A amplitude do PAC decresce substancialmente com o aumento da frequência de estimulação (pois as células ganglionares não conseguem disparar consistentemente potenciais de ação em resposta a estímulos de 100 Hz ou mais), enquanto a amplitude do MC e do PS é relativamente inalterada pelo aumento da frequência de estimulação. O registro a frequências altas de estimulação apresenta PAC de amplitude reduzida, permitindo melhor visualização do MC e do PS[10]. Finalmente, o mascaramento com ruído de banda larga elimina o PAC sem afetar o MC e o PS, pois impede o disparo sincrônico de potenciais de ação sem alterar o potencial receptor. Registrando-se em presença de mascaramento suficiente para eliminar a percepção do estímulo obtém-se o MC e o PS sem o PAC.

O ECoG é usualmente obtido com estímulos transientes (como cliques ou tons de curta duração) e analisado no domínio do tempo. Este capítulo aborda a obtenção do ECoG, em especial o MC, com estímulos de estado estável e sua análise no domínio da frequência. Um estímulo auditivo de estado estável frequentemente utilizado é construído modulando-se a amplitude de um tom puro a uma frequência entre 80 e 110 Hz[11]. Este tipo de tom estimulará uma determinada região da membrana basilar (Figura 15.1) e a modulação em amplitude fará com que a intensidade da estimulação varie periodicamente, na frequência da modulação. A resposta da cóclea a este tipo de estímulo possuirá energia tanto na frequência espectral do tom quanto na frequência de modulação. O estímulo em si possui energia apenas na frequência espectral do tom e em bandas acima e abaixo desta, porém não possui energia na frequência de modulação. A energia na frequência de modulação aparecerá apenas durante o processo de transdução do estímulo pela cóclea.

A cóclea transforma oscilações de pressão sonora em oscilações do potencial de membrana das células ciliares. As células ciliares fixam-se sobre a membrana basilar e seus estereocílios prendem-se na membrana tectória. O movimento da membrana basilar em resposta ao estímulo dobra os estereocílios das células ciliares, presos na membrana tectória, de um lado para o outro. Quando a membrana basilar move para

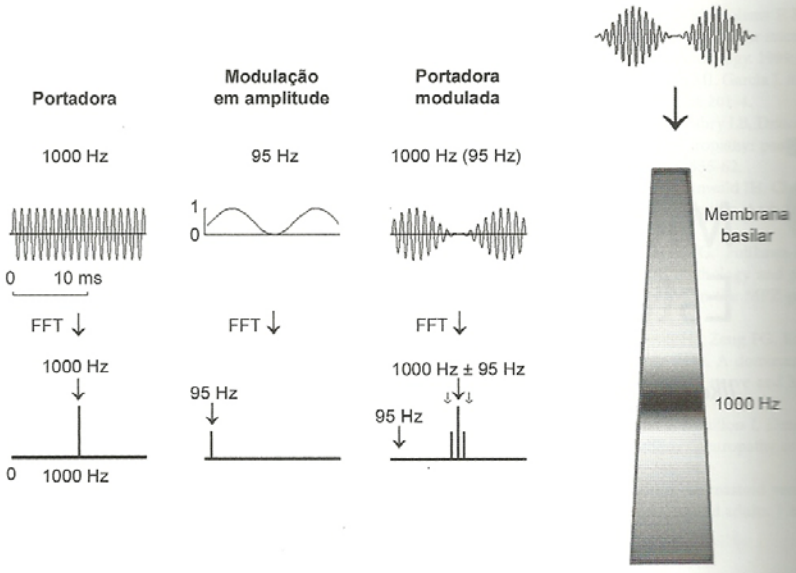


Figura 15.1 Tom modulado em amplitude e sua ação na membrana basilar. Para melhor visualização somente breves segmentos das ondas são mostrados. As 3 primeiras colunas mostram que o estímulo é gerado multiplicando um tom audível (portadora) por uma onda moduladora cuja amplitude varia de 0 a 1. Na parte superior da figura estão as representações das ondas no domínio do tempo (formas temporais), enquanto na parte inferior da figura estão as representações no domínio da frequência (espectros de amplitude). Note que o estímulo modulado em amplitude não tem energia na frequência de modulação (95 Hz). A energia nesta frequência aparecerá apenas após a transdução coclear, com veremos na figura 15.3. O quarto direito da figura mostra que o estímulo fará vibrar com maior intensidade determinada região da membrana basilar, relacionada à frequência do tom (portadora). A modulação em amplitude fará com que a intensidade desta vibração varie no ritmo da modulação.

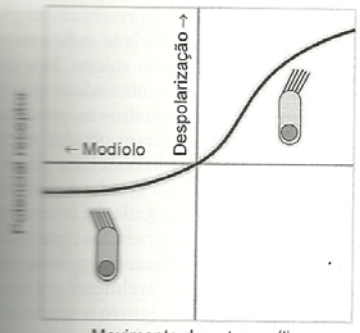
cima os estereocílios dobram no sentido contrário ao modíolo e ocorre uma despolarização da membrana da célula ciliar. O oposto ocorre quando a membrana basilar move-se para baixo: os estereocílios dobram no sentido do modíolo e ocorre uma hiperpolarização da membrana. Durante a despolarização da membrana ocorre a liberação de um neurotransmissor (provavelmente o glutamato) pela região pré-sináptica da célula ciliar[12]. Este promove a despolarização do processo periférico das células ganglionares e o disparo de potenciais de ação, que se propagam por seus axônios no nervo auditivo em direção ao núcleo coclear do tronco cerebral.

