



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

GABRIELA GUENTHER RIBEIRO NOVANTA

**EFEITO OTOPROTETOR DA MELATONINA E DO RESVERATROL
NA PERDA AUDITIVA INDUZIDA POR RUÍDO – UM ESTUDO
EXPERIMENTAL**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Ciências Médicas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Lopes Sampaio

Co-orientadora: Prof. Dra. Selma Kuckelhaus

**Brasília – DF
2024**

GABRIELA GUENTHER RIBEIRO NOVANTA

**EFEITO OTOPROTETOR DA MELATONINA E DO RESVERATROL
NA PERDA AUDITIVA INDUZIDA POR RUÍDO – UM ESTUDO
EXPERIMENTAL**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Ciências Médicas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas Universidade de Brasília.

Aprovada em:

Banca Examinadora

1º Membro (presidente): Professor Doutor André Luiz Lopes Sampaio.
Professor Adjunto de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina
da Universidade de Brasília

2º Membro: Doutora Thamara Suzi dos Santos. Departamento de Fonoaudiologia.
Universidade Federal de Minas Gerais.

3º Membro: Doutora Monique Antunes de Souza Chelminski Barreto.
Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde. GDF.

4º Membro: Doutora Djane Braz Duarte.
Departamento de Farmácia. Universidade de Brasília

Suplente: Doutora Marlene Escher Boger. Centro Universitário Planalto do Distrito Federal

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha vida, pelas oportunidades e por ter me dado força ao longo deste período.

Aos meus pais, por estarem sempre me apoiando, incentivando e por seu amor incondicional. A torcida e o orgulho de vocês me dão energia para buscar sempre mais.

Ao meu marido Eduardo, meu parceiro e companheiro ao longo da vida, muito obrigada por tudo. Esse título é nosso. Eu não teria conseguido sem você.

Aos meus filhos amados Bernardo e Manuela, vocês são a razão do meu viver. Obrigada por tanto amor e por toda a paciência e entendimento pelos períodos de ausência da mamãe.

Aos meus sogros Vagner e Vera Lúcia, meus irmãos Claudio e Luca, minhas cunhadas Luciana, Priscila e Mônica, meu cunhado Bráulio e meus sobrinhos João, Isa, Fafá, Mimi e Helô, meu carinho e gratidão por toda torcida, incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida.

Ao Dr. André Luiz Lopes Sampaio, por me incentivar a realizar este desafio, pela troca de experiência e por todo suporte científico. O senhor me instiga a fazer mais e não desistir. Sou muito grata pelo seu acolhimento e cobranças.

A Lucieny, minha companheira de longa data. Você me incentivou a sair de minha zona de conforto e me fez acreditar que seria possível realizar o doutorado. Pensou, planejou e realizou comigo. Me corrigiu, me incentivou, me escutou.

Ana Zica, minha querida fiel escudeira nestes últimos três anos. Rimos, comemoramos, estudamos, sofremos e choramos juntas. Vivemos o que imaginávamos ser impossível e só conseguimos porque estávamos unidas, minha metade!

Aos veterinários Rafael Andrade e Bruno Dellago que nos auxiliaram durante todas as fases da pesquisa, desde o projeto piloto, meus sinceros agradecimentos.

Aos funcionários do biotério que cuidaram dos nossos animais com muito

respeito e zelo, em especial o funcionário Wilson.

As queridas alunas de PIBIC Andressa e Maria Luiza, que estiveram presentes em diversas etapas do estudo, sempre dedicadas e comprometidas.

A professora Selma Kuckelhaus, que me inseriu no mundo da histologia. Não tenho palavras para descrever a minha gratidão por todo o tempo e ensinamento dispensado.

As minhas queridas colegas e amigas fonoaudiólogas do HRT. Vocês me acompanharam ao longo destes anos e com vocês eu tive força, escuta e acolhimento.

Aos meus colegas e amigos da UNIPLAN, pela empatia e apoio durante todo o tempo do doutorado. É uma honra fazer parte deste time e compartilhar a minha vida com vocês.

Aos meus alunos do curso de Fonoaudiologia da Uniplan, que me desafiam diariamente na arte de ensinar e me impulsionam a continuar estudando e pesquisando.

A todas as pessoas que nos auxiliaram ao longo deste projeto, em especial a Glorinha do NUPMIA. Minha querida, sua parceria, dedicação e persistência são um exemplo de vida. Você foi fundamental durante todo o nosso projeto.

Aos meus amigos da Vila e as minhas amigas da vida (Flávia, Michelle, Ana Carolina, Marlene e Giovanna) por estarem sempre ao meu lado, me incentivando, apoiando, escutando. Nossos encontros, regados a café ou vinho, foram o meu respiro, meu alívio, nos momentos de mais intensos nesses últimos anos.

Por fim, deixo registrado meu profundo respeito e agradecimento a todos os animais que deram suas vidas em nome da evolução da ciência.

*A audição, melodia da vida,
Ecoa em nós de forma sentida.
Do vento suave ao riso encantado,
Um mundo em som é revelado.*

*Ouvir é mais que captar o som,
É acolher o outro, construir o tom.
Na harmonia do ouvido atento,
Reside a arte do entendimento.*

RESUMO

Introdução: O ruído é o agente físico ambiental mais prevalente e, quando em níveis elevados, pode causar danos auditivos temporários ou permanentes. As principais consequências da exposição ao ruído na cóclea estão relacionadas à liberação de grandes quantidades de glutamato, alteração nas sinapses das células ciliadas com os neurônios e o aumento dos radicais livres, especialmente as espécies reativas de oxigênio. Originada da serotonina, a melatonina é descrita como um antioxidante intrínseco altamente eficaz na eliminação de radicais tóxicos e na redução do estresse oxidativo. O resveratrol, um composto polifenólico natural, tem sido estudado devido às suas diversas propriedades biológicas, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-agregantes, anti-aterogênicos, além de seu papel na quimioprevenção, imunomodulação e ação antienvhecimento. **Objetivo:** Avaliar o efeito da melatonina e do resveratrol na prevenção de alterações das estruturas da orelha interna em ratos wistar expostos a elevados níveis de pressão sonora. **Métodos:** Estudo experimental com 45 ratos machos da linhagem wistar. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, com 10 animais no grupo melatonina, 10 animais no grupo resveratrol, 13 animais no grupo veículo e 12 animais no grupo controle. Os três primeiros grupos foram expostos ao ruído do tipo *white noise*, centrado na frequência de 4 kHz, na intensidade de 100 dB por 8 horas diárias durante 10 dias. Os animais destes grupos receberam via intraperitoneal 10mg/kg/dia dos fármacos melatonina e resveratrol e o grupo veículo recebeu soro com álcool e DMSO. O grupo controle não foi exposto ao ruído e recebeu os fármacos e as soluções soro com álcool e DMSO. A avaliação auditiva foi realizada por meio de emissões otoacústicas evocadas por produto de distorção nas frequências de 3 a 12 kHz, potenciais evocados auditivos de tronco encefálico com os estímulos clique e tone burst em 8 kHz, além da análise histológica das estruturas cocleares, dentre elas o gânglio espiral, limbo, ligamento espiral e estria vascular. Para comparações entre dois grupos com distribuição normal, foi usado o Teste t para os dados paramétricos ou Mann-Whitney para os dados não paramétricos. Para a análise histológica, foi utilizado o teste ANOVA. O nível de significância estabelecido foi em $p < 0,05$. **Resultados:** Todos os grupos expostos ao ruído apresentaram diferença estatística nas emissões otoacústicas na amplitude e na relação sinal-ruído na comparação aos grupos controle nos dias 15 (após a exposição) e 30

(após 15 dias de recuperação), com pior desempenho observado no grupo veículo. Nos grupos expostos ao ruído, foi observada diferença estatística na comparação dos grupos veículo e melatonina e ruído e resveratrol, na avaliação no D30. Na análise dos limiares auditivos utilizando o estímulo clique, foi observado diferença estatística na análise do D15 dentre os grupos expostos ao ruído e o grupo controle. Na análise do D30, os grupos melatonina e resveratrol apresentaram melhora estatística e não foi mais observada diferença na comparação com o grupo controle. O mesmo efeito foi observado na análise do D15 para o estímulo tone burst, porém apenas o grupo melatonina apresentou recuperação expressiva dos limiares. Na análise histológica, foi observado no D15 piora na densidade celular em todos os grupos expostos ao ruído na contagem dos neurônios do gânglio espiral. Entretanto, na análise do D30, os grupos tratados com resveratrol e melatonina apresentaram recuperação significativa e não mantiveram diferença estatística na comparação com o grupo controle. **Conclusão:** A melatonina e o resveratrol demonstraram propriedades otoprotetoras significativas em ratos wistar expostos a níveis elevados de pressão sonora.

Palavras-chave: perda auditiva, melatonina, resveratrol, ruído, ratos wistar.

ABSTRACT

Introduction: Noise is the most prevalent environmental physical agent and, at high levels, can cause temporary or permanent hearing damage. The main consequences of noise exposure in the cochlea are related to the release of large amounts of glutamate, changes in the synapses between hair cells and neurons, and the increase in free radicals, particularly reactive oxygen species. Derived from serotonin, melatonin is described as a highly effective intrinsic antioxidant in eliminating toxic radicals and reducing oxidative stress. Resveratrol, a natural polyphenolic compound, has been studied for its diverse biological properties, including antioxidant, anti-inflammatory, anti-aggregating, anti-atherogenic effects, as well as its role in chemoprevention, immunomodulation, and anti-aging action.

Objective: To evaluate the effect of melatonin and resveratrol in preventing alterations in the inner ear structures of Wistar rats exposed to high sound pressure levels. **Methods:** An experimental study using male Wistar rats. The animals were divided into experimental groups: melatonin, resveratrol, vehicle, and control. The first three groups were exposed to continuous noise at 100 dB for 8 hours daily over 10 days, and the animals received 10 mg/kg/day of melatonin and resveratrol intraperitoneally for 14 days. The vehicle group was subdivided into saline, alcohol, and DMSO. Auditory evaluation was conducted through distortion product otoacoustic emissions at frequencies ranging from 3 to 12 kHz, brainstem auditory evoked potentials with click and pure tone stimuli at 8 kHz, and histological analysis of cochlear structures, including the spiral ganglion, limbus, spiral ligament, and stria vascularis. For comparisons between two groups with normal distribution, the t-test was used for parametric data or Mann-Whitney for non-parametric data.

ANOVA was used for histological analysis. The significance level was set at $p < 0.05$. **Results:** All groups exposed to noise showed statistical differences in otoacoustic emissions compared to control groups on days 15 (after exposure) and 30 (after 15 days of recovery), with the vehicle group showing the worst performance. Among the noise-exposed groups, significant statistical differences were found between the vehicle and melatonin groups, as well as between the vehicle and resveratrol groups, in the evaluation on day 30. In the analysis of auditory thresholds using click stimuli and counting neurons in the spiral ganglion, it was observed that the groups treated with resveratrol and melatonin recovered their baseline auditory thresholds by the end of the experiment. **Conclusion:** Melatonin and resveratrol demonstrated significant otoprotective properties in Wistar rats exposed to high sound pressure levels.

Keywords: hearing loss, otoacoustic emissions, noise, and wistar rats.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Mediana da amplitude (DP) das EOAPD na comparação dos grupos controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo; do grupo veículo com os grupos melatonina e resveratrol e dos grupos melatonina x resveratrol no D0.	51
Tabela 2 -	Mediana da relação sinal ruído (S/R) das EOAPD na comparação dos grupos controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo; do grupo veículo com os grupos melatonina e resveratrol e dos grupos melatonina x resveratrol no D0.	52
Tabela 3 -	Mediana da amplitude (DP) das EOAPD na comparação dos grupos controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo; do grupo veículo com os grupos melatonina e resveratrol e dos grupos melatonina x resveratrol no D15.	55
Tabela 4 -	Mediana da relação sinal ruído (S/R) das EOAPD na comparação dos grupos controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo; do grupo veículo com os grupos melatonina e resveratrol e dos grupos melatonina x resveratrol grupo controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo no D15	56
Tabela 5 -	Mediana da relação amplitude (DP) das EOAPD na comparação dos grupos controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo; do grupo veículo com os grupos melatonina e resveratrol e dos grupos melatonina x resveratrol grupo controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo no D30.	59
Tabela 6 -	Mediana da relação sinal ruído (S/R) das EOAPD na comparação dos grupos controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo; do grupo veículo com os grupos melatonina e resveratrol e dos grupos melatonina x resveratrol grupo controle com os grupos melatonina, resveratrol e	60

veículo no D30.

Tabela 7 -	Mediana da amplitude (DP) das EOAPD na comparação do grupo controle nos exames realizados no D0, D15 e D30.	62
Tabela 8 -	Mediana da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação do grupo controle nos exames realizados no D0, D15 e D30.	63
Tabela 9 -	Mediana da amplitude (DP) das EOAPD na comparação do grupo melatonina nos exames realizados no D0, D15 e D30.	65
Tabela 10 -	Mediana da relação sinal/ruído das EOAPD na comparação do grupo melatonina nos exames realizados no D0, D10 e D25.	66
Tabela 11 -	Mediana da amplitude (DP) das EOAPD na comparação do grupo resveratrol nos exames realizados no D0, D15 e D30.	68
Tabela 12 -	Mediana da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação do grupo resveratrol nos exames realizados no D0, D15 e D30.	69
Tabela 13 -	Mediana da amplitude (DP) das EOAPD na comparação do grupo veículo nos exames realizados no D0, D15 e D30.	71
Tabela 14 -	Mediana da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação do grupo veículo nos exames realizados no D0, D15 e D30.	71
Tabela 15 -	Mediana do PEATE no estímulo clique na comparação do grupo controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo, dos grupos veículo x melatonina e resveratrol e na comparação do grupo melatonina x resveratrol, nos D0, D15 e D30.	73
Tabela 16 -	Mediana do PEATE no estímulo <i>tone burst</i> na frequência de 8 kHz na comparação do grupo controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo, dos grupos veículo x melatonina e resveratrol e na comparação do grupo	74

melatonina x resveratrol, nos D0, D15 e D30.

Tabela 17 - Mediana do PEATE no estímulo clique por grupos, nos D0, D15 e D30. 78

Tabela 18 - Mediana do PEATE no estímulo *tone burst* na frequência de 8 kHz por grupos, nos D0, D15 e D30. 78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Células ciliadas e neurônio sensoriais	26
Figura 2	Fluxograma do experimento.	36
Figura 3	Avaliação por PEATE e EOAPD	41
Figura 4	Estantes no alojamento dos animais e posicionamento das caixas durante a exposição ao ruído.	45
Figura 5	Bula timpânica pronta para ir para o processo de descalcificação	46
Figura 6	Fluxograma dos resultados	48
Figura 7	Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na primeira avaliação D0, nos grupos pesquisados GC (grupo controle), GM (grupo melatonina), GR (grupo resveratrol) e GEV (grupo veículo).	53
Figura 8	Boxplot da variação da relação sinal/ruído das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na primeira avaliação D0, nos grupos pesquisados GC (grupo controle), GM (grupo melatonina), GR (grupo resveratrol) e GEV (grupo veículo).	53
Figura 9	Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D15, nos grupos pesquisados GC (grupo controle), GM (grupo melatonina), GR (grupo resveratrol) e GEV (grupo veículo).	57
Figura 10	Boxplot da variação da relação sinal/ruído das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D15, nos grupos pesquisados GC (grupo controle), GM (grupo melatonina), GR (grupo resveratrol) e GEV (grupo veículo).	57
Figura 11	Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D30, nos grupos pesquisados GC (grupo controle), GM (grupo melatonina), GR (grupo resveratrol) e GEV (grupo veículo).	61
Figura 12	Boxplot da variação da relação sinal/ruído das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D30, nos grupos pesquisados GC (grupo controle), GM (grupo melatonina), GR (grupo resveratrol) e GEV (grupo veículo).	61

Figura 13	Boxplot da variação da amplitude (parte superior) e relação sinal/ruído (parte inferior) das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D0 x D15 x D30, no grupo controle.	63
Figura 14	Boxplot da variação da amplitude (parte superior) e relação sinal/ruído (parte inferior) das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D0 x D15 x D30, no grupo melatonina	67
Figura 15	Boxplot da variação da amplitude (parte superior) e relação sinal/ruído (parte inferior) das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D0 x D15 x D30, no grupo resveratrol.	70
Figura 16	Boxplot da variação da amplitude (parte superior) e relação sinal/ruído (parte inferior) das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D0 x D15 x D30, no grupo veículo.	72
Figura 17	Gráfico com a média e DP dos exames de PEATE click (quadro à esquerda e PEATE em 8 kHz (quadro à direita).	76
Figura 18	Fotomicrografia do gânglio espiral	79
Figura 19	Total de neurônios ganglionares viáveis	80
Figura 20	Fotomicrografia do limbo	81
Figura 21	Análise do total de células viáveis no limbo	81
Figura 22	Fotomicrografia do ligamento espiral e estria vascular	82
Figura 23	Análise do total de células viáveis no ligamento espiral	83
Figura 24	Análise do total de células viáveis na estria vascular	84

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPKa	Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina
ATS	Mudança de limiar assintótica
CAT	Catalase
CC	Células ciliadas
CCE	Células ciliadas externas
CCI	Células ciliadas internas
CEUA	Comitê de Ética em Pesquisa com animais
CTS	Mudança de limiar composta
COX-2	Ciclooxigenase-2
dB	Decibéis
D-MET	D-metionina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Amplitude EOAPD
ECochG	Eletrococleografia
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EO	Estresse oxidativo
EOA	Emissões otoacústicas
EOAT	Emissões otoacústicas transientes
EOAPD	Emissões otoacústicas por produto de distorção
EPIs	Equipamentos de proteção individual
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GC	Grupo controle
GE	Neurônio do gânglio espiral
GM	Grupo melatonina
GPx	Glutaciona peroxidase
GR	Grupo resveratrol
GV	Grupo veículo
Hz	Hertz
kg	Kilograma
kHz	Quilohertz
L-NAME	NG-nitro-L-arginina-metílico
mg	Miligrama
mm	Milímetro

mmol	Milimole (milésima parte de um mol)
NAC	N-acetilcisteína
NO	Óxido nítrico
NPS	Nível de pressão sonora
Pa	Pascal
PAIR	Perda auditiva induzida por ruído
PAINPSE	Perda auditiva induzida por níveis de pressão sonora elevados
PEATE	Potencial evocado auditivo de tronco encefálico
MPL	Mudança de limiar permanente
SC	Sinaptopatia coclear
SIRT1	Sirtuina 1
SLNs	Nanopartículas lipídicas solidas
SOD	Superóxido dismutases
S/R	Relação sinal/ruído
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
MTL	Mudança de limiar temporária
μm	Micrômetro
4-HNE	4-hidroxinonenal

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	20
2.1 Som x Ruído	20
2.2 Perda auditiva induzida por ruído.....	21
2.3 O uso do antioxidante na otoproteção nas exposições ao ruído	27
2.4 Resveratrol.....	33
2.5 Melatonina.....	34
3. OBJETIVOS.....	36
3.1 Objetivo Geral.....	36
3.2 Objetivos Específicos.....	36
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1 Estudo Piloto.....	37
4.2 Tipo do estudo.....	38
4.3 Amostra.....	39
4.4 Avaliação funcional e eletrofisiológica da audição.....	39
4.5 Critério de exclusão.....	41
4.6 Divisão dos grupos.....	42
4.7 Administração dos fármacos.....	43
4.8 Exposição ao ruído.....	43
4.9 Eutanásia.....	45
4.10 Processamento histológico.....	45
4.11 Análise dos dados histológicos.....	46
4.12 Procedimentos analíticos.....	47
5. RESULTADOS	48
5.1 Estudo Piloto.....	48
5.2 Emissões otoacústicas.....	49
5.3 Potenciais auditivos de tronco encefálico.....	73
5.4 Análise Histológica.....	78
6. DISCUSSÃO.....	85
7. CONCLUSÃO.....	97
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
9. ANEXOS.....	105
10. APÊNDICE.....	106

1. INTRODUÇÃO

O ruído é o agente físico mais comum em nosso ambiente e é um fator de risco presente em várias atividades humanas, no cotidiano da comunidade, no ambiente doméstico e, também, na maioria dos processos de trabalho. A exposição a intensos níveis de ruído poderá trazer consequências temporárias ou permanentes para a audição, dependendo do tempo de exposição, tipo de ruído e suscetibilidade individual (1-3).

A perda auditiva induzida por ruído (PAIR) ou por níveis de Pressão Sonora Elevados (PAINPSE) é descrita como um dos problemas de saúde ocupacional mais disseminados e prevalentes no mundo. Foi citada pela Organização Mundial de Saúde (2000) como responsável por 19% dos anos vividos com incapacidade causada por todas as doenças e agravos decorrentes de fatores ocupacionais em todo o mundo (4, 5).

O ruído em alta intensidade pode causar alterações discretas nas células ciliadas da orelha interna, edema das terminações nervosas auditivas, alterações vasculares, exaustão metabólica, modificações químicas intracelulares, com redução da rigidez dos estereocílios e mudanças no acoplamento dos cílios com a membrana tectorial. As alterações são reversíveis e pode haver recuperação do limiar mesmo com a presença de lesão nas células (6).

Apesar dos mecanismos moleculares da PAINPSE ainda não serem amplamente compreendidos, evidências sugerem que eles estão intimamente relacionados à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são geradas pelo estresse oxidativo (EO), definido como o desequilíbrio entre os sistemas oxidantes e antioxidantes, com aumentos dos oxidantes. São geradas inúmeras EROs dentre elas os radicais livres que, diferentemente das demais, apresentam um elétron desemparelhado na sua camada eletrônica, favorecendo a ocorrência de danos oxidativos (7, 8). Neste sentido, o tratamento com o uso de antioxidante passa a ser uma possibilidade de intervenção na perda auditiva induzida por ruído (9). Um estudo realizado por Draczynska_Luciak e colaboradores demonstrou (10) que o uso de antioxidantes, como o resveratrol, bem como as vitaminas E e C, podem proteger o dano celular neuronal do estresse oxidativo. Foi observado que o antioxidante foi capaz de suprimir e eliminar a produção de EROs.

O melhor meio de prevenir danos no caso da exposição a elevados níveis de pressão sonora é a proteção contra o ruído. Como essa proteção nem sempre é possível, por várias razões, estudos vêm sendo desenvolvidos com uso de antioxidantes com o objetivo prevenir ou tratar a perda auditiva induzida pelo ruído.

A hipótese deste estudo é a de que o uso continuado da melatonina ou do resveratrol poderiam servir como agentes otoprotetores na prevenção da disfunção da orelha interna de ratos expostos a elevados níveis de pressão sonora no modelo experimental wistar. Neste sentido, estimava-se que o uso do antioxidante iria ter uma ação protetora a nível coclear, com a preservação das células ciliadas externas e internas, e nas sinapses das células ciliadas internas e o nervo auditivo. Dentre as diversas possibilidades de antioxidantes, a escolha destes se deu pelos resultados em estudos relacionados a otoproteção. A melatonina é um antioxidante que vem sendo amplamente estudada no Laboratório de Ensino em Otorrinolaringologia (UnB) e apresentou desempenhos satisfatórios na exposição à cisplatina e no envelhecimento. O resveratrol, um polifenol presente em muitos alimentos à base de frutas e plantas, está sendo amplamente estudado no combate ao estresse oxidativo na UFRGS, também com resultados promissores.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Som x Ruído

Os sons podem ser descritos como naturais, como o murmúrio do vento ou o canto dos pássaros, e artificiais, como a música deliberadamente criada ou o ruído resultante das atividades humanas. Estão relacionados com conceitos, sensações, memórias e impressões, por meio de fenômenos acústicos que agem nos campos comunicacional, sensorial, musical, lúdico, entre outros (11, 12).

O som é criado pelas vibrações que viajam por um meio, como ar ou água. Trata-se de uma manifestação física que alcança o sistema auditivo humano e apresenta como características mais comuns, a intensidade, a frequência, a periodicidade e a duração (13, 14). A intensidade do som é percebida como sua amplitude, enquanto a frequência está associada à sua taxa de variação temporal, conhecida como "*pitch*". A frequência é quantificada em ciclos por segundo, medidos em Hertz (Hz). No contexto da fala humana, as frequências tipicamente variam entre 250 e 8.000 Hz. Por outro lado, a intensidade acústica é quantificada em Pascal (Pa) ou decibéis (dB)(15).

A faixa dinâmica da audição humana normal se estende desde uma intensidade mínima audível de aproximadamente 0,00002 Pa – ou cerca de 1,9 dB (um sinal muito suave) – até o limiar da dor, que é aproximadamente 20 Pa ou 120 dB (um sinal extremamente alto). Essa faixa é expressa em uma escala logarítmica, representada em unidades de dB NPS (nível de pressão sonora). Na escala logarítmica, um aumento de 10 dB corresponde a um aumento de 10 vezes na energia sonora, enquanto um aumento de 20 dB corresponde a um aumento de 100 vezes, e assim por diante (15).

O som torna-se ruído quando se torna indesejado ou prejudicial (13, 14). Acredita-se que, atualmente, todas as pessoas estão expostas a algum tipo de ruído durante as suas atividades do cotidiano, em seus locais de trabalho, no lazer ou moradia. Um em cada três indivíduos fica incomodado durante o dia e um em cada cinco tem sono perturbado à noite devido ao ruído do trânsito. A poluição sonora, ou ruído ambiental, se destaca como a segunda maior causa de poluição global e exerce um papel de fator condicionante e influenciador de diferentes agravos à saúde (16, 17).

O ruído pode ser classificado como ocupacional, sentido no local de trabalho; ambiental, geralmente proveniente de ambientes externos gerados pela atividade humana; recreativo, gerado em momentos prazerosos, como os dispositivos de escuta pessoal, música em festas, bailes e concertos, eventos esportivos; e uso recreativo de armas de fogo (15).

Agências internacionais, assim como o Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH), estabelecem limites de exposição recomendados baseados em evidências para proteger os trabalhadores da exposição a agentes perigosos no trabalho, sendo o limite para ruído ocupacional fixado em 85 dB como uma média ponderada no tempo de 8 horas, com uma taxa de câmbio de 3 dB (3 dB correspondem a uma duplicação da energia acústica). As exposições superiores a estas referências são consideradas perigosas (18). Estes limites foram determinados para proteger os trabalhadores do desenvolvimento da PAINPSE ao longo de uma carreira de 40 anos. É importante ressaltar que este limite não tem o propósito de proteger o público contra o ruído ambiental em geral ou o ruído recreativo, como escutar música com fones de ouvido ou participar de eventos ruidosos, nem deve ser utilizado com bebês, crianças e adolescentes nos seus vários ambientes de exposição (15, 19).

2.2 Perda auditiva induzida por ruído

Nos séculos passados, os ouvidos dos trabalhadores civis, como ferreiros, moleiros e canhoneiros, estavam especialmente vulneráveis aos danos auditivos devido ao ambiente barulhento em que exerciam suas profissões. Francis Bacon (1571-1625) foi um dos pioneiros a escrever sobre fala e audição, além de outros fenômenos acústicos, inclusive sobre o efeito prejudicial do som intenso (20, 21).

O austríaco Habermann, em 1890, fez a primeira descrição sobre a patologia coclear da surdez induzida por ruído em seu estudo dos ossos temporais de um único paciente. Foram examinados os ossos temporais de um ex-caldeireiro idoso, que foi atropelado porque já estava surdo e não ouviu os avisos do trem que se aproximava. O mesmo autor também investigou a deficiência auditiva em caldeireiros ainda vivos, que trabalhavam em duas oficinas distintas. Ele observou que os homens da oficina maior e mais ruidosa apresentavam os casos mais graves de surdez (21).

Os registros datam que, após a época da Revolução Industrial, o ruído passou a ser aceito como parte da vida rotineira, com o desenvolvimento das cidades (15). Entretanto, apenas depois da Segunda Guerra Mundial é que foram feitos esforços para reduzir a exposição ao ruído (22).

Estima-se que aproximadamente 4,1 milhões de trabalhadores estejam expostos diariamente a níveis de ruído que ultrapassam o limite de exposição de 85 dB (23). Nos Estados Unidos, cerca de 27,7 milhões de indivíduos entre 20 e 69 anos sofrem de perda de audição induzida pelo ruído, destacando assim o ruído como um fator crucial nos ambientes de trabalho em termos de impacto na saúde (24). Segundo especialistas em saúde pública, os riscos ambientais constituem 25% do fardo das doenças (16, 17), e a perda de audição ocasionada pela exposição ao ruído continua sendo a segunda doença ocupacional mais prevalente (25). Entre 1981 e 2010, a prevalência de perda auditiva ocupacional situou-se em torno de 20%, variando conforme os diferentes setores industriais nos Estados Unidos (26).

Os principais fatores que influenciam o desenvolvimento da PAINPSE incluem a intensidade do ruído, medida em níveis de pressão sonora; a duração da exposição ao ruído, expressa em anos; a natureza impulsiva do ruído, que é considerado mais prejudicial do que o ruído contínuo; e a suscetibilidade individual para o desenvolvimento da PAINPSE (15).

No Brasil, o Comitê Nacional de Ruído e Conservação Auditiva, em 1994, definiu a PAINPSE como uma perda auditiva do tipo neurosensorial, quase sempre simétrica e raramente de grau profundo, pois não ultrapassa os 40 dB nas baixas frequências, e os 75 dB nas altas frequências. Sua manifestação ocorre inicialmente nas frequências de 3, 4 ou 6 kHz e, com o agravamento da lesão, pode atingir as frequências de 8, 2, 1, 0,5 e 0,25 kHz. Geralmente, atinge o nível máximo para as frequências de 3, 4 e 6 kHz nos primeiros 10 a 15 anos de exposição, sob condições estáveis de ruído e, com o passar do tempo, a progressão da lesão torna-se mais lenta. O comitê destaca que a PAINPSE pode ser agravada pela exposição simultânea a outros agentes, como, por exemplo, produtos químicos e vibrações. Entretanto, ela não torna a audição mais sensível a futuras exposições (27).

A PAINPSE é descrita como uma doença complexa, resultante da interação de fatores genéticos e ambientais, irreversível, cumulativa e insidiosa, causada

por qualquer exposição que exerça uma média de 90 dB, oito horas por dia, regularmente por um período de vários anos (28, 29).

A perda auditiva pode ser ocasionada pela exposição contínua e prolongada ao ruído, mas também pode ser resultante de uma única exposição súbita ou repetida ao ruído, denominado de trauma acústico (29), e pode resultar em dois tipos de lesões no ouvido interno, dependendo da intensidade e duração da exposição, sendo elas a mudança de limiar temporária (MTL) e a mudança de limiar permanente (MPL).

A mudança de limiar temporária (MTL) é caracterizada pela mudança de limiar que apresenta recuperação aos níveis basais nas horas, dias ou semanas após a exposição ao ruído (30). Acredita-se que a recuperação do MTL seja decorrente do desacoplamento reversível dos estereocílios das células ciliadas externas da membrana tectorial e/ou aumento reversível do ganho central e hiperacusia e zumbido associados (31, 32). O estudo de Kujawa e Liberman, realizado em 2009 (33) – com a utilização de ensaios funcionais cocleares e imagens confocais do ouvido interno em camundongos – demonstrou que as exposições acústicas que causam mudança moderada no limiar, porém reversíveis, não causam alteração nas células sensoriais cocleares, mas podem gerar perda aguda de terminais nervosos aferentes e degeneração retardada do nervo coclear.

Este efeito – conhecido como sinaptopatia coclear (SC) ou perda auditiva oculta – é caracterizado por uma perda permanente de conexões neurais de um subgrupo de neurônios aferentes (sensoriais), localizados no centro da cóclea, chamados neurônios sensoriais do gânglio espiral (GE) tipo I. Eles transportam informações das células ciliadas internas para o núcleo coclear do tronco cerebral e são divididos em três subgrupos, de acordo com a frequência espontânea e a sensibilidade relativa ao som (designados como tipo Ia-Ic) (34, 35). Os neurônios supostamente envolvidos na perda auditiva oculta consistem principalmente em neurônios aferentes do tipo Ic, caracterizados por um alto limiar de resposta a sons e uma baixa taxa de atividade espontânea. A exposição ao ruído em alta intensidade causa retração dos processos neurais desses neurônios das células ciliadas associadas e, como consequência, a sua perda (35). Este dano pode ocasionar um prejuízo funcional significativo por meio da diminuição da capacidade de escutar a fala na presença de ruído competitivo, daí o nome perda auditiva “oculta” (36).

Exposições mais prejudiciais podem produzir perdas permanentes de sensibilidade auditiva. Nestas situações, a mudança no limiar induzida por ruído persiste após um período de recuperação subsequente à exposição (30, 35). De acordo com Ryan et al., 2016 (30), a recuperação da sensibilidade auditiva em modelos animais pode ocorrer até três semanas após a exposição ao ruído e, por este motivo, uma alteração na audição só deve ser considerada como permanente após este período. Destaca-se que, mesmo uma piora na audição de até 50 dB, em decorrência de uma única exposição ao ruído, pode ser recuperada inteiramente. Entretanto, quando a exposição se torna repetida ou contínua, a perda da sensibilidade pode evoluir de MTL para um MPL (35).

A principal consequência da MPL em função do ruído é o dano e a perda das células ciliadas externas da cóclea (CCEs), apesar de ainda ser obscura a forma como o dano ocorre. Evidências sugerem a relação com a geração de EROs nas células ciliadas durante e após a superexposição, pela ativação de vias de sinalização de estresse, que pode levar a danos celulares, apoptose e/ou necrose (33, 37).

O estudo realizado por Bohne, Harding e Lee, em 2007 (37), sugere ainda uma terceira via de morte das CCEs, morfológicamente distinta da via de morte apoptótica e oncótica, mas com mecanismos subjacentes desconhecidos. No estudo realizado com chinchilas expostas a um ruído de banda larga, os autores descrevem e enfatizam a impossibilidade desta terceira via de morte ser uma variação da via apoptótica ou oncótica. Os resultados demonstraram que as CCEs oncóticas se apresentavam edemaciadas, com citoplasma pálido e núcleos pálidos. Com a continuidade do edema, as organelas se rompiam e desapareciam, e, com rompimento da membrana plasmática, a célula se rompia e ficava necrótica. Os autores não acreditam que as organelas restantes em uma CCE necrótica iriam se reagrupar em uma forma cilíndrica e o núcleo se deslocaria para o polo basal original da célula, fazendo com que uma CCE oncótica assumisse a aparência de uma CCE de terceira via de morte. Com relação a via de morte por apoptose, os autores esclarecem que a morfologia das CCE da terceira via de morte é bastante distinta daquela das células que morrem por apoptose no que diz respeito à condição da membrana plasmática, ao aparecimento do núcleo e à distribuição de dentritos no órgão de Corti.

Acredita-se que, durante a exposição à ruídos, as células ciliadas internas (CCI) estão muito ativas e liberam grandes quantidades de glutamato nas

sinapses com as fibras dos nervos auditivos. Estes altos níveis de glutamato iriam super estimular os receptores das células pós-sinápticas e, com isto, causariam um edema dos dendritos aferentes, descrito como fadiga auditiva. Como esta ultraestrutura sináptica é recuperada, sugere-se que os terminais nervosos edemaciados recuperaram a sua atividade normal (38, 39). Os mesmos autores descrevem que, durante a exposição a ruídos, a cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria utiliza grandes quantidades de oxigênio para atender à elevada demanda energética celular, que pode resultar na produção significativa de superóxidos, um subproduto indesejado. A elevação dos níveis de superóxidos pode reagir com outras moléculas, aumentando os níveis de radicais livres, particularmente EROs na cóclea. Essas EROs podem contribuir para o desenvolvimento de lesões nas células ciliadas e a subsequente perda de função auditiva observada após a exposição ao ruído (38, 39).

A formação de EROs, incluindo os radicais livres, é contínua e inevitável, em organismos aeróbicos (40). Desta forma, com a impossibilidade de anular a sua geração, a alternativa é neutralizá-los antes que ataquem uma molécula vizinha. Como as células não conseguem neutralizá-los totalmente, alguns radicais conseguem escapar e destroem as moléculas vizinhas, comprometendo a fisiologia organelar. O mau funcionamento dos sistemas subcelulares poderá prejudicar o metabolismo celular e levar a insuficiência fisiológica, e até a morte celular(41, 42).

Uma vez gerados, os radicais livres podem causar uma reação em cadeia denominada de peroxidação lipídica, que poderá levar à aniquilação molecular maciça de estruturas saudáveis. O radical livre formado serve como iniciador do processo pois, quando extrai um elétron de uma molécula normal em sua proximidade, ele transforma esta molécula em um radical livre desestabilizado, que irá em busca de capturar um elétron de outra molécula para sabotá-lo. Esta cascata de eventos bioquímicos, poderá ser interrompida quando um antioxidante intervir e eliminar o radical livre perpetuante(43, 44).

Os efeitos do ruído também podem afetar as sinapses das células ciliadas e os neurônios, mesmo quando estas permanecem vivas e recuperam a função normal. Trabalhos sugerem que a perda de sinapses e terminais aferentes em função da exposição ao ruído é rápida e permanente enquanto a perda de neurônios do GE é comparativamente lenta (45, 46). Esta perda sináptica e neural pode extrapolar as consequências funcionais da exposição ao ruído ao diminuir a

capacidade do VIII nervo de codificar sinais auditivos com fidelidade, com ou sem perda de sensibilidade limiar (30, 47). A figura 1 apresenta uma representação da conexão das células ciliadas com os neurônios sensitivos.

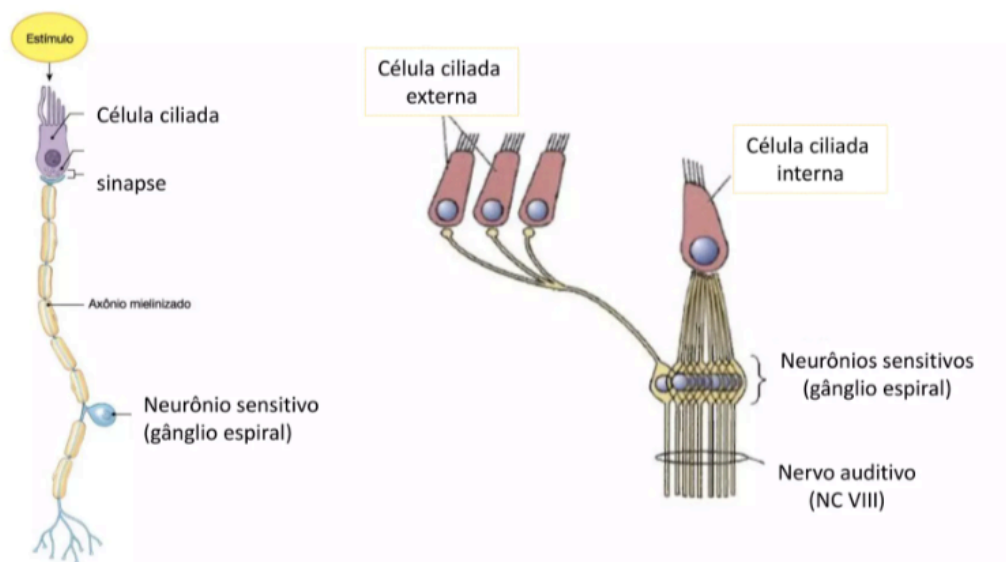


Figura 1. Representação das células ciliadas e dos neurônios sensitivos.

Fonte: <https://pt.slideshare.net/slideshow/sistema-sensorial-audio-e-equilibrio/82399377#22>

No processo envolvido na perda de audição em função do ruído, além da mudança temporária do limiar e da mudança permanente do limiar, existem os fenômenos mudança de limiar assintótica (*Asymptotic Threshold Shift - ATS*), também denominada como “platô”, o fenômeno de resistência (*toughening*) e a mudança de limiar composta (*Compound Threshold Shift - CTS*).

Chen e colaboradores, em 2014 (48), descreveram que a PAINPSE aumenta inicialmente com a duração da exposição, mas eventualmente atinge uma mudança de limiar assintótico (ATS) quando a duração da exposição excede de 18 a 24 horas. O mesmo autor descreve a ATS como limite superior de uma mudança permanente de limiar, que pode resultar de uma exposição de duração infinita.

Um animal pode sofrer um condicionamento e criar resistência quando exposto a um estímulo acústico contínuo, de baixo nível, não lesivo à audição. O fenômeno chamado de resistência (*"toughening"*) é provocado por exposição a estímulos acústicos interrompidos não lesivos, de baixa intensidade sonora, durante um tempo longo, prévio à exposição de ruído traumático do mesmo tipo. Este condicionamento pode proteger a audição dos animais experimentais contra

o ruído traumático, diminuindo as alterações fisiológicas e as lesões das células sensoriais ciliadas da cóclea (49, 50).

Por fim, a CTS é definida por uma mudança de limiar auditivo resultante de exposições sequenciais ao ruído em diferentes doses e/ou com períodos de repouso entre as exposições (48).

2.3 O uso do antioxidante na otoproteção nas exposições ao ruído

O presente estudo se propôs a estudar o efeito otoprotetor de antioxidantes diante da exposição a elevados níveis de pressão sonora, buscando informações relevantes que pudessem ser utilizadas em futuras intervenções translacionais humanas, visto que a proteção auditiva por meio dos EPIs (equipamentos de proteção individual) nem sempre é viável. Foi realizada uma revisão sistemática dos antioxidantes mais utilizados na literatura, nos trabalhos relacionados ao ruído. Diante da diversidade de antioxidantes disponíveis e estudados, optou-se por selecionar apenas as substâncias mais pesquisadas, dentre elas D-metionina, ebselen, edaravone, hidrogênio, L-NAME, NAC, Q-ter, resveratrol e tempol (Apêndice A).

Foram encontrados diversos tempos de exposição ao ruído, que variaram de 30 minutos (51), uma hora (52-58), duas horas (58, 59), três horas(60-63), quatro horas (64-70), cinco horas (71-75), seis horas(76-80), oito horas(81), três horas e trinta minutos(82) e 24 horas(1, 83). Ressalta-se, ainda, que a maioria dos estudos realizou uma única exposição ao ruído para demonstrar o efeito otoprotetor a longo prazo, com exceção do estudo (59) que realizou duas exposições, e dos estudos (55, 56), que realizaram exposições por 10 dias e por cinco dias consecutivos por semana, durante três semanas. Apesar da diversidade observada nas exposições ao ruído, destaca-se que a dose recebida depende do tempo da exposição e da intensidade utilizada.

Com relação a este tópico, a intensidade utilizada durante às exposições ao ruído também apresentou alta variabilidade, sendo as de 105 dB (1, 66, 67, 76, 77, 80, 83) e 110 dB (58, 59, 65, 70, 78, 79, 81) as mais citadas. Foi encontrado apenas um estudo que utilizou intensidade inferior a 100 dB (56) e três estudos com a intensidade de 100 dB (55, 76, 84). O restante dos estudos utilizou intensidades superiores, como 113 dB (69, 70), 115 dB(60, 63, 68, 70-72), 116

dB(73, 82), 120 dB(51, 53, 54, 57), 125 dB (75) , 128 dB (64) e 130 dB (52, 61, 62).

Na análise da faixa de frequência do ruído utilizado, foi observado que a maioria dos estudos utilizou um ruído centrado na faixa de 4 kHz (60-65, 68, 71, 72, 74-77, 80, 81). Entretanto, foram encontrados dois estudos que utilizaram ruído centrado na faixa de 6 kHz(51, 53); quatro estudos que utilizaram 8 kHz (58, 66, 67, 82); quatro estudos em 10 kHz(54-57) e apenas um estudo com ruído centrado na frequência de 16 kHz(73). Alguns estudos optaram por utilizar uma faixa mais ampla de frequências, como 4-16 kHz (69, 70), 250-4 kHz (59), 2,5-3,5 kHz (48), 4,5-9 kHz (83), 1-12 kHz(78, 79) e 8-16 kHz (84).

Com relação aos antioxidantes utilizados, a D-metionina (D-met), um agente antioxidante oral, componente natural do queijo e do iogurte (81), foi utilizado em três estudos. O estudo realizado por Clifford et al. (80) com chinchilas fêmeas utilizou a D-metionina via intraperitoneal na dosagem de 12,5 mg/kg, duas vezes por dia, por cinco dias, começando dois dias antes da exposição ao ruído. Na terceira semana após a exposição ao ruído, os animais que utilizaram a D-met apresentaram uma recuperação dos limiares auditivos nas frequências de 4 e 6 kHz, resultado não observado no grupo controle. O estudo realizado por Rewerska et al.(81) utilizou as dosagens de 100, 200 e 400 mg/kg de D-met para avaliar a melhor resposta otoprotetora. Por fim, na comparação com o grupo que foi apenas exposto, todos os grupos que receberam D-met apresentaram redução significativa no limiar no 1° dia após a exposição ao ruído. Na análise do 7° dia, apenas os grupos que receberam D-met na dosagem de 200 e 400 mg/kg; e no 14° dia, apenas o grupo que recebeu 400 mg/kg apresentou redução significativa no limiar. O resultado demonstra que a dosagem mais alta (400 mg/kg) foi a mais eficaz na prevenção ao dano coclear por exposição ao ruído. E o estudo realizado por Samsom et al. (65), também com camundongos C57BL/6, utilizou a D-met via intraperitoneal na dose de 400 mg/kg. Foi administrada uma hora antes e uma hora após a exposição ao ruído, repetida no 1° e no 2° dias após a exposição ao ruído. A resposta do Potencial evocado auditivo de tronco encefálico (PEATE) no grupo controle demonstrou uma diferença de 33 dB para 4 kHz e 36 dB para 8 kHz imediatamente após a exposição ao ruído. Esta mudança diminuiu gradualmente em torno de 15 dB em ambas as frequências até a avaliação do 14° dia, e mantiveram-se estáveis até a medição final, no 21° dia

após a exposição ao ruído. O tratamento com D-met não teve efeito na avaliação realizada logo após a exposição ao ruído, mas na avaliação realizada no dia 14º dia, o grupo que utilizou D-met apresentou uma diminuição significativa da mudança do limiar na frequência de 4 kHz, de 14 para 5 dB, e de 16 para 7 dB na frequência de 8 kHz, demonstrando seu efeito otoprotetor.

Outro antioxidante estudado foi o ebselen (2-phenyl-1,2-benzisoselenazol-3(2H)-one), um composto selênio-orgânico, que minimiza a produção de glutathione peroxidase e elimina hidroperóxidos orgânicos, que promovem a peroxidação lipídica, com remoção análoga para eliminar EROs (75). Como conclusão dos estudos, foi observado que o tratamento mais longo (por 14 dias) foi mais eficaz do que o tratamento realizado por apenas três dias (69), e que a dosagem maior também provocou um melhor efeito otoprotetor (70, 75). O estudo realizado por Lynch et al. (70) utilizou a dosagem de 16 mg/kg (intraperitoneal) e 4 mg/kg (gavagem). O estudo não concluiu se houve uma via de administração mais eficaz, devido a diferença nas doses apresentadas, entretanto, foi observado que com a dosagem mais alta, houve uma redução significativa na mudança permanente do limiar na 3ª semana após a exposição ao ruído. Já o estudo realizado por Pourbakht e Yamasoba (75) demonstrou melhor efeito com a dosagem mais alta, de 30 mg/kg na comparação com a dosagem de 10 mg/kg, via gavagem. Entretanto, na análise histológica, não foi observada diferença estatística entre os dois grupos. O estudo realizado por Yamasoba et al. (60) foi o único que relatou que os animais que receberam ebselen não mostraram mudança no PEATE após a exposição ao ruído (três horas a 115 dB) e que os limiares do PEATE dos animais do grupo veículo aumentaram aproximadamente 25 dB em 2 kHz e 45 dB em 4,8 e 16 kHz logo após a exposição, mas mostraram recuperação gradual, retornando aos limiares basais pré-exposição após sete dias. Os achados sugerem que o ebselen pode atenuar a excitotoxicidade induzida por ruído e, portanto, a mudança temporária do limiar.

A edaravona (3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-1), citada como o primeiro eliminador de radicais livres e usado na prática clínica no Japão (62), inibe os radicais hidroxila e melhora a lesão peroxidativa induzida por ferro (59). O trabalho realizado por Gao et al. (59) concluiu que a aplicação de edaravona nanopartículas lipídicas sólidas (SLNs) por injeção intratimpânica apresentou melhor desempenho na otoproteção na comparação com a edaravona aplicada por injeção intratimpânica sem SLNs e intravenosa (com e sem SLNs). Os SLNs

de edaravona demonstraram poder inibir a geração de EROs nas cócleas após a exposição ao ruído e diminuir os limiares auditivos conforme medido pelo PEATE. Nos estudos realizados por Tanaka et al e Takemoto et al. (61, 62), a aplicação da edaravona foi por meio de uma bomba osmótica, implantada na orelha direita dos animais, enquanto a orelha esquerda serviu como controle. O primeiro autor analisou, além da eficácia da edaravona, a melhor forma de liberação do fármaco. Os resultados demonstraram que o grupo que teve a edaravona iniciada nove horas após a exposição ao ruído apresentou a menor mudança nos limiares nas frequências de 2,4 e 8 kHz, sete dias após a exposição ao ruído e menor porcentagem de células ciliadas perdidas ($p < 0,05$ na comparação com o grupo controle). O estudo realizado por Takamoto et al. (61) também demonstrou o efeito otoprotetor, mas apenas 14 dias após a exposição ao ruído. O grupo que utilizou a edaravona apresentou um número de CCE ausentes/defeituosas menor do que nas orelhas não tratadas, e a mudança no limiar na frequência de 8 kHz foi significativamente menor ($p < 0,05$) do que nas orelhas controles.

A solução salina com hidrogênio (água hydrogenada) é descrita como antioxidante devido ao seu potencial redutor seletivo de hidroxila, peroxinitrito e, principalmente, radicais hidroxila (EROs mais tóxicas), para inibir o estresse oxidativo (85). Essa solução foi estudada em diferentes formas de aplicação: via intraperitoneal (52, 68) e via oral (água hydrogenada) (63). Os resultados demonstraram que a utilização da água hydrogenada, 14 dias após a exposição, resultou em diminuição estatística na mudança do limiar no grupo tratado, na comparação com o grupo controle apenas na frequência de 4 kHz. A solução salina com hidrogênio via intraperitoneal demonstrou maior eficácia na proteção, na comparação com os grupos que receberam apenas o ruído ou solução salina, sem hidrogênio, no período de sete e 14 dias (52, 68).

Evidências sugerem que o excesso de síntese de óxido nítrico (NO) e suas EROs desempenham um papel importante na PAINPSE, visto que há aumento da produção de NO na perilinfa coclear após trauma por ruído e que a PAINPSE pode ser atenuada pelo inibidor e antioxidante de NO. O éster NG-nitro-L-arginina-metilico (L-NAME) é um inibidor da NO, e foi estudado por Diao et al. (71). A pesquisa observou, 3 dias após exposição ao ruído, que, na análise do NO, o grupo que recebeu 10 mg/kg apresentou um nível médio de NO de $75,7 \pm 15,3$ mmol/gprot. Já no grupo que recebeu solução salina, o nível médio de NO foi 120 ± 35 mmol/gprot ($p < 0,001$). Nagashima et al.(58) também estudou o L-NAME

em diferentes doses, e concluiu que as dosagens maiores (0,1 mg/kg ou 1 mg/kg) apresentaram diferenças estatísticas nas frequências de 4, 12 e 20 kHz, na comparação com o grupo controle, após a exposição ao ruído. Em divergência aos estudos citados, o estudo de Ohinata et al.(72) considerou o L-NAME como ineficaz na comparação com o grupo controle, com redução da mudança do limiar apenas na frequência de 2 kHz e aumento da mudança no limiar na frequência de 20 kHz. Destaca-se que a dosagem de 1 mg/kg também havia sido utilizada no estudo de Nagashima et al.(58).

O estudo de Ohinata et al.(72) envolveu também o antioxidante N-acetylcysteine (NAC), descrito como antioxidante de amplo espectro, inibidor consistente da peroxidação lipídica e que atua como substrato para a síntese da glutatona, além das suas características antioxidantes próprias (72, 76). O NAC foi a substância mais utilizada como otoprotetora na exposição ao ruído nos trabalhos selecionados nesta revisão em ordem de frequência (apêndice A). Diferente do resultado ineficaz obtido com o L-NAME, o estudo concluiu que o NAC atenuou as perdas de CCE e CCI na comparação com o grupo controle ($p < 0,05$), assim como estudo de Bielefeld et al.(76), em que as perdas de CCE no grupo NAC foram inferiores a 10%, enquanto que o grupo controle apresentou uma perda de 29 a 41%. Os estudos de Ada et al.(78) e Fetoni et al.(51) utilizaram a microscopia eletrônica para avaliação do efeito otoprotetor e concluíram que no grupo NAC houve perda de estereocílios (78) e perda moderada de CCE (51). Já no grupo controle foi identificada uma perda maciça de células ciliadas na área localizada a 14-16 mm do ápice, a área correspondente à codificação de células ciliadas para 8-14 kHz. O estudo de Wu et al (84) definiu que, na avaliação de 4-HNE em CCE, o tratamento com NAC reduziu significativamente o acúmulo de EROs induzido por ruído em CCEs ($p < 0,05$) e atenuou significativamente a ativação de AMPK α desencadeada por exposição ao ruído ($p < 0,001$). Lorito et al.(66) estudou, em 2006, diferentes doses de NAC e, por fim, identificou que apenas os animais que haviam recebido a dose de 1500 mg/kg apresentaram diferença estatística na análise das emissões otoacústicas transientes (EOAT) e emissões otoacústicas por produto de distorção (EOAPD). Dois anos depois, Lorito et al.(67) estudou as diferentes formas de oferta do NAC e concluiu que o grupo que recebeu quatro doses de NAC (grupo A) apresentou mudança no limiar de 6,7 dB (8kHz) e 3,3 dB (16 kHz). Já o grupo que recebeu uma dose de NAC antes da exposição (grupo B) apresentou valores médios de deslocamento do

limiar de 4,4 dB (8 kHz) e 5,0 dB (16 kHz). Os animais do grupo que recebeu uma dose após a exposição (grupo C) tiveram uma perda no limiar de 8,1 dB (8 kHz) e 14,4 dB (16 kHz), enquanto que o grupo controle, que não utilizou NAC, apresentou a maior mudança nos limiares, de 20,0 dB (8 kHz) e 23,3 dB (16 kHz), com diferença na comparação com os grupos que utilizaram NAC (grupo A e B nas frequências de 8 e 16 kHz e grupo C na frequência de 8 kHz) ($p < 0,05$).

Por fim, para Bielefeld et al. (2007) (77), o tratamento com NAC reduziu a mudança no limiar induzido pelo ruído em todas as frequências ($p < 0,01$ na comparação com o grupo controle exposto), nas frequências de 2, 4, 6 e 8 kHz. Em discordância, os estudos de Clifford et al. (80), que utilizou uma dose de 12 mg/kg, e de Rhee et al. (2008) (73), que utilizou uma dose de 100 mg/kg, concluíram que os animais do grupo NAC apresentaram resultado semelhante ao grupo controle e não apresentaram recuperação significativa da audição.

Outro antioxidante que apresentou resultados significativos foi a Coenzima Q-ter, descrita como um multicomposto que utiliza a Coenzima Q10 (CoQ10) tratada em associação com um material carreador adequado e um bioativador. Trata-se de uma forma solúvel, obtida por sua ativação mecanofísica (56), que é cerca de 200 vezes mais solúvel e tem sua capacidade antioxidante aproximadamente cinco vezes maior que a CoQ10 nativa. A Q-ter foi estudada com aplicação via intraperitoneal, na dose de 100 mg/kg (53-56), e via transtimpânica (54), no volume de 20 ml e 40 ml. No estudo realizado em 2012, Fetoni et al. (54) concluiu que a dose de 20 ml transtimpânica apresentou menor recuperação do limiar, enquanto os animais que receberam a dose de 40 ml ou intraperitoneal (100 mg/kg) apresentaram resultado semelhante e reduziram significativamente a morte de CCE na comparação com o grupo controle. A mesma autora, em 2009 (53) também havia observado, por meio da imunocoloração, que a porcentagem de células ativas de caspase 3 na área correspondente ao dano maior foi de $62,0 \pm 4,5\%$ nas cócleas expostas ao ruído. O valor foi fortemente reduzido nas cócleas tratadas com Q-ter ($2,0 \pm 1,0\%$). O mesmo estudo identificou que a porcentagem de núcleos TUNEL positivos marcados foi de $87,7\% \pm 9,3\%$ nas cócleas dos animais expostos ao ruído e $3,2 \pm 4,4\%$ nos animais também expostos tratados com Q-ter.

No estudo realizado em 2013 por Fetoni et al. (55), com a dose de 100 mg/kg, a análise por Western blot demonstrou que os animais que haviam sido expostos ao ruído apresentaram um nível aumentado da expressão de 4HNE nos

dias D1, D3 e D11 ($p < 0,001$ na comparação D1 e D11), com diminuição significativa no D60, atingindo o nível do D1 ($p < 0,001$ na comparação D11 e D60). Nos animais que haviam recebido tratamento foi observado que o Q-ter impediu a expressão inicial no D1 e reduziu a imunorreatividade no final do tratamento (D11) ($p < 0,001$ na comparação dos grupos noise x noiseQter no dia 1 e dia 11). Por fim, no trabalho publicado ainda pela mesma pesquisadora em 2016 (56), com a dose de 100 mg/kg, foi observado que as cócleas dos animais expostos ao ruído apresentaram um dano peroxidativo lipídico, na comparação com o grupo controle, em todas as estruturas cocleares (Neurônio do GE, Órgão de Corti e estria vascular). Entretanto, no grupo com administração do Q-ter também houve uma diferença na comparação com o grupo controle em todas as estruturas cocleares (gânglio espiral (GE), Corti e estria vascular), com uma redução da peroxidação lipídica em todas as estruturas cocleares na comparação com o grupo exposto ao ruído (a peroxidação lipídica envolveu principalmente a camada de CCE e apenas ligeiramente a camada celular de Deiters).

O Tempol (4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametilpiperidina-N-oxil), um análogo solúvel em água do rótulo de spin TEMPO – que permeia as membranas biológicas e atua como uma armadilha de spin para os radicais superóxido (74) – também demonstrou seu potencial otoprotetor nos estudos realizados por Minami et al.(74), que administrou Tempol em água potável, e por Nagashima et al.(58) e Murashita et al. (64), que aplicaram o Tempol por via intraperitoneal. Estes dois últimos estudos utilizaram três doses distintas, e ambos concluíram que a dose de 30 mg/kg foi a mais eficaz na análise do PEATE, na comparação com o grupo controle. O estudo que tratou a água potável com Tempol (74) observou, no 10º dia após a exposição ao ruído, uma redução na mudança no limiar nas frequências de 8 e 16 kHz ($p < 0,05$) nos animais que haviam sido tratados, na comparação com os não tratados.

2.4 Resveratrol

Dentre os antioxidantes listados na revisão sistemática e foco deste estudo, o resveratrol (3, 5, 4'-tri-hidroxiestilbeno) – um polifenol presente em muitos alimentos à base de frutas e plantas, amplamente conhecido por suas propriedades antioxidantes e antiinflamatórias (57) – foi estudado em diferentes doses e tempos de aplicação, como o estudo de Hanci et al. (79), que utilizou a

dosagem de 300 mg/kg/dia por gavagem, assim como Seidman et al. (83), que utilizou uma dose alta em seu estudo de 2003, de 430 mg/kg/dia, e uma dose mais baixa, de 5 mg/kg/dia, em seu estudo de 2013 (1). Li et al. (82) utilizou o resveratrol por via intraperitoneal (30 mg/kg/dia) e Xiong et al (57) utilizou ração com resveratrol (dose aproximada de 300 mg/kg).

Por meio da análise da intensidade na expressão da proteína COX-2 (1), foi observado que o resveratrol demonstrou 7,3 vezes redução na intensidade na comparação com o grupo veículo, (também exposto ao ruído e que apresentou aumento de 13,6 vezes). Na análise do dano oxidativo (níveis de 4-HNE, marcador de estresse oxidativo) foi observado que, logo após a exposição ao ruído, os animais do grupo exposto apresentaram aumento na expressão 4-HNE nas CCE de 130% na comparação com o grupo controle ($p=0,004$), enquanto os animais que utilizaram da ração com resveratrol apresentaram diminuição dos níveis de 4-HNE nas CCE ($p= 0,035$). Na avaliação histológica (83) foi observado que, após a exposição ao ruído, o pico de perda de CCE foi de 5,2%, na faixa de 7 a 9 kHz nos animais que foram expostos ao ruído, enquanto que, no grupo em tratamento com resveratrol, o pico foi de 2,7%, na faixa de 7 a 8 kHz. A análise por microscopia de luz demonstrou a eficiência do resveratrol, pois, mesmo após a exposição ao ruído, os animais apresentaram estrutura coclear preservada em comparação ao grupo que foi exposto ao ruído, que apresentou perda predominantemente de CCI, com prejuízo também das CCE.

O estudo de Li et al. (82), que realizou uma análise do PEATE apenas no estímulo clique, foi o único estudo que não observou diferença nos resultados dos animais que utilizaram o resveratrol e nos que não o utilizaram. Acredita-se que este resultado tenha sido influenciado pela falta de análise das frequências mais altas, mais atingidas pelo ruído, visto que os trabalhos de Xiong et al. (57) e Seidman et al. (83) encontraram diferenças nas frequências de 4 e 16 kHz e 6 e 9 kHz, sucessivamente.

2.5 Melatonina

A melatonina é um antioxidante muito utilizado como otoprotetor, inclusive em alguns estudos desenvolvidos no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Otorrinolaringologia da Universidade de Brasília (DF). Nos estudos realizados, a melatonina demonstrou sua proteção quando foram avaliadas as condições das

CCE da cóclea na exposição à ototoxicidade (cisplatina) (86) e no envelhecimento (presbiacusia) (87).

Originada da serotonina, a melatonina (N-acetil-metoxitriptamina) é uma substância endogenamente produzida, principal hormônio secretado na glândula pineal de mamíferos e está relacionada a diversas funções fisiológicas, incluindo a regulação do sono, do ciclo circadiano, dos sistemas imunológico e cardiovascular. A melatonina promove o aumento dos níveis de diversas enzimas antioxidantes e apresenta ação direta nos mecanismos de neutralização das EROs (88-90).

Como já descrito anteriormente, as EROs são produzidas naturalmente em diversos processos metabólicos e, para mitigar os efeitos deletérios dessas espécies, as células desenvolveram múltiplos mecanismos de defesa antioxidante, que incluem sistemas enzimáticos e não enzimáticos. O equilíbrio entre a formação e a depuração das EROs é crucial para prevenir danos celulares. Dentre as principais enzimas antioxidantes estão o superóxido dismutases (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx). Dentre os antioxidantes não enzimáticos, ou eliminadores de radicais livres, estão os antioxidantes estudados na revisão anteriormente descrita e a melatonina (91).

O papel de destaque da melatonina no combate ao estresse oxidativo relaciona-se com suas características físico-químicas, pois, pelo fato de estar amplamente distribuída nos tecidos, células e compartimentos celulares, facilita sua interação e a neutralização das EROs e, conseqüentemente, reduz os danos oxidativos às moléculas encontradas em ambientes lipídicos ou aquosos (92, 93).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral:

Avaliar o efeito da melatonina e do resveratrol na prevenção de alterações das estruturas da orelha interna em ratos wistar expostos a elevados níveis de pressão sonora.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as amplitudes médias e da relação S/R das emissões otoacústicas por produto de distorção (EOAPD) nas frequências de 3 a 12 kHz interna em ratos wistar expostos a elevados níveis de pressão sonora;

- Pesquisar o limiar eletrofisiológico do PEATE nos estímulos clique e na frequência de 8 kHz interna em ratos wistar expostos a elevados níveis de pressão sonora;

- Comparar as variáveis amplitude de sinal, relação S/R e limiar eletrofisiológico do PEATE entre os grupos de estudo melatonina e resveratrol, com o grupo controle para verificar a ocorrência do efeito otoprotetor;

- Realizar estudo histopatológico do tecido coclear dos ratos (análise do gânglio espiral, limbo, estria vascular e ligamento espiral).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estudo Piloto

Durante a elaboração do projeto de pesquisa, com base na literatura pesquisada, observou-se que não havia uma padronização nos critérios utilizados, no que se refere à exposição ao ruído, à intensidade utilizada e nem na forma de análise dos resultados.

Diante da alta variabilidade dos dados pesquisados na literatura, optou-se por realizar um estudo piloto, para verificar a necessidade do tempo de exposição e a intensidade necessária para desencadear uma perda auditiva permanente nos animais em experimentação.

Para tanto, quatro ratos wistar machos foram adquiridos do Biotério do Centro Universitário de Brasília (Uniceub) e alojados no Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UnB). Os animais permaneceram com livre acesso à comida e à água, e foram mantidos em temperatura de 22°C com um ciclo claro-escuro de 12 horas. Os animais passaram por processo de inspeção de saúde feito por médico veterinário e tiveram o peso registrado para cálculo de dose de medicamento anestésico antes da realização dos exames auditivos.

No momento da exposição ao ruído os animais foram organizados nas suas caixas dentro de uma cabine acústica. A fonte sonora foi colocada 10 cm acima do centro da caixa onde estavam os ratos. Os níveis de som na altura da orelha do animal (3 cm a partir do fundo da gaiola) foram medidos com um decibelímetro (Instrutherm DEC-415), diretamente abaixo do alto-falante. Aqueles medidos perto da borda da gaiola nesta altura poderiam ser até 3 dB mais baixos. Foi utilizado para a exposição um ruído branco de banda larga na faixa de 1 a 10 kHz.

O protocolo de exposições sequenciais compostas foi realizado com: um dia de exposição ao ruído de 95 dB, por 60 minutos; seis dias de exposição ao ruído de 95 dB, por 60 minutos; nove dias de exposição ao ruído de 95 dB, por 60 minutos; cinco dias de exposição ao ruído de 100 dB, por 60 minutos; pausa de sete dias nas exposições; seis dias de exposição ao ruído de 100 dB, por 120 minutos, e pausa de 16 dias nas exposições. Após este protocolo de avaliações, a metodologia da exposição ao ruído para este estudo foi definida e optou-se por adotar o tempo de exposição de 8 horas e manter a intensidade de 100 dB por 10 dias sequenciais ininterruptos.

4.2 Tipo do estudo

Trata-se de um estudo experimental, prospectivo e de intervenção, realizado pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Otorrinolaringologia (LEO) em parceria com o Núcleo de Pesquisa em Morfologia e Imunologia Aplicada (NUMPIA) da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. O fluxograma da realização deste estudo experimental está descrito na figura 2.

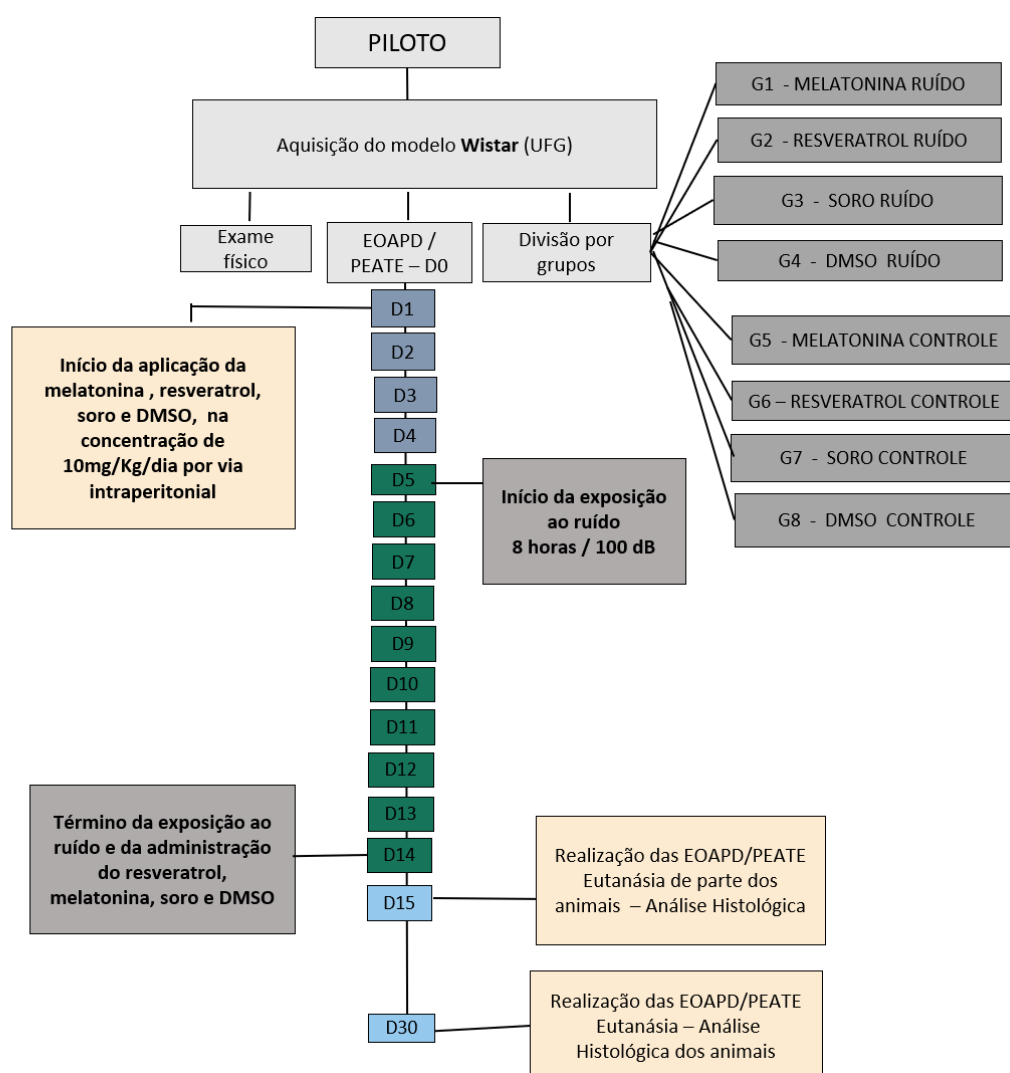


Figura 2. Fluxograma do experimento. Os animais expostos ao ruído foram submetidos ao ruído branco 8 h/dia por 10 dias sequenciais

Os animais foram adquiridos na Universidade Federal do Goiás (UFG) e transportados pela própria pesquisadora para o Alojamento da Faculdade de Medicina da UnB, em veículo próprio, seguindo todos os protocolos de segurança de transporte animal. Permaneceram em gaiolas com enriquecimento ambiental,

alocadas em estantes ventiladas e racks tipo IVC com maravalha limpa, água e ração *ad libitum*, sob luz (ciclo 12 horas claro/escuro), temperatura (entre 21 e 23 °C) e exaustão de ar controlados, e com o mínimo de sons externos possíveis para evitar estresse dos animais. Apenas os envolvidos com a pesquisa e os funcionários do biotério tinham acesso aos animais.

Esta pesquisa foi planejada previamente, avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com animais da Universidade de Brasília (CEUA), com o número de protocolo SEI 23106.001211/2020-39, e executada de acordo com as diretrizes do National Institute of Health (NIH) e do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4.3 Amostra

O estudo foi composto por 45 ratos machos, heterogênicos, da linhagem Wistar, com aproximadamente 25 dias de vida (cinco dias após o desmame).

A pesquisa foi iniciada 14 dias após a chegada dos animais. Eles foram mantidos no Alojamento de Animais da Faculdade de Medicina da UnB desde a chegada do biotério de origem. Permaneceram durante uma semana sem nenhuma interferência para adaptação ao novo local. Após este período, os animais passaram a ter contato com a pesquisadora principal e a assistente.

4.4 Avaliação funcional e eletrofisiológica da audição

Para possibilitar a realização dos exames audiológicos, os animais foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina (65 mg/kg [50 mg/ml]) e Xylasina (6,5 mg/kg [20mg/ml]) via intraperitoneal. Os exames foram realizados em sequência, iniciando com o exame de EOAPD, seguido pela realização do Potencial Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE).

As EOAPD são consideradas ferramenta essencial para avaliação da funcionalidade das células ciliadas externas. Trata-se de um exame objetivo, não invasivo, indolor e que não requer um ambiente com tratamento acústico (94-96). As EOAPD são as mais utilizadas nos estudos experimentais por abranger maior número de frequências específicas (97-99).

Os exames de EOAPD foram realizados no aparelho de Emissões Otoacústicas Evocadas - OTOREAD, da marca Interacoustic. Para a obtenção do

produto de distorção ($2f_1-f_2$) foram usados dois tons puros na razão de $f_2/f_1=1,22$, apresentados na intensidade média de 65 dB NPS para f_1 e 55 dB NPS para f_2 . Diante da variabilidade das respostas consideradas como normalidade do exame para este modelo animal, optou-se por não utilizar um valor de referência como normalidade. Entretanto, foi considerado como critério de exclusão a amplitude da resposta ou relação sinal ruído de EOA negativas nas bandas de frequências testadas, de 3 a 12 kHz. A avaliação foi realizada bilateralmente em todos os animais, em três tomadas, com alternância dos lados (direito e esquerdo) a cada avaliação. Para a análise dos dados, foi realizada a média dos valores das tomadas realizadas.

Assim como as EOAPD, a utilização do PEATE é favorecida para os estudos clínicos e experimentais por ser um método de fácil utilização e não invasivo. Para tanto, foi utilizado o aparelho SmartEP, da marca Intelligent Hearing Systems. Os animais foram anestesiados e receberam eletrodos subcutâneos (tipo agulha), posicionados no vértex (referência) e na região posterior de ambas as orelhas, conforme ilustrado na Figura 2(A). Foi utilizada uma oliva adaptada para uso em animais no conduto auditivo externo do lado da orelha na qual o exame foi realizado. Os estímulos empregados foram *tone burst*, na frequência de 8 kHz, e clique de rarefação, liberados a uma taxa de 21.1 por segundo, com um total máximo de 1.000 promediações e um tempo de análise de 25 msec. A pesquisa com os dois estímulos foi realizada na intensidade de 80 dB e os estímulos foram diminuídos progressivamente (60, 40, 30, 20, 10 e 0 dB) até o desaparecimento completo das ondas.

Optou-se pela escolha do clique pois este estímulo possibilita a obtenção de uma resposta eletrofisiológica que representa uma faixa de frequência da audição compreendida entre 1 e 4 kHz e que apresenta um traçado mais constante e reproduzível devido um maior sincronismo de despolarização das fibras nervosas (100, 101). Em contrapartida, o estímulo *tone burst* tem a vantagem de avaliar a audição em frequência específica e sua utilização torna-se importante quando se deseja diferenciar se a lesão ocorreu na região das frequências mais graves ou agudas(102). A dificuldade para utilização de muitas frequências é o tempo do exame. Nos estudos experimentais, em função da necessidade de anestesia, quanto mais demorado se torna o exame, maior é o risco de mortalidade dos animais (102). Desta forma, optou-se por avaliar a frequência de 8 kHz, devido ao conceito que, muitas vezes, no ruído de banda

estreita, dependendo da duração e do nível de ruído utilizado, a maior influência da exposição ocorre acima da faixa de frequência utilizada (103), neste caso, de 4 kHz.

Para a determinação do limiar auditivo eletrofisiológico, foi considerada a menor intensidade de estímulo em que se evidenciou o complexo II – III, pelo fato da onda II ser a maior, ao contrário do que ocorre com a espécie humana, em que a onda exponencial é a onda V (104).

O protocolo de avaliação do PEATE foi realizado apenas em uma orelha. Esta opção foi adotada pois no estudo piloto não foi observada diferença entre as orelhas e para diminuir o tempo que os animais iriam permanecer anestesiados, e com isto, o risco à saúde dos animais. Foi realizado um sorteio prévio e a orelha esquerda ficou definida para ser a orelha avaliada.

Os exames audiológicos (EOAPD e PEATE) (figura 3) foram realizados no D0, no D15 (dia seguinte ao término da exposição ao ruído) e no D30 (15 dias após ao término da exposição ao ruído).

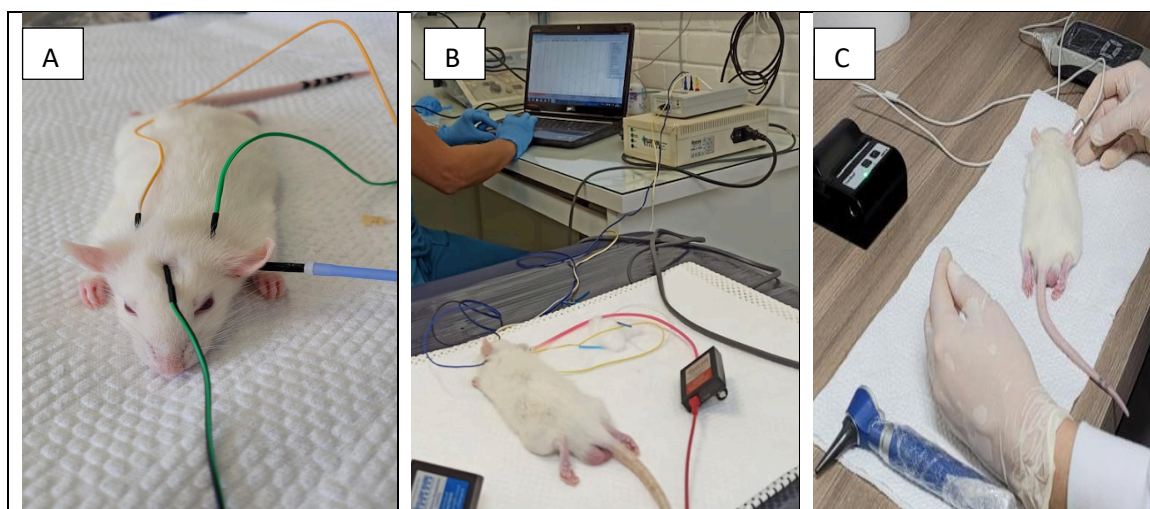


Figura 3. Avaliação por PEATE e EOAPD. A e B: Realização do PEATE. C: realização das EOAPD. Fonte: Elaborado pela autora

4.5 Critério de exclusão

- Animais com alteração na otoscopia;
- Animais com amplitude ou relação sinal ruído de EOAPD negativa em todas as bandas de frequências testadas, de 3 a 12 kHz.

4.6 Divisão dos grupos de estudo

No primeiro dia do experimento, os animais foram submetidos à inspeção geral de saúde pelo veterinário responsável e à otoscopia, com objetivo de verificar a integridade da orelha média. Em seguida, foram submetidos à avaliação por EOAPD e PEATE e divididos aleatoriamente entre os grupos:

Grupo 1: Grupo de Estudo Resveratrol, composto por dez animais (ratos wistar) que foram expostos ao ruído e receberam 10mg/kg/dia de Resveratrol por via intraperitoneal, diariamente, durante um período de 14 dias;

Grupo 2: Grupo de Estudo Melatonina, composto por dez animais (ratos wistar) que foram expostos ao ruído e receberam 10mg/kg/dia de Melatonina por via intraperitoneal, diariamente, durante um período de 14 dias;

Grupo 3: Grupo de Estudo Exposto, composto por seis animais (ratos wistar) que foram expostos ao ruído e receberam solução veículo (soro + álcool) por via intraperitoneal, diariamente, durante um período de 14 dias;

Grupo 4: Grupo de Estudo Exposto, composto por sete animais (ratos wistar) que foram expostos ao ruído e receberam solução veículo (Dimetilsulfóxido (DMSO)) por via intraperitoneal, diariamente, durante um período de 14 dias;

Grupo 5: Grupo Controle Resveratrol, composto por três animais (ratos wistar) que não foram expostos ao ruído e receberam 10mg/kg/dia de Resveratrol por via intraperitoneal, diariamente, durante um período de 14 dias;

Grupo 6: Grupo Controle Melatonina, composto por três animais (ratos wistar) que não foram expostos ao ruído e receberam 10mg/kg/dia de Melatonina por via intraperitoneal, diariamente, durante um período de 14 dias;

Grupo 7: Grupo Controle Não Exposto, composto por três animais (ratos wistar) que não foram expostos ao ruído e receberam solução veículo (soro + álcool) por via intraperitoneal, diariamente, durante um período de 14 dias;

Grupo 8: Grupo Controle Não Exposto DMSO, composto por três animais (ratos wistar) que não foram expostos ao ruído e receberam solução veículo (DMSO) por via intraperitoneal, diariamente, durante um período de 14 dias.

Devido experiências prévias com os animais wistar, e sua alta susceptibilidade para desenvolvimento de alterações de OM, optou-se por deixar o grupo de estudo mais robusto, com mais animais. Pois, caso houvesse exclusões devido estas alterações, ainda seria possível realizar uma análise estatística.

4.7 Administração do Fármaco

Os animais receberam uma dose diária dos antioxidantes (resveratrol e melatonina) de 10mg/kg/dia. A escolha da dose foi realizada com base na literatura pesquisada. Os fármacos foram pesados e diluídos, diariamente, momentos antes da aplicação.

O resveratrol, proveniente do fabricante Changsha Huir Biological-Tech, foi diluído em DMSO e aplicado o volume de 0,5 ml/dia. A melatonina, proveniente do mesmo fabricante, foi diluída em álcool e, posteriormente, adicionado soro fisiológico, sendo aplicado o volume de 1,0 ml/dia.

A aplicação dos fármacos foi feita pela pesquisadora principal e pela assistente na sala de procedimentos localizada dentro do alojamento de animais. Os animais foram imobilizados manualmente para receber o fármaco via intraperitoneal. Esta via foi determinada pela facilidade na administração.

O grupo estudo exposto foi dividido em dois, um com soro+álcool (veículo da melatonina) e outro com DMSO (veículo do resveratrol). Todos os animais receberam os fármacos uma vez por dia, por quatro dias, antes de iniciar a exposição ao ruído, e continuaram recebendo os fármacos durante o tempo da exposição ao ruído (10 dias).

4.8 Exposição ao ruído

Para a exposição ao ruído, os animais foram alocados dentro da cabine audiométrica da marca Redusom, que foi reformada para o experimento. Foram instaladas duas prateleiras que comportavam quatro caixas de animais em cada nível. Para diminuir a atenuação do som dentro das caixas dos animais, foi preparado um sistema de som composto com oito alto-falantes, sendo quatro aparelhos em cada nível. Desta forma, cada caixa de animais tinha um alto-falante com o som voltado para a sua direção. Destaca-se que as modificações realizadas não interferiram na função da cabine (figura 4).

A cabine audiométrica foi instalada em uma outra sala dentro do alojamento de animais, para que o ruído não fosse capaz de gerar alteração nos animais do grupo controle. Foi realizada medição do ruído do lado de fora da cabine, com o ruído ligado na cabine, e o nível permaneceu na faixa de 77 dB.

Durante a exposição ao ruído, os animais permaneceram nas suas próprias

caixas, forradas com maravalha, porém, sem o enriquecimento ambiental (tubos) e comida e água (estes poderiam servir como atenuadores do ruído, dependendo do posicionamento do animal na caixa).

O ruído utilizado para estimulação foi o ruído branco (*white noise*), centrado na frequência de 4 kHz (3564 - 4490 Hz), com intensidade em 100 dB por 8 horas diárias, obtido pelo aplicativo *Noise Generator*. Para seu funcionamento, foram instalados na cabine acústica um rádio com sistema bluetooth da marca Pioneer (modelo MVH-S218BT), módulo amplificador (marca Corzus modelo HF 404), e uma fonte de alimentação (*CW power supply*, modelo CW-12V80).

O controle do ruído foi realizado por meio de um dosímetro digital da Marca Intrutherm, modelo DOS-1000X, colocado dentro da cabine durante todo o tempo da exposição; as medidas nas diferentes posições ao redor da caixa em que estavam os animais poderiam variar em até 3dB. De acordo com o relatório de classificação do ruído, realizado durante a jornada de 8 horas, com intervalo de amostragem de minuto a minuto, ponderação temporal (S), ponderação de frequência (A), a medida de intensidade de vale foi de 100.6dB e a medida de pico de 103.0 dB, a medida de frequência permaneceu entre 3.150 Hz e 5.000 K, sendo a média de intensidade de 86.9 dB em 3.150 Hz; 100.6 dB em 4000 Hz e 90.7 dB em 5.000 Hz. Além disso, também foi utilizado diariamente um decibelímetro digital da marca *Sound Level Meter*, modelo DEC-415, situado dentro da cabine acústica, na altura das caixas, no início e após a exposição do ruído.