Existem dois tipos de células ciliares, que desempenham funções distintas na transdução acústica. As células ciliares internas são os receptores cocleares propriamente ditos[13]. Cada célula ganglionar conecta-se com uma única célula ciliar interna (cada célula ciliar interna conecta-se com cerca de 20 células ganglionares). Este arranjo um a um é consistente com a função receptora, transdutora e codificadora da vibração de regiões específicas da membrana basilar. Porque a onda viajante distribui as frequências dos sons ao longo da membrana basilar, o conteúdo de frequência dos sons é mapeado no padrão de ativação das células ciliares internas e das fibras aferentes do nervo auditivo, em um sistema de "linha rotulada".

Além da capacidade de transdução do som em oscilações do seu potencial de membrana, as células ciliares externas têm a capacidade de mudar ativamente seu comprimento em resposta a mudanças do seu potencial de membrana, como pequenos músculos[14]. Esta capacidade transdutora e contráctil, aliada à conexão mecânica entre as células ciliares e internas, funciona como um sistema ativo amplificador e sintonizador, que aumenta grandemente a sensibilidade e a seletividade de frequência do receptor coclear, principalmente a estímulos de baixa intensidade[14].

A transdução do som em oscilações do potencial de membrana não é linear. As oscilações do potencial de membrana das células ciliares não são uma cópia fiel do estímulo acústico[15]. A transdução não linear introduz novos componentes de frequência no sinal transduzido. Com estímulos de baixa intensidade a magnitude do potencial de membrana aumenta de modo relativamente linear a intensidade do estímulo. Mas o aumento da intensidade do estímulo a magnitude do potencial de membrana aumenta mais lentamente que o aumento da intensidade do estímulo e por fim alcança um platô. A transdução pelas células ciliares é, portanto, compressiva. Além disto, esta compressão é *assimétrica*, ocorrendo mais rápida durante a hiperpolarização que durante a despolarização da membrana da célula ciliar (Figura 15.2).

A compressão assimétrica causará o aparecimento de energia no transduzido, de energia na frequência de modulação, mesmo esta que não existia no estímulo[16]. O MC, que é o componente do potencial receptor do conjunto das células ciliares, preserva a energia tanto na frequência espectral do tom (resposta microfônica de seguimento de frequência) como na frequência de modulação (resposta microfônica de seguimento de envoltória). Na sinapse entre a célula ciliar e a célula ganglionar ocorre uma retificação completa do sinal, pois o disparo de potenciais de ação pelas células ganglionares ocorre apenas durante a despolarização da célula ciliar. Isto causará o aparecimento de ainda mais energia na frequência de modulação. As fibras neurais possuirão também energia na frequência

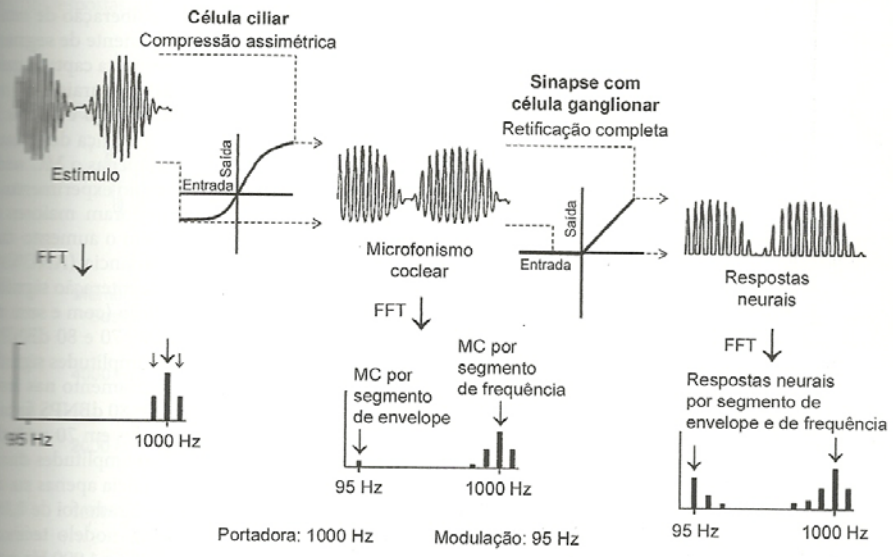


Função transdutora das células ciliares. As células ciliares ao longo da membrana basilar e seus estereocílios estão membrana tectorial. O movimento da membrana basilar células ciliares montadas sobre ela provocará o movi- estereocílios para um lado e para o outro. A membrana despolariza ou hiperpolariza dependendo do sentido estereocílio dobra: Quando a membrana basilar move-se estereocílios são dobrados em direção contrária ao mo- membrana a célula ciliar despolariza. O oposto ocorre quan- membrana basilar move-se para baixo: os estereocílios dobram modíolo e a membrana a célula ciliar hiperpolariza. A movimento do estereocílio e a mudança do potencial é não linear e assimétrica. A transdução é compressiva é mais aguda durante a hiperpolarização que durante da membrana da célula ciliar.

do tom (resposta neural de seguimento de frequência) e na frequência de modulação (resposta neural de seguimento de envelope). A Figura 15.3 apresenta um modelo do que ocorre durante a transdução coclear.