Os animais foram submetidos durante 10 dias à exposição à níveis de 100 dB durante 8 horas.

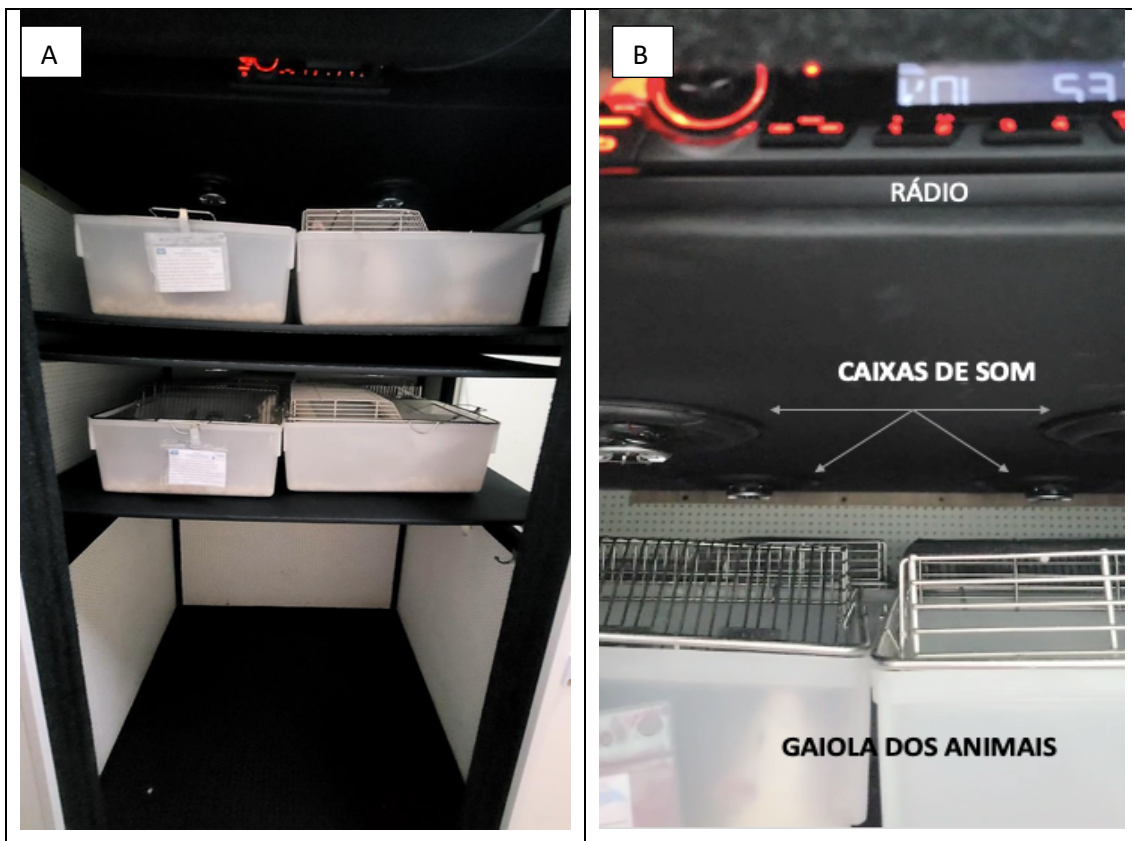


Figura 4: A) Posicionamento das caixas durante a exposição ao ruído. B) Em detalhamento, o sistema de som produzido para a estimulação acústica. Fonte: Elaborado pela autora.

4.9 Eutanásia

A eutanásia dos animais foi realizada em duas etapas. Parte da amostra foi eutanasiada no D15, e o restante no D30, sempre após a avaliação audiológica.

Para o procedimento, os animais anestesiados foram colocados em câmara com concentração de 40% de dióxido de carbono, resultando em morte pela depressão excessiva do Sistema Nervoso Central e hipóxia, devido ao deslocamento do oxigênio durante a troca gasosa alveolar. O emprego desse método foi utilizado por ser rápido, indolor, de baixo custo, e por manter os tecidos sem resíduos químicos.

4.10 Processamento histológico

Após a eutanásia, os animais foram perfundidos por via cardíaca com paraformaldeído a 10%, para a remoção do sangue e a fixação dos tecidos. As cabeças foram removidas para os estudos histológicos.

O procedimento de remoção das bulas timpânicas foi realizado antes da microtomia, para obtenção de secções finas das bulas. As bulas foram imersas

em solução descalcificante (EDTA - Ácido Etileno Di-amina Treta Acético 372.2 (reagen) 0,78g (ácido nítrico concentrado 5 ml e água destilada 95 ml) até atingirem uma textura macia descalcificada, avaliada manualmente. Após a descalcificação, as amostras foram lavadas em água corrente por 2 horas e submetidas a um protocolo de desidratação com uma série de banhos graduados de etanol, conforme descrito no procedimento operacional padrão local (70% etanol, 80% etanol, 90% etanol, Álcool absoluto (1), Álcool absoluto (2), Álcool absoluto (3), Álcool absoluto + Xilol, Xilol (1), Xilol (2), Xilol (3), Xilol + Parafina, Parafina (1), Parafina (2), Parafina (3) e, por fim, Paraplast Plus®.

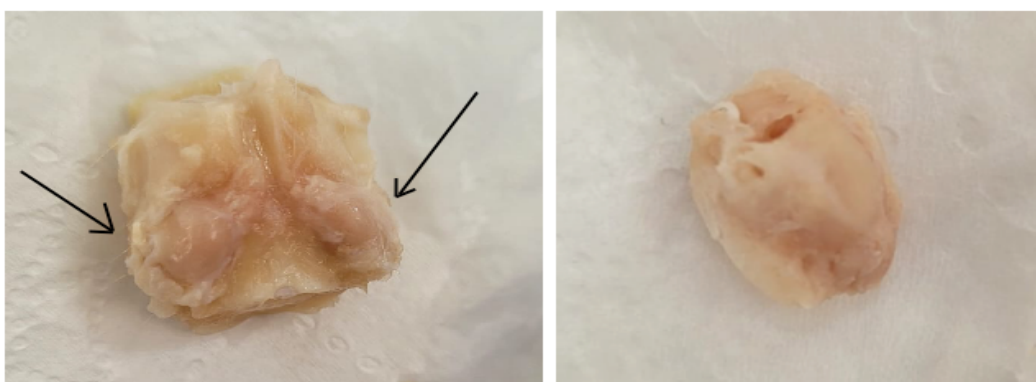


Figura 5. Bula timpânica pronta para ir para o processo de descalcificação. Fonte: Elaborado pela autora.

O emblocamento das peças foi feito em dois planos anatômicos, transversal e sagital. A microtomia teve como ponto de partida a superfície das bulas (faces anterior e lateral) e os cortes histológicos foram feitos com espessura de 6 μm em ambos os planos. As lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina. Depois de coradas, as imagens foram capturadas com o equipamento AperioScanScope® e avaliadas no programa ImageScopeversion 11.2.0.780 (Aperio Technologies Inc, Vista, CA, USA) por um examinador cego (200x, 400x e 1000x).

4.11 Análise dos dados histológicos

Para análise das fotomicrografias das lâminas foram realizadas a avaliação monocego, sendo o critério utilizado o de células viáveis por área.

Para a análise da densidade celular foi realizada a quantificação das células viáveis presentes em cada fotomicrografia do material, fracionada pela

área selecionada 80 μm^2 para análise do gânglio espiral, 50 μm^2 para análise do limbo, 100 x 25 μm para análise do ligamento espiral e 100 μm lineares, para da estria vascular.

4.12 Procedimentos analíticos

O tamanho da amostra foi definido com base no cálculo realizado pela CEUA/UnB. Os dados coletados foram dispostos em planilha Excel. A normalidade das variáveis foi analisada empregando-se o teste de Kolomogorov-Smirnov e a homogeneidade das variâncias empregando-se o teste de Barttlet. Para comparações entre dois grupos com distribuição normal, foi usado o Teste t para os dados paramétricos ou Mann-Whitney para os dados não paramétricos. Para a análise histológica, foi utilizado o teste ANOVA. Foram consideradas significativas diferenças com $p < 0,05$. As análises foram realizadas empregando-se o programa Prism® 5 Software Package (GraphPad, USA, 2005).

5. RESULTADOS:

Os resultados foram separados em sessões, de acordo com a análise realizada, conforme fluxograma abaixo (figura 6).

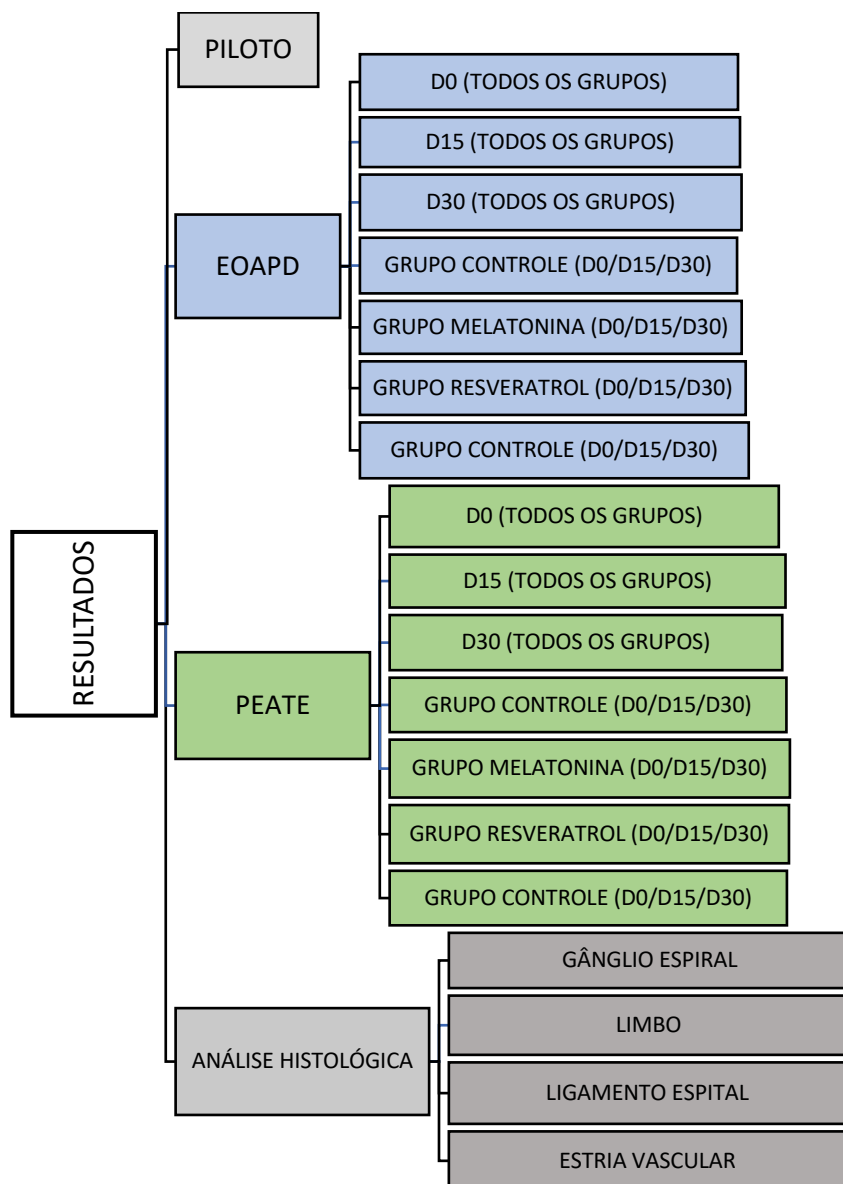


Figura 6. Fluxograma da descrição resultados.

5.1 Estudo Piloto

Conforme citado na metodologia, foi realizado um protocolo de exposições sequenciais compostas por: um dia de exposição ao ruído de 95 dB, por 60 min; seis dias de exposição ao ruído de 95 dB, por 60 min; nove dias de exposição ao ruído de 95 dB, por 60 min; cinco dias de exposição ao ruído de 100 dB, por 60

min; Pausa de sete dias nas exposições; seis dias de exposição ao ruído de 100 dB, por 120 min e pausa de 16 dias nas exposições.

Após a realização da primeira exposição ao ruído (95 dB por 60 minutos) por um, sete e 16 dias foram realizados testes de EOAPD. Os resultados demonstraram que nenhuma mudança aconteceu no exame de emissões otoacústicas nas frequências de 3 a 12 kHz. Posteriormente, após a exposição a 100 dB, por 60 minutos, durante cinco dias, foi observada uma CTS (mudança de limiar composta), pois os animais já tinham sofrido exposição prévia ao ruído. Foram encontradas alterações significativas tanto na amplitude de frequência quanto na relação sinal ruído das EOAPD, nas frequências de 8 a 12 kHz. Porém, essa mudança de limiar não foi definitiva, pois, após sete dias, ocorreu um retorno aos limiares basais.

Na exposição seguinte, utilizando a intensidade de 100 dB por 120 minutos, durante seis dias, foram encontradas alterações significativas nas medidas de amplitude das EOAPD e da relação S/R nas frequências de 8 a 12 kHz. Após 16 dias de pausa nas exposições, essas alterações melhoraram parcialmente, permanecendo estáveis nas frequências de 8, 9 e 12 kHz, caracterizando, assim, outra CTS. Não foi observada alteração significativa entre os achados da exposição na intensidade de 100 dB por 60 minutos e a exposição subsequente, por 120 minutos, o que sugere a existência de platô chamado de mudança de limiar assintótica (ATS) após 6 dias de exposição ao ruído.

Por fim, diante dos resultados observados no estudo piloto, optou-se por adotar o tempo de exposição de 8 horas e manter a intensidade de 100 dB, com o objetivo de gerar uma alteração permanente no limiar (MPL).

5.2 Emissões Otoacústicas

A análise estatística foi realizada com base nos critérios de amplitude (DP) e relação sinal/ruído (S/R), dos valores encontrados na pesquisa das EOAPD, nas frequências de 3 a 12 kHz, nos três exames realizados ao longo do estudo.

Inicialmente, foi realizada uma análise por pares, entre as orelhas direita e esquerda, no D0 e D30. Diante da uniformidade encontrada (teste *Mann Whitney*, p: 0,116 (D0) p: 0,260 (D25) (amplitude), p: 0,587 (D0) e p: 0,159 (relação sinal/ruído), as orelhas foram agrupadas.

Foi realizada uma análise entre os grupos DMSO e soro, nos D0 e D30. Como não foi observada diferença entre os grupos (teste *Mann Whitney*, p: 0,596 (D0) p: 0,901 (D30) (amplitude), p: 0.807 (D0) e p: 0,797 (relação sinal/ruído), os grupos foram unificados em um único, denominado grupo estudo veículo. As respostas dos grupos que não foram expostos ao ruído, denominados de grupo controle (melatonina, resveratrol, DMSO e soro), também foram unificadas e constituíram apenas o grupo controle (teste *Mann Whitney*- todos $p > 0,05$ (D0 e D30)).

5.2.1 Análise D0

Não foram observadas diferenças entre as medianas de amplitude (tabela 1) e relação sinal/ruído (tabela 2) dos exames dos grupos controle e melatonina, controle e resveratrol, controle e veículo, veículo e melatonina, veículo e resveratrol, melatonina e resveratrol, nas frequências testadas.

Tabela 1: Mediana da amplitude (DP) das EOAPD na comparação dos grupos, grupo controle (GC), grupo melatonina LF(GM), grupo resveratrol (GR) e grupo veículo (GV) no D0.

DP	CONTROLE n=12	MELATONINA n=10	GC X GM p	RESVERATROL n=10	GC X GR p	VEÍCULO n=13	GC X GV p	VEÍCULO n=13	MELATONINA n=10	GV X GM p	RESVERATROL n=10	GV X GR p	MELATONINA n=10	RESVERATROL n=10	GM X GR p
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	7.12 ± 6.40 5.50 (1.00 – 16.00)	5.51 ± 5.59 5.00 (-2.50 – 13.50)	0.551	4.19 ± 4.61 5.00 (-1.50 – 11.00)	0.248	7.536 ± 5.84 7.53 (-8.50 – 18.00)	0.869	7.536 ± 5.84 7.53 (-8.50 – 18.00)	5.51 ± 5.59 5.00 (-2.50 – 13.50)	0.322	4.19 ± 4.61 5.00 (-1.50 – 11.00)	0.097	5.51 ± 5.59 5.00 (-2.50 – 13.50)	4.19 ± 4.61 5.00 (-1.50 – 11.00)	0.527
4	18.63 ± 5.59 19.75 (12.00 – 26.00)	18.04 ± 3.44 18.30 (12.00 – 25.00)	0.768	15.83 ± 3.32 16.50 (10.00 – 20.50)	0.177	17.09 ± 4.85 19.00 (6.00 – 24.30)	0.730	17.09 ± 4.85 19.00 (6.00 – 24.30)	18.04 ± 3.44 18.30 (12.00 – 25.00)	0.928	15.83 ± 3.32 16.50 (10.00 – 20.50)	0.196	18.04 ± 3.44 18.30 (12.00 – 25.00)	15.83 ± 3.32 16.50 (10.00 – 20.50)	0.117
5	16.00 ± 3.66 16.00 (9.00 – 20.00)	18.06 ± 4.65 19.00 (9.50 – 23.50)	0.301	15.13 ± 4.91 15.50 (6.00 – 25.00)	0.673	16.27 ± 4.63 17.25 (5.00 – 22.50)	0.882	16.27 ± 4.63 17.25 (5.00 – 22.50)	18.06 ± 4.65 19.00 (9.50 – 23.50)	0.278	15.13 ± 4.91 15.50 (6.00 – 25.00)	0.504	18.06 ± 4.65 19.00 (9.50 – 23.50)	15.13 ± 4.91 15.50 (6.00 – 25.00)	0.138
6	24.25 ± 3.88 24.75 (17.00 – 29.00)	27.54 ± 3.26 27.50 (23.00 – 33.00)	0.0504	25.06 ± 3.09 26.00 (19.00 – 29.00)	0.611	26.58 ± 4.10 27.00 (16.00 – 31.00)	0.110	26.58 ± 4.10 27.00 (16.00 – 31.00)	27.54 ± 3.26 27.50 (23.00 – 33.00)	0.479	25.06 ± 3.09 26.00 (19.00 – 29.00)	0.129	27.54 ± 3.26 27.50 (23.00 – 33.00)	25.06 ± 3.09 26.00 (19.00 – 29.00)	0.101
7	24.06 ± 3.35 24.50 (19.50 – 29.00)	27.42 ± 3.42 28.50 (20.00 – 32.00)	0.096	24.67 ± 2.74 24.75 (19.00 – 28.00)	0.663	26.44 ± 3.75 26.75 (20.00 – 32.00)	0.126	26.44 ± 3.75 26.75 (20.00 – 32.00)	27.42 ± 3.42 28.50 (20.00 – 32.00)	0.446	24.67 ± 2.74 24.75 (19.00 – 28.00)	0.160	27.42 ± 3.42 28.50 (20.00 – 32.00)	24.67 ± 2.74 24.75 (19.00 – 28.00)	0.075
8	23.94 ± 2.51 24.00 (20.00 – 28.00)	25.31 ± 2.35 25.00 (22.00 – 30.00)	0.222	24.71 ± 1.79 25.00 (21.00 – 27.50)	0.432	25.58 ± 2.99 25.00 (19.00 – 30.00)	0.178	25.58 ± 2.99 25.00 (19.00 – 30.00)	25.31 ± 2.35 25.00 (22.00 – 30.00)	0.783	24.71 ± 1.79 25.00 (21.00 – 27.50)	0.366	25.31 ± 2.35 25.00 (22.00 – 30.00)	24.71 ± 1.79 25.00 (21.00 – 27.50)	0.484
9	26.94 ± 2.00 27.00 (23.00 – 30.00)	25.65 ± 2.83 26.00 (20.00 – 29.00)	0.279	25.58 ± 2.88 26.25 (18.50 – 29.50)	0.210	26.65 ± 3.23 25.85 (20.50 – 32.00)	0.813	26.65 ± 3.23 25.85 (20.50 – 32.00)	25.65 ± 2.83 26.00 (20.00 – 29.00)	0.366	25.58 ± 2.88 26.25 (18.50 – 29.50)	0.349	25.65 ± 2.83 26.00 (20.00 – 29.00)	25.58 ± 2.88 26.25 (18.50 – 29.50)	0.951
10	27.44 ± 4.53 28.25 (21.00 – 34.00)	28.04 ± 3.28 28.00 (19.50 – 32.30)	0.884	29.38 ± 1.68 29.25 (27.00 – 33.00)	0.190	27.88 ± 3.61 27.75 (20.50 – 33.00)	0.785	27.88 ± 3.61 27.75 (20.50 – 33.00)	28.04 ± 3.28 28.00 (19.50 – 32.30)	0.896	29.38 ± 1.68 29.25 (27.00 – 33.00)	0.186	28.04 ± 3.28 28.00 (19.50 – 32.30)	29.38 ± 1.68 29.25 (27.00 – 33.00)	0.218
11	26.34 ± 4.98 26.50 (20.00 – 34.00)	25.81 ± 2.89 26.00 (19.00 – 32.00)	0.760	27.48 ± 2.76 26.25 (24.00 – 33.00)	0.519	27.10 ± 4.43 28.00 (15.50 – 33.00)	0.423	27.10 ± 4.43 28.00 (15.50 – 33.00)	25.81 ± 2.89 26.00 (19.00 – 32.00)	0.365	27.48 ± 2.76 26.25 (24.00 – 33.00)	0.788	25.81 ± 2.89 26.00 (19.00 – 32.00)	27.48 ± 2.76 26.25 (24.00 – 33.00)	0.153
12	23.88 ± 7.51 22.50 (16.00 – 36.50)	24.75 ± 5.04 24.50 (17.50 – 34.50)	0.752	25.46 ± 3.29 24.25 (21.50 – 32.00)	0.524	26.54 ± 5.97 28.00 (12.50 – 36.00)	0.322	26.54 ± 5.97 28.00 (12.50 – 36.00)	24.75 ± 5.04 24.50 (17.50 – 34.50)	0.372	25.46 ± 3.29 24.25 (21.50 – 32.00)	0.568	24.75 ± 5.04 24.50 (17.50 – 34.50)	25.46 ± 3.29 24.25 (21.50 – 32.00)	0.682

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). AMP (amplitude). Significância estatística determinada pelo teste t/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Tabela 2: Mediana da variação da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação dos grupos, grupo controle (GC), grupo melatonina (GM), grupo resveratrol (GR) e grupo veículo (GV) no D0.

S/R	CONTROLE n=12	MELATONINA n=10	GC X GM P	RESVERATROL n=10	GC X GR P	VEÍCULO n=13	GC X GV P	VEÍCULO n=13	MELATONINA n=10	GV X GM P	RESVERATROL n=10	GV X GR P	MELATONINA n=10	RESVERATROL n=10	GM X GR P
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	23.06 ± 6.52 20.75 (15.5 – 35.00)	22.23 ± 6.17 22.50 (12.50 – 32.50)	0.772	19.85 ± 7.03 19.25 (7.50 – 31.00)	0.316	22.50 ± 6.65 22.75 (6.50 – 35.00)	0.838	22.50 ± 6.65 22.75 (6.50 – 35.00)	22.23 ± 6.17 22.50 (12.50 – 32.50)	0.772	19.85 ± 7.03 19.25 (7.50 – 31.00)	0.316	22.23 ± 6.17 22.50 (12.50 – 32.50)	19.85 ± 7.03 19.25 (7.50 – 31.00)	0.838
4	35.25 ± 6.39 35.00 (26.5 – 44.00)	35.19 ± 3.89 35.50 (29.00 – 45.00)	0.979	31.76 ± 5.41 32.65 (23.50 – 39.50)	0.205	33.58 ± 4.40 34.35 (26.50 – 41.50)	0.422	33.58 ± 4.40 34.35 (26.50 – 41.50)	35.19 ± 3.89 35.50 (29.00 – 45.00)	0.979	31.76 ± 5.41 32.65 (23.50 – 39.50)	0.205	35.19 ± 3.89 35.50 (29.00 – 45.00)	31.76 ± 5.41 32.65 (23.50 – 39.50)	0.422
5	33.44 ± 5.39 35.25 (24.50 – 40.00)	37.02 ± 4.62 38.00 (28.00 – 42.50)	0.075	34.17 ± 5.19 34.75 (26.00 – 43.00)	0.765	34.39 ± 5.15 33.75 (22.50 – 41.00)	0.662	34.39 ± 5.15 33.75 (22.50 – 41.00)	37.02 ± 4.62 38.00 (28.00 – 42.50)	0.075	34.17 ± 5.19 34.75 (26.00 – 43.00)	0.765	37.02 ± 4.62 38.00 (28.00 – 42.50)	34.17 ± 5.19 34.75 (26.00 – 43.00)	0.662
6	43.04 ± 2.10 43.50 (40.50 – 46.00)	45.41 ± 2.73 46.00 (40.00 – 49.50)	0.069	44.43 ± 3.31 46.00 (38.50 – 48.00)	0.234	45.74 ± 3.44 46.25 (37.00 – 51.00)	0.062	45.74 ± 3.44 46.25 (37.00 – 51.00)	45.41 ± 2.73 46.00 (40.00 – 49.50)	0.069	44.43 ± 3.31 46.00 (38.50 – 48.00)	0.234	45.41 ± 2.73 46.00 (40.00 – 49.50)	44.43 ± 3.31 46.00 (38.50 – 48.00)	0.062
7	43.74 ± 2.50 44.00 (40.00 – 46.50)	46.79 ± 3.01 47.00 (40.00 – 50.00)	0.825	44.67 ± 2.65 45.25 (39.00 – 48.00)	0.253	45.95 ± 3.49 46.75 (40.00 – 52.00)	0.135	45.95 ± 3.49 46.75 (40.00 – 52.00)	46.79 ± 3.01 47.00 (40.00 – 50.00)	0.825	44.67 ± 2.65 45.25 (39.00 – 48.00)	0.253	46.79 ± 3.01 47.00 (40.00 – 50.00)	44.67 ± 2.65 45.25 (39.00 – 48.00)	0.135
8	43.94 ± 2.51 44.00 (40.00 – 48.00)	45.08 ± 1.93 45.00 (42.00 – 48.00)	0.256	44.54 ± 1.80 44.50 (41.00 – 47.50)	0.537	45.44 ± 2.73 45.00 (39.00 – 50.00)	0.185	45.44 ± 2.73 45.00 (39.00 – 50.00)	45.08 ± 1.93 45.00 (42.00 – 48.00)	0.256	44.54 ± 1.80 44.50 (41.00 – 47.50)	0.537	45.08 ± 1.93 45.00 (42.00 – 48.00)	44.54 ± 1.80 44.50 (41.00 – 47.50)	0.185
9	46.91 ± 1.99 47.00 (43.00 – 50.00)	45.81 ± 2.67 46.00 (40.00 – 49.00)	0.327	45.54 ± 2.90 46.25 (38.50 – 49.50)	0.261	46.29 ± 3.25 45.50 (40.50 – 52.00)	0.615	46.29 ± 3.25 45.50 (40.50 – 52.00)	45.81 ± 2.67 46.00 (40.00 – 49.00)	0.327	45.54 ± 2.90 46.25 (38.50 – 49.50)	0.261	45.81 ± 2.67 46.00 (40.00 – 49.00)	45.54 ± 2.90 46.25 (38.50 – 49.50)	0.615
10	47.28 ± 4.48 47.10 (41.00 – 54.00)	48.04 ± 3.25 48.00 (39.50 – 52.00)	0.715	49.19 ± 1.75 49.00 (46.50 – 53.00)	0.194	47.63 ± 3.85 47.75 (40.50 – 44.75)	0.833	47.63 ± 3.85 47.75 (40.50 – 44.75)	48.04 ± 3.25 48.00 (39.50 – 52.00)	0.715	49.19 ± 1.75 49.00 (46.50 – 53.00)	0.194	48.04 ± 3.25 48.00 (39.50 – 52.00)	49.19 ± 1.75 49.00 (46.50 – 53.00)	0.833
11	45.65 ± 5.34 45.25 (40.00 – 54.00)	45.81 ± 2.89 46.00 (39.00 – 52.00)	0.930	44.33 ± 3.25 46.50 (43.50 – 54.50)	0.313	46.94 ± 4.27 48.00 (35.50 – 53.00)	0.499	46.94 ± 4.27 48.00 (35.50 – 53.00)	45.81 ± 2.89 46.00 (39.00 – 52.00)	0.930	44.33 ± 3.25 46.50 (43.50 – 54.50)	0.313	45.81 ± 2.89 46.00 (39.00 – 52.00)	44.33 ± 3.25 46.50 (43.50 – 54.50)	0.499
12	43.60 ± 7.60 41.40 (36.00 – 56.50)	44.58 ± 5.17 44.50 (37.50 – 54.50)	0.728	45.71 ± 3.07 45.25 (41.50 – 52.00)	0.396	46.22 ± 5.75 47.50 (32.50 – 54.00)	0.062	46.22 ± 5.75 47.50 (32.50 – 54.00)	44.58 ± 5.17 44.50 (37.50 – 54.50)	0.728	45.71 ± 3.07 45.25 (41.50 – 52.00)	0.396	44.58 ± 5.17 44.50 (37.50 – 54.50)	45.71 ± 3.07 45.25 (41.50 – 52.00)	0.062

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

As figuras 7 e 8 ilustram os resultados obtidos na amplitude do sinal e no critério relação sinal/ruído das emissões por produto de distorção nos grupos controle, melatonina, resveratrol e veículo, encontrados avaliação do D0, em todas as frequências avaliadas. Observa-se que há uma uniformidade das respostas encontradas.

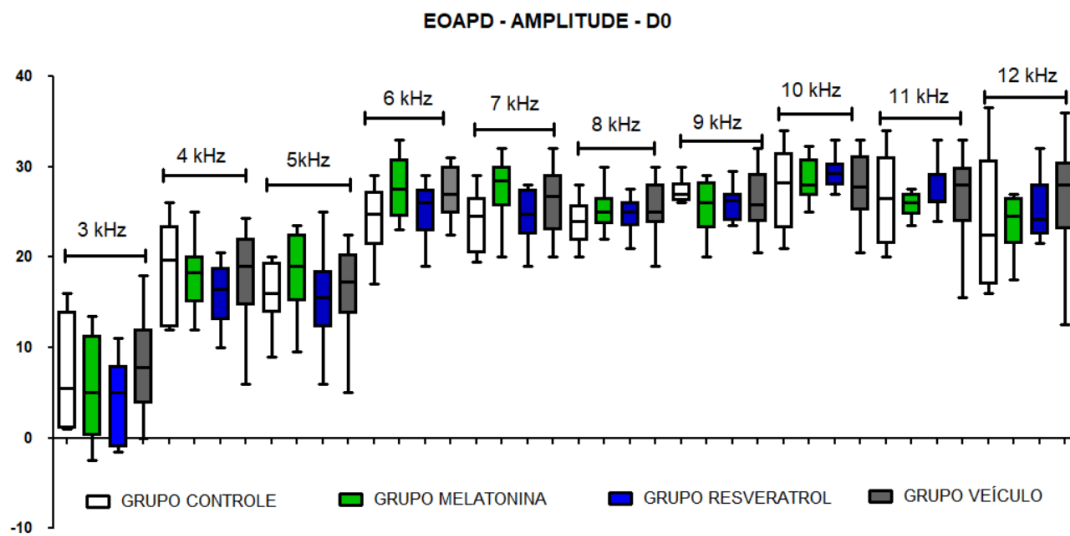


Figura 7: Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12 KHz obtidas na primeira avaliação D0, nos grupos pesquisados GC (grupo controle - branco) (n=12), GM (grupo melatonina - verde) (n=10), GR (grupo resveratrol - azul) (n=10) e GV (grupo veículo - cinza) (n=13). Não foi observada diferença entre os grupos (todos $p > 0,05$). Fonte: Elaborada pela autora, 2024

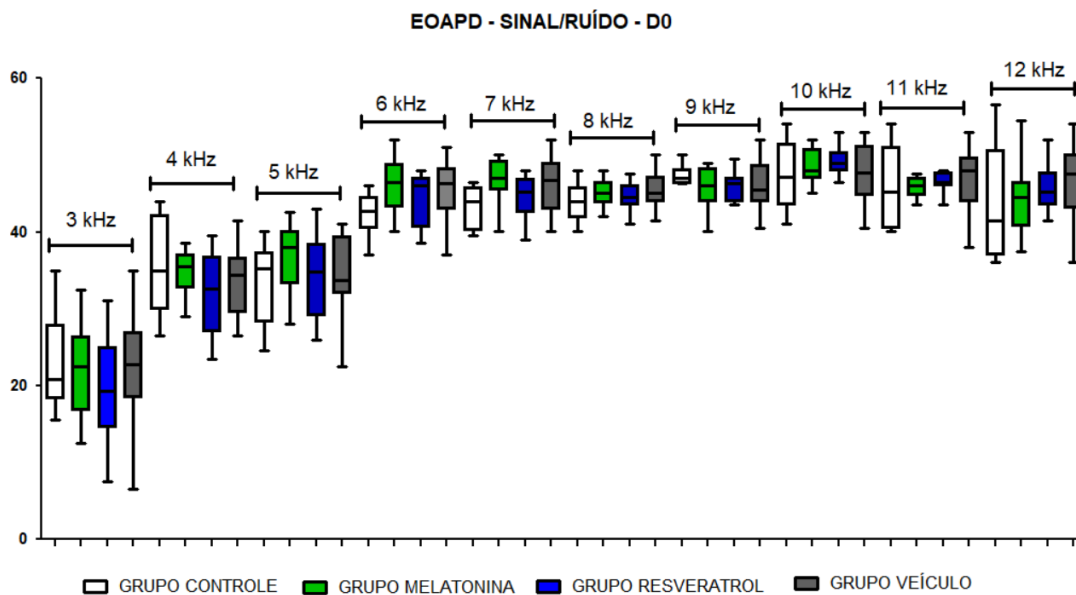


Figura 8: Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12 KHz obtidas na primeira avaliação D0, nos grupos pesquisados GC (grupo controle - branco) (n=12), GM (grupo melatonina - verde) (n=10), GR (grupo resveratrol - azul) (n=10) e GV (grupo veículo -

cinza) (n=13). Não foi observada diferença entre os grupos (todos $p > 0,05$). Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

5.2.2. Análise D15

Foi encontrada diferença estatística em todas as análises realizadas na comparação entre as medianas de amplitude (tabela 3) e relação sinal/ruído (tabela 4) dos exames dos grupos controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo ($p < 0,05$).

Na comparação entre os grupos expostos ao ruído – veículo, melatonina e resveratrol – no critério amplitude, foi encontrada diferença estatística entre os grupos veículo e melatonina nas frequências de 3 kHz ($p: 0,002$), 9 kHz ($p: 0,007$), 10 kHz ($p: 0,0004$); entre os grupos veículo e resveratrol nas frequências de 3 kHz ($p: 0,0002$), 4 kHz ($p: 0,0002$), 5 kHz ($p: 0,020$); e entre os grupos melatonina e resveratrol na frequência de 4 kHz ($p: 0,025$) (tabela 3).

No critério relação sinal/ruído, na comparação entre os grupos expostos ao ruído – veículo, melatonina e resveratrol – foi encontrada diferença estatística entre os grupos veículo e melatonina nas frequências de 3 kHz ($p: 0,045$), 9 kHz ($p: 0,015$), 10 kHz ($p: 0,0004$); entre os grupos veículo e resveratrol nas frequências de 3 kHz ($p: 0,0001$), 4 kHz ($p: 0,028$), 5 kHz ($p: 0,019$), 7 kHz ($p: 0,028$); e entre os grupos melatonina e resveratrol na frequência de 10 kHz ($p: 0,046$) (tabela 4)

Tabela 3: Mediana da variação da amplitude (DP) das EOAPD na comparação dos grupos, grupo controle (GC), grupo melatonina (GM), grupo resveratrol (GR) e grupo veículo (GV) no D15.

AMP	CONTROLE (n=12)	MELATONINA (n=10)	GC X GM P	RESVERATROL n=10	GC X GR P	VEÍCULO n=13	GC X GV P	VEÍCULO n=13	MELATONINA n=10	GV X GM P	RESVERATROL n=10	GV X GR P	MELATONINA n=10	RESVERATROL n=10	GM X GR P
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	9.00 ± 5.14 9.50 (1.00 – 14.50)	-2.761 ± 9.86 -4.00 (-14.70 – 12.00)	0.005 **	-1.91 ± 5.27 -4.50 (-9.50 – 6.50)	0.0002 ***	-12.24 ± 7.36 -14.25 (-20.00 – 7.00)	<0.00 01 ***	-12.24 ± 7.36 -14.25 (-20.00 – 7.00)	-2.761 ± 9.86 -4.00 (-14.70 – 12.00)	0.002 **	-1.91 ± 5.27 -4.50 (-9.50 – 6.50)	0.0002 ***	-2.761 ± 9.86 -4.00 (-14.70 – 12.00)	-1.91 ± 5.27 -4.50 (-9.50 – 6.50)	0.792
4	20.81 ± 5.49 22.15 (12.00 – 28.00)	-8.23 ± 4.74 -8.50 (-16.50 – 2.00)	<0.0001 ***	-10.37 ± 3.79 -3.00 (-13.50 – 12.00)	<0.0001 ***	-10.37 ± 3.79 -11.30 (-16.00 – 1.50)	<0.00 01 ***	-10.37 ± 3.79 -11.30 (-16.00 – 1.50)	-8.23 ± 4.74 -8.50 (-16.50 – 2.00)	0.151	-10.37 ± 3.79 -3.00 (-13.50 – 12.00)	0.0002 ***	-8.23 ± 4.74 -8.50 (-16.50 – 2.00)	-10.37 ± 3.79 -3.00 (-13.50 – 12.00)	0.025 *
5	19.04 ± 5.29 19.90 (9.00 – 25.00)	-17.82 ± 2.93 -19.00 (-20.00 – 10.00)	0.0002 ***	-13.86 ± 5.60 -14.00 (-20.00 – 4.00)	<0.0001 ***	-18.17 ± 2.90 -20.00 (-20.00 – 11.00)	<0.00 01 ***	-18.17 ± 2.90 -20.00 (-20.00 – 11.00)	-17.82 ± 2.93 -19.00 (-20.00 – 10.00)	0.350	-13.86 ± 5.60 -14.00 (-20.00 – 4.00)	0.020 *	-17.82 ± 2.93 -19.00 (-20.00 – 10.00)	-13.86 ± 5.60 -14.00 (-20.00 – 4.00)	0.098
6	24.38 ± 3.82 24.75 (17.00 – 30.00)	-18.75 ± 1.94 -20.00 (-20.00 – 13.70)	0.0002 ***	-17.98 ± 3.99 -20.00 (-20.00 – 7.00)	0.0002 ***	-19.34 ± 1.20 -20.00 (-20.00 – 16.00)	<0.00 01 ***	-19.34 ± 1.20 -20.00 (-20.00 – 16.00)	-18.75 ± 1.94 -20.00 (-20.00 – 13.70)	0.507	-17.98 ± 3.99 -20.00 (-20.00 – 7.00)	0.716	-18.75 ± 1.94 -20.00 (-20.00 – 13.70)	-17.98 ± 3.99 -20.00 (-20.00 – 7.00)	0.904
7	24.94 ± 4.20 24.75 (20.00 – 32.00)	-19.96 ± 0.13 -20.00 (-20.00 – 19.50)	0.0002 ***	-17.25 ± 5.31 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.0001 ***	-19.98 ± 0.10 -20.00 (-20.00 – 19.50)	<0.00 01 ***	-19.98 ± 0.10 -20.00 (-20.00 – 19.50)	-19.96 ± 0.13 -20.00 (-20.00 – 19.50)	0.734	-17.25 ± 5.31 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.071	-19.96 ± 0.13 -20.00 (-20.00 – 19.50)	-17.25 ± 5.31 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.216
8	24.13 ± 3.61 23.75 (20.00 – 30.00)	-18.62 ± 2.08 -20.00 (-20.00 – 15.00)	0.0002 ***	-17.21 ± 5.18 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.0002 ***	-19.52 ± 1.50 -20.00 (-20.00 – 13.50)	<0.00 01 ***	-19.52 ± 1.50 -20.00 (-20.00 – 13.50)	-18.62 ± 2.08 -20.00 (-20.00 – 15.00)	0.0506	-17.21 ± 5.18 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.146	-18.62 ± 2.08 -20.00 (-20.00 – 15.00)	-17.21 ± 5.18 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.877
9	26.88 ± 4.38 27.00 (22.00 – 34.50)	-16.08 ± 4.23 -15.50 (-20.00 – 8.50)	0.0002 ***	-17.71 ± 4.22 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.0002 ***	-19.32 ± 1.99 -20.00 (-20.00 – 11.50)	<0.00 01 ***	-19.32 ± 1.99 -20.00 (-20.00 – 11.50)	-16.08 ± 4.23 -15.50 (-20.00 – 8.50)	0.007 **	-17.71 ± 4.22 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.081	-16.08 ± 4.23 -15.50 (-20.00 – 8.50)	-17.71 ± 4.22 -20.00 (-20.00 – 6.00)	0.347
10	26.13 ± 4.97 26.00 (18.50 – 33.00)	-15.85 ± 4.14 -16.70 (-20.00 – 7.50)	<0.0001 ***	-17.61 ± 4.82 -20.00 (-20.00 – 3.50)	0.0002 ***	-19.48 ± 1.27 -20.00 (-20.00 – 15.00)	<0.00 01 ***	-19.48 ± 1.27 -20.00 (-20.00 – 15.00)	-15.85 ± 4.14 -16.70 (-20.00 – 7.50)	0.0004 ***	-17.61 ± 4.82 -20.00 (-20.00 – 3.50)	0.131	-15.85 ± 4.14 -16.70 (-20.00 – 7.50)	-17.61 ± 4.82 -20.00 (-20.00 – 3.50)	0.122
11	22.63 ± 6.28 22.00 (13.50 – 32.00)	-17.69 ± 3.92 -20.00 (-20.00 – 9.00)	0.0002 ***	-17.79 ± 5.25 -20.00 (-20.00 – 3.00)	0.0001 ***	-19.63 ± 0.858 0.858 -20.00 (-20.00 – 17.30)	<0.00 01 ***	-19.63 ± 0.858 -20.00 (-20.00 – 17.30)	-17.69 ± 3.92 -20.00 (-20.00 – 9.00)	0.119	-17.79 ± 5.25 -20.00 (-20.00 – 3.00)	0.574	-17.69 ± 3.92 -20.00 (-20.00 – 9.00)	-17.79 ± 5.25 -20.00 (-20.00 – 3.00)	0.554
12	22.98 ± 5.27 24.00 (16.00 – 30.50)	-19.38 ± 1.44 -20.00 (-20.00 – 15.00)	0.0002 ***	-18.6 ± 3.21 -20.00 (-20.00 – 9.50)	0.0001 ***	-19.48 ± 1.49 -20.00 (-20.00 – 13.30)	<0.00 01 ***	-19.48 ± 1.49 -20.00 (-20.00 – 13.30)	-19.38 ± 1.44 -20.00 (-20.00 – 15.00)	0.769	-18.6 ± 3.21 -20.00 (-20.00 – 9.50)	0.610	-19.38 ± 1.44 -20.00 (-20.00 – 15.00)	-18.6 ± 3.21 -20.00 (-20.00 – 9.50)	0.827

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). AMP (amplitude). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Tabela 4: Mediana da variação da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação dos grupos, grupo controle (GC), grupo melatonina (GM), grupo resveratrol (GR) e grupo veículo (GV) no D15.