As respostas neurais de seguimento de frequência diminuem de amplitude com o aumento da frequência do tom[17]. Neurônios auditivos isolados conseguem disparar apenas algumas centenas de vezes por segundo, porém uma população de neurônios, cada um disparando após um determinado número de ciclos, consegue produzir respostas de seguimento de frequência até cerca de 1.500 Hz. Acima desta frequência os neurônios não conseguem disparar de modo coerente e as respostas são difíceis de serem distinguidas do ruído. O componente de segmento de frequência do microfonismo coclear acompanha frequências de praticamente todo espectro audível. As respostas neurais de segmento do envelope não dependem da capacidade dos neurônios auditivos de seguirem pontualmente a frequência espectral do tom portador, mas de seguirem a frequência do seu envelope. As respostas auditivas neurais de segmento de envelope apresentam um pico de maior amplitude em torno de 40 Hz e outro de menor amplitude em torno de 90 Hz, porém podem ser obtidas até cerca de 500 Hz em sujeitos jovens[18]. Pelo nosso conhecimento, o componente de segmento de envelope do microfonismo coclear ainda não foi estudado.

Nós decidimos realizar um experimento para estudar especificamente o componente de segmento de envelope do MC de estado estável. A Figura 15.4 ilustra a colocação dos eletrodos



Modelo da transdução coclear de um tom modulado em amplitude. Esta figura ilustra o que ocorre durante a transdução do tom amplitude mostrado na Figura 15.1 (portadora de 1.000 Hz, modulada a 95 Hz). As colunas ilustram o estímulo, a célula ciliar, o coclear, a sinapse entre a célula ciliar e a célula ganglionar e as respostas neurais, que são o produto final da transdução coclear saída da cóclea pelo nervo auditivo. Os sinais são representados no domínio do tempo na parte superior da figura e no domínio na parte inferior da figura. Na coluna da esquerda é mostrado o tom modulado em amplitude. Este estímulo possui energia na portadora e em bandas laterais (905 e 1095 Hz: 1.000 ± 95 Hz), porém não possui energia na frequência de modulação (95 Hz). O transduzido pelas células ciliares em variações do seu potencial de membrana. A transdução é não linear e compressiva. A compressão, sendo mais aguda durante a hiperpolarização que a despolarização da membrana da célula ciliar. O potencial receptor do células ciliares constitui o microfonismo coclear. Este já possui energia na frequência de modulação (componente de segmento além de nas frequências já presentes no estímulo (componentes de segmento de frequência). Isto é mostrado no domínio do inferior da figura. O microfonismo coclear é transduzido pela sinapse entre a célula ciliar e a célula ganglionar em disparos de ação por estas últimas. Isto ocorre apenas durante a despolarização da célula ciliar, causando uma retificação completa do sinal. neurais possuem ainda mais energia na frequência de modulação (e harmônicas), além de energia na frequência da portadora e laterais. FFT (*fast fourier transform*) = transformada rápida de Fourier.

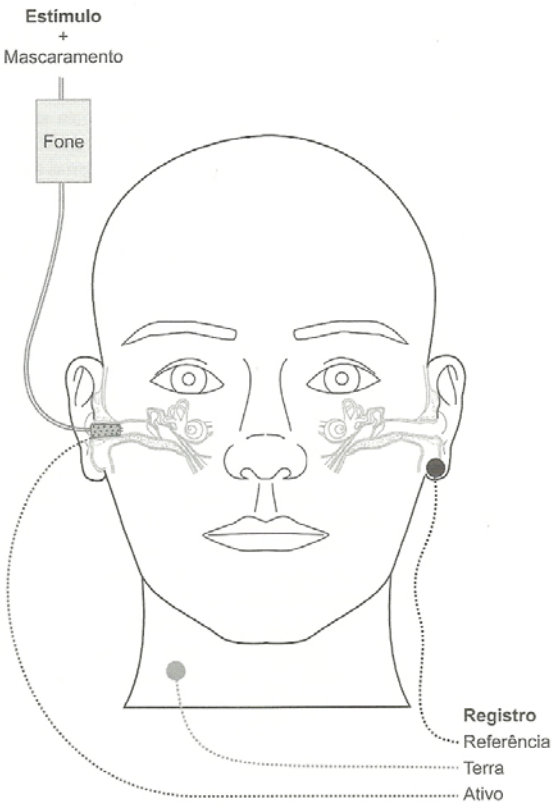


Figura 15.4 Montagem utilizada no registro. O eletrodo "ativo" de registro era constituído de uma fina lâmina de ouro enrolada em torno de um cilindro de espuma perfurado por um tubo, por onde o estímulo era apresentado. O eletrodo era inserido no canal auditivo. O eletrodo de referência era colocado no lóbulo da orelha contralateral. O eletrodo terra era colocado na pele sobre a clavícula direita.