S/R	CONTROLE (n=12)	MELATONINA (n=10)	GC X GM p	RESVERATROL n=10	GC X GR p	VEÍCULO n=13	GC X GV p	VEÍCULO n=13	MELATONINA n=10	GV X GM p	RESVERATROL n=10	GV X GR p	MELATONINA n=10	RESVERATROL n=10	GM X GR p
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	23.69 ± 5.35 24.25 (16.50 – 30.50)	12.78 ± 10.36 10.50 (-1.50 – 27.50)	0.013 *	14.43 ± 7.22 14.10 (0.00 – 25.50)	0.006**	5.51 ± 7.37 3.75 (-4.00 – 27.00)	0.0002 ***	5.51 ± 7.37 3.75 (-4.00 – 27.00)	12.78 ± 10.36 10.50 (-1.50 – 27.50)	0.045 *	14.43 ± 7.22 14.10 (0.00 – 25.50)	0.001 ***	12.78 ± 10.36 10.50 (-1.50 – 27.50)	14.43 ± 7.22 14.10 (0.00 – 25.50)	0.651
4	37.00 ± 6.43 37.50 (27.00 – 45.00)	8.19 ± 5.34 8.50 (-3.50 – 18.00)	<0.0001 ***	13.29 ± 9.17 13.40 (-1.50 – 28.00)	<0.0001 ***	6.39 ± 4.89 6.00 (-3.50 – 16.50)	<0.0001 ***	6.39 ± 4.89 6.00 (-3.50 – 16.50)	8.19 ± 5.34 8.50 (-3.50 – 18.00)	0.318	13.29 ± 9.17 13.40 (-1.50 – 28.00)	0.028 **	8.19 ± 5.34 8.50 (-3.50 – 18.00)	13.29 ± 9.17 13.40 (-1.50 – 28.00)	0.099
5	34.48 ± 5.22 32.50 (27.30 – 44.00)	1.40 ± 2.77 0.00 (-1.00 – 8.70)	0.0002 ***	4.23 ± 4.92 2.00 (-0.50 – 14.00)	0.0002 ***	1.35 ± 2.84 0.00 (-2.50 – 8.50)	<0.0001 ***	1.35 ± 2.84 0.00 (-2.50 – 8.50)	1.40 ± 2.77 0.00 (-1.00 – 8.70)	0.794	4.23 ± 4.92 2.00 (-0.50 – 14.00)	0.019 *	1.40 ± 2.77 0.00 (-1.00 – 8.70)	4.23 ± 4.92 2.00 (-0.50 – 14.00)	0.083
6	42.75 ± 3.38 42.50 (37.00 – 49.00)	1.25 ± 2.47 0.00 (-1.0 – 8.00)	0.0001 ***	1.71 ± 3.80 0.00 (0.00 – 13.00)	0.0002 ***	0.61 ± 1.36 0.00 (-1.50 – 4.00)	<0.0001 ***	0.61 ± 1.36 0.00 (-1.50 – 4.00)	1.25 ± 2.47 0.00 (-1.0 – 8.00)	0.811	1.71 ± 3.80 0.00 (0.00 – 13.00)	0.408	1.25 ± 2.47 0.00 (-1.0 – 8.00)	1.71 ± 3.80 0.00 (0.00 – 13.00)	0.810
7	43.88 ± 4.04 43.85 (37.30 – 49.50)	0.10 ± 0.36 0.00 (0.00 – 1.30)	<0.0001 ***	2.75 ± 5.31 0.00 (0.00 – 14.00)	0.0001 ***	0.02 ± 0.10 0.00 (0.00 – 0.50)	<0.0001 ***	0.02 ± 0.10 0.00 (0.00 – 0.50)	0.10 ± 0.36 0.00 (0.00 – 1.30)	0.702	2.75 ± 5.31 0.00 (0.00 – 14.00)	0.028*	0.10 ± 0.36 0.00 (0.00 – 1.30)	2.75 ± 5.31 0.00 (0.00 – 14.00)	0.216
8	44.06 ± 3.53 43.75 (40.00 – 50.00)	1.38 ± 2.08 0.00 (0.00 – 5.00)	0.0001 ***	2.79 ± 5.18 0.00 (0.00 – 14.00)	0.0002 ***	0.48 ± 1.67 0.00 (-0.70 – 7.30)	<0.0001 ***	0.48 ± 1.67 0.00 (-0.70 – 7.30)	1.38 ± 2.08 0.00 (0.00 – 5.00)	0.041	2.79 ± 5.18 0.00 (0.00 – 14.00)	0.059	1.38 ± 2.08 0.00 (0.00 – 5.00)	2.79 ± 5.18 0.00 (0.00 – 14.00)	0.877
9	46.94 ± 4.30 47.00 (42.50 – 54.50)	3.50 ± 3.76 4.50 (0.00 – 11.50)	0.0002 ***	2.44 ± 4.27 0.00 (0.00 – 14.00)	0.0002 ***	0.71 ± 1.98 0.00 (0.00 – 8.50)	<0.0001 ***	0.71 ± 1.98 0.00 (0.00 – 8.50)	3.50 ± 3.76 4.50 (0.00 – 11.50)	0.015 *	2.44 ± 4.27 0.00 (0.00 – 14.00)	0.062	3.50 ± 3.76 4.50 (0.00 – 11.50)	2.44 ± 4.27 0.00 (0.00 – 14.00)	0.481
10	45.88 ± 5.13 46.00 (37.50 – 53.00)	4.16 ± 4.06 0.00 (3.30 – 12.50)	<0.0001 ***	1.76 ± 4.44 0.00 (-2.50 – 14.00)	0.0002 ***	0.50 ± 1.29 0.00 (-0.50 – 5.00)	<0.0001 ***	0.50 ± 1.29 0.00 (-0.50 – 5.00)	4.16 ± 4.06 0.00 (3.30 – 12.50)	0.0004 ***	1.76 ± 4.44 0.00 (-2.50 – 14.00)	0.679	4.16 ± 4.06 0.00 (3.30 – 12.50)	1.76 ± 4.44 0.00 (-2.50 – 14.00)	0.046 *
11	43.19 ± 6.29 43.50 (31.50 – 52.00)	2.33 ± 3.98 0.00 (-0.50 – 11.00)	0.0001 ***	2.16 ± 5.27 0.00 (-0.50 – 17.00)	0.0002 ***	0.29 ± 0.70 0.00 (0.00 – 2.50)	<0.0001 ***	0.29 ± 0.70 0.00 (0.00 – 2.50)	2.33 ± 3.98 0.00 (-0.50 – 11.00)	0.256	2.16 ± 5.27 0.00 (-0.50 – 17.00)	0.548	2.33 ± 3.98 0.00 (-0.50 – 11.00)	2.16 ± 5.27 0.00 (-0.50 – 17.00)	0.601
12	40.63 ± 8.17 41.00 (25.50 – 50.50)	0.76 ± 1.42 0.00 (0.00 – 5.00)	0.0001 ***	1.37 ± 3.21 0.00 (0.00 – 10.50)	0.0001 ***	0.69 ± 2.17 0.00 (0.00 – 10.00)	<0.0001 ***	0.69 ± 2.17 0.00 (0.00 – 10.00)	0.76 ± 1.42 0.00 (0.00 – 5.00)	0.157	1.37 ± 3.21 0.00 (0.00 – 10.50)	0.341	0.76 ± 1.42 0.00 (0.00 – 5.00)	1.37 ± 3.21 0.00 (0.00 – 10.50)	0.486

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

As figuras 9 e 10 ilustram os resultados obtidos na amplitude do sinal e na relação sinal/ruído das emissões por produto de distorção nos grupos controle, melatonina, resveratrol e veículo, encontrados na avaliação do D15, em todas as frequências avaliadas. Observa-se que todos os grupos expostos ao ruído apresentaram uma piora dos resultados na comparação com o grupo controle.

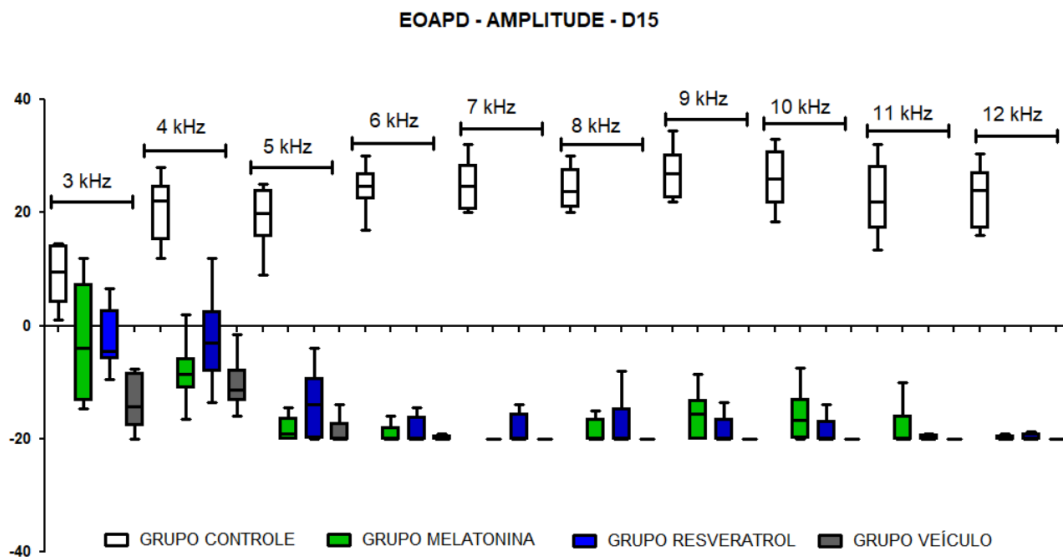


Figura 9. Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12 KHz obtidas na avaliação D15, nos grupos pesquisados GC (grupo controle - branco) (n=12), GM (grupo melatonina - verde) (n=10), GR (grupo resveratrol - azul) (n=10) e GV (grupo veículo - cinza) (n=13). Observada diferença entre o grupo controle e os grupos expostos ao ruído ($p < 0,005$). Fonte: Elaborada pela autora, 2024

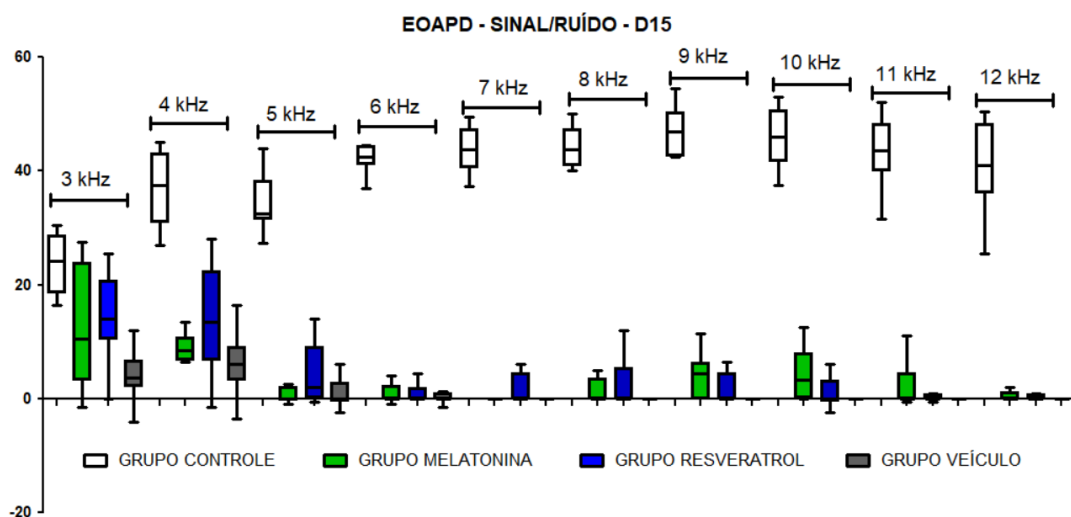


Figura 10. Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12 KHz obtidas na avaliação D15, nos grupos pesquisados GC (grupo controle - branco) (n=12), GM (grupo melatonina - verde) (n=10), GR (grupo resveratrol - azul) (n=10) e GV (grupo veículo - cinza) (n=13). Observada diferença entre o grupo controle e os grupos expostos ao ruído ($p < 0,01$). Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

5.2.2 Análise D30

Houve uma diferença em todas as análises comparativas das medianas de amplitude (tabela 5) e da relação sinal/ruído (tabela 6) entre os grupos controle e os grupos tratados com melatonina, resveratrol e veículo, com exceção da frequência de 3 kHz (controle e melatonina: p: 0,236 para amplitude e p:0,259 para relação sinal/ruído, e controle e resveratrol: p: 0,688 para amplitude e p:0,246 para relação sinal/ruído).

Na comparação entre os grupos expostos ao ruído – veículo, melatonina e resveratrol –, no critério amplitude, foi encontrada diferença entre os grupos veículo e melatonina nas frequências de 3 kHz (p: 0,008), 4 kHz (p:0,015), 5 kHz (p: 0,0006), 6 kHz (p: 0,010), 7 kHz (p:0,020), 8 kHz (p: 0,010); 9 kHz (p: 0,012), 10 kHz (p:0,007), 11 kHz (p: 0,013); entre os grupos veículo e resveratrol nas frequências de 3 kHz (p: 0,0001), 4 kHz (p:0,0013), 5 kHz (p: 0,0008), 6 kHz (p: 0,001), 7 kHz (p:0,0009), 8 kHz (p: 0,001); 10 kHz (p: 0,015), 11 kHz (p: 0,002) (tabela 5).

A análise com o critério relação sinal/ruído realizada entre os grupos expostos ao ruído – veículo, melatonina e resveratrol – identificou diferença entre os grupos veículo e melatonina nas frequências de 4 kHz (p:0,014), 5 kHz (p: 0,003), 6 kHz (p: 0,016), 7 kHz (p:0,035), 8 kHz (p: 0,010); 9 kHz (p: 0,012), 10 kHz (p:0,007), 11 kHz (p: 0,010); entre os grupos veículo e resveratrol nas frequências de 3 kHz (p: 0,002), 4 kHz (p:0,006), 5 kHz (p: 0,026), 6 kHz (p: 0,002), 7 kHz (p:0,001), 8 kHz (p: 0,003); 10 kHz (p: 0,036) (tabela 6).

Não foi encontrada diferença na comparação entre os grupos melatonina e resveratrol nos critérios amplitude e relação sinal/ruído no D30 (tabelas 5 e 6).

Tabela 5: Mediana da variação da amplitude (DP) das EOAPD na comparação dos grupos, grupo controle (GC), grupo melatonina (GM), grupo resveratrol (GR) e grupo veículo (GV) no D30.

AMP	CONTROLE (n=12)	MELATONINA (n=6)	GC X GM p	RESVERATROL n=6	GC X GR p	VEÍCULO n=9	GC X GV p	VEÍCULO n=9	MELATONINA n=6	GV X GM p	RESVERATROL n=6	GV X GR p	MELATONINA n=6	RESVERATROL n=6	GM X GR p
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	10.19 ± 6.33 12.25 (-1.50 – 17.50)	4.80 ± 9.28 5.00 (-5.00 – 15.00)	0.236	8.92 ± 5.41 10.50 (0.00 – 14.00)	0.688	-9.43 ± 9.70 -13.00 (-16.00 – 12.50)	<0.00 01 ***	-9.43 ± 9.70 -13.00 (-16.00 – 12.50)	4.80 ± 9.28 5.00 (-5.00 – 15.00)	0.008 **	8.92 ± 5.41 10.50 (0.00 – 14.00)	0.0001 ***	4.80 ± 9.28 5.00 (-5.00 – 15.00)	8.92 ± 5.41 10.50 (0.00 – 14.00)	0.351
4	20.56 ± 6.98 22.75 (9.50 – 27.00)	2.40 ± 2.58 2.00 (0.00 – 6.50)	0.0002 ***	7.00 ± 10.44 7.00 (-3.50 – 20.00)	0.010 *	-7.30 ± 7.91 -8.00 (-18.00 – 10.00)	<0.00 01 ***	-7.30 ± 7.91 -8.00 (-18.00 – 10.00)	2.40 ± 2.58 2.00 (0.00 – 6.50)	0.015 *	7.00 ± 10.44 7.00 (-3.50 – 20.00)	0.0013 **	2.40 ± 2.58 2.00 (0.00 – 6.50)	7.00 ± 10.44 7.00 (-3.50 – 20.00)	0.363
5	17.60 ± 7.04 20.15 (3.00 – 23.00)	-2.60 ± 6.86 -3.00 (-9.00 – 8.50)	0.0004 ***	-1.85 ± 10.24 -5.00 (-12.00 – 11.50)	0.0008 ***	-13.56 ± 4.75 -14.00 (-20.00 – -6.00)	<0.00 01 ***	-13.56 ± 4.75 -14.00 (-20.00 – -6.00)	-2.60 ± 6.86 -3.00 (-9.00 – 8.50)	0.0006 ***	-1.85 ± 10.24 -5.00 (-12.00 – 11.50)	0.0008 ***	-2.60 ± 6.86 -3.00 (-9.00 – 8.50)	-1.85 ± 10.24 -5.00 (-12.00 – 11.50)	0.891
6	24.38 ± 3.82 25.00 (12.00 – 29.00)	-4.20 ± 11.99 -10.50 (-14.00 – 15.00)	0.0002 ***	-0.50 ± 11.50 -6.00 (-13.00 – 17.50)	0.0003 ***	-15.15 ± 6.08 -16.30 (-20.00 – 0.0)	<0.00 01 ***	-15.15 ± 6.08 -16.30 (-20.00 – 0.0)	-4.20 ± 11.99 -10.50 (-14.00 – 15.00)	0.010 *	-0.50 ± 11.50 -6.00 (-13.00 – 17.50)	0.001 **	-4.20 ± 11.99 -10.50 (-14.00 – 15.00)	-0.50 ± 11.50 -6.00 (-13.00 – 17.50)	0.600
7	23.13 ± 6.08 23.75 (15.00 – 31.00)	-2.80 ± 13.59 -6.00 (-20.00 – 17.00)	0.0006 ***	2.52 ± 10.80 0.70 (-11.00 – 19.00)	0.0005 ***	-15.47 ± 8.28 -20.00 (-20.00 – 9.00)	<0.00 01 ***	-15.47 ± 8.28 -20.00 (-20.00 – 9.00)	-2.80 ± 13.59 -6.00 (-20.00 – 17.00)	0.029 *	2.52 ± 10.80 0.70 (-11.00 – 19.00)	0.0009 ***	-2.80 ± 13.59 -6.00 (-20.00 – 17.00)	2.52 ± 10.80 0.70 (-11.00 – 19.00)	0.465
8	23.63 ± 4.00 24.25 (18.00 – 28.00)	-0.20 ± 9.36 -4.00 (-9.00 – 15.00)	<0.00 01 ***	2.18 ± 12.22 4.00 (-15.00 – 17.00)	0.0004 ***	-15.02 ± 9.98 -20.00 (-20.00 – 12.00)	<0.00 01 ***	-15.02 ± 9.98 -20.00 (-20.00 – 12.00)	-0.20 ± 9.36 -4.00 (-9.00 – 15.00)	0.010 *	2.18 ± 12.22 4.00 (-15.00 – 17.00)	0.001 **	-0.20 ± 9.36 -4.00 (-9.00 – 15.00)	2.18 ± 12.22 4.00 (-15.00 – 17.00)	0.722
9	26.81 ± 4.40 28.00 (21.00 – 32.00)	3.40 ± 10.63 0.00 (-7.50 – 21.00)	0.0002 ***	0.42 ± 17.75 1.50 (-20.00 – 24.00)	0.001 **	-13.40 ± 11.92 -20.00 (-20.00 – 19.00)	<0.00 01 ***	-13.40 ± 11.92 -20.00 (-20.00 – 19.00)	3.40 ± 10.63 0.00 (-7.50 – 21.00)	0.012 *	0.42 ± 17.75 1.50 (-20.00 – 24.00)	0.082	3.40 ± 10.63 0.00 (-7.50 – 21.00)	0.42 ± 17.75 1.50 (-20.00 – 24.00)	0.747
10	25.81 ± 4.52 27.00 (19.50 – 31.00)	3.20 ± 7.84 2.00 (-7.00 – 14.00)	<0.00 01 ***	3.85 ± 16.67 7.00 (-20.00 – 25.00)	0.003 **	-14.33 ± 9.74 -19.50 (-20.00 – 11.00)	<0.00 01 ***	-14.33 ± 9.74 -19.50 (-20.00 – 11.00)	3.20 ± 7.84 2.00 (-7.00 – 14.00)	0.007 **	3.85 ± 16.67 7.00 (-20.00 – 25.00)	0.015 *	3.20 ± 7.84 2.00 (-7.00 – 14.00)	3.85 ± 16.67 7.00 (-20.00 – 25.00)	0.936
11	24.50 ± 3.57 26.00 (19.00 – 29.50)	-0.10 ± 10.64 -2.00 (-10.00 – 17.00)	<0.00 01 ***	4.81 ± 17.41 6.00 (-18.00 – 24.00)	0.007 **	-14.28 ± 10.58 -19.50 (-20.00 – 14.00)	<0.00 01 ***	-14.28 ± 10.58 -19.50 (-20.00 – 14.00)	-0.10 ± 10.64 -2.00 (-10.00 – 17.00)	0.013 *	4.81 ± 17.41 6.00 (-18.00 – 24.00)	0.002 **	-0.10 ± 10.64 -2.00 (-10.00 – 17.00)	4.81 ± 17.41 6.00 (-18.00 – 24.00)	0.584
12	22.38 ± 3.14 22.75 (17.00 – 26.00)	-3.00 ± 12.26 -4.00 (-19.00 – -15.50)	0.0001 ***	-1.54 ± 19.19 -8.00 (-20.00 – 27.00)	0.004 **	-14.69 ± 10.77 -19.5 (-20.00 – 18.00)	<0.00 01 ***	-14.69 ± 10.77 -19.5 (-20.00 – 18.00)	-3.00 ± 12.26 -4.00 (-19.00 – -15.50)	0.0502	-1.54 ± 19.19 -8.00 (-20.00 – 27.00)	0.058	-19.38 ± 1.44 -20.00 (-20.00 – -15.00)	-1.54 ± 19.19 -8.00 (-20.00 – 27.00)	0.885

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). AMP (amplitude). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Tabela 6: Mediana da variação da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação dos grupos, grupo controle (GC), grupo melatonina (GM), grupo resveratrol (GR) e grupo veículo (GV) no D30.

S/R	CONTROLE (n=12)	MELATONINA (n=6)	GC X GM P	RESVERATROL n=6	GC X GR P	VEÍCULO n=9	GC X GV P	VEÍCULO n=9	MELATONINA n=6	GV X GM P	RESVERATROL n=6	GV X GR P	MELATONINA n=6	RESVERATROL n=6	GM X GR P
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	27.44 ± 7.37 29.25 (17.50 – 35.00)	21.50 ± 10.74 24.50 (8.50 – 32.50)	0.259	22.43 ± 8.61 26.00 (7.50 – 32.00)	0.246	6.93 ± 9.62 3.50 (-3.00 – 26.00)	0.0007 ***	6.93 ± 9.62 3.50 (-3.00 – 26.00)	21.50 ± 10.74 24.50 (8.50 – 32.50)	0.084	22.43 ± 8.61 26.00 (7.50 – 32.00)	0.0026 **	21.50 ± 10.74 24.50 (8.50 – 32.50)	22.43 ± 8.61 26.00 (7.50 – 32.00)	0.622
4	35.18 ± 8.10 37.85 (22.50 – 44.70)	19.90 ± 5.14 21.00 (14.00 – 26.50)	0.0033 **	22.19 ± 12.67 17.30 (7.50 – 38.00)	0.032 *	9.04 ± 8.47 7.00 (-0.50 – 26.50)	<0.0001 ***	9.04 ± 8.47 7.00 (-0.50 – 26.50)	19.90 ± 5.14 21.00 (14.00 – 26.50)	0.014 *	22.19 ± 12.67 17.30 (7.50 – 38.00)	0.0068 **	19.90 ± 5.14 21.00 (14.00 – 26.50)	22.19 ± 12.67 17.30 (7.50 – 38.00)	0.713
5	35.35 ± 6.99 37.25 (23.00 – 43.50)	17.40 ± 6.75 15.00 (11.00 – 28.50)	0.0008 ***	16.03 ± 8.87 12.70 (7.00 – 27.00)	0.0004 ***	6.17 ± 5.299 3.70 (-1.00 – 16.00)	<0.0001 ***	6.17 ± 5.299 3.70 (-1.00 – 16.00)	17.40 ± 6.75 15.00 (11.00 – 28.50)	0.0037 **	16.03 ± 8.87 12.70 (7.00 – 27.00)	0.026 *	17.40 ± 6.75 15.00 (11.00 – 28.50)	16.03 ± 8.87 12.70 (7.00 – 27.00)	0.778
6	42.53 ± 6.25 45.00 (32.00 – 49.00)	15.40 ± 11.51 9.50 (6.00 – 34.00)	0.0002 ***	18.83 ± 11.22 14.00 (7.00 – 36.00)	0.0002 ***	4.11 ± 6.14 1.50 (-1.00 – 20.00)	<0.0001 ***	4.11 ± 6.14 1.50 (-1.00 – 20.00)	15.40 ± 11.51 9.50 (6.00 – 34.00)	0.016 *	18.83 ± 11.22 14.00 (7.00 – 36.00)	0.0023 **	15.40 ± 11.51 9.50 (6.00 – 34.00)	18.83 ± 11.22 14.00 (7.00 – 36.00)	0.616
7	43.13 ± 6.08 43.75 (35.00 – 51.00)	12.20 ± 13.59 14.00 (0.00 – 37.00)	0.0006 ***	22.29 ± 10.86 19.00 (9.00 – 39.00)	0.0004 ***	4.50 ± 8.27 0.00 (-0.30 – 29.00)	<0.0001 ***	4.50 ± 8.27 0.00 (-0.30 – 29.00)	12.20 ± 13.59 14.00 (0.00 – 37.00)	0.035 *	22.29 ± 10.86 19.00 (9.00 – 39.00)	0.0019 **	12.20 ± 13.59 14.00 (0.00 – 37.00)	22.29 ± 10.86 19.00 (9.00 – 39.00)	0.486
8	43.50 ± 3.76 44.25 (38.00 – 47.50)	19.80 ± 9.36 16.00 (11.00 – 35.00)	<0.0001 ***	21.86 ± 12.21 24.00 (5.00 – 37.00)	0.0004 ***	4.98 ± 9.98 0.00 (0.00 – 32.00)	<0.0001 ***	4.98 ± 9.98 0.00 (0.00 – 32.00)	19.80 ± 9.36 16.00 (11.00 – 35.00)	0.010 *	21.86 ± 12.21 24.00 (5.00 – 37.00)	0.0035 **	19.80 ± 9.36 16.00 (11.00 – 35.00)	21.86 ± 12.21 24.00 (5.00 – 37.00)	0.759
9	46.41 ± 4.25 47.65 (40.00 – 52.00)	23.30 ± 10.76 20.00 (12.00 – 41.00)	0.0002 ***	19.79 ± 17.95 18.00 (-1.00 – 44.00)	0.0013 **	6.47 ± 11.99 0.00 (-0.70 – 39.00)	<0.0001 ***	6.47 ± 11.99 0.00 (-0.70 – 39.00)	23.30 ± 10.76 20.00 (12.00 – 41.00)	0.012 *	19.79 ± 17.95 18.00 (-1.00 – 44.00)	0.145	23.30 ± 10.76 20.00 (12.00 – 41.00)	19.79 ± 17.95 18.00 (-1.00 – 44.00)	0.706
10	44.94 ± 5.77 47.00 (34.00 – 50.00)	22.90 ± 8.03 22.00 (13.00 – 34.00)	0.0001 ***	23.14 ± 17.28 27.00 (-1.00 – 45.00)	0.0050 **	5.55 ± 9.80 0.00 (-0.50 – 31.00)	<0.0001 ***	5.55 ± 9.80 0.00 (-0.50 – 31.00)	22.90 ± 8.03 22.00 (13.00 – 34.00)	0.0077 **	23.14 ± 17.28 27.00 (-1.00 – 45.00)	0.036 *	22.90 ± 8.03 22.00 (13.00 – 34.00)	23.14 ± 17.28 27.00 (-1.00 – 45.00)	0.977
11	44.53 ± 3.45 45.75 (38.50 – 49.50)	20.20 ± 10.40 18.00 (10.00 – 37.00)	<0.0001 ***	19.90 ± 16.49 22.00 (-1.00 – 43.30)	0.0012 **	5.63 ± 10.55 0.70 (-0.70 – 34.00)	<0.0001 ***	5.63 ± 10.55 0.70 (-0.70 – 34.00)	20.20 ± 10.40 18.00 (10.00 – 37.00)	0.010 *	19.90 ± 16.49 22.00 (-1.00 – 43.30)	0.070	20.20 ± 10.40 18.00 (10.00 – 37.00)	19.90 ± 16.49 22.00 (-1.00 – 43.30)	0.972
12	40.81 ± 3.74 41.50 (36.00 – 46.00)	16.20 ± 12.42 14.50 (1.00 – 35.50)	0.0002 ***	18.14 ± 19.78 11.50 (-1.00 – 47.00)	0.0071 **	5.37 ± 10.75 0.50 (0.00 – 38.00)	0.0001 ***	5.37 ± 10.75 0.50 (0.00 – 38.00)	16.20 ± 12.42 14.50 (1.00 – 35.50)	0.050	18.14 ± 19.78 11.50 (-1.00 – 47.00)	0.240	16.20 ± 12.42 14.50 (1.00 – 35.50)	18.14 ± 19.78 11.50 (-1.00 – 47.00)	0.851

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

As figuras 11 e 12 ilustram os resultados obtidos na avaliação realizada no D30, após 15 dias de repouso acústico. Os dados obtidos da amplitude do sinal e na relação sinal/ruído das emissões por produto de distorção nos grupos controle, melatonina, resveratrol e veículo foram descritos em todas as frequências avaliadas. Observa-se que, apesar de apresentarem uma recuperação em relação ao exame no D15, os grupos melatonina, controle e veículo mantiveram respostas menores na comparação com o grupo controle.

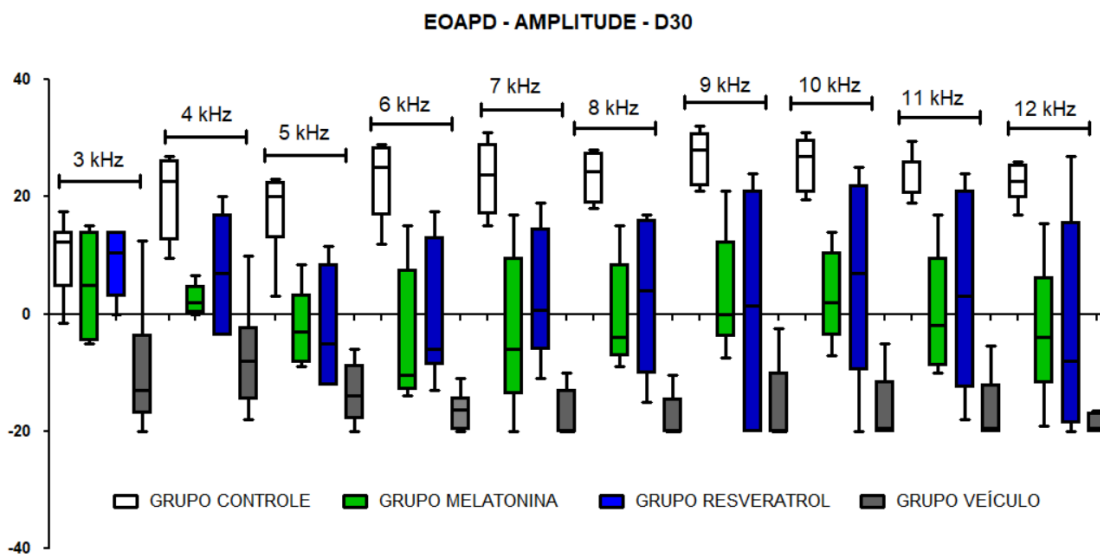


Figura 11. Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12 KHz obtidas na avaliação D30, nos grupos pesquisados GC (grupo controle - branco) (n=12), GM (grupo melatonina - verde) (n=6), GR (grupo resveratrol - azul) (n=6) e GV (grupo veículo - cinza) (n=9). Observada diferença entre o grupo controle e os grupos expostos ao ruído ($p < 0,01$). Fonte: Elaborada pela autora, 2024

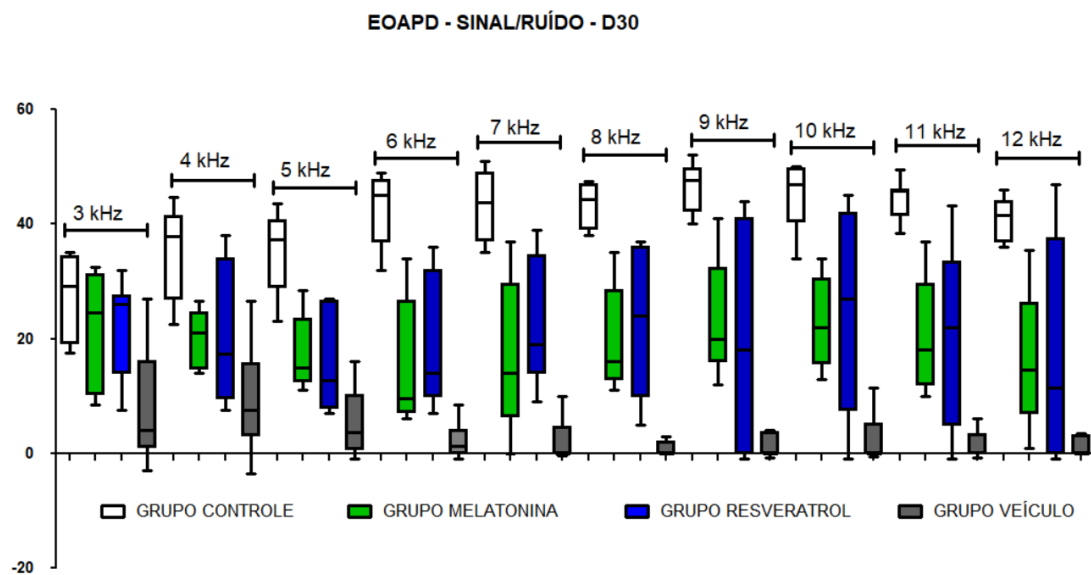


Figura 12. Boxplot da variação da amplitude das EOAPDs nas frequências de 3 a 12 KHz obtidas na avaliação D30, nos grupos pesquisados GC (grupo controle - branco) (n=12), GM (grupo melatonina - verde) (n=6), GR (grupo resveratrol - azul) (n=6) e GV (grupo veículo - cinza) (n=9). Observada diferença entre o grupo controle e os grupos expostos ao ruído (p<0,01). Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.2.4 Análise grupo controle (D0/ D15/ D30)

Não foram observadas diferenças entre as medianas de amplitude (tabela 7) e relação sinal/ruído (tabela 8) na comparação entre os exames do grupo controle no D0, D15 e D30, nas frequências pesquisadas.

Tabela 7: Mediana da variação da amplitude das EOAPD na comparação do grupo controle nos exames realizados no D0, D15 e D30.

AMP	CONTROLE D0		p	CONTROLE D15		p	CONTROLE D30		p
	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	7.12 ± 6.40 5.50 (1.00 – 16.00)	9.00 ± 5.14 9.50 (1.00 – 14.50)	0.529	9.00 ± 5.14 9.50 (1.00 – 14.50)	10.19 ± 6.33 12.25 (-1.50 – 17.50)	0.686	7.12 ± 6.40 5.50 (1.00 – 16.00)	10.19 ± 6.33 12.25 (-1.50 – 17.50)	0.352
4	18.63 ± 5.59 19.75 (12.00 – 26.00)	20.81 ± 5.49 22.15 (12.00 – 28.00)	0.443	20.81 ± 5.49 22.15 (12.00 – 28.00)	20.56 ± 6.98 22.75 (9.50 – 27.00)	0.937	18.63 ± 5.59 19.75 (12.00 – 26.00)	20.56 ± 6.98 22.75 (9.50 – 27.00)	0.550
5	16.00 ± 3.66 16.00 (9.00 – 20.00)	19.04 ± 5.29 19.90 (9.00 – 25.00)	0.203	19.04 ± 5.29 19.90 (9.00 – 25.00)	17.60 ± 7.04 20.15 (3.00 – 23.00)	0.651	16.00 ± 3.66 16.00 (9.00 – 20.00)	17.60 ± 7.04 20.15 (3.00 – 23.00)	0.577
6	24.25 ± 3.88 24.75 (17.00 – 29.00)	24.38 ± 3.82 24.75 (17.00 – 30.00)	0.949	24.38 ± 3.82 24.75 (17.00 – 30.00)	24.38 ± 3.82 25.00 (12.00 – 29.00)	0.549	24.25 ± 3.88 24.75 (17.00 – 29.00)	24.38 ± 3.82 25.00 (12.00 – 29.00)	0.582
7	24.06 ± 3.35 24.50 (19.50 – 29.00)	24.94 ± 4.20 24.75 (20.00 – 32.00)	0.652	24.94 ± 4.20 24.75 (20.00 – 32.00)	23.13 ± 6.08 23.75 (15.00 – 31.00)	0.499	24.06 ± 3.35 24.50 (19.50 – 29.00)	23.13 ± 6.08 23.75 (15.00 – 31.00)	0.708
8	23.94 ± 2.51 24.00 (20.00 – 28.00)	24.13 ± 3.61 23.75 (20.00 – 30.00)	0.905	24.13 ± 3.61 23.75 (20.00 – 30.00)	23.63 ± 4.00 24.25 (18.00 – 28.00)	0.797	23.94 ± 2.51 24.00 (20.00 – 28.00)	23.63 ± 4.00 24.25 (18.00 – 28.00)	0.854
9	26.94 ± 2.00 27.00 (23.00 – 30.00)	26.88 ± 4.38 27.00 (22.00 – 34.50)	0.971	26.88 ± 4.38 27.00 (22.00 – 34.50)	26.81 ± 4.40 28.00 (21.00 – 32.00)	0.977	26.94 ± 2.00 27.00 (23.00 – 30.00)	26.81 ± 4.40 28.00 (21.00 – 32.00)	0.942
10	27.44 ± 4.53 28.25 (21.00 – 34.00)	26.13 ± 4.97 26.00 (18.50 – 33.00)	0.590	26.13 ± 4.97 26.00 (18.50 – 33.00)	25.81 ± 4.52 27.00 (19.50 – 31.00)	0.897	27.44 ± 4.53 28.25 (21.00 – 34.00)	25.81 ± 4.52 27.00 (19.50 – 31.00)	0.585
11	26.34 ± 4.98 26.50 (20.00 – 34.00)	22.63 ± 6.28 22.00 (13.50 – 32.00)	0.211	22.63 ± 6.28 22.00 (13.50 – 32.00)	24.50 ± 3.57 26.00 (19.00 – 29.50)	0.475	26.34 ± 4.98 26.50 (20.00 – 34.00)	24.50 ± 3.57 26.00 (19.00 – 29.50)	0.411
12	23.88 ± 7.51 22.50 (16.00 – 36.50)	22.98 ± 5.27 24.00 (16.00 – 30.50)	0.785	22.98 ± 5.27 24.00 (16.00 – 30.50)	22.38 ± 3.14 22.75 (17.00 – 26.00)	0.786	23.88 ± 7.51 22.50 (16.00 – 36.50)	22.38 ± 3.14 22.75 (17.00 – 26.00)	0.610

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). AMP (amplitude). D0 (n=12), D15 (n=12), D30 (n=12). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Tabela 8: Mediana da variação da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação do grupo controle nos exames realizados no D0, D15 e D30.