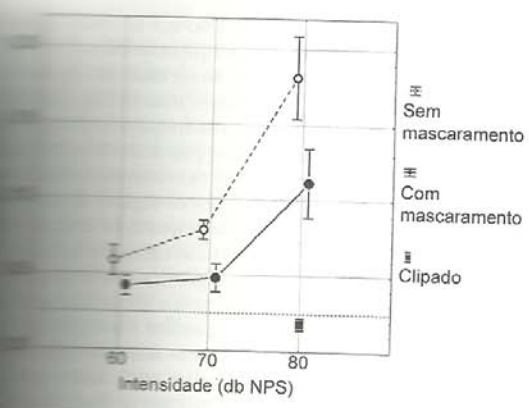
de registro. O eletrodo "ativo" foi colocado no interior do conduto auditivo externo direito. Este eletrodo especial de inserção (Gold TTE25 Tip-Trode Electrode) é um cilindro de espuma envolvido por uma fina lâmina de ouro e perfurado por um tubo plástico conectado a um fone (EAR Tone 3). O campo elétrico do MC é orientado transversalmente, no sentido da orelha contralateral. Para maximizar a captação do MC nós colocamos o eletrodo de referência no lóbulo da orelha contralateral. Os campos elétricos gerados pelo gânglio espiral, nervo auditivo e núcleo coclear são também transversais, apontando para a orelha contralateral. Os campos elétricos gerados pelo leminisco lateral e córtex auditivo são verticais, apontando para o vértex. A derivação transversal utilizada minimiza a captação de campos verticais, usualmente de amplitudes bem maiores que os campos transversais[19]. As respostas neurais foram reduzidas pela estimulação em ritmos rápidos – 95 Hz[20] e suprimidas pela apresentação do estímulo em presença de ruído branco com intensidade suficiente para impedir a percepção do estímulo pelo sujeito[21]. O eletrodo terra foi colocado na clavícula direita.

Tons de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz foram modulados na mesma frequência (95 Hz) e apresentados conjuntamente à orelha direita a intensidades de 60, 70 e 80 dBNPS. Para eliminar as respostas neurais o estímulo foi apresentado na presença de ruído branco com a menor intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo pelo sujeito. Esta intensidade variou entre 10 e 20 dB acima da intensidade que o estímulo foi apresentado. Foram obtidos registros na presença e ausência de mascaramento. Também foram obtidas respostas com o tubo do fone de inserção clipado com uma pinça. A colocação dos eletrodos a pele do conduto auditivo externo, do lóbulo da orelha e sobre a clavícula foi levemente abrasada com um cotonete e algodão embebidos com pasta abrasiva (Nuprep). Os registros foram realizados em uma cabine acústica, com o sujeito deitado confortavelmente em uma poltrona reclinável. Durante boa parte do registro o sujeito encontrava-se dormindo. A produção do estímulo e o registro e análise das respostas foram realizados utilizando-se um sistema MASTER (Multiple Auditory Steady-State Response) de pesquisa (Rance e Picton[22]). Seis sujeitos com audição normal participaram do experimento. Todos os sujeitos foram submetidos a avaliação otológica e audiométrica e tinham conduto auditivo externo em boas condições e audição normal.

A Figura 15.5 mostra um modelo teórico do experimento. Os tons de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz estimulam suas respectivas regiões da membrana basilar e a modulação da amplitude faz com que a intensidade da estimulação varie a 95 Hz. As células ciliares das regiões estimuladas transduzem o estímulo sonoro em oscilações do seu potencial de membrana. A transdução assimétrica compressiva liberará energia na frequência de modulação (componente de segmento de envelope do MC). Na sinapse com as células ganglionares haverá uma retificação completa do sinal transduzido e liberação de mais energia na frequência de modulação (componente de segmento de envelope das respostas neurais). A resposta captada pelos eletrodos é uma soma do MC, das repostas neurais e do ruído produzido pelo cérebro, músculos da cabeça e outras fontes. Observe a apresentação do estímulo na presença do mascaramento as respostas neurais são extintas e apenas o MC será captado. A Figura 15.6 mostra os resultados do experimento.

As amplitudes das respostas foram maiores na condição sem mascaramento e crescem com o aumento da intensidade do estímulo. Uma análise de variância (ANOVA) de medições repetidas mostrou uma interação significativa ($F = 11.686$, $p = 0.002$) entre condição (com e sem mascaramento) e intensidade do estímulo (60, 70 e 80 dBNPS). A análise *post-hoc* (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores das respostas sem mascaramento nas intensidades 70 e 80 dBNPS. As amplitudes em 80 dBNPS foram significativamente maiores que as amplitudes em 70 e 60 dB, em ambas as condições. A diferença entre as amplitudes das respostas 70 e 60 dBSPL alcançou significância apenas na condição mascaramento. O p crítico considerado foi de 0,05.

A Figura 15.6 representa um modelo teórico do experimento. Os tons de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz estimulam as respectivas regiões da membrana basilar e a modulação da amplitude faz com que a intensidade da estimulação varie a 95 Hz. As células ciliares das regiões estimuladas transduzem o estímulo sonoro em oscilações do seu potencial de membrana. A tranducção compressiva e assimétrica liberará energia na frequência de modulação (componente de segmento de envelope do MC). Na sinapse com as células ganglionares haverá uma retificação completa do sinal transduzido e liberação de mais energia na frequência de modulação (componente de segmento de envelope das respostas neurais). A resposta captada pelos eletrodos é uma soma do MC, das respostas neurais e do ruído produzido pelo cérebro, músculos da cabeça e outras fontes.

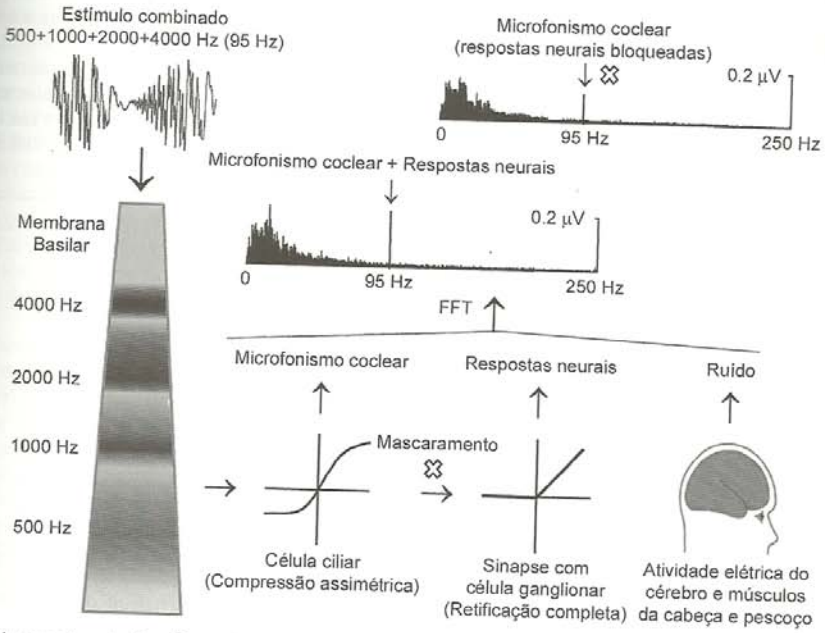


Respostas com e sem mascaramento. Médias (± erro padrão) das amplitudes das respostas auditivas de estado estável em resposta a tons de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz modulados em amplitude a 95 Hz, apresentadas à orelha direita com intensidades de 60, 70 e 80 dBNPS e registradas utilizando a montagem ilustrada na Figura 15.1. As respostas foram obtidas na ausência (círculos sem preenchimento) e na presença (círculos preenchidos) de ruído branco mascarante de intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo em 70 dBNPS. O quadrado preenchido representa os registros obtidos com o fone clipado por uma pinça. A linha tracejada horizontal representa a amplitude média do ruído residual no final dos registros, determinado pelas amplitudes dos componentes espectrais de 95 Hz situados em uma faixa 4 Hz abaixo e acima da frequência de modulação. As respostas com mascaramento têm cerca de 60% das amplitudes das respostas sem mascaramento.

Com a apresentação do estímulo na presença do mascaramento as respostas neurais são eliminadas e apenas o MC será captado.

Este experimento demonstrou que o componente de segmento de envelope do MC obtido com um estímulo de estado estável constituído por tons audíveis modulados em amplitude pode ser registrado e analisado no domínio da frequência. A amplitude da resposta com mascaramento é cerda de 60% da amplitude da resposta sem mascaramento. Isto sugere que boa parte da resposta obtida sem mascaramento é potencial microfônico. A derivação utilizada para o registro e a estimulação a ritmos rápidos reduziram a contribuição dos componentes neurais à resposta captada: a derivação transversal minimizou a contribuição das fibras ascendentes do lemnisco medial (com campo elétrico de orientação ortogonal ao MC) e a frequência rápida de estimulação (95 Hz) diminuiu a contribuição do gânglio espiral, nervo auditivo e núcleo coclear (com campos elétricos de orientação semelhante ao MC).

A amplitude da resposta cresceu bem mais rapidamente entre 70 e 80 dBNPS que entre 60 e 70 dBNPS, tanto na condição com como sem mascaramento (6,3 *versus* 0,6 nV/dB e 10,2 *versus* 2,1 nV/dB, respectivamente). Uma ANOVA fatorial de medições repetidas apresentou efeitos principais significativos para faixa de intensidade ($F_{(1,5)} = 7.668$, $p = 0,039$) e presença ou não de mascaramento ($F_{(1,5)} = 19.951$, $p = 0,007$), sem interação significativa entre as condições ($F_{(1,5)}1.555$, $p = 0,268$). O crescimento mais rápido da amplitude após 70 dBNPS foi também observado por outros autores estudando respostas auditivas de estado estável do tronco cerebral e provavelmente