S/R	CONTROLE D0		CONTROLE D15	CONTROLE D15		CONTROLE D30	CONTROLE D0		CONTROLE D30	p
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	
3	23.06 ± 6.52 20.75 (15.5 – 35.00)	23.69 ± 5.35 24.25 (16.50 – 30.50)	0.837	23.69 ± 5.35 24.25 (16.50 – 30.50)	27.44 ± 7.37 29.25 (17.50 – 35.00)	0.263	23.06 ± 6.52 20.75 (15.5 – 35.00)	27.44 ± 7.37 29.25 (17.50 – 35.00)	0.229	
4	35.25 ± 6.39 35.00 (26.5 – 44.00)	37.00 ± 6.43 37.50 (27.00 – 45.00)	0.593	37.00 ± 6.43 37.50 (27.00 – 45.00)	35.18 ± 8.10 37.85 (22.50 – 44.70)	0.625	35.25 ± 6.39 35.00 (26.5 – 44.00)	35.18 ± 8.10 37.85 (22.50 – 44.70)	0.983	
5	33.44 ± 5.39 35.25 (24.50 – 40.00)	34.48 ± 5.22 32.50 (27.30 – 44.00)	0.701	34.48 ± 5.22 32.50 (27.30 – 44.00)	35.35 ± 6.99 37.25 (23.00 – 43.50)	0.781	33.44 ± 5.39 35.25 (24.50 – 40.00)	35.35 ± 6.99 37.25 (23.00 – 43.50)	0.550	
6	43.04 ± 2.10 43.50 (40.50 – 46.00)	42.75 ± 3.38 42.50 (37.00 – 49.00)	0.773	42.75 ± 3.38 42.50 (37.00 – 49.00)	42.53 ± 6.25 45.00 (32.00 – 49.00)	0.929	43.04 ± 2.10 43.50 (40.50 – 46.00)	42.53 ± 6.25 45.00 (32.00 – 49.00)	0.923	
7	43.74 ± 2.50 44.00 (40.00 – 46.50)	43.88 ± 4.04 43.85 (37.30 – 49.50)	0.707	43.88 ± 4.04 43.85 (37.30 – 49.50)	43.13 ± 6.08 43.75 (35.00 – 51.00)	0.775	43.74 ± 2.50 44.00 (40.00 – 46.50)	43.13 ± 6.08 43.75 (35.00 – 51.00)	0.971	
8	43.94 ± 2.51 44.00 (40.00 – 48.00)	44.06 ± 3.53 43.75 (40.00 – 50.00)	0.936	44.06 ± 3.53 43.75 (40.00 – 50.00)	43.50 ± 3.76 44.25 (38.00 – 47.50)	0.762	43.94 ± 2.51 44.00 (40.00 – 48.00)	43.50 ± 3.76 44.25 (38.00 – 47.50)	0.788	
9	46.91 ± 1.99 47.00 (43.00 – 50.00)	46.94 ± 4.30 47.00 (42.50 – 54.50)	0.988	46.94 ± 4.30 47.00 (42.50 – 54.50)	46.41 ± 4.25 47.65 (40.00 – 52.00)	0.809	46.91 ± 1.99 47.00 (43.00 – 50.00)	46.41 ± 4.25 47.65 (40.00 – 52.00)	0.768	
10	47.28 ± 4.48 47.10 (41.00 – 54.00)	45.88 ± 5.13 46.00 (37.50 – 53.00)	0.570	45.88 ± 5.13 46.00 (37.50 – 53.00)	44.94 ± 5.77 47.00 (34.00 – 50.00)	0.736	47.28 ± 4.48 47.10 (41.00 – 54.00)	44.94 ± 5.77 47.00 (34.00 – 50.00)	0.381	
11	45.65 ± 5.34 45.25 (40.00 – 54.00)	43.19 ± 6.29 43.50 (31.50 – 52.00)	0.413	43.19 ± 6.29 43.50 (31.50 – 52.00)	44.53 ± 3.45 45.75 (38.50 – 49.50)	0.606	45.65 ± 5.34 45.25 (40.00 – 54.00)	44.53 ± 3.45 45.75 (38.50 – 49.50)	0.625	
12	43.60 ± 7.60 41.40 (36.00 – 56.50)	40.63 ± 8.17 41.00 (25.50 – 50.50)	0.465	40.63 ± 8.17 41.00 (25.50 – 50.50)	40.81 ± 3.74 41.50 (36.00 – 46.00)	0.953	43.60 ± 7.60 41.40 (36.00 – 56.50)	40.81 ± 3.74 41.50 (36.00 – 46.00)	0.368	

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). D0 (n=12), D15 (n=12), D30 (n=12). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

A figura 13 ilustra os resultados obtidos no grupo controle na amplitude do sinal e na relação sinal/ruído das emissões por produto de distorção, encontrados na avaliação do D0, D15 e D30, em todas as frequências avaliadas. Observa-se que os resultados mantêm uma uniformidade e não apresentam diferença estatística.

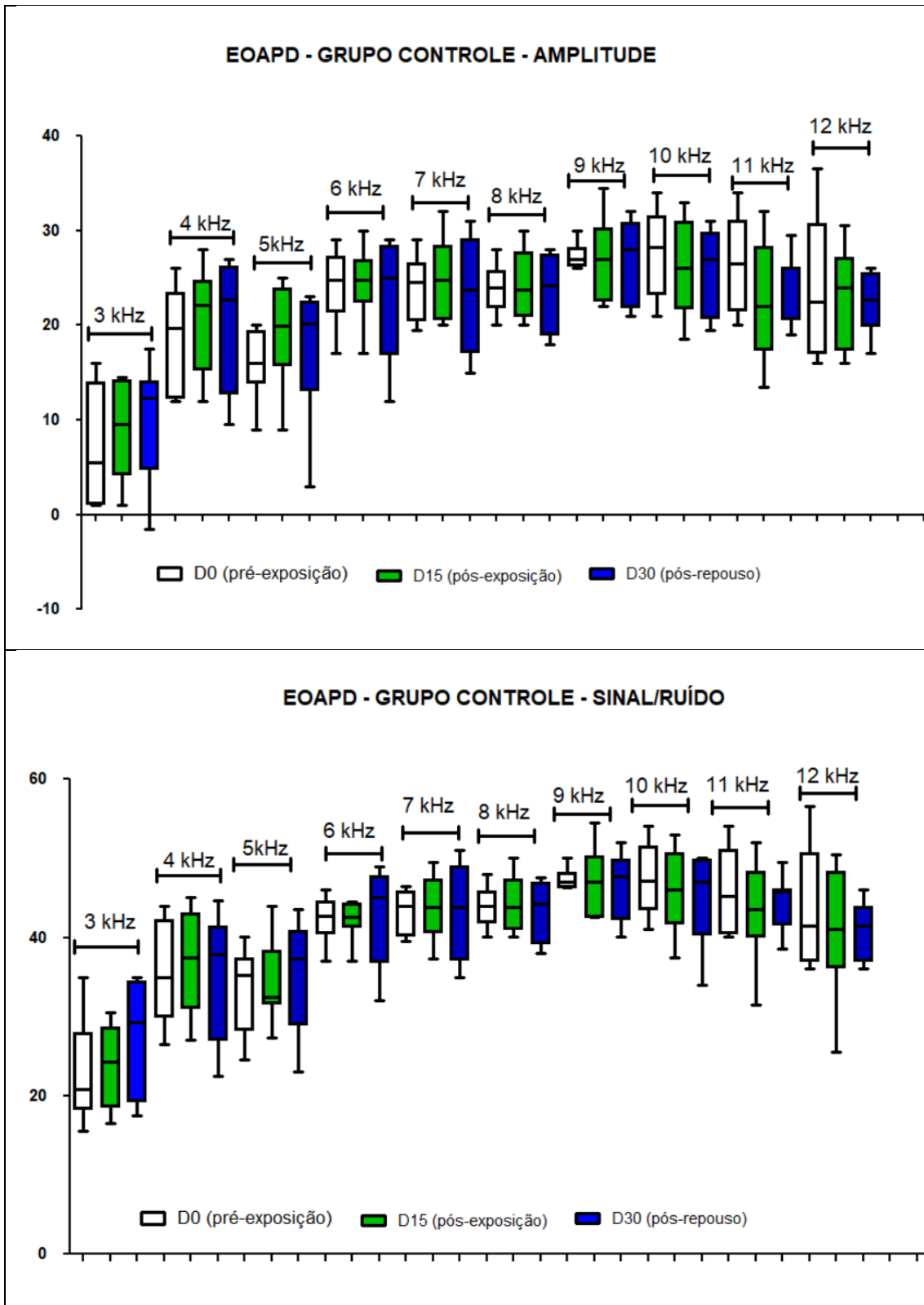


Figura 13: Boxplot da variação da amplitude (parte superior) e relação sinal/ruído (parte inferior) das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D0 x D15 x D30, no grupo controle. D0 (n=12), D15 (n=12), D30 (n=12). Não foi observada diferença entre os tempos ($p>0,05$). Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.2.5 Análise grupo melatonina (D0/ D15/ D30)

Foi observada diferença estatística entre as medianas de amplitude (tabela 9) e relação sinal/ruído (tabela 10) dos exames do grupo melatonina na comparação entre o D0 e D15, D15 e D30, D0 e D30, em todas as frequências, com exceção da frequência de 3 kHz, que apresentou diferença não significativa na comparação D15 e D30 (p: 0.158 (DP)/ p: 0.132 (S/R) e na comparação do D0 x D30 (p: 0.842 (DP)/ p: 0.857 (S/R).

Tabela 9: Mediana da variação da amplitude (DP) das EOAPD na comparação do grupo melatonina nos exames realizados no D0, D15 e D30.

AMP	MELATONINA D0			MELATONINA D15			MELATONINA D30		
	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p
3	5.51 ± 5.59 5.00 (-2.50 – 13.50)	-2.761 ± 9.86 -4.00 (-14.70 – 12.00)	0.014 *	-2.761 ± 9.86 -4.00 (-14.70 – 12.00)	4.80 ± 9.28 5.00 (-5.00 – 15.00)	0.158	5.51 ± 5.59 5.00 (-2.50 – 13.50)	4.80 ± 9.28 5.00 (-5.00 – 15.00)	0.842
4	18.04 ± 3.44 18.30 (12.00 – 25.00)	-8.23 ± 4.74 -8.50 (-16.50 – 2.00)	<0.0001 ***	-8.23 ± 4.74 -8.50 (-16.50 – 2.00)	2.40 ± 2.58 2.00 (0.00 – 6.50)	0.0002 ***	18.04 ± 3.44 18.30 (12.00 – 25.00)	2.40 ± 2.58 2.00 (0.00 – 6.50)	<0.0001 ***
5	18.06 ± 4.65 19.00 (9.50 – 23.50)	-17.82 ± 2.93 -19.00 (-20.00 – -10.00)	<0.0001 ***	-17.82 ± 2.93 -19.00 (-20.00 – -10.00)	-2.60 ± 6.86 -3.00 (-9.00 – 8.50)	0.001 **	18.06 ± 4.65 19.00 (9.50 – 23.50)	-2.60 ± 6.86 -3.00 (-9.00 – 8.50)	<0.0001 ***
6	27.54 ± 3.26 27.50 (23.00 – 33.00)	-18.75 ± 1.94 -20.00 (-20.00 – -13.70)	<0.0001 ***	-18.75 ± 1.94 -20.00 (-20.00 – -13.70)	-4.20 ± 11.99 -10.50 (-14.00 – 15.00)	0.001 **	27.54 ± 3.26 27.50 (23.00 – 33.00)	-4.20 ± 11.99 -10.50 (-14.00 – 15.00)	<0.0001 ***
7	27.42 ± 3.42 28.50 (20.00 – 32.00)	-19.96 ± 0.13 -20.00 (-20.00 – -19.50)	<0.0001 ***	-19.96 ± 0.13 -20.00 (-20.00 – -19.50)	-2.80 ± 13.59 -6.00 (-20.00 – 17.00)	0.001 **	27.42 ± 3.42 28.50 (20.00 – 32.00)	-2.80 ± 13.59 -6.00 (-20.00 – 17.00)	<0.0001 ***
8	25.31 ± 2.35 25.00 (22.00 – 30.00)	-18.62 ± 2.08 -20.00 (-20.00 – -15.00)	<0.0001 ***	-18.62 ± 2.08 -20.00 (-20.00 – -15.00)	-0.20 ± 9.36 -4.00 (-9.00 – 15.00)	0.001 **	25.31 ± 2.35 25.00 (22.00 – 30.00)	-0.20 ± 9.36 -4.00 (-9.00 – 15.00)	<0.0001 ***
9	25.65 ± 2.83 26.00 (20.00 – 29.00)	-16.08 ± 4.23 -15.50 (-20.00 – -8.50)	<0.0001 ***	-16.08 ± 4.23 -15.50 (-20.00 – -8.50)	3.40 ± 10.63 0.00 (-7.50 – 21.00)	0.001 **	25.65 ± 2.83 26.00 (20.00 – 29.00)	3.40 ± 10.63 0.00 (-7.50 – 21.00)	<0.0001 ***
10	28.04 ± 3.28 28.00 (19.50 – 32.30)	-15.85 ± 4.14 -16.70 (-20.00 – -7.50)	<0.0001 ***	-15.85 ± 4.14 -16.70 (-20.00 – -7.50)	3.20 ± 7.84 2.00 (-7.00 – 14.00)	<0.0001 ***	28.04 ± 3.28 28.00 (19.50 – 32.30)	3.20 ± 7.84 2.00 (-7.00 – 14.00)	<0.0001 ***
11	25.81 ± 2.89 26.00 (19.00 – 32.00)	-17.69 ± 3.92 -20.00 (-20.00 – -9.00)	<0.0001 ***	-17.69 ± 3.92 -20.00 (-20.00 – -9.00)	-0.10 ± 10.64 -2.00 (-10.00 – 17.00)	0.001 **	25.81 ± 2.89 26.00 (19.00 – 32.00)	-0.10 ± 10.64 -2.00 (-10.00 – 17.00)	<0.0001 ***
12	24.75 ± 5.04 24.50 (17.50 – 34.50)	-19.38 ± 1.44 -20.00 (-20.00 – -15.00)	<0.0001 ***	-19.38 ± 1.44 -20.00 (-20.00 – -15.00)	-3.00 ± 12.26 -4.00 (-19.00 – -15.50)	0.001 **	24.75 ± 5.04 24.50 (17.50 – 34.50)	-3.00 ± 12.26 -4.00 (-19.00 – -15.50)	<0.0001 ***

*DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). AMP (amplitude). D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Tabela 10: Mediana da variação da relação sinal/ruído das EOAPD na comparação do grupo melatonina nos exames realizados no D0, D15 e D25.

S/R	MELATONINA D0		p	MELATONINA D15		p	MELATONINA D30		p
	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	22.23 ± 6.17 22.50 (12.50 – 32.50)	12.78 ± 10.36 10.50 (-1.50 – 27.50)	0.009 **	12.78 ± 10.36 10.50 (-1.50 – 27.50)	21.50 ± 10.74 24.50 (8.50 – 32.50)	0.132	22.23 ± 6.17 22.50 (12.50 – 32.50)	21.50 ± 10.74 24.50 (8.50 – 32.50)	0.857
4	35.19 ± 3.89 35.50 (29.00 – 45.00)	8.19 ± 5.34 8.50 (-3.50 – 18.00)	<0.0001 ***	8.19 ± 5.34 8.50 (-3.50 – 18.00)	19.90 ± 5.14 21.00 (14.00 – 26.50)	0.0007 ***	35.19 ± 3.89 35.50 (29.00 – 45.00)	19.90 ± 5.14 21.00 (14.00 – 26.50)	<0.0001 ***
5	37.02 ± 4.62 38.00 (28.00 – 42.50)	1.40 ± 2.77 0.00 (-1.00 – 8.70)	<0.0001 ***	1.40 ± 2.77 0.00 (-1.00 – 8.70)	17.40 ± 6.75 15.00 (11.00 – 28.50)	0.001 **	37.02 ± 4.62 38.00 (28.00 – 42.50)	17.40 ± 6.75 15.00 (11.00 – 28.50)	0.002 **
6	45.41 ± 2.73 46.00 (40.00 – 49.50)	1.25 ± 2.47 0.00 (-1.0 – 8.00)	<0.0001 ***	1.25 ± 2.47 0.00 (-1.0 – 8.00)	15.40 ± 11.51 9.50 (6.00 – 34.00)	0.001 **	45.41 ± 2.73 46.00 (40.00 – 49.50)	15.40 ± 11.51 9.50 (6.00 – 34.00)	<0.0001 ***
7	46.79 ± 3.01 47.00 (40.00 – 50.00)	0.10 ± 0.36 0.00 (0.00 – 1.30)	<0.0001 ***	0.10 ± 0.36 0.00 (0.00 – 1.30)	12.20 ± 13.59 14.00 (0.00 – 37.00)	0.001 **	46.79 ± 3.01 47.00 (40.00 – 50.00)	12.20 ± 13.59 14.00 (0.00 – 37.00)	<0.0001 ***
8	45.08 ± 1.93 45.00 (42.00 – 48.00)	1.38 ± 2.08 0.00 (0.00 – 5.00)	<0.0001 ***	1.38 ± 2.08 0.00 (0.00 – 5.00)	19.80 ± 9.36 16.00 (11.00 – 35.00)	0.001 **	45.08 ± 1.93 45.00 (42.00 – 48.00)	19.80 ± 9.36 16.00 (11.00 – 35.00)	<0.0001 ***
9	45.81 ± 2.67 46.00 (40.00 – 49.00)	3.50 ± 3.76 4.50 (0.00 – 11.50)	<0.0001 ***	3.50 ± 3.76 4.50 (0.00 – 11.50)	23.30 ± 10.76 20.00 (12.00 – 41.00)	0.001 **	45.81 ± 2.67 46.00 (40.00 – 49.00)	23.30 ± 10.76 20.00 (12.00 – 41.00)	<0.0001 ***
10	48.04 ± 3.25 48.00 (39.50 – 52.00)	4.16 ± 4.06 0.00 (3.30 – 12.50)	<0.0001 ***	4.16 ± 4.06 0.00 (3.30 – 12.50)	22.90 ± 8.03 22.00 (13.00 – 34.00)	<0.0001 ***	48.04 ± 3.25 48.00 (39.50 – 52.00)	22.90 ± 8.03 22.00 (13.00 – 34.00)	0.001 **
11	45.81 ± 2.89 46.00 (39.00 – 52.00)	2.33 ± 3.98 0.00 (-0.50 – 11.00)	<0.0001 ***	2.33 ± 3.98 0.00 (-0.50 – 11.00)	20.20 ± 10.40 18.00 (10.00 – 37.00)	0.001 **	45.81 ± 2.89 46.00 (39.00 – 52.00)	20.20 ± 10.40 18.00 (10.00 – 37.00)	<0.0001 ***
12	44.58 ± 5.17 44.50 (37.50 – 54.50)	0.76 ± 1.42 0.00 (0.00 – 5.00)	<0.0001 ***	0.76 ± 1.42 0.00 (0.00 – 5.00)	16.20 ± 12.42 14.50 (1.00 – 35.50)	0.003 **	44.58 ± 5.17 44.50 (37.50 – 54.50)	16.20 ± 12.42 14.50 (1.00 – 35.50)	<0.0001 ***

DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

A figura 14 demonstra a evolução dos resultados obtidos na amplitude do sinal e na relação sinal/ruído das emissões por produto de distorção no grupo melatonina, encontrados na avaliação do D0, D15, D30, em todas as frequências avaliadas. Observa-se que, apesar de apresentar uma recuperação no D30, os animais apresentaram uma alteração significativa dos resultados, na comparação com o D0 em todas as frequências, exceto em 3 kHz.

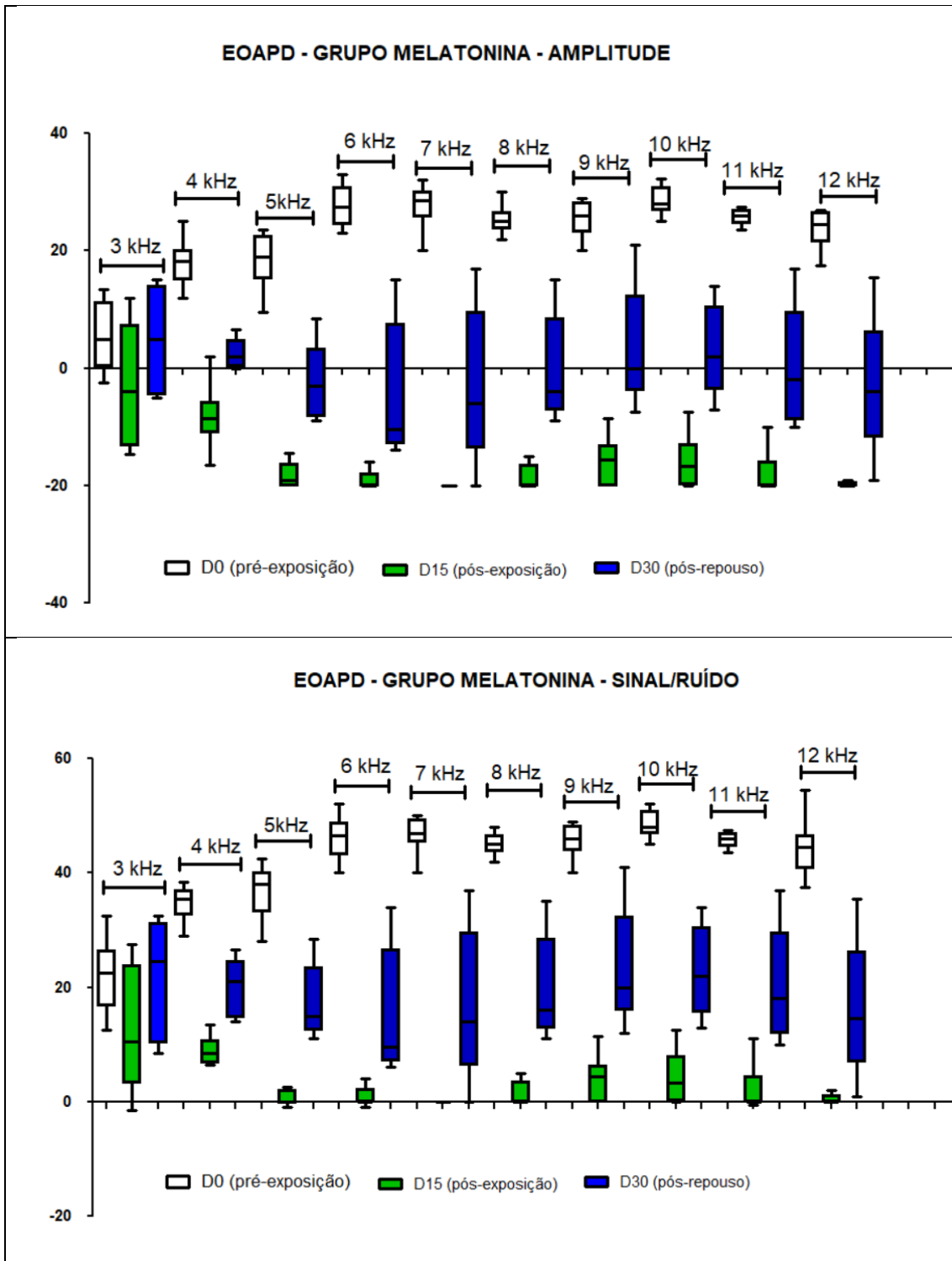


Figura 14: Boxplot da variação da amplitude (parte superior) e relação sinal/ruído (parte inferior) das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D0 x D15 x D30, no grupo melatonina. D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6). Observada diferença entre os tempos, exceto 3 kHz ($p < 0,001$). Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.2.6 Análise grupo resveratrol (D0/ D15/ D30)

Na análise da amplitude foi observada diferença estatística entre as medianas dos exames do grupo resveratrol na comparação entre o (D0 e D15),

(D15 e D30) e (D0 e D30), em todas as frequências analisadas, com exceção da frequência de 3 kHz, que não apresentou diferença significativa na comparação D0 e D30 (p: 0.058 (DP)) (tabela 11).

Na análise da relação sinal/ruído não foi observada diferença estatística na comparação do D0 e D15, na frequência de 3 kHz (p: 0,076). Na comparação do D15 e D30, não houve diferença estatística nas frequências de 4 kHz (p: 0,094); 9 kHz (p: 0,079) e 12 kHz (p: 0,067). Na análise entre o D0 e D30, não houve diferença estatística na frequência de 3 kHz (p: 0,486) (tabela 12).

Tabela 11: Mediana da variação da amplitude (DP) das EOAPD na comparação do grupo resveratrol nos exames realizados no D0, D15 e D30.

AMP	RESVERATROL D0			RESVERATROL D15			RESVERATROL D30		
	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p
3	4.19 ± 4.61 5.00 (-1.50 – 11.00)	-1.91 ± 5.27 -4.50 (-9.50 – 6.50)	0.003 **	-1.91 ± 5.27 -4.50 (-9.50 – 6.50)	8.92 ± 5.41 10.50 (0.00 – 14.00)	0.0005 ***	4.19 ± 4.61 5.00 (-1.50 – 11.00)	8.92 ± 5.41 10.50 (0.00 – 14.00)	0.058
4	15.83 ± 3.32 16.50 (10.00 – 20.50)	-10.37 ± 3.79 -3.00 (-13.50 – 12.00)	<0.0001 ***	-10.37 ± 3.79 -3.00 (-13.50 – 12.00)	7.00 ± 10.44 7.00 (-3.50 – 20.00)	0.027 *	15.83 ± 3.32 16.50 (10.00 – 20.50)	7.00 ± 10.44 7.00 (-3.50 – 20.00)	0.013 *
5	15.13 ± 4.91 15.50 (6.00 – 25.00)	-13.86 ± 5.60 -14.00 (-20.00 – -4.00)	<0.0001 ***	-13.86 ± 5.60 -14.00 (-20.00 – -4.00)	-1.85 ± 10.24 -5.00 (-12.00 – 11.50)	0.003 **	15.13 ± 4.91 15.50 (6.00 – 25.00)	-1.85 ± 10.24 -5.00 (-12.00 – 11.50)	0.0001 ***
6	25.06 ± 3.09 26.00 (19.00 – 29.00)	-17.98 ± 3.99 -20.00 (-20.00 – -7.00)	<0.0001 ***	-17.98 ± 3.99 -20.00 (-20.00 – -7.00)	-0.50 ± 11.50 -6.00 (-13.00 – 17.50)	0.0006 ***	25.06 ± 3.09 26.00 (19.00 – 29.00)	-0.50 ± 11.50 -6.00 (-13.00 – 17.50)	0.0004 ***
7	24.67 ± 2.74 24.75 (19.00 – 28.00)	-17.25 ± 5.31 -20.00 (-20.00 – -6.00)	<0.0001 ***	-17.25 ± 5.31 -20.00 (-20.00 – -6.00)	2.52 ± 10.80 0.70 (-11.00 – 19.00)	0.0005 ***	24.67 ± 2.74 24.75 (19.00 – 28.00)	2.52 ± 10.80 0.70 (-11.00 – 19.00)	<0.0001 ***
8	24.71 ± 1.79 25.00 (21.00 – 27.50)	-17.21 ± 5.18 -20.00 (-20.00 – -6.00)	<0.0001 ***	-17.21 ± 5.18 -20.00 (-20.00 – -6.00)	2.18 ± 12.22 4.00 (-15.00 – 17.00)	0.001 **	24.71 ± 1.79 25.00 (21.00 – 27.50)	2.18 ± 12.22 4.00 (-15.00 – 17.00)	<0.0001 ***
9	25.58 ± 2.88 26.25 (18.50 – 29.50)	-17.71 ± 4.22 -20.00 (-20.00 – -6.00)	<0.0001 ***	-17.71 ± 4.22 -20.00 (-20.00 – -6.00)	0.42 ± 17.75 1.50 (-20.00 – 24.00)	0.035 *	25.58 ± 2.88 26.25 (18.50 – 29.50)	0.42 ± 17.75 1.50 (-20.00 – 24.00)	0.0001 ***
10	29.38 ± 1.68 29.25 (27.00 – 33.00)	-17.61 ± 4.82 -20.00 (-20.00 – -3.50)	<0.0001 ***	-17.61 ± 4.82 -20.00 (-20.00 – -3.50)	3.85 ± 16.67 7.00 (-20.00 – 25.00)	0.006 **	29.38 ± 1.68 29.25 (27.00 – 33.00)	3.85 ± 16.67 7.00 (-20.00 – 25.00)	<0.0001 ***
11	27.48 ± 2.76 26.25 (24.00 – 33.00)	-17.79 ± 5.25 -20.00 (-20.00 – -3.00)	<0.0001 ***	-17.79 ± 5.25 -20.00 (-20.00 – -3.00)	4.81 ± 17.41 6.00 (-18.00 – 24.00)	0.001 **	27.48 ± 2.76 26.25 (24.00 – 33.00)	4.81 ± 17.41 6.00 (-18.00 – 24.00)	<0.0001 ***
12	25.46 ± 3.29 24.25 (21.50 – 32.00)	-18.6 ± 3.21 -20.00 (-20.00 – -9.50)	<0.0001 ***	-18.6 ± 3.21 -20.00 (-20.00 – -9.50)	-1.54 ± 19.19 -8.00 (-20.00 – 27.00)	0.006 **	25.46 ± 3.29 24.25 (21.50 – 32.00)	-1.54 ± 19.19 -8.00 (-20.00 – 27.00)	0.0002 ***

DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). AMP (amplitude). D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Tabela 12: Mediana da variação da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação do grupo resveratrol nos exames realizados no D0, D15 e D30.

S/R	RESVERATROL D0		p	RESVERATROL D15		p	RESVERATROL D30		p
	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	19.85 ± 7.03 19.25 (7.50 – 31.00)	14.43 ± 7.22 14.10 (0.00 – 25.50)	0.076	14.43 ± 7.22 14.10 (0.00 – 25.50)	22.43 ± 8.61 26.00 (7.50 – 32.00)	0.044 *	19.85 ± 7.03 19.25 (7.50 – 31.00)	22.43 ± 8.61 26.00 (7.50 – 32.00)	0.486
4	31.76 ± 5.41 32.65 (23.50 – 39.50)	13.29 ± 9.17 13.40 (-1.50 – 28.00)	<0.0001 ***	13.29 ± 9.17 13.40 (-1.50 – 28.00)	22.19 ± 12.67 17.30 (7.50 – 38.00)	0.094	31.76 ± 5.41 32.65 (23.50 – 39.50)	22.19 ± 12.67 17.30 (7.50 – 38.00)	0.033 *
5	34.17 ± 5.19 34.75 (26.00 – 43.00)	4.23 ± 4.92 2.00 (-0.50 – 14.00)	<0.0001 ***	4.23 ± 4.92 2.00 (-0.50 – 14.00)	16.03 ± 8.87 12.70 (7.00 – 27.00)	0.007 **	34.17 ± 5.19 34.75 (26.00 – 43.00)	16.03 ± 8.87 12.70 (7.00 – 27.00)	<0.0001 ***
6	44.43 ± 3.31 46.00 (38.50 – 48.00)	1.71 ± 3.80 0.00 (0.00 – 13.00)	<0.0001 ***	1.71 ± 3.80 0.00 (0.00 – 13.00)	18.83 ± 11.22 14.00 (7.00 – 36.00)	0.0008 ***	44.43 ± 3.31 46.00 (38.50 – 48.00)	18.83 ± 11.22 14.00 (7.00 – 36.00)	0.0004 ***
7	44.67 ± 2.65 45.25 (39.00 – 48.00)	2.75 ± 5.31 0.00 (0.00 – 14.00)	<0.0001 ***	2.75 ± 5.31 0.00 (0.00 – 14.00)	22.29 ± 10.86 19.00 (9.00 – 39.00)	0.0005 ***	44.67 ± 2.65 45.25 (39.00 – 48.00)	22.29 ± 10.86 19.00 (9.00 – 39.00)	<0.0001 ***
8	44.54 ± 1.80 44.50 (41.00 – 47.50)	2.79 ± 5.18 0.00 (0.00 – 14.00)	<0.0001 ***	2.79 ± 5.18 0.00 (0.00 – 14.00)	21.86 ± 12.21 24.00 (5.00 – 37.00)	0.001 **	44.54 ± 1.80 44.50 (41.00 – 47.50)	21.86 ± 12.21 24.00 (5.00 – 37.00)	<0.0001 ***
9	45.54 ± 2.90 46.25 (38.50 – 49.50)	2.44 ± 4.27 0.00 (0.00 – 14.00)	<0.0001 ***	2.44 ± 4.27 0.00 (0.00 – 14.00)	19.79 ± 17.95 18.00 (-1.00 – 44.00)	0.0791	45.54 ± 2.90 46.25 (38.50 – 49.50)	19.79 ± 17.95 18.00 (-1.00 – 44.00)	0.0001 ***
10	49.19 ± 1.75 49.00 (46.50 – 53.00)	1.76 ± 4.44 0.00 (-2.50 – 14.00)	<0.0001 ***	1.76 ± 4.44 0.00 (-2.50 – 14.00)	23.14 ± 17.28 27.00 (-1.00 – 45.00)	0.013 *	49.19 ± 1.75 49.00 (46.50 – 53.00)	23.14 ± 17.28 27.00 (-1.00 – 45.00)	<0.0001 ***
11	44.33 ± 3.25 46.50 (43.50 – 54.50)	2.16 ± 5.27 0.00 (-0.50 – 17.00)	<0.0001 ***	2.16 ± 5.27 0.00 (-0.50 – 17.00)	19.90 ± 16.49 22.00 (-1.00 – 43.30)	0.025 *	44.33 ± 3.25 46.50 (43.50 – 54.50)	19.90 ± 16.49 22.00 (-1.00 – 43.30)	0.0004 ***
12	45.71 ± 3.07 45.25 (41.50 – 52.00)	1.37 ± 3.21 0.00 (0.00 – 10.50)	<0.0001 ***	1.37 ± 3.21 0.00 (0.00 – 10.50)	18.14 ± 19.78 11.50 (-1.00 – 47.00)	0.067	45.71 ± 3.07 45.25 (41.50 – 52.00)	18.14 ± 19.78 11.50 (-1.00 – 47.00)	0.0002 ***

DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para $p < 0,05$. D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6). Fonte: Elaborada pela autora, 2024

A figura 15 demonstra os resultados da amplitude do sinal e na relação sinal/ruído das emissões por produto de distorção no grupo resveratrol. Encontrou-se uma diferença estatisticamente significativa na avaliação do D0, D15, D30, em praticamente todas as frequências avaliadas. Apesar de apresentar uma recuperação no D30, os animais apresentaram uma alteração significativa dos resultados, na comparação com o D0, em todas as frequências, exceto em 3 kHz.

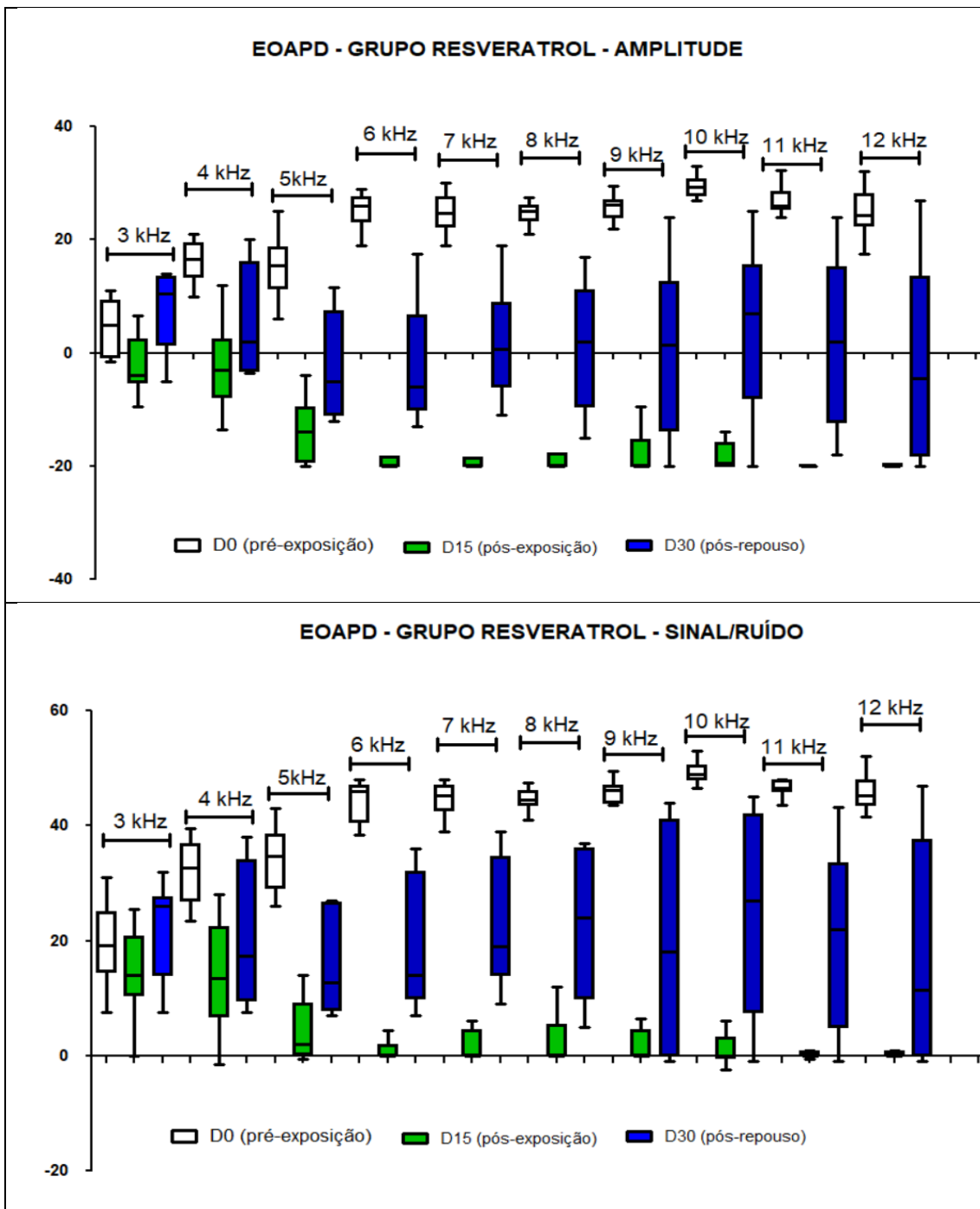


Figura 15: Boxplot da variação da amplitude (parte superior) e relação sinal/ruído (parte inferior) das EOAPDs nas frequências de 3 a 12kHz obtidas na avaliação D0 x D15 x D30, no grupo resveratrol. D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6). Observada diferença entre os tempos, exceto 3 kHz ($p < 0,03$). Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.2.7 Análise grupo veículo (D0/ D15/ D30)

Na comparação entre o D0 e D15 e entre D15 e D30, foi observada diferença entre as análises em todas as frequências pesquisadas, nos critérios amplitude (DP) e relação sinal/ruído (S/R) (tabelas 13 e 14).

Na comparação entre o D15 e o D30, não foi observada diferença estatística nas frequências de 3 kHz ($p: 0.311$ (DP) / $p: 0.988$ (S/R) e de 4 kHz

(p: 0.118 (DP) e P: 0.227 (S/R). Nas demais frequências, de 5 kHz a 12 kHz, foi identificada diferença para os critérios de amplitude e relação sinal/ruído.

Tabela 13: Mediana da variação da amplitude (DP) das EOAPD na comparação do grupo veículo nos exames realizados no D0, D15 e D30.

AMP	VEÍCULO		p	VEÍCULO		p	VEÍCULO		p
	D0	D15		D15	D30		D0	D30	
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	7.536 ± 5.84 7.53 (-8.50 – 18.00)	-12.24 ± 7.36 -14.25 (-20.00 – 7.00)	<0.0001 ***	-12.24 ± 7.36 -14.25 (-20.00 – 7.00)	-9.43 ± 9.70 -13.00 (-16.00 – 12.50)	0.311	7.536 ± 5.84 7.53 (-8.50 – 18.00)	-9.43 ± 9.70 -13.00 (-16.00 – 12.50)	<0.0001 ***
4	17.09 ± 4.85 19.00 (6.00 – 24.30)	-10.37 ± 3.79 -11.30 (-16.00 – -1.50)	<0.0001 ***	-10.37 ± 3.79 -11.30 (-16.00 – -1.50)	-7.30 ± 7.91 -8.00 (-18.00 – 10.00)	0.118	17.09 ± 4.85 19.00 (6.00 – 24.30)	-7.30 ± 7.91 -8.00 (-18.00 – 10.00)	<0.0001 ***
5	16.27 ± 4.63 17.25 (5.00 – 22.50)	-18.17 ± 2.90 -20.00 (-20.00 – -11.00)	<0.0001 ***	-18.17 ± 2.90 -20.00 (-20.00 – -11.00)	-13.56 ± 4.75 -14.00 (-20.00 – -6.00)	0.001 **	16.27 ± 4.63 17.25 (5.00 – 22.50)	-13.56 ± 4.75 -14.00 (-20.00 – -6.00)	<0.0001 ***
6	26.58 ± 4.10 27.00 (16.00 – 31.00)	-19.34 ± 1.20 -20.00 (-20.00 – -16.00)	<0.0001 ***	-19.34 ± 1.20 -20.00 (-20.00 – -16.00)	-15.15 ± 6.08 -16.30 (-20.00 – 0.0)	0.001 **	26.58 ± 4.10 27.00 (16.00 – 31.00)	-15.15 ± 6.08 -16.30 (-20.00 – 0.0)	<0.0001 ***
7	26.44 ± 3.75 26.75 (20.00 – 32.00)	-19.98 ± 0.10 -20.00 (-20.00 – -19.50)	<0.0001 ***	-19.98 ± 0.10 -20.00 (-20.00 – -19.50)	-15.47 ± 8.28 -20.00 (-20.00 – 9.00)	0.011 *	26.44 ± 3.75 26.75 (20.00 – 32.00)	-15.47 ± 8.28 -20.00 (-20.00 – 9.00)	<0.0001 ***
8	25.58 ± 2.99 25.00 (19.00 – 30.00)	-19.52 ± 1.50 -20.00 (-20.00 – -13.50)	<0.0001 ***	-19.52 ± 1.50 -20.00 (-20.00 – -13.50)	-15.02 ± 9.98 -20.00 (-20.00 – 12.00)	0.091 *	25.58 ± 2.99 25.00 (19.00 – 30.00)	-15.02 ± 9.98 -20.00 (-20.00 – 12.00)	<0.0001 ***
9	26.65 ± 3.23 25.85 (20.50 – 32.00)	-19.32 ± 1.99 -20.00 (-20.00 – -11.50)	<0.0001 ***	-19.32 ± 1.99 -20.00 (-20.00 – -11.50)	-13.40 ± 11.92 -20.00 (-20.00 – 19.00)	0.019 *	26.65 ± 3.23 25.85 (20.50 – 32.00)	-13.40 ± 11.92 -20.00 (-20.00 – 19.00)	<0.0001 ***
10	27.88 ± 3.61 27.75 (20.50 – 33.00)	-19.48 ± 1.27 -20.00 (-20.00 – -15.00)	<0.0001 ***	-19.48 ± 1.27 -20.00 (-20.00 – -15.00)	-14.33 ± 9.74 -19.50 (-20.00 – 11.00)	0.016 *	27.88 ± 3.61 27.75 (20.50 – 33.00)	-14.33 ± 9.74 -19.50 (-20.00 – 11.00)	<0.0001 ***
11	27.10 ± 4.43 28.00 (15.50 – 33.00)	-19.63 ± 0.858 -20.00 (-20.00 – -17.30)	<0.0001 ***	-19.63 ± 0.858 -20.00 (-20.00 – -17.30)	-14.28 ± 10.58 -19.50 (-20.00 – 14.00)	0.011 *	27.10 ± 4.43 28.00 (15.50 – 33.00)	-14.28 ± 10.58 -19.50 (-20.00 – 14.00)	<0.0001 ***
12	26.54 ± 5.97 28.00 (12.50 – 36.00)	-19.48 ± 1.49 -20.00 (-20.00 – -13.30)	<0.0001 ***	-19.48 ± 1.49 -20.00 (-20.00 – -13.30)	-14.69 ± 10.77 -19.5 (-20.00 – 18.00)	0.020 *	26.54 ± 5.97 28.00 (12.50 – 36.00)	-14.69 ± 10.77 -19.5 (-20.00 – 18.00)	<0.0001 ***

*DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). AMP (amplitude). D0 (n=13), D15 (n=13), D30 (n=9). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Tabela 14: Mediana da variação da relação sinal/ruído (S/R) das EOAPD na comparação do grupo resveratrol nos exames realizados no D0, D15 e D30.