Modelo do experimento. Esta figura ilustra um modelo do que ocorre durante o experimento. O estímulo composto de tons de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz vibra seus respectivos segmentos ao longo da membrana basilar, estimulando as células ciliares situadas nestes segmentos. As células ciliares transduzem as vibrações em variações do seu potencial de membrana gerando o microfonismo coclear. As células ganglionares disparam potenciais de ação durante a despolarização das células ganglionares iniciando as respostas neurais. O microfonismo coclear, as respostas neurais e o ruído produzido pelo cérebro, músculos da cabeça e pescoço e outras fontes constituem o sinal captado pelos eletrodos de registro. No domínio da frequência a resposta aparece como um pico em 95 Hz (frequência que o tom foi modulado), enquanto o ruído distribui-se ao longo de todo o espectro. Na ausência de mascaramento a resposta é composta pelo microfonismo coclear e respostas neurais. Na presença de mascaramento (⊠) as respostas neurais são suprimidas, restando o microfonismo coclear.

se deve à quebra do filtro coclear pelos estímulos de alta intensidade. Com intensidades baixas e moderadas apenas células ciliares próximas da região da membrana basilar estimulada pela frequência da portadora são ativadas, pois a cóclea atua como um filtro passa-banda. Quando a intensidade ultrapassa 70 dBNPS a cóclea passa a atuar como um filtro passa-baixa e células ciliares situadas bem acima da frequência da portadora são estimuladas. A soma das variações de potenciais de membrana das células ciliares ocorreria mais efetivamente nas regiões basais de alta frequência da membrana basilar, pela maior sincronia entre os potenciais.

A Figura 15.7 ilustra os resultados de um segundo experimento para verificar os efeitos da frequência da portadora no MC de estado estável. Neste experimento utilizou-se apenas a condição com mascaramento. Dez sujeitos participaram dos registros. Tons de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz, modulados a 95 Hz, foram apresentados independentemente à orelha esquerda com uma intensidade de 80 dBNPS. Estes estímulos também foram apresentados conjuntamente, como no experimento anterior. As mesmas condições de registro do experimento anterior foram utilizadas.

A amplitude da resposta cresce com a frequência da portadora (500 Hz < 1.000 Hz < 2.000 Hz < 4.000 Hz). A amplitude da resposta ao estímulo combinado é maior que a amplitude da resposta ao estímulo de 4.000 Hz, porém é menor que a soma das amplitudes dos estímulos isolados. A analise de variância (ANOVA) simples de medições repetidas foi significativa ($F_{(4,4)} = 7.284$, $p = 0{,}0002$). A análise *post-hoc* (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores das respostas ao estímulo combinado que aos estímulos isolados. A amplitude da resposta ao estímulo de 4.000 Hz é significativamente maior que aos estímulos de 1.000 e 500 Hz.

A maior amplitude do componente de segmento do envelope do MC para portadoras de frequências mais elevadas pode relacionar-se a ao fato de as células ciliares do segmento basal da membrana basilar (ativadas pelas frequências altas) serem estimuladas mais sincronicamente do que as células ciliares do segmento apical (ativadas pelas frequências baixas). Além disto, elas situam-se mais próximo ao eletrodo de registro. Em intensidades elevadas de estimulação tons de baixa frequência estimularão também regiões de alta frequência da cóclea, porém o possível ganho de amplitude pela maior área estimulada da membrana basilar será anulado pelo cancelamento causado pela diferença de fase entre diferentes regiões da membrana basilar. Apesar de a amplitude da resposta ao estímulo combinado ser maior que as respostas aos estímulos isolados, sua amplitude é menor que a soma algébrica das amplitudes das respostas aos estímulos isolados, pois a soma das amplitudes das ondas viajantes da membrana basilar é vetorial e não modular. Dependendo da relação entre as fases das ondas nas diferentes regiões da membrana basilar pode haver soma (em caso de fases iguais), subtração (em caso de fases opostas) ou valores intermediários entre a soma e a subtração (em caso de diferenças intermediárias entre as fases).

O próximo experimento foi realizado para investigar o efeito da frequência de modulação sobre as respostas. Os sujeitos e o protocolo de registro foram os mesmos do experimento anterior. Neste experimento tons de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz foram modulados nas frequências de 95 Hz, 130, 160, 190 e 220 Hz e apresentados conjuntamente à orelha esquerda na intensidade de 80 dBNPS. A Figura 15.8 mostra os resultados.

Respostas significativas puderam ser obtidas com frequências de modulação até 220 Hz. A amplitude da resposta decresce significativamente com frequências de modulação acima de 160 Hz. A análise de variância (ANOVA) simples de medições repetidas foi significativa ($F_{(4,4)} = 3.304$, $p = 0{,}0210$) e a análise *post-hoc* (Fischer LSD) mostrou amplitudes significativamente maiores para os estímulos modulados em 95, 130 e 160 Hz que em 190 e 220 Hz. Entre 95 e 160 Hz as amplitudes não são significativamente diferentes.

As amplitudes das respostas auditivas neurais de segmento de envelope possuem um pico de maior amplitude em torno de 40 Hz e outro de menor amplitude iniciando em torno de 80 Hz e prolongando-se até cerca de 200 Hz, porém pouco

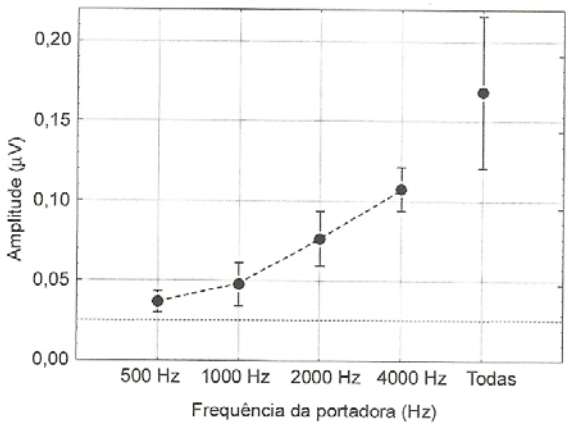


Figura 15.7 Efeito da frequência da portadora. Esta figura mostra o efeito da frequência da portadora sobre a amplitude do microfonismo coclear de estado estável. Os tons de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz, todos modulados a 95 Hz, foram apresentados independentemente à orelha esquerda a uma intensidade de 80 dBNPS, na presença de ruído branco de intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo. Os tons foram também apresentados conjuntamente. As amplitudes crescem com a frequência da portadora. A amplitude da resposta ao estímulo combinado é maior que a amplitude da resposta a qualquer frequência isolada.

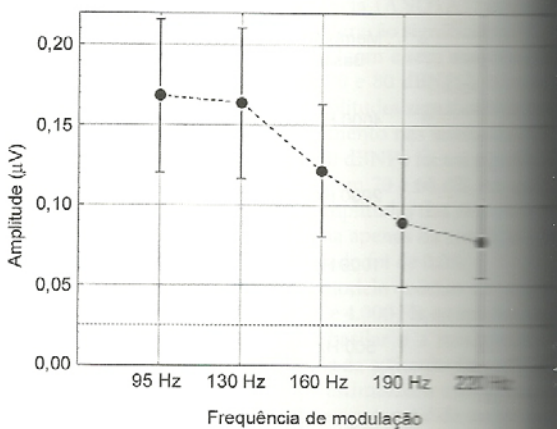


Figura 15.8 Efeito da frequência de modulação. Esta figura mostra o efeito da frequência de modulação sobre a amplitude do microfonismo coclear de estado estável. O estímulo combinado foi modulado em 95, 1.230, 160, 190 e 220 Hz e apresentado a uma intensidade de 80 dBNPS à orelha esquerda na presença de ruído branco de intensidade suficiente para mascarar a percepção do estímulo. As amplitudes diminuem significativamente com frequências de modulação acima de 160 Hz.

até cerca de 500 Hz em indivíduos jovens[18]. Em
e 70 Hz as amplitudes são muito baixas e difíceis
distinguidas do ruído. Estes efeitos da frequência da
sobre a amplitude da resposta são relacionados a
dos geradores neurais do tronco cerebral e cór-
provavelmente uma combinação de superposição
transientes ao início de cada ciclo de modulação
de populações neuronais respondendo especifi-
envelope do estímulo. O MC é uma resposta não
mediada por oscilações do potencial de membrana
ciliares. A latência do MC é negligível (ordem de
) em comparação às latências das respostas
ordem de milissegundos). O microfonismo coclear
de uma simples transdução passiva. As células
principais geradoras do MC, possuem capa-
e fazem parte de um complexo sistema ativo
eletromecânico envolvendo a membrana tectória,
basilar e as células ciliares internas. Novos ex-
especificamente desenhados para estudar o efei-
de modulação sobre o MC de estado estável
luzes sobre este interessante problema. As res-
puderam ser obtidas com facilidade com
até 220 Hz, embora as amplitudes tenham caído
após 160 Hz. É possível que a frequência
baixa da conversão analógica-digital (1.000 Hz)
passa-baixa de 300 Hz tenham diminuído artificial-
amplitude das respostas acima de 180 Hz.

Conclusão

é o registro da atividade elétrica da cóclea em res-
por eletrodos colocados nas suas proximidades.
próximo à cóclea estiverem os eletrodos, maiores
potenciais captados. O ECoG é composto de 3 itens, o
coclear, o potencial de somação e o potencial de
composto do nervo auditivo. O microfonismo coclear é
potenciais receptores das células ciliares, enquanto
de ação composto é a soma dos potenciais de ação
ganglionares. O ECoG é usualmente analisado no
tempo. Nos últimos anos as respostas auditivas
estável têm atraído a atenção dos audiologistas, pela
das técnicas de análise no domínio da frequência,
mente na detecção da presença ou ausência de uma

capítulo discutiu alguns aspectos do ECoG e das res-
as de estado estável e descreveu uma técnica para
do microfonismo coclear de estado estável e a análise
componente de segmento de envelope no domínio da
É uma técnica não invasiva, que utiliza um eletro-
no conduto auditivo externo e um sistema de re-
análise de respostas auditivas de estado estável, ambos
no mercado. Eletrodos e sistemas de análise simi-
ser utilizados. O princípio da técnica consiste na
de um estímulo de estado estável na presença de
banda larga com intensidade suficiente para mascarar
do estímulo. O MC representou cerca de 60% da
da resposta captada, nas condições do registro. Esta
pode ser útil para a detecção rápida da presença do mi-
coclear em condições com a neuropatia auditiva.