S/R	VEÍCULO		p	VEÍCULO		p	VEÍCULO		p
	D0	D15		D15	D30		D0	D30	
FREQ.	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
3	22.50 ± 6.65 22.75 (6.50 – 35.00)	5.51 ± 7.37 3.75 (-4.00 – 27.00)	<0.0001 ***	5.51 ± 7.37 3.75 (-4.00 – 27.00)	6.93 ± 9.62 3.50 (-3.00 – 26.00)	0.988	22.50 ± 6.65 22.75 (6.50 – 35.00)	6.93 ± 9.62 3.50 (-3.00 – 26.00)	0.0001 ***
4	33.58 ± 4.40 34.35 (26.50 – 41.50)	6.39 ± 4.89 6.00 (-3.50 – 16.50)	<0.0001 ***	6.39 ± 4.89 6.00 (-3.50 – 16.50)	9.04 ± 8.47 7.00 (-0.50 – 26.50)	0.227	33.58 ± 4.40 34.35 (26.50 – 41.50)	9.04 ± 8.47 7.00 (-0.50 – 26.50)	<0.0001 ***
5	34.39 ± 5.15 33.75 (22.50 – 41.00)	1.35 ± 2.84 0.00 (-2.50 – 8.50)	<0.0001 ***	1.35 ± 2.84 0.00 (-2.50 – 8.50)	6.17 ± 5.299 3.70 (-1.00 – 16.00)	0.002 **	34.39 ± 5.15 33.75 (22.50 – 41.00)	6.17 ± 5.299 3.70 (-1.00 – 16.00)	<0.0001 ***
6	45.74 ± 3.44 46.25 (37.00 – 51.00)	0.61 ± 1.36 0.00 (-1.50 – 4.00)	<0.0001 ***	0.61 ± 1.36 0.00 (-1.50 – 4.00)	4.11 ± 6.14 1.50 (-1.00 – 20.00)	0.049 *	45.74 ± 3.44 46.25 (37.00 – 51.00)	4.11 ± 6.14 1.50 (-1.00 – 20.00)	<0.0001 ***
7	45.95 ± 3.49 46.75 (40.00 – 52.00)	0.02 ± 0.10 0.00 (0.00 – 0.50)	<0.0001 ***	0.02 ± 0.10 0.00 (0.00 – 0.50)	4.50 ± 8.27 0.00 (-0.30 – 29.00)	0.021 *	45.95 ± 3.49 46.75 (40.00 – 52.00)	4.50 ± 8.27 0.00 (-0.30 – 29.00)	<0.0001 ***
8	45.44 ± 2.73 45.00 (39.00 – 50.00)	0.48 ± 1.67 0.00 (-0.70 – 7.30)	<0.0001 ***	0.48 ± 1.67 0.00 (-0.70 – 7.30)	4.98 ± 9.98 0.00 (0.00 – 32.00)	0.067	45.44 ± 2.73 45.00 (39.00 – 50.00)	4.98 ± 9.98 0.00 (0.00 – 32.00)	<0.0001 ***
9	46.29 ± 3.25 45.50 (40.50 – 52.00)	0.71 ± 1.98 0.00 (0.00 – 8.50)	<0.0001 ***	0.71 ± 1.98 0.00 (0.00 – 8.50)	6.47 ± 11.99 0.00 (-0.70 – 39.00)	0.170	46.29 ± 3.25 45.50 (40.50 – 52.00)	6.47 ± 11.99 0.00 (-0.70 – 39.00)	<0.0001 ***
10	47.63 ± 3.85 47.75 (40.50 – 44.75)	0.50 ± 1.29 0.00 (-0.50 – 5.00)	<0.0001 ***	0.50 ± 1.29 0.00 (-0.50 – 5.00)	5.55 ± 9.80 0.00 (-0.50 – 31.00)	0.062	47.63 ± 3.85 47.75 (40.50 – 44.75)	5.55 ± 9.80 0.00 (-0.50 – 31.00)	<0.0001 ***
11	46.94 ± 4.27 48.00 (35.50 – 53.00)	0.29 ± 0.70 0.00 (0.00 – 2.50)	<0.0001 ***	0.29 ± 0.70 0.00 (0.00 – 2.50)	5.63 ± 10.55 0.70 (-0.70 – 34.00)	0.0506	46.94 ± 4.27 48.00 (35.50 – 53.00)	5.63 ± 10.55 0.70 (-0.70 – 34.00)	<0.0001 ***
12	46.22 ± 5.75 47.50 (32.50 – 54.00)	0.69 ± 2.17 0.00 (0.00 – 10.00)	<0.0001 ***	0.69 ± 2.17 0.00 (0.00 – 10.00)	5.37 ± 10.75 0.50 (0.00 – 38.00)	0.020 *	46.22 ± 5.75 47.50 (32.50 – 54.00)	5.37 ± 10.75 0.50 (0.00 – 38.00)	<0.0001 ***

* DP (desvio padrão). EOAPD (emissões otoacústicas por produto de distorção). D0 (n=13), D15 (n=13), D30 (n=9). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para $p < 0,05$. Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

A figura 16 apresenta os resultados das avaliações realizadas no D0, D15, D30, no grupo veículo. Os resultados demonstram que este foi o grupo que mais apresentou alterações com a exposição ao ruído e que apresentou mais significância estatística nas diferenças (todos com $p: 0.0001$ ou <0.0001 na comparação com o D0, em todas as frequências).

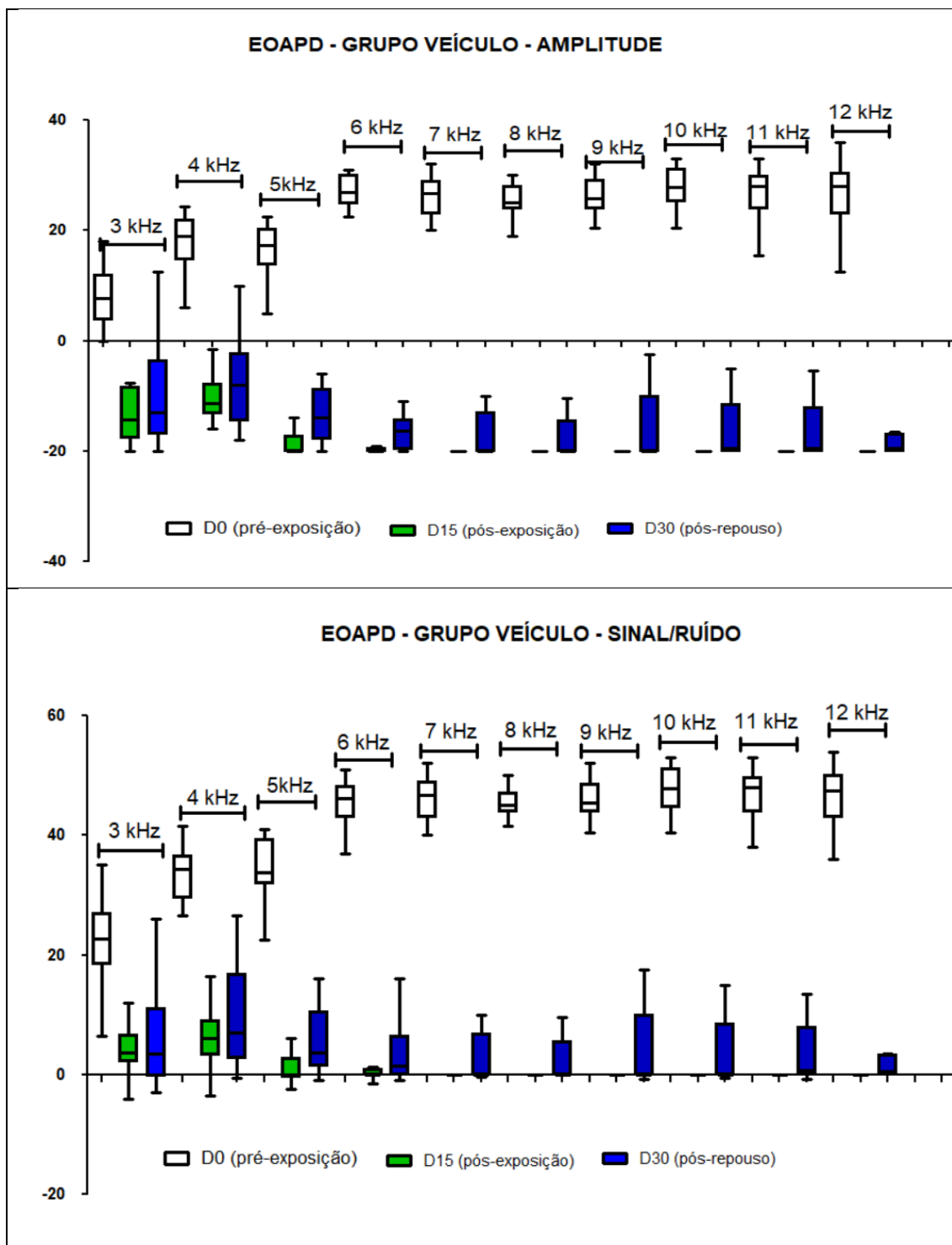


Figura 16: Boxplot da variação da amplitude (parte superior) e relação sinal/ruído (parte inferior) das EOAPDs nas frequências de 3 a 12KHz obtidas na avaliação D0 x D15 e D15 x D30, no

grupo estudo veículo. D0 (n=13), D15 (n=13), D30 (n=9). Observada diferença entre os tempos, D0xD15, D0xD30 (p<0,0001) Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.3 Potenciais evocados auditivos de tronco encefálico

O exame de PEATE foi realizado após a coleta dos dados das EOAPDs. Os animais, ainda sob efeito da anestesia, foram avaliados com o estímulo clique e no *tone burst*, na frequência de 8 kHz.

5.3.1 Análise D0 - PEATE

Não foram observadas diferenças entre as medianas dos limiares eletrofisiológicos na comparação dos grupos controle e melatonina, controle e resveratrol, controle e veículo, veículo e melatonina, veículo e resveratrol e, por fim, melatonina e resveratrol (tabelas 15 e 16).

Tabela 15: Mediana da variação do PEATE no estímulo clique na comparação do grupo controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo, dos grupos veículo x melatonina e resveratrol e na comparação do grupo melatonina x resveratrol, nos D0, D10 e D25.

D0			D15			D30		
CLIQUE		p	CLIQUE		p	CLIQUE		p
Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)		Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	
CONTROLE	MELATONINA	0,579	CONTROLE	MELATONINA	0,019 *	CONTROLE	MELATONINA	0,382
5 ± 5.47 5 (0 - 10)	3.33 ± 5.0 0 (0 - 10)		5 ± 5.47 5 (0 - 10)	14.44 ± 7.26 10 (10 - 30)		5 ± 5.47 5 (0 - 10)	8.0 ± 4.47 10 (0 - 10)	
CONTROLE	RESVERATROL	0,892	CONTROLE	RESVERATROL	0,007 **	CONTROLE	RESVERATROL	0,158
5 ± 5.47 5 (0 - 10)	4.44 ± 5.2 0 (0 - 10)		5 ± 5.47 5 (0 - 10)	18.89 ± 9.28 20 (10 - 40)		5 ± 5.47 5 (0 - 10)	10.0 ± 5.77 10 (0 - 20)	
CONTROLE	VEÍCULO	0,391	CONTROLE	VEÍCULO	0,0007 ***	CONTROLE	VEÍCULO	0,0004 ***
5 ± 5.47 5 (0 - 10)	7.69 ± 5.99 10 (0 - 20)		5 ± 5.47 5 (0 - 10)	29.23 ± 12.56 20 (20 - 60)		5 ± 5.47 5 (0 - 10)	21.0 ± 7.37 20 (10 - 30)	
VEÍCULO	MELATONINA	0,096	VEÍCULO	MELATONINA	0,002 **	VEÍCULO	MELATONINA	0,007 **
7.69 ± 5.99 10 (0 - 20)	3.33 ± 5.0 0 (0 - 10)		29.23 ± 12.56 20 (20 - 60)	14.44 ± 7.26 10 (10 - 30)		21.0 ± 7.37 20 (10 - 30)	8.0 ± 4.47 10 (0 - 10)	
VEÍCULO	RESVERATROL	0,223	VEÍCULO	RESVERATROL	0,028 *	VEÍCULO	RESVERATROL	0,009 **
7.69 ± 5.99 10 (0 - 20)	4.44 ± 5.2 0 (0 - 10)		29.23 ± 12.56 20 (20 - 60)	18.89 ± 9.28 20 (10 - 40)		21.0 ± 7.37 20 (10 - 30)	10.0 ± 5.77 10 (0 - 20)	
MELATONINA	RESVERATROL	0,676	MELATONINA	RESVERATROL	0,241	MELATONINA	RESVERATROL	0,593
3.33 ± 5.0 0 (0 - 10)	4.44 ± 5.2 0 (0 - 10)		14.44 ± 7.26 10 (10 - 30)	18.89 ± 9.28 20 (10 - 40)		8.0 ± 4.47 10 (0 - 10)	10.0 ± 5.77 10 (0 - 20)	

* DP (desvio padrão). PEATE (Potencial evocado auditivo de tronco encefálico). Grupo controle D0 (n=12), D15 (n=12), D30 (n=12); Grupo melatonina D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo resveratrol D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo veículo D0 (n=13), D15 (n=13), D30 (n=9). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Tabela 16: Mediana da variação do PEATE no estímulo tone burst na frequência de 8 kHz na comparação do grupo controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo, dos grupos veículo x melatonina e resveratrol e na comparação do grupo melatonina x resveratrol, nos D0, D15 e D30.

D0			D15			D30		
8 kHz			8 kHz			8 kHz		
Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	Média ± DP Mediana (Min-Máx)	p
CONTROLE	MELATONINA	0,061	CONTROLE	MELATONINA	0,001 **	CONTROLE	MELATONINA	0,146
15 ± 5.47 15 (10 - 20)	22.22 ± 6.66 20 (10 - 30)		16.67 ± 8.16 15 (10 - 30)	48.89 ± 6.0 50 (40 - 60)		16.67 ± 5.16 20 (10 - 00)	30.0 ± 15.81 30 (10 - 50)	
CONTROLE	RESVERATROL	0,247	CONTROLE	RESVERATROL	0,002 **	CONTROLE	RESVERATROL	0,006 **
15 ± 5.47 15 (10 - 20)	18.89 ± 6.0 20 (10 - 30)		16.67 ± 8.16 15 (10 - 30)	54.44 ± 15.9 60 (30 - 80)		16.67 ± 5.16 20 (10 - 00)	38.0 ± 8.36 40 (30 - 50)	
CONTROLE	VEÍCULO	0,082	CONTROLE	VEÍCULO	0,001 **	CONTROLE	VEÍCULO	0,001 ***
15 ± 5.47 15 (10 - 20)	22.31 ± 8.32 20 (10 - 30)		16.67 ± 8.16 15 (10 - 30)	53.85 ± 14.46 50 (30 - 80)		16.67 ± 5.16 20 (10 - 00)	46.0 ± 15.06 40 (30 - 80)	
VEÍCULO	MELATONINA	0,913	VEÍCULO	MELATONINA	0,273	VEÍCULO	MELATONINA	0,078
22.31 ± 8.32 20 (10 - 30)	22.31 ± 8.32 20 (10 - 30)		53.85 ± 14.46 50 (30 - 80)	48.89 ± 6.0 50 (40 - 60)		46.0 ± 15.06 40 (30 - 80)	30.0 ± 15.81 30 (10 - 50)	
VEÍCULO	RESVERATROL	0,281	VEÍCULO	RESVERATROL	0,918	VEÍCULO	RESVERATROL	0,294
22.31 ± 8.32 20 (10 - 30)	18.89 ± 6.0 20 (10 - 30)		53.85 ± 14.46 50 (30 - 80)	54.44 ± 15.9 60 (30 - 80)		46.0 ± 15.06 40 (30 - 80)	38.0 ± 8.36 40 (30 - 50)	
MELATONINA	RESVERATROL	0,287	MELATONINA	RESVERATROL	0,382	MELATONINA	RESVERATROL	0,346
22.22 ± 6.66 20 (10 - 30)	18.89 ± 6.0 20 (10 - 30)		48.89 ± 6.0 50 (40 - 60)	54.44 ± 15.9 60 (30 - 80)		30.0 ± 15.81 30 (10 - 50)	38.0 ± 8.36 40 (30 - 50)	

* DP (desvio padrão). PEATE (Potencial evocado auditivo de tronco encefálico). Grupo controle D0 (n=12), D15 (n=12), D30 (n=12); Grupo melatonina D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo resveratrol D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo veículo D0 (n=13), D15 (n=13), D30 (n=9). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.3.2 Análise D15 - PEATE

Para o estímulo clique, foi encontrada diferença estatística nas análises realizadas na comparação entre as medianas dos exames dos grupos controle com os grupos melatonina, resveratrol e veículo, mais expressiva na comparação com o grupo veículo (p: 0.0007).

Entre os grupos expostos ao ruído, houve diferença estatística na comparação dos grupos veículo e melatonina (p: 0.002) e veículo com o resveratrol (p: 0,028). Não houve diferença entre os grupos melatonina e resveratrol (p: 0,241) (tabela 21).

No estímulo *tone burst* (8kHz), foi encontrada diferença estatística na comparação do grupo controle com os grupos melatonina (p: 0,001), resveratrol (p: 0,002) e veículo (p:0,001). Entre os grupos expostos ao ruído, não houve diferença estatística (p>0,05) (tabela 22).

5.3.3 Análise D30 – PEATE

Na avaliação realizada no D30, para o estímulo clique, não foi observada diferença estatística na comparação do grupo controle com os grupos melatonina (p: 0,382) e resveratrol (p:0,158), mas houve diferença na comparação entre o grupo controle com o veículo (p:0,0004). Na comparação entre os grupos expostos ao ruído, foi identificada diferença apenas na comparação dos grupos veículo e melatonina (p:0,007) e nos grupos veículo e resveratrol (p:0,009). Não houve diferença na comparação entre os grupos melatonina e resveratrol (p:0,593) (tabela 21).

Para estímulo *tone burst* (8kHz), não foi encontrada diferença estatística na comparação entre os resultados dos grupos controle e melatonina (p:0,146). Entretanto, foi encontrada diferença estatística na comparação do grupo controle com os grupos resveratrol (p: 0,006) e veículo (p:0,001). Entre os grupos expostos ao ruído não houve diferença estatística (p>0,05) (tabela 22).

A figura 17 apresenta os resultados das avaliações realizadas no D0, D15 e D30 em todos os grupos avaliados. Os resultados demonstram a piora que ocorreu com os limiares eletrofisiológicos na avaliação realizada no D15, em todos os grupos expostos ao ruído. O grupo que apresentou menor recuperação foi o grupo veículo.

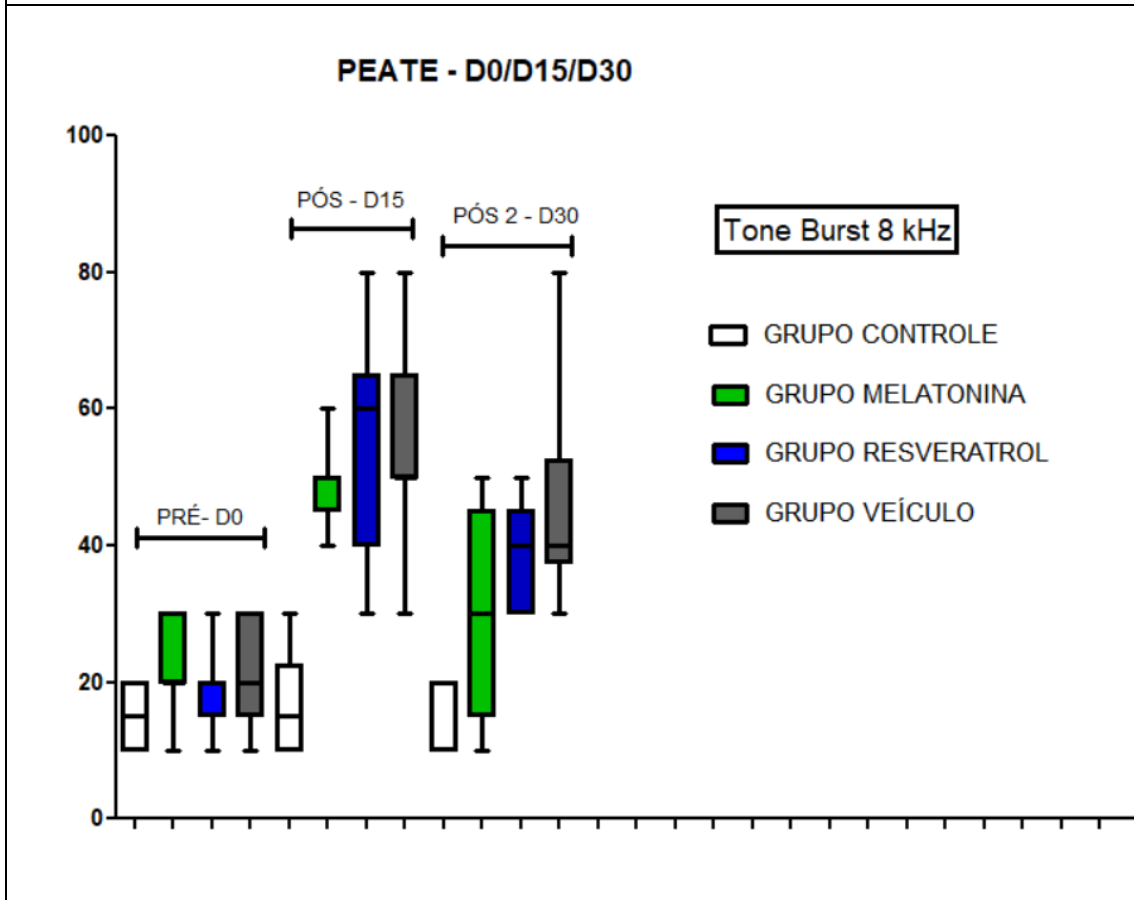
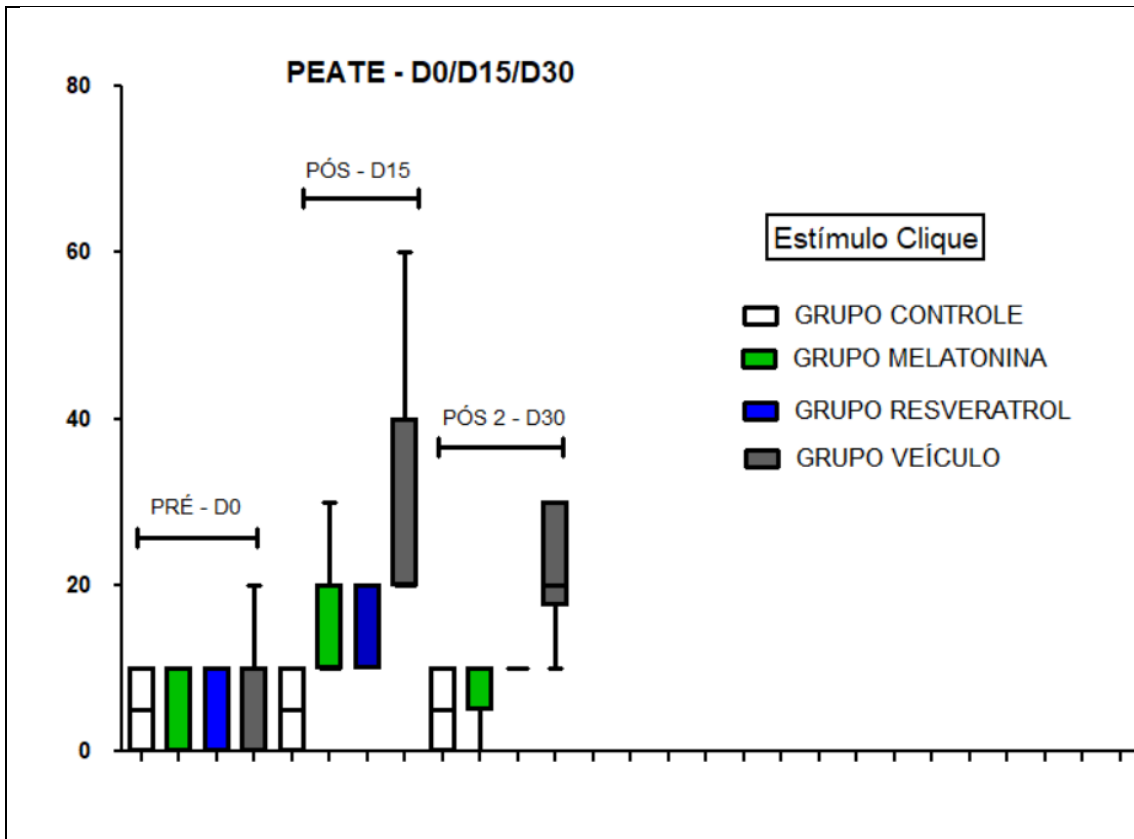


Figura 17. Gráfico com a média e DP dos exames de PEATE clique (superior) e PEATE em 8 kHz (inferior). Grupo controle (branco) - D0 (n=12), D15 (n=12), D30 (n=12); Grupo melatonina (verde) - D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo resveratrol (azul) - D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo veiculo (cinza) - D0 (n=13), D15 (n=13), D30 (n=9). Pré: avaliação realizada antes da exposição ao ruído, Pós: avaliação realizada após o término da exposição ao ruído

(D15), Pós 2: avaliação realizada após uma pausa de 15 dias, findada a exposição ao ruído.
Fonte: Elaborado pela autora.

5.3.4 Análise dos grupos controle, melatonina, resveratrol e veículo (D0/ D15/ D30) – PEATE

Na análise dos resultados obtidos pelo PEATE no estímulo clique e *tone burst* (8kHz), observa-se que o grupo controle não apresentou diferença estatística na comparação entre os exames nos diferentes tempos (D0 x D15; D15 x D30; D0 x D30) (todos $p > 0,05$) (tabelas 23 e 24).

O grupo melatonina apresentou diferença estatística, para o estímulo clique, apenas na comparação entre o D0 e o D15 ($p: 0,002$). Destaca-se que tal diferença não foi encontrada as análises entre o D15 e o D30 ($p:0,094$) e entre o D0 e o D30 ($p:0,124$). Para a análise do estímulo *tone burst* (8kHz), o grupo melatonina apresentou diferença estatística nas análises D0 e D15 ($p:0,0003$) e D15 e D30 ($P: 0,022$). Mas não apresentou diferença na comparação entre o D0 e D30 ($p: 0,360$) (tabelas 23 e 24).

Os resultados do grupo resveratrol demonstraram uma diferença estatística na comparação com a utilização do estímulo clique nos tempos D0 e D15 ($p:0,001$) e D15 e D30 ($p:0,035$). Na análise entre o D0 e o D30 não foi observada diferença significativa ($p:0,08$). Entretanto, com a utilização do estímulo *tone burst*, foi observada diferença estatística entre todas as análises, sendo elas, D0 e D15 ($p:0,0004$), D15 e D30 ($p:0,013$) e D0 e D30 ($p:0,008$) (tabelas 23 e 24).

O grupo veículo foi que apresentou maior variação entre os resultados para ambos os estímulos, com diferença estatística na comparação entre D0 e D15 ($p < 0,0001$) e D0 e D30 ($p:0,0007$ - clique e $p:0,0002$ - 8 kHz). Na análise entre D15 e D30, não houve diferença estatística ($p:0,121$ – clique e $p:0,143$ – 8kHz) (tabelas 23 e 24).

Tabela 17: Mediana da variação do PEATE no estímulo clique por grupos, nos D0, D10 e D25.

D0			D15			D30			D0			30		
Média ± DP	Mediana	p	Média ± DP	Mediana	p	Média ± DP	Mediana	p	Média ± DP	Mediana	p	Média ± DP	Mediana	p
(Min-Máx)	(Min-Máx)		(Min-Máx)	(Min-Máx)		(Min-Máx)	(Min-Máx)		(Min-Máx)	(Min-Máx)		(Min-Máx)	(Min-Máx)	
CONTROLE			CONTROLE			CONTROLE			CONTROLE			CONTROLE		
5 ± 5.47	5 ± 5.47	1,0	5 ± 5.47	5 ± 5.47	1,0	5 ± 5.47	5 ± 5.47	1,0	5 ± 5.47	5 ± 5.47	1,0	5 ± 5.47	5 ± 5.47	1,0
5	5		5	5		5	5		5	5		5	5	
(0 – 10)	(0 – 10)		(0 – 10)	(0 – 10)		(0 – 10)	(0 – 10)		(0 – 10)	(0 – 10)		(0 – 10)	(0 – 10)	
MELATONINA			MELATONINA			MELATONINA			MELATONINA			MELATONINA		
3.33 ± 5.0	14.44 ± 7.26	0,002	14.44 ± 7.26	8.0 ± 4.47	0,094	3.33 ± 5.0	8.0 ± 4.47	0,124	3.33 ± 5.0	8.0 ± 4.47	0,124	3.33 ± 5.0	8.0 ± 4.47	0,124
0	10	**	10	10		0	10		0	10		0	10	
(0 – 10)	(10 – 30)		(10 – 30)	(0 – 10)		(0 – 10)	(0 – 10)		(0 – 10)	(0 – 10)		(0 – 10)	(0 – 10)	
RESVERATROL			RESVERATROL			RESVERATROL			RESVERATROL			RESVERATROL		
4.44 ± 5.2	18.89 ± 9.28	0,001	18.89 ± 9.28	10.0 ± 5.77	0,035	4.44 ± 5.2	10.0 ± 5.77	0,080	4.44 ± 5.2	10.0 ± 5.77	0,080	4.44 ± 5.2	10.0 ± 5.77	0,080
0	20	**	20	10	*	0	10		0	10		0	10	
(0 – 10)	(10 – 40)		(10 – 40)	(0 – 20)		(0 – 10)	(0 – 20)		(0 – 10)	(0 – 20)		(0 – 10)	(0 – 20)	
VEÍCULO			VEÍCULO			VEÍCULO			VEÍCULO			VEÍCULO		
7.69 ± 5.99	29.23 ± 12.56	<0,0001	29.23 ± 12.56	21.0 ± 7.37	0,121	7.69 ± 5.99	21.0 ± 7.37	0,0007	7.69 ± 5.99	21.0 ± 7.37	0,0007	7.69 ± 5.99	21.0 ± 7.37	0,0007
10	20	***	20	20		10	20	***	10	20	***	10	20	***
(0 – 20)	(20 – 60)		(20 – 60)	(10 – 30)		(0 – 20)	(10 – 30)		(0 – 20)	(10 – 30)		(0 – 20)	(10 – 30)	

* DP (desvio padrão). PEATE (Potencial evocado auditivo de tronco encefálico). Grupo controle D0 (n=12), D15 (n=12), D30 (n=12); Grupo melatonina D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo resveratrol D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo veículo D0 (n=13), D15 (n=13), D30 (n=9). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

Tabela 17: Mediana da variação do PEATE no estímulo tone burst na frequência de 8 kHz por grupos, nos D0, D10 e D25.

D0			D15			D30			D0			30		
Média ± DP	Mediana	p	Média ± DP	Mediana	p	Média ± DP	Mediana	p	Média ± DP	Mediana	p	Média ± DP	Mediana	p
(Min-Máx)	(Min-Máx)		(Min-Máx)	(Min-Máx)		(Min-Máx)	(Min-Máx)		(Min-Máx)	(Min-Máx)		(Min-Máx)	(Min-Máx)	
CONTROLE			CONTROLE			CONTROLE			CONTROLE			CONTROLE		
15 ± 5.47	16.67 ± 8.16	0.686	16.67 ± 8.16	16.67 ± 5.16	0.929	15 ± 5.47	16.67 ± 5.16	0.640	15 ± 5.47	16.67 ± 5.16	0.640	15 ± 5.47	16.67 ± 5.16	0.640
15	15		15	20		15	20		15	20		15	20	
(10 – 20)	(10 – 30)		(10 – 30)	(10 – 00)		(10 – 20)	(10 – 00)		(10 – 20)	(10 – 00)		(10 – 20)	(10 – 00)	
MELATONINA			MELATONINA			MELATONINA			MELATONINA			MELATONINA		
22.22 ± 6.66	48.89 ± 6.0	0,0003	48.89 ± 6.0	30.0 ± 15.81	0,022	22.22 ± 6.66	30.0 ± 15.81	0,360	22.22 ± 6.66	30.0 ± 15.81	0,360	22.22 ± 6.66	30.0 ± 15.81	0,360
20	50	***	50	30	*	20	30		20	30		20	30	
(10 – 30)	(40 – 60)		(40 – 60)	(10 – 50)		(10 – 30)	(10 – 50)		(10 – 30)	(10 – 50)		(10 – 30)	(10 – 50)	
RESVERATROL			RESVERATROL			RESVERATROL			RESVERATROL			RESVERATROL		
18.89 ± 6.0	54.44 ± 15.9	0,0004	54.44 ± 15.9	38.0 ± 8.36	0,013	18.89 ± 6.0	38.0 ± 8.36	0,008	18.89 ± 6.0	38.0 ± 8.36	0,008	18.89 ± 6.0	38.0 ± 8.36	0,008
20	60	***	60	40	*	20	40	**	20	40	**	20	40	**
(10 – 30)	(30 – 80)		(30 – 80)	(30 – 50)		(10 – 30)	(30 – 50)		(10 – 30)	(30 – 50)		(10 – 30)	(30 – 50)	
VEÍCULO			VEÍCULO			VEÍCULO			VEÍCULO			VEÍCULO		
22.31 ± 8.32	53.85 ± 14.46	<0,0001	53.85 ± 14.46	46.0 ± 15.06	0.143	22.31 ± 8.32	46.0 ± 15.06	0,0002	22.31 ± 8.32	46.0 ± 15.06	0,0002	22.31 ± 8.32	46.0 ± 15.06	0,0002
20	50	***	50	40		20	40	***	20	40	***	20	40	***
(10 – 30)	(30 – 80)		(30 – 80)	(30 – 80)		(10 – 30)	(30 – 80)		(10 – 30)	(30 – 80)		(10 – 30)	(30 – 80)	

* DP (desvio padrão). PEATE (Potencial evocado auditivo de tronco encefálico). Grupo controle D0 (n=12), D15 (n=12), D30 (n=12); Grupo melatonina D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo resveratrol D0 (n=10), D15 (n=10), D30 (n=6); Grupo veículo D0 (n=13), D15 (n=13), D30 (n=9). Significância estatística determinada pelo teste T/ Mann-Whitney, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.4 Avaliação estrutural da cóclea

Devido a impossibilidade de análise quantitativa das células ciliadas externas e internas, optou-se por realizar a análise das estruturas: gânglio espiral, limbo, ligamento espiral e estria vascular.

Os grupos de estudo foram separados em dois tempos, em função do momento da eutanásia. Desta forma, foram denominados como D15, os animais eutanasiados do D15, dia seguinte ao término da exposição ao

ruído, e denominados D30, os animais que eutanasiados no D30 (permaneceram durante 15 dias de repouso acústico, após o término da exposição ao ruído).

5.4.1 Gânglio espiral

A figura 18 mostra a fotomicrografia do gânglio espiral de animais do dos grupos controle, e dos grupos expostos ao ruído, melatonina, resveratrol e veículo em dois tempos de eutanásia (após 10 dias de exposição ao ruído e após 15 dias de repouso – findada a exposição). Observa-se, pela contagem dos neurônios em área definida, que a densidade celular foi reduzida nos animais eutanasiados logo após a exposição. Nos animais tratados com melatonina e resveratrol eutanasiados após repouso acústico (D30), observa-se densidade semelhante aos animais do grupo controle.

Na comparação entre os resultados da mediana do total de neurônios ganglionares viáveis do grupo controle com os grupos expostos ao ruído no D15, foi observada diferença estatística em todos os grupos (ANOVA $p=0,0018$). Entretanto, a mesma comparação quando realizada no D30, demonstra que apenas o grupo veículo apresentou diferença estatística (ANOVA $p= 0,0003$). Esta diferença também foi observada na comparação entre o grupo veículo com o resveratrol e com a melatonina (figura 19).

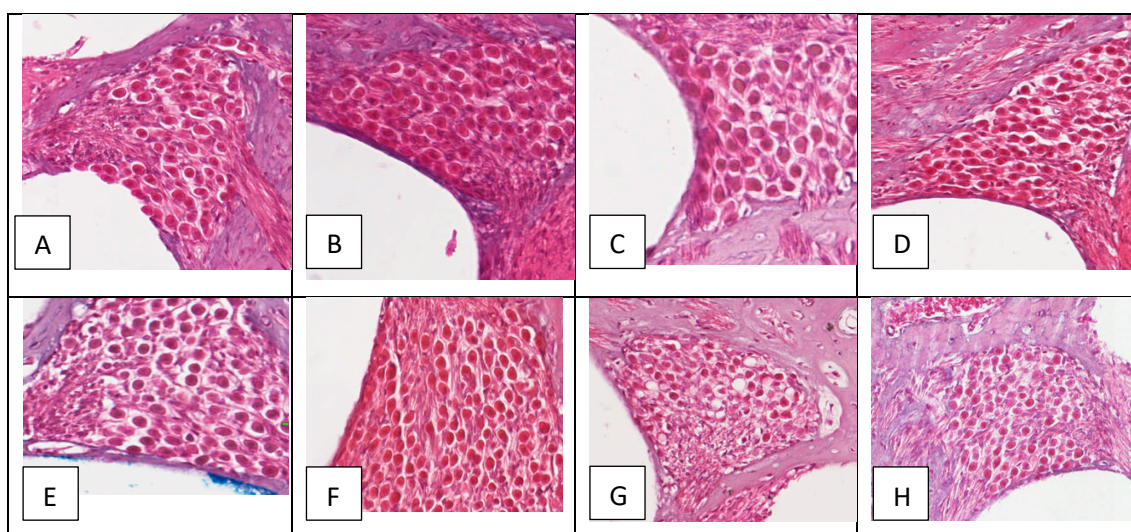


Figura 18. Fotomicrografias do gânglio espiral dos grupos: controle (A e B), grupo melatonina eutanasiado no D15 (C) e no D30 (D); grupo resveratrol eutanasiado no D15 (E) e no D30 (F); grupo veículo eutanasiado no D15 (G) e no D30 (H). Observa-se densidade celular reduzida nos animais C,E,G, que foram eutanasiados logo após a exposição. Nos animais tratados com melatonina (D) e resveratrol (F), após repouso acústico (D30), observa-se densidade celular semelhante ao grupo não exposto ao ruído (A e B). Coloração

H&E.

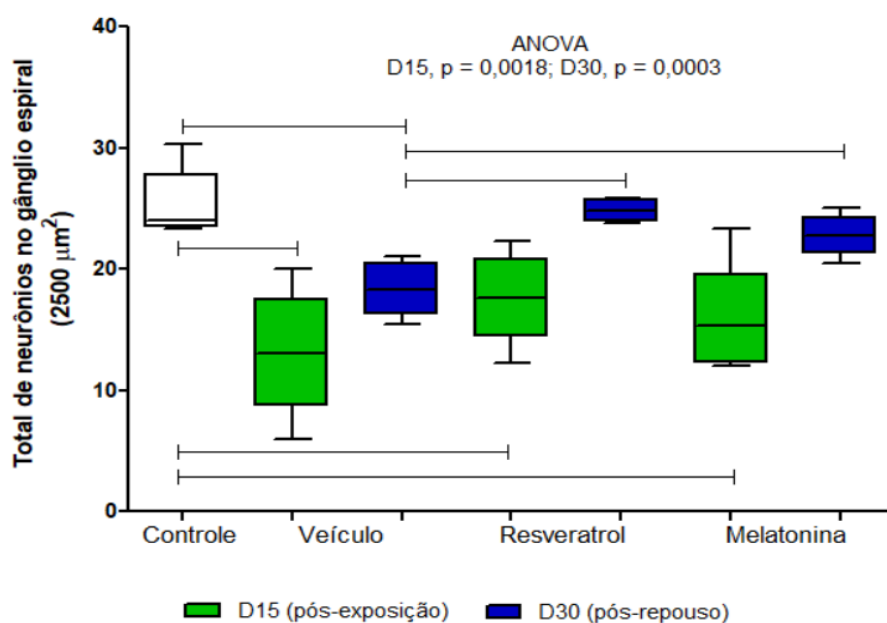


Figura 19. Total de neurônios ganglionares viáveis por 6400 μm^2 . Box plot controle (branco), verde, eutanasiados após a exposição ao ruído (D15) e azul, eutanasiados após 15 dias de repouso (D30). Grupo controle D0 (n=4); Grupo melatonina D15 (n=4), D30 (n=4); Grupo resveratrol D15 (n=4), D30 (n=4); Grupo veículo D15 (n=4), D30 (n=4). Significância estatística determinada pelo teste ANOVA, para $p < 0,05$. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.4.2 Limbo

A figura 20 mostra a fotomicrografia do limbo de dois animais do grupo controle, e dos grupos expostos ao ruído, melatonina, resveratrol e veículo após 10 dias de exposição ao ruído.