Referências bibliográficas

1. Geisler, C.D. From sound to synapse. Physiology of the mammalian ear. New York, NY, Oxford University Press, 1998.
2. Abbas, P. J., Brown, C. J. Electrocochleography. In: Handbook of clinical audiology 6. ed. Baltimore, 2009, p. 242-264.
3. Haapaniemi J., Laurikainen E., Johansson R., Karjalainen S. Transtympanic versus tympanic membrane electrocochleography in examining cochleovestibular disorders. Acta Otolaryngol Suppl. 543:127-9, 2000.
4. Bauch C.D., Olsen W.O. Comparison of ABR amplitudes with TIPtrode and mastoid electrodes. Ear Hear 11:463–467, 1990.
5. Coats A.V. The Normal summating potential recorded from external ear canal. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 112(7):759-768, 1986.
6. Picton, T.W. Electrocochleography: from song to synapse. In: Human Auditory Evoked Potentials. San Diego, CA, Plural Publishing, 2011.
7. Schoonhoven, R. Responses from the cochlea. Cochlear microphonic, summating potential, and compound action potential. In: Auditory Evoked Potential: Basic principles and clinical applicatons). Philadelphia, PA, p.180-198, 2007.
8. Sohmer H., Kinarti R., Gafni M. The source along the basilar membrane of the cochlear microphonic potential recorded by surface electrodes in man. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 49:506-14, 1980.
9. Withnell R.H. Brief report: the cochlear microphonic as an indication of outer hair cell function. Ear Hear, 22:75-7, 2001.
10. Chiatrian, G. E., Wirch, A.L., Edwards K. H., Turella G. S., Snyder J. M. Cochlear summating potential to broadband clicks detected from the human external auditory meatus: A study with subjects with normal hearing for age. Ear and Hearing, 6, 130-138, 1985.
11. Lins O. G., Picton P. P., Picton T. W., Champagne S. C., Durieux Smith, A. Auditory steady-state responses to tones amplitude-modulated at 80 to 110 Hz. The Journal of the Acoustical Society of America, 97:3051-63. 1995.
12. Nouvian R., Beutner D., Parsons T. D., Moser. T. Structure and function of the hair cell ribbon synapse. Membrane Biol. 209, 153-165, 2006.
13. Vollrath M.A., kwan k.y., Corey D.P. The micromachinery of mechanotransduction in hair cells. Annu Rev Neurosci., 30:339-65, 2007.
14. Hudspeth, A. J. Making an effort to listen: Mechanical amplification in the ear. Neuron, 59, 530-545, 2008.
15. Russell I.J., Cody A.R., Richardson G.P. The responses of inner and outer hair cells in the basal turn of the guinea-pig cochlea and the mouse cochlea growth in vitro. Hearing Research, 22; 199-216, 1996.
16. Lins, O.G., Picton, T.W. Auditory steady-state responses to multiple simultaneous stimuli. Electroencephalogr. Clin. Neurophysioi.; 96, 420-432., 1995.
17. Moushegian G., Rupert A.L., Stilman R.D. Scalp-recorded early responses in man to frequencies in the speech range. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology, 35, 665-667, 1973.
18. Purcell D.W., John M.S., Schneider B.A., Picton T.W. Human temporal auditory acuity as assessed by envelope following responses. J Acoust Soc Am, 116:3581-93, 2004.
19. Herdman A.T., Lins O., Van Roon P., Stapells D.R., Scherg M., Picton T.W. Intracerebral sources of human auditory steady state responses. Brain Topogr, 15:69-86, 2002.
20. Chatrian G.E., Wirch A.L., Lettich E., Turella G., Snyder J.M. Click-evoked human electrocochleogram. Noninvasive recording method, origin and physiologic significance. American Journal of EEG technology, 22, 151-174, 1982.
21. Starr A., Picton T.W., Sininger Y., Hood L., Berlin C.I. Auditory Neuropathy. Brain, 119:741-53, 1996.
22. John M.S., Picton T.W. Master: a Windows program for recording multiple auditory steady-state responses. Comput Methods Programs Biomed.; 61(2):125-50, 2000.
23. Berlin C.I., Bordelon J., ST John P., Wilensky D., Hurley A., Kluka E., et al. Reversing click polarity may uncover auditory neuropathy in infants. Ear Hear, 19:37-47, 1998.
24. Juaristi J.S., Martínez-Conde M.S. Cochlear microphonic latency. Acta Otorrinolaringol Esp., 65(4):231-236, 2014.
25. Ruth R.A., Lambert P.R. Comparison of tympanic membrane to promontory electrode recordings of electrocochleographic responses in patients with Meniere's disease. Otolaryngology head and Neck Surgery: Official Journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery [1989, 100(6):546-552] 1996.