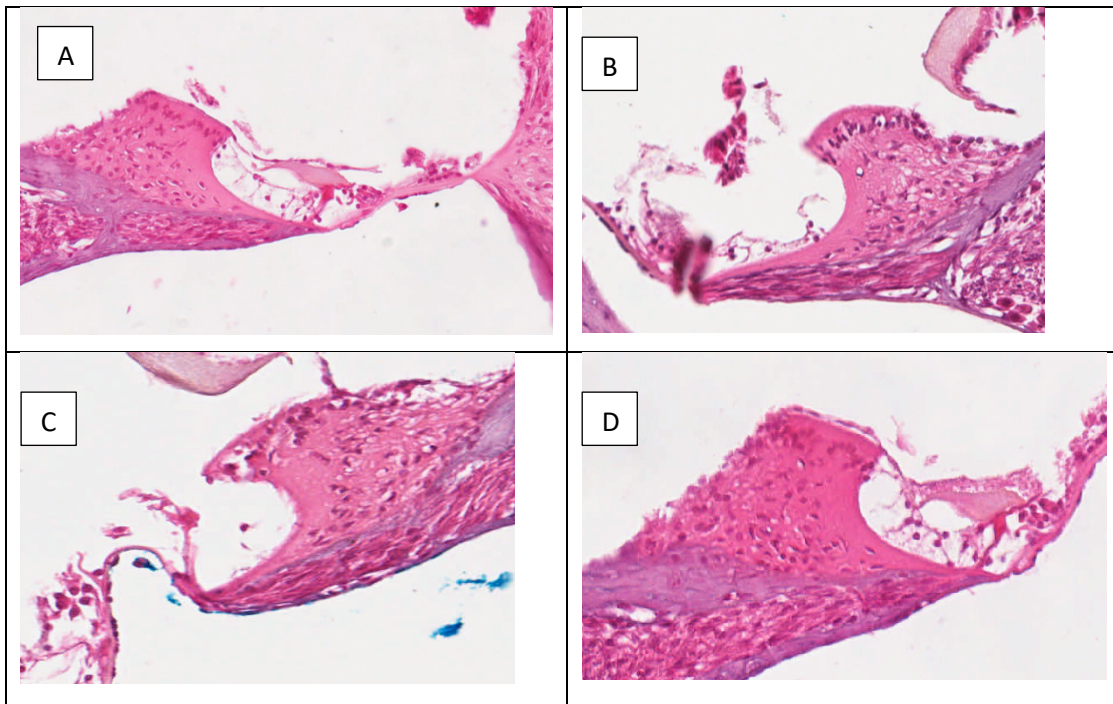


Figura 20. Fotomicrografias do limbo do grupos controle (A), grupo melatonina eutanasiado no D15 (B); grupo resveratrol eutanasiado no D15 (C); grupo veículo eutanasiado no D15 (D); Observa-se maior densidade celular no grupo A, que não foi exposto ao ruído. Coloração H&E.

Na análise estatística realizada, os resultados da mediana do total células viáveis no limbo, demonstraram diferença na comparação entre o grupo controle e o grupo veículo no D15 (Kruskal-Wallis $p=0,0019$). Na análise realizada no D30, foi observada diferença estatística entre os grupos controle e os grupos expostos ao ruído (veículo, resveratrol e melatonina) (ANVA $p<0,0001$) (figura 21).

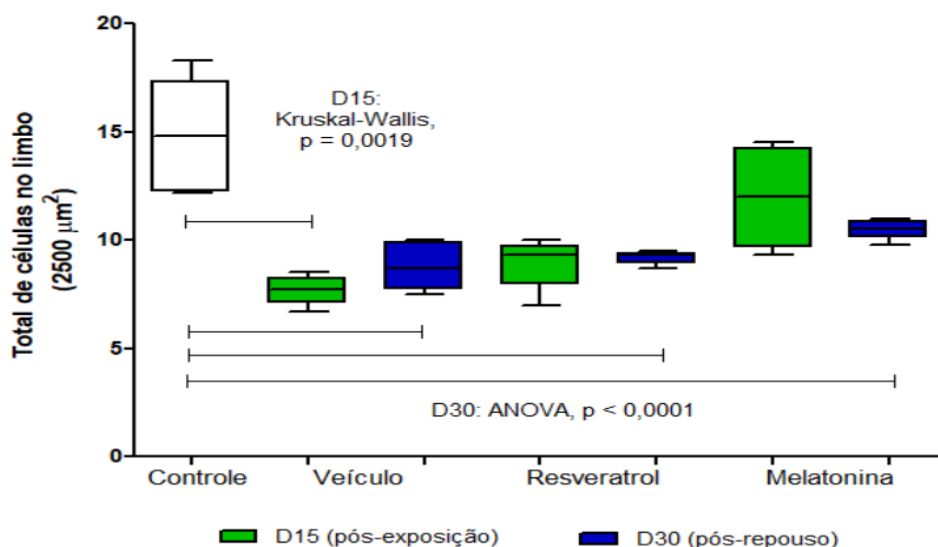


Figura 21. Total de células viáveis no limbo por 2500 μm^2 . Box plot controle (branco), amarelo, eutanasiados após a exposição ao ruído (D15) e vermelho, eutanasiados após 15 dias de repouso (D30). Grupo controle D0 (n=4); Grupo melatonina D15 (n=4), D30 (n=4); Grupo resveratrol D15 (n=4), D30 (n=4); Grupo veículo D15 (n=4), D30 (n=4). Significância estatística determinada pelo teste ANOVA, para $p < 0,05$. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.4.3 Ligamento espiral

Os animais do grupo controle apresentaram diferença estatística em todas as análises realizadas (D15 e D30), na comparação com todos os grupos expostos ao ruído (ANOVA $p=0,0006$ (D15), $p=0,0001$ (D30)). Destaca-se que na análise do D15, apesar de todos os grupos expostos terem apresentado resultados inferiores ao grupo controle, os animais do grupo veículo apresentaram diferença estatística na comparação com os grupos resveratrol e melatonina. No D30, esta diferença foi observada apenas entre o grupo veículo e resveratrol (ANOVA $p=0,0001$) (figuras 22 e 23).

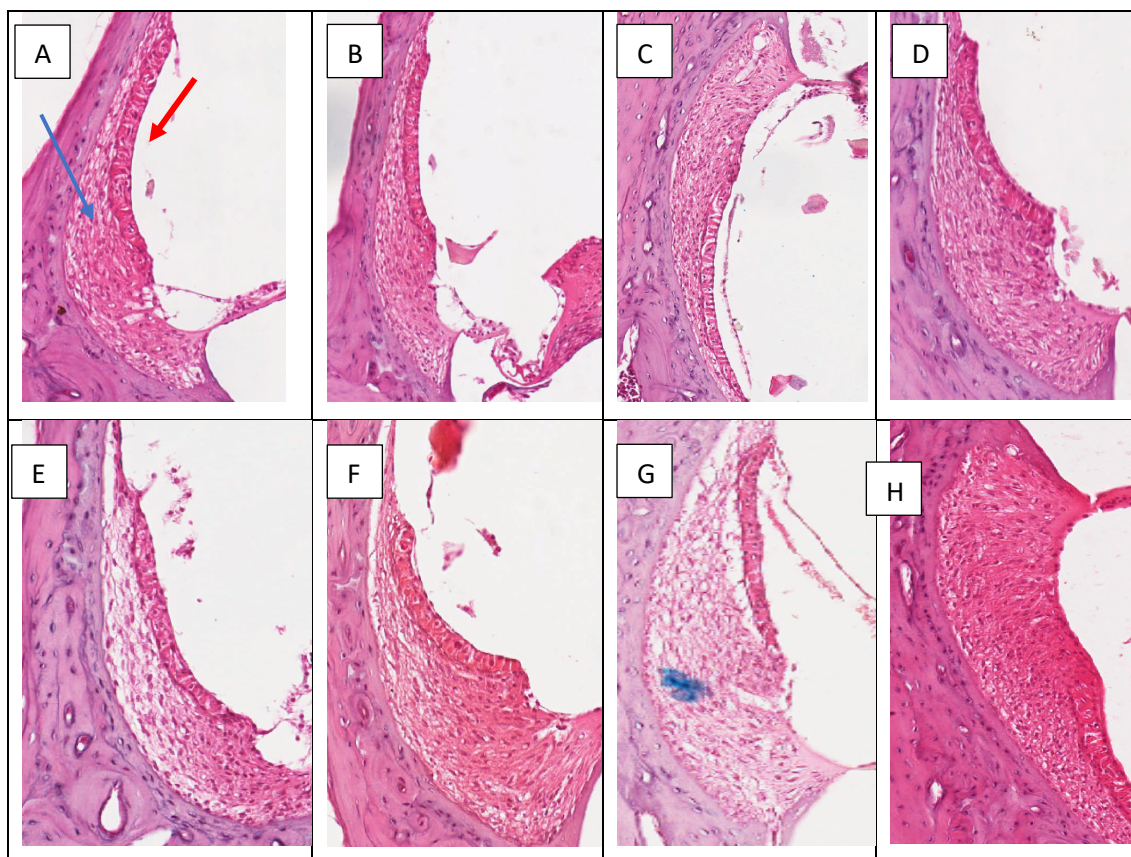


Figura 22. Fotomicrografias da estria vascular (seta vermelha) e ligamento espiral (seta azul), dos grupos: controle (A e B), grupo melatonina eutanasiado no D15 (C) e no D30 (D); grupo resveratrol eutanasiado no D15 (E) e no D30 (F); grupo veículo eutanasiado no D15 (G) e no D30 (H). Observa-se maior densidade celular no grupo A, que não foi exposto ao ruído. Mesmo após o repouso de 15 dias, os animais expostos ao ruído mantiveram

diferença estatística dos animais do grupo controle. Coloração H&E.

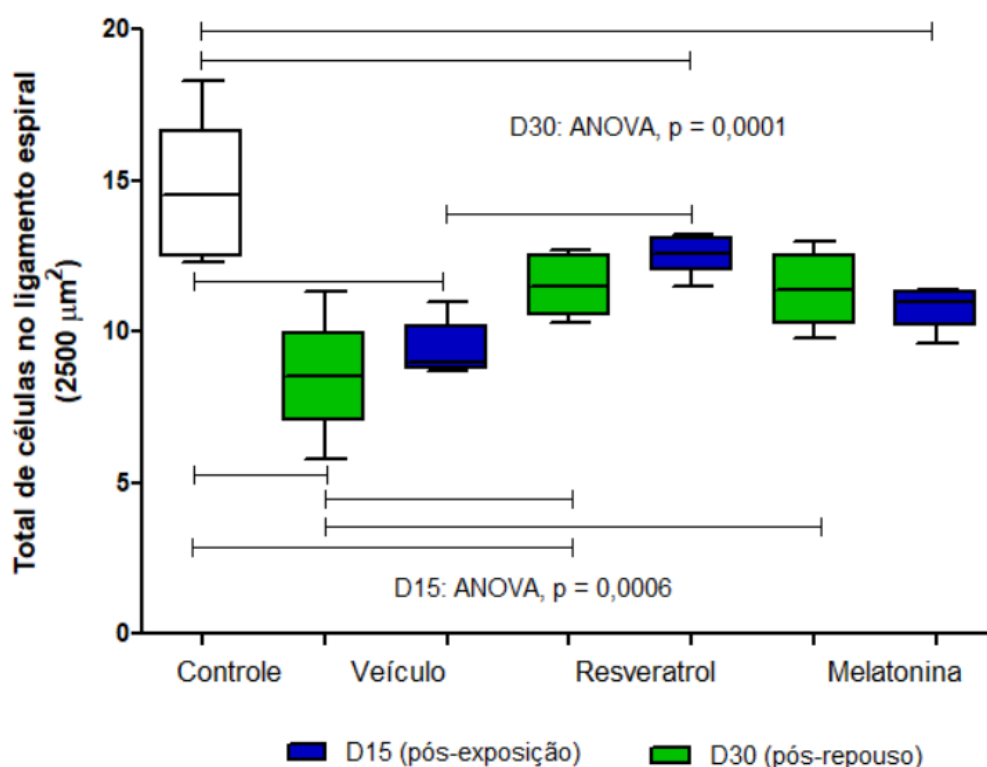


Figura 23. Total de células viáveis no ligamento espiral (2500 μm²). Box plot controle (branco), amarelo, eutanasiados após a exposição ao ruído (D15) e vermelho, eutanasiados após 15 dias de repouso (D30). Grupo controle D0 (n=4); Grupo melatonina D15 (n=4), D30 (n=4); Grupo resveratrol D15 (n=4), D30 (n=4); Grupo veículo D15 (n=4), D30 (n=4). Significância estatística determinada pelo teste ANOVA, para p<0,05. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

5.4.4 Estria Vascular

Nas análises realizadas nos D15 e D30, foi observada diferença estatística entre os grupos controle e grupos expostos ao ruído (ANOVA p<0,0001). Entretanto, dentre os grupos expostos ao ruído, na análise do D15 foi observado que o grupo resveratrol apresentou menor dano, com diferença estatística com o grupo veículo (ANOVA p=0,001). Este efeito não se manteve na avaliação no D30. (figura 24).

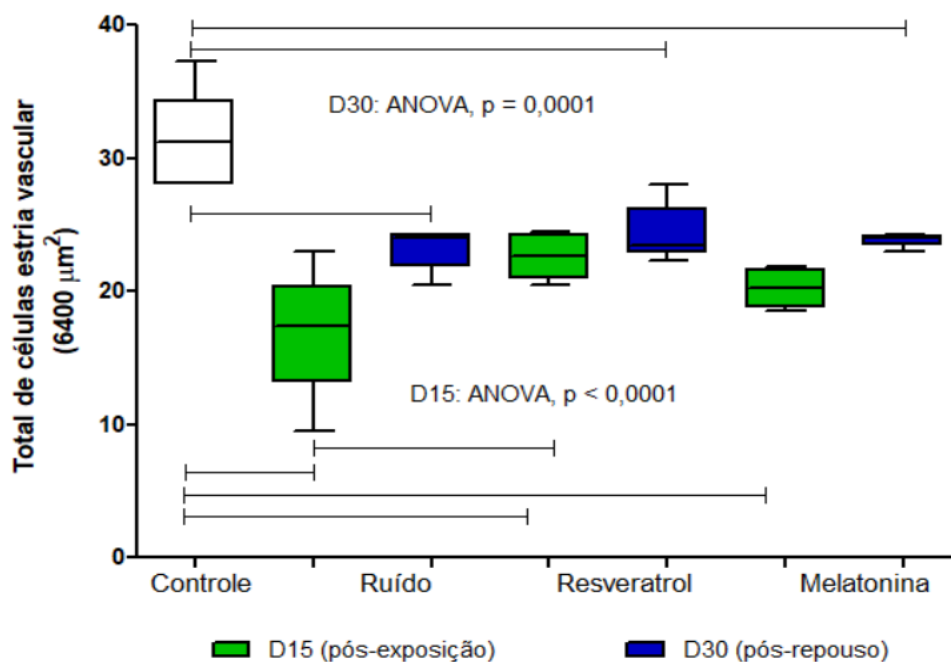


Figura 24. Total de células viáveis na estria vascular (100 μm linear). Box plot controle (branco), amarelo, eutanasiados após a exposição ao ruído (D15) e vermelho, eutanasiados após 15 dias de repouso (D30). Grupo controle D0 (n=4); Grupo melatonina D15 (n=4), D30 (n=4); Grupo resveratrol D15 (n=4), D30 (n=4); Grupo veículo D15 (n=4), D30 (n=4). Significância estatística determinada pelo teste ANOVA, para $p < 0,05$. Fonte: Elaborada pela autora, 2024

A figura 22 apresenta as fotomicrografias do ligamento espiral e da estria vascular dos animais do grupo controle e dos grupos expostos ao ruído. Destaca-se que em ambas as análises os grupos que utilizaram antioxidantes não mantiveram a quantidade de células viáveis que o grupo não exposto, mesmo após o repouso auditivo, entretanto, com resultados melhores do que os animais do grupo veículo.

6. DISCUSSÃO

A utilização de substâncias antioxidantes na prevenção da perda de audição vem sendo amplamente estudada nos últimos anos. Diante da problemática causada pela exposição a níveis intensos de pressão sonora, e na sua relação com a vida cotidiana e profissional, que está cada vez mais ruidosa, este estudo se propôs a avaliar o efeito otoprotetor das substâncias melatonina e resveratrol, em animais que foram submetidos durante 10 dias à exposição a níveis de 100 dB durante 8 horas.

O rato wistar, animal utilizado neste estudo, já havia sido utilizado em outros estudos com a exposição ao ruído, como nos estudos de Fetoni et al. (54-56), Ada et al. (78) e Hanci et al. (79), entre outros. Existem muitas semelhanças entre o sistema auditivo dos humanos e dos ratos, dentre elas, a mucosa do ouvido médio e ossículos; a cóclea do rato tem aproximadamente duas voltas e meia, com uma estrutura celular composta por CCI dispostas em uma única linha e CCE dispostas em três fileiras ao longo do órgão de Corti; e o sistema auditivo central do rato também compartilha muitas características anatômicas e fisiológicas com os humanos (105). Apesar das semelhanças citadas, enquanto a audição nos humanos varia de 20 a 20 kHz, o rato tem um espectro auditivo deslocado para a direita (mas expandido em frequências mais altas) entre 250 Hz e 90 kHz, com a maior sensibilidade ocorrendo entre 8 e 38 kHz. O rato wistar é um rato albino que foi desenvolvido no Instituto Wistar, em 1906, para pesquisas biológicas e médicas e foi utilizado para desenvolver posteriormente o rato Long-Evans e o rato Sprague Dawley, ratos que foram utilizados em estudos sobre PAINPSE (66, 67, 73, 82, 103) .

A partir da literatura pesquisada, juntamente com a realização do estudo piloto, optou-se por adotar o nível de ruído de 100 dB para a exposição dos animais. O estudo de revisão de Escalbi et al. (105), ressalta que para causar uma perda auditiva mensurável consistente no modelo de rato, faz-se necessário a utilização de intensidades entre 100 - 110 dB na exposição ao ruído e complementa que o nível de exposição ao ruído e a dose desempenham um papel decisivo no perfil de danos às estruturas cocleares, bem como na sensibilidade das métricas individuais e nos correlatos da perda auditiva. Observa-se ainda que a maioria dos estudos realizados utilizam uma única exposição, muitas vezes com o tempo curto, de uma ou duas hora, como nos

estudos de Nagashima et al. (58), Fetoni et al. (53, 54), Xiong et al. (57) e Wu et al. (84). Na elaboração deste projeto, a partir da resposta do projeto piloto, associada a possibilidade de translacionar o tempo da exposição com o tempo que o trabalhador permanece em seu trabalho, optou-se por expor os animais por 8 horas.

A partir do conceito de que a exposição a uma faixa ampla de frequências de ruído pode ser mais imprevisível em termos de perda auditiva esperada, perda de células ciladas e alterações centrais (103), fez-se a seleção de uma frequência específica para a exposição, com intuito de prever a localização e a distribuição dos efeitos induzidos pelo ruído ao longo da espiral. Sendo assim, foi utilizado o ruído de banda estreita centrado na frequência de 4 kHz, mesma frequência utilizada por diversos estudos pesquisados (60-65, 68, 71, 72, 74, 75, 77, 80, 81).

Com o objetivo de mitigar os efeitos provocados pela exposição ao ruído, este estudo envolveu a aplicação de dois antioxidantes e realizou avaliações seriadas em D15 e D30. Destaca-se que os animais receberam os antioxidantes por quatro dias antes do início da exposição ao ruído e durante todo o período da exposição (10 dias). Optou-se por iniciar o uso do fármaco previamente para possibilitar que as potentes propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias pudessem agir de forma preventiva.

Os dados coletados no presente estudo demonstraram que ruído provocou alteração na amplitude e na relação S/R das EOAPD em todos os grupos expostos de forma generalizada e todos apresentaram diferença estatística na comparação entre o grupo controle e os grupos expostos. Este efeito imediato de redução das EOAPD na análise realizada logo após a exposição do ruído, já havia sido observado em estudos desenvolvidos com outros antioxidantes, como nos trabalhos que utilizaram o hidrogênio (52, 63), Qter (56), entretanto, nem todos mantiveram a avaliação em um tempo após o repouso para identificar a manutenção proteção para a perda auditiva definitiva.

Corroborando os dados das EOAPD, o exame de PEATE também apresentou nos grupos expostos ao ruído uma piora estatística dos limiares auditivos avaliados estímulo clique e tone burst (8 kHz) nos exames realizados após o término da exposição (D15) em todos os grupos avaliados e expostos. Esta perda auditiva imediata, característica de MTL, era esperada no presente estudo devido a alta intensidade utilizada e o longo tempo de exposição, maior

do que na maioria dos estudos publicados, além de também ter sido observada em outros estudos, mesmo com o uso do antioxidante, como nos trabalhos desenvolvidos por Minami et al. (74), com o uso do Tempol e Yamasoba et al. (60), com o uso do Ebselen.

Destaca-se que a faixa de frequência selecionada de para estimulação auditiva estimulou de forma mais intensa a porção apical da cóclea, apesar do conceito referenciado da onda viajante, que descreve que a estimulação ocorre em toda a cóclea, inclusive na porção basal(106). Neste sentido, foi observado na análise do PEATE a efetividade de ambos os antioxidantes na prevenção da instalação da perda auditiva em uma ampla área da cóclea, pois o estímulo clique avaliou a faixa de 2 a 4 kHz e o estímulo tone burst avaliou a frequência específica de 8 kHz.

No presente estudo optou-se por uma exposição mais prolongada ao ruído, com o intuito de analisar o efeito potencial do antioxidante para prevenção das perdas auditivas definitivas. A literatura científica descreve que quando a capacidade de recuperação da cóclea é superada e a perda auditiva se torna irreversível, esta mudança está associada a danos e perda das células ciliadas cocleares, embora os danos aos neurônios e à parede lateral também possam contribuir para a perda auditiva a longo prazo. No caso extremo de uma super estimulação, como a causada por explosões, poderão ser causados danos mecânicos diretos na cóclea, incluindo a destruição das estruturas estereociliares das CC, com a possibilidade redução parcial ou total da função auditiva. As estimulações mais severas podem até comprometer a integridade do epitélio sensorial, afetando as CC e as células de suporte. Ressalta-se ainda a possibilidade da ruptura da barreira entre a endolinfa e a perilinfa, e a possibilidade da exposição as CC remanescentes a níveis elevados de potássio, levando à morte celular (107-110). Entretanto, a maioria dos casos de PAINEPS resulta de danos nas CC causados por processos bioquímicos dentro das próprias células (111).

É importante ressaltar que na orelha interna, as células ganglionares espirais (neurônios aferentes) são classificadas em dois tipos principais. Os neurônios aferentes do tipo I, que representam a maioria (95%), estabelecem sinapses com células ciliadas internas e são altamente sensíveis a estímulos sonoros e os neurônios aferentes do tipo II, que constituem cerca de 5% e atuam como nociceptores cocleares, recebendo informações de células ciliadas

externas, porém sem sensibilidade ao som (82, 112, 113). Na cóclea, a excitotoxicidade do glutamato induzida pelo ruído é mediada por um mecanismo em duas fases. Na primeira fase, a superexposição ao ruído leva ao edema agudo das terminações neuronais aferentes do tipo I na junção sináptica com células ciliadas internas, provocando uma elevação temporária dos limiares auditivos. Nos dias subsequentes, o reparo sináptico ocorre, promovendo a recuperação parcial ou total dos potenciais cocleares(82, 114, 115). Os resultados do presente estudo corroboram essas observações: os limiares auditivos aumentaram temporariamente após a exposição ao ruído. Estes dados sugerem que os antioxidantes utilizados foram incapazes de prevenir a perda auditiva induzida pelo ruído na fase inicial da excitotoxicidade do glutamato. Entretanto, foi observado que apenas os grupos que utilizaram o antioxidante conseguiram um reparo sináptico, com a recuperação parcial (com estímulos tone burst) e total (com estímulos clique) após o período de repouso.

A segunda etapa do processo de excitotoxicidade do glutamato intensifica a morte dos neurônios do gânglio espiral, principalmente devido à ativação exacerbada dos receptores de glutamato. Esse processo desencadeia um influxo excessivo de Ca^{2+} nos neurônios, resultando em um aumento na produção de EROs e radicais livres pelas mitocôndrias, culminando em morte celular(82, 116). Diante dos resultados observados no PEATE no presente estudo, é possível inferir que o grupo veículo sofreu com os efeitos mais intensos da excitotoxicidade do glutamato pois mantiveram resultados inferiores aos grupos que utilizaram o antioxidante, sem recuperação expressiva na comparação com do D15 para o D30.

Ainda com relação os danos celulares, Puel e Wang (117) reafirmam a teoria da degeneração progressiva dos neurônios ganglionares, quando as CCIs ainda estão presentes e funcionais, baseado no mecanismo de excitotoxicidade mediada pelo glutamato (118-120). Entretanto, os autores sugerem que a perda progressiva desses neurônios também possa estar associada à ausência das CCIs, que liberam fatores tróficos essenciais para sua sobrevivência. Privados de suas células-alvo, os neurônios "órfãos" degeneram secundariamente após a perda das CCIs.

Entretanto, apesar do dano sofrido por trauma acústico, os neurônios ganglionares danificados podem formar novos processos e estabelecer sinapses funcionais com as CCIs(115). A regeneração das fibras destruídas pela liberação

excessiva de glutamato, responsável pelo fenômeno de excitotoxicidade, depende da intensidade da exposição sonora, e pode ocorrer de forma parcial ou total(121). Neste sentido, acredita-se que o uso do antioxidante tenha provocado a recuperação das fibras danificadas, em decorrência da liberação excessiva do glutamato. Isto porque, na avaliação realizada após o período de repouso (D30), foi observado na contagem dos neurônios do GE que os grupos tratados com antioxidantes se apresentaram semelhante ao grupo controle, que não foi exposto ao ruído, efeito não observado no grupo veículo.

A literatura já havia descrito os efeitos do uso de antioxidantes na mitigação da excitotoxicidade induzida por glutamato. Estudo realizado com a melatonina (122) demonstrou a redução do estresse oxidativo e manutenção do potencial da membrana mitocondrial, além de modular o influxo de cálcio intracelular e inibir a fosforilação de MAPK, reforçando seus efeitos neuroprotetores em células ganglionares da retina. O resveratrol também demonstrou seus efeitos na redução dos danos induzidos pelo glutamato, com aumento do número de neurônios dopaminérgicos e melhora sua morfologia, em um estudo com culturas primárias mesencefálicas de camundongos(123).

Com o intuito de facilitar a análise e discussão dos dados obtidos de acordo com o antioxidante utilizado, optou-se por separar as análises da melatonina e resveratrol em tópicos específicos, descritos a seguir.

6.1. Melatonina

No presente estudo, a melatonina apresentou efeito otoprotetor nas avaliações realizadas, assim como nos achados descritos na literatura, que relacionaram a melatonina com o envelhecimento(124), na otoproteção na exposição à aminoglicosídeos/ antineoplásicos (86, 125-127), e na exposição ao ruído (128, 129), ainda pouco pesquisado.

Em síntese, os dados coletados no presente estudo com a análise das EOAPD demonstram o efeito otoprotetor da melatonina. Na avaliação realizada por este grupo no D30, observa-se melhora significativa na análise realizada no mesmo grupo no D15, logo após o término da exposição. Este efeito não foi observado nos animais que utilizaram o veículo e reforçam a hipótese da otoproteção gerada pelo antioxidante. A melhora das respostas das EOAPD após período de repouso também foi observada no estudo de Bas et al (129) entretanto, o estudo citado apresentou recuperação dos limiares basais,

enquanto o presente estudo não conseguiu tal efeito completamente. Acredita-se que esta diferença na recuperação se deva ao tempo utilizado na exposição ao ruído. Este estudo utilizou uma única exposição por 6 horas, e conseqüentemente, desencadeou menor dano auditivo, comparado ao presente estudo. Os valores descritos nos resultados deste estudo apresentaram variação expressivamente menos significativa do que no presente estudo. Desta forma, mesmo com efeito deletério provocado pelos 10 dias de exposição, o grupo melatonina conseguiu apresentar recuperação parcial dos resultados das EOAPD e ainda, apresentar melhores resultados com significância estatística na comparação com os resultados apresentados pelo grupo veículo.

O efeito provocado pela melatonina na exposição ao ruído também pode ser observado pela análise dos resultados do PEATE. Apesar dos animais deste grupo terem apresentado uma diferença entre as análises pré-exposição e pós-exposição (D15), esta diferença se repetiu na avaliação do pós-exposição (D15) e pós-reposo (D30), com a melhora dos limiares. Na comparação dos limiares pré-exposição (D0) e pós-reposo (D30), não foi observada diferença estatística entre as avaliações. Este achado, referente a piora imediata e recuperação após o reposo já havia sido referenciada em outros estudos realizados também com o uso da melatonina, como o estudo realizado por Karlidag et al. (128) e estudo desenvolvido por Bas et al. (129).

Dentre os trabalhos já desenvolvidos com o uso da melatonina e a exposição ao ruído, o trabalho de Karlidag et al (128) é o que apresenta metodologia mais semelhante ao presente estudo. Neste estudo, a melatonina foi utilizada na dose de 20 mg/kg e os porquinhos-da-índia foram expostos a 60 horas de ruído de banda larga intensidade de 100 dB. Os seus resultados demonstraram mudança no limiar auditivo na avaliação realizada após o término da exposição ao ruído, em todos os grupos, inclusive no grupo melatonina, assim como o presente estudo. Na comparação entre os grupos medicados com o antioxidante e os grupos expostos sem fármacos (veículo), ambos estudos apresentaram resultados melhores para os animais que receberam a melatonina, com diferença estatística entre os grupos, na análise com estímulo clique. Observa-se que este fato não se repetiu no presente estudo na análise com estímulo 8 kHz possivelmente em função do ruído utilizado estar centrado na frequência de 4 kHz e, conseqüentemente, gerar uma lesão mais intensa na

região da frequência de 8 kHz, diferente do ruído utilizado no outro estudo, que foi um ruído de banda larga (250 – 10 kHz).

O outro estudo encontrado na literatura com o uso da melatonina avaliou ratos wistar submetidos à exposição ao ruído branco à 120 dB por um período único de 4 horas, com o tratamento diário de 1 mg/kg de melatonina (129). Assim como no presente estudo, os resultados avaliados pelo PEATE (clique) demonstraram piora dos limiares nas avaliações realizadas no D7, porém com recuperação na avaliação realizada no D21, dado não observado no grupo exposto ao ruído sem fármacos. Estes resultados são semelhantes ao presente estudo, apesar de terem utilizado metodologias bem distintas para exposição ao ruído. Com base nas análises descritas, é possível apoiar a hipótese de que a melatonina apresenta melhora na funcionalidade auditiva, devido a sua capacidade de capturar EROs, que por sua vez inibe as reações bioquímicas que causam uma diminuição na quantidade de CCEs e conseqüentemente nas emissões otoacústicas (129).

A análise histológica dos tecidos cocleares nos animais tratados com melatonina revelou que os neurônios do GE apresentaram condições semelhantes ao grupo controle, sem exposição ao ruído. Destaca-se que este comportamento não foi observado no grupo veículo. Estes achados são semelhantes ao estudo desenvolvido por Fetoni et al (55), entretanto, com a utilização de outro antioxidante, a coenzima Qter. Neste estudo, com a coloração DHE foi possível identificar uma fluorescência fraca nas células sensoriais e no GE nas cócleas não expostas e nas cócleas que foram expostas ao ruído, mas que tiveram seus efeitos neutralizados pela administração de Q ter. Estes dados demonstram possibilidade gerada pela administração de antioxidantes na redução dos danos celulares decorrentes da exposição ao ruído.

Estudos anteriores (130, 131) também demonstraram a ação benéfica da melatonina sobre os neurônios do GE, em modelos animais não expostos ao ruído. No modelo murino C57BL/6J (130), a melatonina mostrou resultados superiores no tratamento da perda auditiva relacionada à idade, com melhor contagem dos neurônios do GE. Em outro estudo, sobre os efeitos da cisplatina, a melatonina demonstrou efeitos protetores notáveis: os animais tratados com melatonina apresentaram uma densidade celular de 6,8 células/mm², enquanto o grupo controle com cisplatina obteve apenas 1,7 células/mm² (131). Esses achados, associados aos encontrados no presente estudo, apoiam o papel da

melatonina na redução do estresse oxidativo, com a neutralização da ação dos radicais livres e reforçando sua eficácia na proteção auditiva.

Destaca-se ainda que a melatonina desponta por se apresentar em maior concentração nas mitocôndrias, no local de geração dos radicais livres (41, 132). Desta forma, mostra-se com uma vantagem de distribuição intra-celular em comparação com outros antioxidantes, o que possivelmente melhora sua eficácia na eliminação de radicais tóxicos e na redução do estresse oxidativo associado pois também estimula enzimas antioxidantes, como a glutathione peroxidase e glutathione reductase e regula positivamente a síntese de glutathione, descrito como um antioxidante intrínseco altamente eficaz (41, 133).

6.2 Resveratrol

Assim como a melatonina, o resveratrol também demonstrou sua ação otoprotetora na exposição ao ruído. Este antioxidante é um composto polifenólico natural que possui alta permeabilidade no ouvido interno por se tratar de molécula pequena lipofílica. Tem atraído crescente interesse devido às suas diversas propriedades biológicas, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, anti-agregantes, anti-aterogênicos, além de seu papel na quimioprevenção, imunomodulação e ação antienvhecimento. (134-139).

O resveratrol protege as células de forma direta e indireta contra o estresse oxidativo. Como antioxidante direto, ele neutraliza uma ampla variedade de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, bem como radicais orgânicos, utilizando mecanismos como a transferência de átomos de hidrogênio e de elétrons por perda de prótons. Isso evita que as biomoléculas celulares sofram danos oxidativos. Indiretamente, o resveratrol também promove a expressão de várias enzimas antioxidantes essenciais, como catalase, glutathione peroxidase e superóxido dismutase, além de aumentar os níveis de glutathione, um componente crucial para manter o equilíbrio redox celular. Esses efeitos combinados reforçam a capacidade do resveratrol de regular o estresse oxidativo e proteger as células contra danos causados por radicais livres(140).

O potencial apresentado pelo resveratrol foi observado na comparação entre os tempos D15 e D30, nas avaliações realizadas após o término do ruído e após a pausas de 15 dias. Observa-se que houve recuperação estatística dos dados na maioria das frequências testadas nas EOAPD. Destaca-se que, assim

como ocorrido com a melatonina, o grupo que utilizou o resveratrol e foi exposto ao ruído apresentou uma piora temporária dos valores das EOAPD e PEATE. Este efeito de MTL já havia sido observado em outro estudo que também utilizou o ruído como agente externo e o resveratrol para otoproteção. No trabalho desenvolvido por Xiong et al. (57), camundongos foram expostos durante 1 hora a um nível de 120 dB, na frequência de 10 kHz. A análise do PEATE, realizada logo após a exposição, concluiu que não houve diferença nas respostas entre os grupos que foram expostos ao ruído, independente do uso do resveratrol. Entretanto, na análise feita 15 dias após a exposição, foi observada uma melhora recuperação nas frequências de 4 e 16 kHz nos animais que utilizaram o resveratrol. De acordo com os autores, o resveratrol, descrito como ativador da Sirtuina 1 (SIRT1), promoveu a proteção da audição dos danos gerados pelo ruído, aumentando a atividade da SIRT1 coclear e conseqüentemente, reduzindo o estresse oxidativo. Observa-se que os resultados apresentados em ambos os estudos, Xiong et al. e o presente estudo, apresentaram semelhanças. No entanto, vale destacar que, no presente estudo, a recuperação foi inferior à observada no estudo de Xiong et al. Isso pode ser explicado pela diferença nos tempos de exposição ao ruído. No estudo de Xiong et al., a exposição foi única e limitada a uma hora, o que provavelmente resultou em uma MTL, condição distinta ao dano provocado no presente estudo.

Seidman et al., em seus estudos (1, 83), destacam a hipoperfusão e isquemia da cóclea, como possíveis mecanismos de dano associados à perda auditiva induzida por ruído. A isquemia, que afeta diretamente a cóclea, gera estresse oxidativo, resultando na produção de EROs. Esses radicais prejudicam a produção de energia nas células ciliadas externas, comprometendo sua função e levando a alterações nos limiares auditivos.

Neste sentido, em seu estudo desenvolvido em 2013 (1), o autor analisou a ciclooxigenase-2 (COX-2), que é uma enzima cuja expressão está fortemente correlacionada com processos inflamatórios e a geração de EROs. O trabalho forneceu evidências de que os níveis de COX-2 podem aumentar drasticamente após a exposição ao ruído, mas que esse aumento pode ser mitigado pelo resveratrol, pois os animais tratados com resveratrol apresentaram níveis significativamente reduzidos de COX-2 em comparação ao grupo que recebeu apenas o veículo. Além disso, a formação de EROs, avaliada por citometria de fluxo com histograma de fluorescência, também foi significativamente menor nos

animais tratados com resveratrol em comparação ao grupo controle. Apesar do presente estudo não ter realizado estas análises, os resultados obtidos na análise histopatológica complementam as observações dos benefícios já descritos sobre a utilização do resveratrol na exposição ao ruído. Destaca-se a análise realizada no ligamento espiral, apenas o grupo resveratrol apresentou diferença entre o grupo veículo no D30. Este dado demonstra que, apesar de não ter retornado aos valores basais, o resveratrol conseguiu proporcionar proteção nesta estrutura coclear.

Muderris et al. (130) em seu estudo destaca que a proteção auditiva proporcionada por este composto está intimamente relacionada ao aumento de várias funções mitocondriais. Esse aumento inclui melhorias na atividade respiratória enzimática e no consumo de oxigênio, além de uma redução significativa na produção de EROs. Além disso, o composto se destaca como um eliminador eficaz de radicais livres, como os ânions superóxido, o peróxido de hidrogênio e os radicais hidroxila, desempenhando um papel crucial na preservação auditiva. Essa ação antioxidante não apenas minimiza danos celulares, mas também contribui para a manutenção da integridade das células auditivas, promovendo, assim, uma melhor saúde auditiva e proteção para a preservação auditiva. Este estudo evidenciou significativamente o papel do resveratrol na proteção auditiva durante o processo de envelhecimento. De maneira semelhante, os resultados do presente estudo corroboram seus achados, pois os animais que receberam resveratrol apresentaram preservação da função auditiva quando comparados àqueles que não receberam o resveratrol.

Ainda sobre as análises histológicas, na análise realizada no D15, após o término da exposição, todos os grupos apresentaram diferença estatística em relação ao grupo controle, não exposto, na avaliação do ligamento espiral e estria vascular. Entretanto, os resultados do grupo veículo foram estatisticamente piores do que o grupo resveratrol, e na análise da estria vascular no D15 e na análise do ligamento espiral, no D30. O estudo desenvolvido por Hanci et al. (79), com microscopia eletrônica de transmissão e de varredura também demonstrou que o grupo que fez uso do resveratrol apresentou danos cocleares, com perda de CCI e CCE, porém menos graves comparados ao grupo sem resveratrol, assim como no presente estudo.

6.3. Considerações finais

Observa-se nas análises realizadas no D30, que os resultados do PEATE para o estímulo clique e na contagem dos neurônios do GE, os grupos que utilizaram os antioxidantes resveratrol e melatonina retornaram aos seus valores basais após o período de repouso. Estes dados confirmam a teoria de Kajawa et al. (114) sobre a possibilidade da superexposição acústica gerar na cóclea um edema agudo dos terminais neuronais aferentes, na região de seu contato sináptico com CCI, que resulta em uma mudança temporária do limiar. Isto é, após um período de repouso, poderá haver o reparo sináptico, com uma recuperação dos potenciais cocleares, pois este fenômeno ocorreu apenas com os grupos que foram medicados e não no grupo veículo. Em todas as avaliações realizadas foi possível observar a interferência positiva do uso do antioxidante na comparação com o grupo veículo.

É importante ressaltar que o efeito provocado pelo uso do antioxidante foi muito semelhante nas análises realizadas, e ambos os antioxidantes, utilizados de forma isolada, apresentaram resultado satisfatório nas avaliações. Apesar destes terem ações distintas na otoproteção, é notório que o seu uso foi capaz de prevenir a lesão auditiva definitiva.

Destaca-se que este estudo apresentou algumas limitações durante o seu desenvolvimento. Em muitos estudos internacionais, envolvendo modelos animais, é comum o desenvolvimento de equipamentos específicos para os laboratórios onde as pesquisas são realizadas. Esta abordagem permite a customização dos parâmetros de medição conforme a necessidade do experimento, e ainda, facilita a adaptação das olivas ao porte físico dos animais estudados, assegurando uma maior confiabilidade dos resultados. Entretanto, observa-se que no Brasil os estudos experimentais ainda não dispõem desta flexibilidade tecnológica. Desta forma, faz-se necessário a utilização de equipamentos originalmente projetados para o uso em seres humanos. Uma das principais desvantagens destes equipamentos é a limitação da faixa de frequência, geralmente até 8, 12 kHz, enquanto que na literatura internacional, foram encontrados estudos que avaliaram até 24 kHz. Contudo ressalta-se que, apesar de utilizar equipamentos projetados para humanos, o laboratório onde a pesquisa foi desenvolvida têm conseguido atender os objetivos científicos com a utilização destes.

Além disso, a ausência da microscopia eletrônica impossibilitou uma visualização mais precisa das estruturas, principalmente com a análise das CCEs e CCIs.

Por fim, inicialmente não previmos a necessidade de avaliações audiológicas ao longo da exposição ao ruído. Entretanto, com os resultados obtidos no D15, diante da magnitude da ausência das respostas das emissões otoacústicas ocasionadas pelo ruído, percebeu-se a necessidade de exames audiológico em dias intermediários para o acompanhamento das lesões. A exposição gerou um dano muito maior do que o esperado e talvez, se tivesse sido mais curta, seria possível observar o efeito otoprotetor dos antioxidantes também na perda temporária.

7. CONCLUSÃO

Os achados deste estudo destacam o efeito otoprotetor dos antioxidantes melatonina e resveratrol em modelos animais submetidos à exposição ao ruído.

Ao término do experimento, foi observada uma recuperação parcial das EOAPD para a amplitude e relação sinal/ruído nos grupos que utilizaram o antioxidante e foram expostos ao ruído; na avaliação pelo PEATE, foi observada uma normalização dos limiares auditivos com estímulo de clique nos animais que utilizaram os antioxidantes; na avaliação em 8 kHz, foi observada melhora dos limiares apenas no grupo melatonina.

Na análise histológica, foi observado que os grupos que utilizaram antioxidante recuperaram a densidade do GE ao término do experimento. Na análise do ligamento espiral, os grupos expostos ao ruído mantiveram diferença estatística na análise com o grupo controle, mas o grupo resveratrol apresentou destaque na comparação com o grupo veículo.

Estes resultados sugerem que a administração dos antioxidantes melatonina e resveratrol podem representar uma estratégia promissora e eficaz na mitigação dos efeitos deletérios do ruído sobre a audição, prevenindo a degeneração auditiva induzida pelo estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

1. Seidman MD, Tang W, Bai VU, Ahmad N, Jiang H, Media J, et al. Resveratrol decreases noise-induced cyclooxygenase-2 expression in the rat cochlea. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013;148(5):827-33.
2. Silva VGD, Sampaio ALL, Oliveira CACPD, Tauil PL, Jansen GMB. Prevalência de alterações das células ciliadas externas em estudantes de uma escola do Distrito Federal. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2012;78(4):91-7.
3. Boger ME. Estudo das emissões otoacústicas evocadas por produto de distorção em trabalhadores normo-ouvintes expostos a diferentes doses de ruído ocupacional.: Universidade de Brasília; 2012.
4. Health. NIfOSa. Occupational Hearing Loss (ohl) Surveillance: facts and definitions [Internet]. . 2023.
5. Marisol Concha-Barrientos and Deborah Imel Nelson and Timothy RDaNKSaLPaMAFaAMP-saJL. Selected occupational risk factors. 2004.
6. Oliveira JAAd. Fisiologia clínica da audição - cóclea ativa. In: Nudelmann AA CE, Seligman J, Ibañez RN, editors. PAIR: perda auditiva induzida pelo ruído. Porto Alegre: Bagagem Comunicação; 1997.
7. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage<i>in vivo</i>and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*. 2004;142(2):231-55.
8. Bianchi MdLP, Antunes LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição*. 1999;12.
9. Ohinata Y, Miller JM, Altschuler RA, Schacht J. Intense noise induces formation of vasoactive lipid peroxidation products in the cochlea. *Brain Res*. 2000;878(1-2):163-73.
10. Draczynska-Lusiak B, Doung A, Sun AY. Oxidized lipoproteins may play a role in neuronal cell death in Alzheimer disease. *Molecular and Chemical Neuropathology*. 1998;33(2):139-48.
11. Iazzetta F. Estudos do som: um campo em gestação. *Revista do Centro de Pesquisa e Formação - SESC*. 2015;no 2015(1):146-60.
12. Bauer MWaGG. Pesquisa qualitativa com texto, imagem e som: Um manual pr \a tico2017.
13. Organization. WH. Children and noise. .
14. Neto N. O Impacto das Frequências Sonoras na Criança: Revisão Integrativa de Literatura. . Trabalho de Conclusão. Repositório Institucional da UFSC.; 2021.
15. Balk SJ, Bochner RE, Ramdhanie MA, Reilly BK, Bole A, Balk SJ, et al. Preventing Excessive Noise Exposure in Infants, Children, and Adolescents. *Pediatrics*. 2023;152(5).
16. Organization) WWH. Burden of disease from environmental noise.: European Commission; 2011.
17. Samelli AG FA. Ruído, efeitos sobre a saúde e estratégias de proteção. 3 ed ed. Schochat E ea, editor. Santana de Parnaíba [SP]: Manoel; 2022.
18. Health TNIfOSa, . Noise and Occupational Hearing Loss.
19. Kardous CE TC, Morata TC, Lotz WG. Understanding noise exposure limits: occupational vs. general environmental noise. *Understanding noise exposure limits: occupational vs. general environmental noise*. . 2016.
20. JE H. *Sketches of Otohistory Part 1: Otoprehistory: How It All Began*. . *Audiology and Neuro-Otology*; 2004 p. 66–71.
21. Hawkins JE SJ. Sketches of otohistory. Part 10: noise-induced hearing loss.: *Audiol Neurootol*; 2005 Nov-Dec. p. 305-9.
22. Kerr MJ NR, Hong O, Sataloff RT. Historical review of efforts to reduce noise-induced hearing loss in the United States. . . *Am J Ind Med*; 2017 Jun. p. 569-77.
23. Health. NNIfOSa. Criteria for a recommended standard: Occupational noise exposure, revised criteria 1998.: Cincinnati: Department of Health and Human Services, Public Health

- Service, Centers for Disease Control and Prevention. National Institute for Occupational Safety and Health; 1998.
24. Hoffman HJ DR, Losonczy KG, Themann CL, Flamme GA. Declining prevalence of hearing loss in US adults aged 20 to 69 years. . JAMA Otolaryngol Head Neck Surg. ; 2017;. p. 274-85.
 25. Nelson DI NR, Concha-Barrientos M, Fingerhut M. The global burden of occupational noise-induced hearing loss. . Am J Ind Med. ; 2005 p. 446-58.
 26. Masterson EA DJ, Themann CL, Bertke S, Calvert GM. Trends in worker hearing loss by industry sector, 1981–2010. . Am J Ind Med.; 2015. p. 392-401.
 27. Comitê Nacional de Ruído e Conservação Auditiva. Boletim n. 6. Arquivos da Fundação Otorrinolaringologia; 2000. p. (periódico on line: <http://www.hcnet.usp.br/otorrino/arg42/com.htm>).
 28. Araújo SA. Perda auditiva induzida pelo ruído em trabalhadores de metalúrgica. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. 2002;68(1):47-52.
 29. Le TN, Straatman LV, Lea J, Westerberg B. Current insights in noise-induced hearing loss: a literature review of the underlying mechanism, pathophysiology, asymmetry, and management options. Journal of Otolaryngology - Head & Neck Surgery. 2017;46(1).
 30. Ryan AF, Kujawa SG, Hammill T, Le Prell C, Kil J. Temporary and Permanent Noise-induced Threshold Shifts. Otology & Neurotology. 2016;37(8):e271-e5.
 31. Nordmann AS BB, Harding GW. Histopathological differences between temporary and permanent threshold shift. . Hear Res.; 2000. p. 13-30.
 32. Heeringa AN vDP. The dissimilar time course of temporary threshold shifts and reduction of inhibition in the inferior colliculus following intense sound exposure. . Hear Res. 2014.
 33. Kujawa SG, Liberman MC. Adding Insult to Injury: Cochlear Nerve Degeneration after “Temporary” Noise-Induced Hearing Loss. The Journal of Neuroscience. 2009;29(45):14077-85.
 34. Furman AC, Kujawa SG, Liberman MC. Noise-induced cochlear neuropathy is selective for fibers with low spontaneous rates. Journal of neurophysiology. 2013;110(3):577-86.
 35. Hertzano R, Lipford EL, Depireux D. Noise: Acoustic Trauma to the Inner Ear. Otolaryngologic Clinics of North America. 2020;53(4):531-42.
 36. Plack CJ, Barker D, Prendergast G. Perceptual Consequences of “Hidden” Hearing Loss. Trends in Hearing. 2014;18(0):233121651455062.
 37. Bohne BA, Harding GW, Lee SC. Death pathways in noise-damaged outer hair cells. Hearing Research. 2007;223(1):61-70.
 38. Polanski DR DE, Polanski JF. Study of afterwork temporary threshold shift in metalworkers. . Rev Bras Med Trab.; 2015. p. 115-9
 39. Lin C-Y, Wu J-L, Shih T-S, Tsai P-J, Sun Y-M, Ma M-C, et al. N-Acetyl-cysteine against noise-induced temporary threshold shift in male workers. Hearing Research. 2010;269(1):42-7.
 40. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. Am J Med. 1991;91(3c):14s-22s.
 41. Reiter R, Tan D, Rosales-Corral S, Galano A, Zhou X, Xu B. Mitochondria: Central Organelles for Melatonin’s Antioxidant and Anti-Aging Actions. Molecules. 2018;23(2):509.
 42. Yang ML, Doyle HA, Clarke SG, Herold KC, Mamula MJ. Oxidative Modifications in Tissue Pathology and Autoimmune Disease. Antioxid Redox Signal. 2018;29(14):1415-31.
 43. Lima ÉS, Abdalla DSP. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2001;37(3):293-303.
 44. Agmon E, Stockwell BR. Lipid homeostasis and regulated cell death. Curr Opin Chem Biol. 2017;39:83-9.
 45. Kujawa SG, Liberman MC. Acceleration of age-related hearing loss by early noise exposure: evidence of a misspent youth. J Neurosci. 2006;26(7):2115-23.
 46. Lin HW, Furman AC, Kujawa SG, Liberman MC. Primary neural degeneration in the Guinea pig cochlea after reversible noise-induced threshold shift. J Assoc Res Otolaryngol. 2011;12(5):605-16.

47. Bharadwaj HM VS, Shaheen L, Liberman MC, Shinn-Cunningham BG. Cochlear neuropathy and the coding of supra-threshold sound. *Front Syst Neurosci* 2014 p. 26.
48. Chen G-D, Decker B, Krishnan Muthaiah VP, Sheppard A, Salvi R. Prolonged noise exposure-induced auditory threshold shifts in rats. *Hearing Research*. 2014;317:1-8.
49. Dagli S, Canlon B. The effect of repeated daily noise exposure on sound-conditioned and unconditioned guinea pigs. *Hearing Research*. 1997;104(1):39-46.
50. Oliveira JAAD, Canedo DM, Rossato M. Otoproteção das células ciliadas auditivas contra a ototoxicidade da amicacina. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. 2002;68(1):7-13.
51. Fetoni AR, Ralli M, Sergi B, Parrilla C, Troiani D, Paludetti G. Protective effects of N-acetylcysteine on noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2009;29(2):70-5.
52. Chen L, Yu N, Lu Y, Wu L, Chen D, Guo W, et al. Hydrogen-saturated saline protects intensive narrow band noise-induced hearing loss in guinea pigs through an antioxidant effect. *PLoS One*. 2014;9(6):e100774.
53. Fetoni AR, Piacentini R, Fiorita A, Paludetti G, Troiani D. Water-soluble Coenzyme Q10 formulation (Q-ter) promotes outer hair cell survival in a guinea pig model of noise induced hearing loss (NIHL). *Brain Res*. 2009;1257:108-16.
54. Fetoni AR, Troiani D, Eramo SL, Rolesi R, Paludetti Troiani G. Efficacy of different routes of administration for Coenzyme Q10 formulation in noise-induced hearing loss: systemic versus transtympanic modality. *Acta Otolaryngol*. 2012;132(4):391-9.
55. Fetoni AR, De Bartolo P, Eramo SL, Rolesi R, Paciello F, Bergamini C, et al. Noise-induced hearing loss (NIHL) as a target of oxidative stress-mediated damage: cochlear and cortical responses after an increase in antioxidant defense. *J Neurosci*. 2013;33(9):4011-23.
56. Fetoni AR, Rolesi R, Paciello F, Eramo SLM, Grassi C, Troiani D, et al. Styrene enhances the noise induced oxidative stress in the cochlea and affects differently mechanosensory and supporting cells. *Free Radic Biol Med*. 2016;101:211-25.
57. Xiong H, Ou Y, Xu Y, Huang Q, Pang J, Lai L, et al. Resveratrol Promotes Recovery of Hearing following Intense Noise Exposure by Enhancing Cochlear SIRT1 Activity. *Audiol Neurootol*. 2017;22(4-5):303-10.
58. Nagashima R, Yamaguchi T, Tanaka H, Ogita K. Mechanism underlying the protective effect of tempol and N ω -nitro-L-arginine methyl ester on acoustic injury: possible involvement of c-Jun N-terminal kinase pathway and connexin26 in the cochlear spiral ligament. *J Pharmacol Sci*. 2010;114(1):50-62.
59. Gao G, Liu Y, Zhou CH, Jiang P, Sun JJ. Solid lipid nanoparticles loaded with edaravone for inner ear protection after noise exposure. *Chin Med J (Engl)*. 2015;128(2):203-9.
60. Yamasoba T, Pourbakht A, Sakamoto T, Suzuki M. Ebselen prevents noise-induced excitotoxicity and temporary threshold shift. *Neurosci Lett*. 2005;380(3):234-8.
61. Takemoto T, Sugahara K, Okuda T, Shimogori H, Yamashita H. The clinical free radical scavenger, edaravone, protects cochlear hair cells from acoustic trauma. *Eur J Pharmacol*. 2004;487(1-3):113-6.
62. Tanaka K, Takemoto T, Sugahara K, Okuda T, Mikuriya T, Takeno K, et al. Post-exposure administration of edaravone attenuates noise-induced hearing loss. *Eur J Pharmacol*. 2005;522(1-3):116-21.
63. Lin Y, Kashio A, Sakamoto T, Suzukawa K, Kakigi A, Yamasoba T. Hydrogen in drinking water attenuates noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Neurosci Lett*. 2011;487(1):12-6.
64. Murashita H, Tabuchi K, Hoshino T, Tsuji S, Hara A. The effects of tempol, 3-aminobenzamide and nitric oxide synthase inhibitors on acoustic injury of the mouse cochlea. *Hear Res*. 2006;214(1-2):1-6.
65. Samson J, Wiktoerek-Smagur A, Politanski P, Rajkowska E, Pawlaczyk-Luszczynska M, Dudarewicz A, et al. Noise-induced time-dependent changes in oxidative stress in the mouse cochlea and attenuation by D-methionine. *Neuroscience*. 2008;152(1):146-50.

66. Lorito G, Giordano P, Prosser S, Martini A, Hatzopoulos S. Noise-induced hearing loss: a study on the pharmacological protection in the Sprague Dawley rat with N-acetyl-cysteine. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2006;26(3):133-9.
67. Lorito G, Giordano P, Petruccelli J, Martini A, Hatzopoulos S. Different strategies in treating noise-induced hearing loss with N-acetylcysteine. *Med Sci Monit.* 2008;14(8):Br159-64.
68. Zhou Y, Zheng H, Ruan F, Chen X, Zheng G, Kang M, et al. Hydrogen-rich saline alleviates experimental noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Neuroscience.* 2012;209:47-53.
69. Kil J, Pierce C, Tran H, Gu R, Lynch ED. Ebselen treatment reduces noise induced hearing loss via the mimicry and induction of glutathione peroxidase. *Hear Res.* 2007;226(1-2):44-51.
70. Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Ebselen-mediated protection from single and repeated noise exposure in rat. *Laryngoscope.* 2004;114(2):333-7.
71. Diao M, Gao W, Sun J. Nitric oxide synthase inhibitor reduces noise-induced cochlear damage in guinea pigs. *Acta Otolaryngol.* 2007;127(11):1162-7.
72. Ohinata Y, Miller JM, Schacht J. Protection from noise-induced lipid peroxidation and hair cell loss in the cochlea. *Brain Res.* 2003;966(2):265-73.
73. Rhee CK, Chang SY. Combination photobiomodulation/N-acetyl-L-cysteine treatment appears to mitigate hair cell loss associated with noise-induced hearing loss in rats. *Lasers Med Sci.* 2021;36(9):1941-7.
74. Minami SB, Yamashita D, Ogawa K, Schacht J, Miller JM. Creatine and tempol attenuate noise-induced hearing loss. *Brain Res.* 2007;1148:83-9.
75. Pourbakht A, Yamasoba T. Ebselen attenuates cochlear damage caused by acoustic trauma. *Hear Res.* 2003;181(1-2):100-8.
76. Bielefeld EC, Hynes S, Pryznosch D, Liu J, Coleman JK, Henderson D. A comparison of the protective effects of systemic administration of a pro-glutathione drug and a Src-PTK inhibitor against noise-induced hearing loss. *Noise Health.* 2005;7(29):24-30.
77. Bielefeld EC, Kopke RD, Jackson RL, Coleman JK, Liu J, Henderson D. Noise protection with N-acetyl-L-cysteine (NAC) using a variety of noise exposures, NAC doses, and routes of administration. *Acta Otolaryngol.* 2007;127(9):914-9.
78. Ada S, Hanci D, Ulusoy S, Vejselova D, Burukoglu D, Muluk NB, et al. Potential protective effect of N-acetyl cysteine in acoustic trauma: An experimental study using scanning electron microscopy. *Adv Clin Exp Med.* 2017;26(6):893-7.
79. Hanci D, Ulusoy S, Acar M, Burukoglu D, Kutlu HM, Bayar Muluk N, et al. Potential protective effect of resveratrol on acoustic trauma: electron microscopy study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(16):3469-75.
80. Clifford RE, Coleman JK, Balough BJ, Liu J, Kopke RD, Jackson RL. Low-dose D-methionine and N-acetyl-L-cysteine for protection from permanent noise-induced hearing loss in chinchillas. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2011;145(6):999-1006.
81. Rewerska A, Pawelczyk M, Rajkowska E, Politanski P, Sliwinska-Kowalska M. Evaluating D-methionine dose to attenuate oxidative stress-mediated hearing loss following overexposure to noise. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2013;270(4):1513-20.
82. Li IH, Shih JH, Zhao YT, Chen HC, Chiu CH, Chen CF, et al. Regulation of Noise-Induced Loss of Serotonin Transporters with Resveratrol in a Rat Model Using 4-[(18)F]-ADAM/Small-Animal Positron Emission Tomography. *Molecules.* 2019;24(7).
83. Seidman M, Babu S, Tang W, Naem E, Quirk WS. Effects of resveratrol on acoustic trauma. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;129(5):463-70.
84. Wu F, Xiong H, Sha S. Noise-induced loss of sensory hair cells is mediated by ROS/AMPK α pathway. *Redox Biol.* 2020;29:101406.
85. Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nature medicine.* 2007;13:688-94.
86. JG DEA, Serra LSM, Lauand L, Kückelhaus SAS, Sampaio ALL. Protective Effect of Melatonin on Cisplatin-induced Ototoxicity in Rats. *Anticancer Res.* 2019;39(5):2453-8.

87. Serra LSM, Araújo JG, Vieira ALS, Silva EMD, Andrade RR, Kückelhaus SAS, et al. Role of melatonin in prevention of age-related hearing loss. *PLoS One*. 2020;15(2):e0228943.
88. Cipolla-Neto J, Amaral FGd. Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocrine Reviews*. 2018;39(6):990-1028.
89. Volquind D. Efeitos da melatonina sobre a inflamação e o estresse oxidativo tecidual de pacientes submetidos à laparoscopia cirúrgica.: Universidade Estadual Paulista (UNESP); 2016.
90. Espino J, Pariente JA, Rodríguez AB. Oxidative Stress and Immunosenescence: Therapeutic Effects of Melatonin. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2012;2012:1-9.
91. Tomás-Zapico C, Coto-Montes A. A proposed mechanism to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes. *Journal of Pineal Research*. 2005;39(2):99-104.
92. Han C, Linser P, Park HJ, Kim MJ, White K, Vann JM, et al. Sirt1 deficiency protects cochlear cells and delays the early onset of age-related hearing loss in C57BL/6 mice. *Neurobiol Aging*. 2016;43:58-71.
93. FRANCO DG. Efeito da melatonina sobre a viabilidade de células granulares de cerebelo em cultura dependente do contexto celular.: USP; 2014.
94. Heupa AB, de Oliveira Gonçalves CG, Coifman H. Effects of impact noise on the hearing of military personnel. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2011;77(6):747-53.
95. Atchariyasathian V CS, Saekhow S. Evaluation of noise-induced hearing loss with audiometer and distortion product otoacoustic emissions.: *J Med Assoc Thai.* ; 2008 jul. p. 1066-71.
96. Ramos N, Aita ADC, Siqueira LP, Aita FS. O uso de emissões otoacústicas como ferramenta auxiliar no diagnóstico de efeitos da exposição ao ruído. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*. 2011;36.
97. Sousa LCA PM, Alvarenga KF, Cóser PL. Eletrofisiologia da audição e emissões otoacústicas: princípios e aplicações clínicas. . Ribeirão Preto: Editora Novo Conceito; 2010.
98. Brown AM, Kemp DT. Suppressibility of the 2f1-f2 stimulated acoustic emissions in gerbil and man. *Hear Res*. 1984;13(1):29-37.
99. Sisto R, Chelotti S, Moriconi L, Pellegrini S, Citroni A, Monechi V, et al. Otoacoustic emission sensitivity to low levels of noise-induced hearing loss. *J Acoust Soc Am*. 2007;122(1):387-401.
100. Hood LJ. Stimulus r, and patient factors influencing the ABR. In: Hood LJ. *Clinical applications of the auditory brainstem responses*. San Diego: Singular Publishing Group, 1998.
101. Cheng AG, Cunningham LL, Rubel EW. Mechanisms of hair cell death and protection. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;13(6):343-8.
102. Freitas MRd, Silva VCd, Brito GAdC, Carvalho Junior JVd, Gomes Junior RM, Ribeiro RdA. Distortion-product otoacoustic emissions and auditory brainstem responses sensitivity assessment in cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2009;75.
103. Holt AG, Kühl A, Braun RD, Altschuler R. The rat as a model for studying noise injury and otoprotection. *J Acoust Soc Am*. 2019;146(5):3681.
104. Juan Carlos Alvarado and Verónica Fuentes-Santamaría and Tania Jareño-Flores and José Luis Blanco and José MJ. Normal variations in the morphology of auditory brainstem response (ABR) waveforms: a study in wistar rats. *Neuroscience Research*. 2012;73(4):302-11.
105. Escabi CD, Frye MD, Trevino M, Lobarinas E. The rat animal model for noise-induced hearing loss. *J Acoust Soc Am*. 2019;146(5):3692.
106. 1993 OJOMeadcRBdO, 59(4):236-48.
107. Liberman MC, Beil DG. Hair cell condition and auditory nerve response in normal and noise-damaged cochleas. *Acta Otolaryngol*. 1979;88(3-4):161-76.
108. Seidman MD, Quirk WS, Shirwany NA. Mechanisms of alterations in the microcirculation of the cochlea. *Ann N Y Acad Sci*. 1999;884:226-32.
109. Schuknecht HF, Montandon P. Pathology of the ear in pneumococcal meningitis. *Archiv für klinische und experimentelle Ohren-, Nasen-und Kehlkopfheilkunde*. 1970;195(3):207-25.

110. Patuzzi RB, Yates GK, Johnstone BM. Outer hair cell receptor current and sensorineural hearing loss. *Hear Res.* 1989;42(1):47-72.
111. Kurabi A KE, Housley GD, Ryan AF, Wong AC. Cellular mechanisms of noise-induced hearing loss. *Hear Res*; 2017 Jun. p. 129-37.
112. Vyas P, Wu JS, Zimmerman A, Fuchs P, Glowatzki E. Tyrosine Hydroxylase Expression in Type II Cochlear Afferents in Mice. *J Assoc Res Otolaryngol.* 2017;18(1):139-51.
113. Liberman MC, Kujawa SG. Cochlear synaptopathy in acquired sensorineural hearing loss: Manifestations and mechanisms. *Hear Res.* 2017;349:138-47.
114. Kujawa SG, Liberman MC. Synaptopathy in the noise-exposed and aging cochlea: Primary neural degeneration in acquired sensorineural hearing loss. *Hearing Research.* 2015;330:191-9.
115. Puel JL, Ruel J, Gervais d'Aldin C, Pujol R. Excitotoxicity and repair of cochlear synapses after noise-trauma induced hearing loss. *Neuroreport.* 1998;9(9):2109-14.
116. Bai X, Zhang C, Chen A, Liu W, Li J, Sun Q, et al. Protective Effect of Edaravone on Glutamate-Induced Neurotoxicity in Spiral Ganglion Neurons. *Neural Plast.* 2016;2016:4034218.
117. Puel JL, Wang J. Traumatismo acústico agudo. *EMC - Otorrinolaringología.* 2024;53(1):1-13.
118. Lefebvre PP, Weber T, Rigo J-M, Staecker H, Moonen G, Van De Water TR. Peripheral and central target-derived trophic factor (s) effects on auditory neurons. *Hearing research.* 1992;58(2):185-92.
119. Staecker H, Liu W, Hartnick C, Lefebvre P, Malgrange B, Moonen G, et al. NT-3 combined with CNTF promotes survival of neurons in modiolus-spiral ganglion explants. *Neuroreport.* 1995;6(11):1533-7.
120. Kujawa SG, Liberman MC. Adding insult to injury: cochlear nerve degeneration after “temporary” noise-induced hearing loss. *Journal of Neuroscience.* 2009;29(45):14077-85.
121. Puel J-L. Chemical synaptic transmission in the cochlea. *Progress in neurobiology.* 1995;47(6):449-76.
122. Wang C, An Y, Xia Z, Zhou X, Li H, Song S, et al. The neuroprotective effect of melatonin in glutamate excitotoxicity of R28 cells and mouse retinal ganglion cells. *Frontiers in Endocrinology.* 2022;13.
123. Moldzio R, Radad K, Krewenka C, Kranner B, Duvigneau JC, Rausch WD. Protective effects of resveratrol on glutamate-induced damages in murine brain cultures. *J Neural Transm (Vienna).* 2013;120(9):1271-80.
124. Serra LSM, Araújo JG, Novanta G, Lauand L, Silva EMD, Kückelhaus SAS, et al. Melatonin prevents age-related hearing loss in the murine experimental model. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2022;88 Suppl 3(Suppl 3):S103-s8.
125. Demir MG, Altıntoprak N, Aydın S, Kösemihal E, Başak K. Effect of Transtympanic Injection of Melatonin on Cisplatin-Induced Ototoxicity. *J Int Adv Otol.* 2015;11(3):202-6.
126. Erdem T, Ozturan O, Iraz M, Miman MC, Olmez E. Dose-dependent dual effect of melatonin on ototoxicity induced by amikacin in adult rats. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2005;262(4):314-21.
127. Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Torronteras R, Osuna C, Delgado F. Ototoxicity caused by aminoglycosides is ameliorated by melatonin without interfering with the antibiotic capacity of the drugs. *J Pineal Res.* 2000;28(1):26-33.
128. Karlidağ T, Yalçın S, Oztürk A, Ustündağ B, Gök U, Kaygusuz I, et al. The role of free oxygen radicals in noise induced hearing loss: effects of melatonin and methylprednisolone. *Auris Nasus Larynx.* 2002;29(2):147-52.
129. Bas E, Martinez-Soriano F, Láinez JM, Marco J. An experimental comparative study of dexamethasone, melatonin and tacrolimus in noise-induced hearing loss. *Acta Otolaryngol.* 2009;129(4):385-9.
130. SERRA LSM. EFEITO DA MELATONINA NA PREVENÇÃO DA DISFUNÇÃO DAS CÉLULAS CILIADAS EXTERNAS NO PROCESSO DE PERDA AUDITIVA RELACIONADA À IDADE NO MODELO MURINO C57BL/6J . UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA; 2020.

131. Araujo JGd. Efeito da melatonina na ototoxicidade e genotoxicidade da cisplatina em ratos wistar. 2019.
132. van der Blik AM, Sedensky MM, Morgan PG. Cell Biology of the Mitochondrion. *Genetics*. 2017;207(3):843-71.
133. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *Journal of Pineal Research*. 2016;61(3):253-78.
134. Hirose Y, Sugahara K, Mikuriya T, Hashimoto M, Shimogori H, Yamashita H. Effect of water-soluble coenzyme Q10 on noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Acta Otolaryngol*. 2008;128(10):1071-6.
135. Yun J-M, Chien A, Jialal I, Devaraj S. Resveratrol up-regulates SIRT1 and inhibits cellular oxidative stress in the diabetic milieu: mechanistic insights. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2012;23(7):699-705.
136. Zhang C, Huang J, Kang X. Resveratrol Attenuates LPS-induced Apoptosis via Inhibiting NF- κ B Activity in Chicken Peripheral Lymphocyte Cultures. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 2018;20(4):747-52.
137. Seo K, Seo S, Han JY, Ki SH, Shin SM. Resveratrol attenuates methylglyoxal-induced mitochondrial dysfunction and apoptosis by Sestrin2 induction. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014;280(2):314-22.
138. Ozkan OV, Yuzbasioglu MF, Ciralik H, Kurutas EB, Yonden Z, Aydin M, et al. Resveratrol, a Natural Antioxidant, Attenuates Intestinal Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 2009;218(3):251-8.
139. Leonard SS, Xia C, Jiang BH, Stinefelt B, Klandorf H, Harris GK, et al. Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;309(4):1017-26.
140. Truong VL, Jun M, Jeong WS. Role of resveratrol in regulation of cellular defense systems against oxidative stress. *Biofactors*. 2018;44(1):36-49.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO ESTUDO NO COMITÊ DE ÉTICA DE USO ANIMAL

Brasília, 24 de agosto de 2021.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "EFEITO ANTIOXIDANTE NA PREVENÇÃO DA DISFUNÇÃO DAS CÉLULAS CILIADAS EXTERNAS EM ROEDORES EXPOSTOS A ELEVADOS NÍVEIS DE PRESSÃO SONORA", SEI n.º 23106.001211/2020-36, sob responsabilidade do Professor André Luiz Lopes Sampaio, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília, na 15ª reunião ordinária, realizada em 6/8/2021. Este projeto foi aprovado para utilização de Rato Wistar (78 machos), com procedência da Universidade Federal de Goiás. O presente certificado é válido pelo período de 01/11/2021 a 20/2/2024.



Dra. Carina da Costa Krewer
Coordenadora da CEUA – UnB



*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

APÊNDICE A - Descrição dos trabalhos com o uso de antioxidantes na exposição ao ruído em estudos experimentais.

Autor/ano	Antioxidante/dosagem	Descrição dos grupos experimentais	Tempo/intensidade/frequência do ruído	Tipo e tempos de avaliação	Principais resultados
Clifford et al (2011) (80)	D-Met e NAC - injeção intraperitoneal: duas vezes por dia, por 5 dias, começando 2 dias antes da exposição ao ruído.	3 grupos : Grupo I DMET (12,5 mg/kg + ruído; Grupo II NAC (12,5 mg/kg) + ruído; Grupo III Controle (solução salina) + ruído.	6 h/105 dB/ ruído banda de oitava de 4 kHz	PEATE nas frequências de 2,4,6 e 8 kHz - 2 horas antes e 2 horas após a exposição ao ruído, uma vez por semana nas 3 semanas subsequentes).	Os animais do grupo DMET apresentaram na comparação com o grupo controle exposto ao ruído recuperação significativa dos limiares na terceira semana nas frequências de 4 e 6 kHz $p<0,001$ e $p<0,05$) e o grupo NAC apresentou resultado semelhante ao grupo controle, com uma melhora significativamente menor do que os do grupo DMET ($p<0,05$). A recuperação significativa da audição foi observada apenas no grupo D-metionina.
Rewerska, et al (2013) (81)	D-Met - injeção intraperitoneal: 1 h antes e 1 hora após a exposição ao ruído. Nos mesmos horários a dose foi repetida por 3 dias após a exposição ao ruído.	5 grupos : Grupo I Controle (solução salina) + não ruído; Grupo II Ruído (solução salina) + ao ruído; Grupo III D-met (100mg/kg) + ruído; Grupo IV D-met (200mg/kg) + ruído; Grupo V D-met (400mg/kg) + ruído;	8 h/110 dB/ ruído banda de oitava de 4 kHz	PEATE na frequência de 8 kHz - antes e após, 7 e 14 dias após exposição ao ruído).	No 14 dia, apenas o grupo que recebeu 400 mg/kl apresentou redução significativa no limiar ($p<0,05$). O resultado demonstra que a dosagem mais alta (400 mg/kl) é a mais eficiente na prevenção ao dano coclear por exposição ao ruído.
Samson et al (2008) (65)	D-Met - injeção intraperitoneal 1 h antes e 1 hora após a exposição ao ruído, repetida no 1 e 2 dias após a exposição ao ruído.	3 grupos : Grupo I: 5 animais/ solução salina + não ruído; Grupo II: 5 animais/ solução salina + ruído; Grupo III: 5 animais / D-met 400 mg/k + ruído.	4 h/110 dB/ ruído banda de oitava de 4 kHz	PEATE nas frequências de 4 e 8 kHz - antes e após, 3,7, 14 e 21 dias, após a exposição ao ruído.	Na avaliação realizada no dia 14, o grupo que utilizou D-met apresentou uma diminuição significativa da mudança do limiar ($p<0,05$) na frequência de 4 kHz de 5 dB e 7 dB na frequência de 8 kHz, enquanto que o grupo que não utilizou D-met apresentou uma diferença de 15 dB em ambas as orelhas.
Kil et al (2007) (69)	Ebselen - gavagem - duas doses ao dia 1 dia antes da exposição ao ruído, 1 hora pré-ruído e 1 hora pós-ruído.	3 grupos: Grupo 1 - 4 animais / veículo (DMSO) + ruído; Grupo 2 - 4 animais / Ebselen (4 mg/kg) por 3 dias, iniciado um dia antes da exposição + ruído Grupo 3 - 4 animais / Ebselen (4 mg/kg) por 14 dias, iniciado um dia antes da exposição ao ruído.	4 h/113 dB SPL/ 4-16 kHz (banda de oitava)	PEATE nas frequências de 4,8, 16 e 32 kHz - antes e 3, 6, 9 e 15 semanas após a exposição, Avaliação histológica (citococleogram a): 15 semana após a exposição ao ruído Imuno-histoquímica expressão GPx: 5 horas após a exposição ao ruído.	Após 9 semanas da exposição ao ruído, foram observadas mudanças nos limiares do PEATE em todas as frequências testadas (4,8,16 e 32 kHz. Na comparação entre os grupos que receberam ebselen, foi observada uma diferença estatística nos limiares do PEATE entre o grupo tratamento de 14 dias e 3 dias ($p<0,05$), na avaliação realizada na 15 semana. A avaliação da perda de CCE após 15 semanas demonstrou uma redução da perda em ambos os grupos tratados com ebselen (3 e 14 dias de dosagem), com melhor efeito no grupo 14 dias. Na comparação com o grupo controle/veículo, o tratamento de 3 dias teve uma redução de 58% ($p<0,01$) e o grupo tratamento 14 dias teve uma redução de 72% ($p<0,001$), na perda total de CCE. Na análise das alterações agudas na área estriar e na expressão GPX1, os ratos tratados com veículo obtiveram uma diminuição de 8,8% ($p=0,052$) e os que foram tratados com ebselen um aumento de 9,1% da intensidade

ponderada da área GPX1 (p,0,05) em relação ao grupo controle, que não foi exposto ao ruído.

Mesma análise foi realizada para alterações agudas no ligamento espiral; ratos tratados com veículo tiveram uma diminuição de 6,5% e ratos tratados com ebselen um aumento de 9,3% da intensidade ponderada da área GPX1 (p,0,05) em relação ao grupo controle, que não foi exposto ao ruído.

Lynch et al (2004) (70)	Ebselen - intraperitoneal (16 ml/kg) ou gavagem - doses duas vezes ao dia, um dia antes e um dia após, uma dose única uma hora antes e uma hora após a exposição ao ruído. No grupo que foi exposto duas vezes ao ruído, com três semanas de diferença, a dosagem foi repetida.	4 grupos: Grupo controle: 10 animais/ DMSO + ruído; Grupo Ebselen IP: 4 animais/ Ebselen intraperitoneal (16mg/kg) + ruído; Grupo Ebselen G: 4 animais/ Ebselen gavagem (4mg/kg) + ruído; Grupo Ebselen Repeated: 2 animais/ Ebselen intraperitoneal (16mg/kg) + ruído.	4 h/113 dB para os animais que receberam 4 mg/kl por gavagem e 115 dB para os animais que receberam 16 mg/kl via intraperitone al- única exposição/ Faixa de 4 a 16 kHz. 4 h/ 110 dB/ 4 a 16 kHz. Exposição no D0 e após três semanas da primeira exposição.	PEATE nos estímulos clique, 4,8,12 e 16 kHz - dias 1 e 1°,2° e 3° semana após a exposição. Nos animais que foram expostos duas vezes ao ruído, uma nova avaliação foi realizada três semanas após a última exposição ao ruído.	A dosagem de 16 mg/kl proporcionou redução significativa na mudança permanente do limiar (p<0,05 na 3 semana após a exposição ao ruído). A análise morfológica da cóclea mostrou redução na perda de CCE em animais tratados com ebselen (dosagem de 16 mg/kl) em relação ao grupo controle. O padrão de perda de CCE de animais tratados com ebselen mostraram uma redução no comprimento da membrana basilar e com a perda completa de todas as três fileiras de CCE. A dosagem de 4 mg/kl de ebselen mostrou proteção contra TPS 3 semanas após a exposição ao ruído. As mudanças nos limiares de 4,12 e 16 kHz foram significativamente (p<0,05) melhores em ratos tratados com ebselen do que o controle. A análise do citococleograma indicou uma perda média de 128 ± 43 CCE em ratos tratados com Ebselen, versus uma perda de 339 ±104 CCE em animais do grupo controle. Nos animais que receberam duas exposições ao ruído de 110 dB, após 3 semanas da segunda exposição, foi observado um grau significativo de proteção para as frequências de 8 (p<0,01) e 16 kHz (p<0,05). Para as frequências de 4 e 12 kHz a diferença não foi estatisticamente significativa (p=0,16 a 4 kHz e p=0,12 a 12 kHz). A análise do citococleograma indicou uma perda média de 73 ±10 CCE em ratos tratados com ebselen versus 253 ± 58 CCE do grupo controle.
Pourbakht, A; Yamasoba, T; (2003) (75)	Ebselen - uma hora antes e 18 h após exposição ao ruído	4 grupos: Grupo I: 6 animais/ 0,25 mls de solução de clorofórmio a 99% + ao ruído; Grupo II: 5 / Ebselen (10 mg/kg) + ruído; grupo III: 5 animais/ Ebselen (30 mg/kg) + ruído; Grupo IV: 3 animais Ebselen (30 mg/kg) + não ruído.	5 h/125 dB SPL/ 4 kHz (banda de oitava)	PEATE na orelha esquerda nas frequências de 2,4,8 e 16 kHz, - previamente (-2) e 14 dias após à exposição. Avaliação histológica (citococleogram a) - 15 dias após a exposição ao ruído e os animais do grupo controle de drogas, 15 dias após receber o Ebselen 30 mg/kl.	Os animais que receberam apenas o veículo (grupo I) apresentaram mudanças significativamente maiores no limiar PEATE em todas as frequências (p<0,01), na comparação com os grupos que receberam ebselen (II e III). Entre os grupos que receberam ebselen (II e III), o grupo III (30 mg/kl) apresentou desvios maiores em todas as frequências, estatisticamente significantes nas frequências de 4, 8 e 16 kHz (p<0,01). Na comparação entre o grupo I e II e I e III houve diferença estatisticamente significativa para a extensão da perda de CCE (p<0,01). Nos grupos ebselen (II e III) os citococleogramas mostram redução na perda de CCE e largura da lesão e não houve diferença estatisticamente significante entre estes dois grupos.

Yamasoba et al (2005) (60)	Ebselen – via oral - uma hora antes da exposição.	2 grupos: grupo veículo: 14 animais/ veículo + ruído; Grupo Ebselen: , 10 animais/ Ebselen (10 mg/kl) + ruído.	3 h/115 dB SPL/ 4 kHz (banda de oitava)	PEATE nas frequências de 2,4,8 e 16 kHz - previamente, imediatamente, 1,3,7 e 14 dias após à exposição,	No grupo veículo os limiares aumentaram logo após a exposição e mostraram recuperação gradual, retornando aos limiares basais pré-exposição, após 7 dias. Os animais que receberam ebselen não mostraram mudança no PEATE após a exposição.
				Avaliação histológica (microscópio eletrônico de transmissão-TEM) imediatamente e 7 dias após a exposição ao ruído.	A área média dos dentritos inchados nos animais tratados com enselen foi significativamente menor ($p<0,01$) do que nos animais tratados com veículo, logo após a exposição ao ruído.
Gao et al (2015) (59)	Edaravona	5 grupos: grupo A : 6 animais/ não edaravone + ruído; grupo B: 18 animais/ Edaravone (injeção intravenosa) + ruído; Grupo C: 18 animais Edaravone (injeção intratimpânica) + ruído; Grupo D 18 animais/ Edaravone (SLNs por injeção intravenosa) + ruído; Grupo E: 18 animais Edaravone (SLNs por injeção intratimpânica) + ruído.	2 h/110 dB/ 2 dias/ ruído estacionário coletado de uma embarcação naval (faixa de 0,25-4 kHz, pico em 500 e 1000 Hz.	PEATE nas frequências de 2,4 e 8 kHz- 1 dia antes e 1, 4 e 6 dias após a exposição ao ruído e administração do medicamento.	A PAIR medida 6 dias após a exposição ao ruído foi substancialmente reduzidas pelo tratamento SLNs de edaravone administrados por injeção intratimpânica. Entre os grupos A e C (sem medicação e com edaravone intratimpânico) não houve diferença estatisticamente significativa ($p<0,146$). Entre os grupos A e B e os grupos D e E houve diferenças estatisticamente significantes ($p<0,01$). Houve diferença na comparação do grupo E (edaravone SLNs intratimpânica) com todos os outros grupos ($p<0,01$). Não houve diferença na análise da porcentagem de perda de CCE entre os grupos.
Tanaka et al (2005) (62)	Edaravona - via bomba osmótica.	5 grupos: Grupo -9h : 7 animais/ Edaravone (iniciada 9 horas antes da exposição) + ruído; Grupo + 9h: 8 animais/ Edaravone (iniciada 9 horas após a exposição) + ruído; Grupo +21 h: 7 animais/ Edaravone (iniciada 21 horas após a exposição) + ruído; Grupo +33 h: 4 Edaravone (iniciada 33 horas após a exposição) + ruído;	3 h/130 dB/ ruído centrado em 4 kHz.	PEATE nas frequências de 2,4 e 8 kHz - 3 dias após a implantação da bomba osmótica e 7 dias após a exposição ao ruído.	Os limiares de resposta do PEATE aumentaram em todos os animais 7 dias após a exposição ao ruído, no entanto a mudança foi menor nas orelhas tratadas com edaravone (grupos -9h, +9h, +21h). Na comparação com o grupo controle, a menor mudança no limiar foi no grupo +9h ($p<0,01$ nas frequências de 2, 4 e 8 kHz). No grupo +33h não houve diferença com o grupo controle, mas com o grupo +9 h ($p<0,05$ nas frequências de 2 e 8 kHz). A menor porcentagem de células ciliadas perdidas foi no grupo +9h ($p<0,05$ na comparação com o grupo controle e com o grupo +33h). No grupo +33h não houve diferença com o grupo controle.
				Histologia– uma semana após a exposição ao ruído.	

Takemoto et al (2004) (61)	Edaravona - via bomba osmótica.	6 animais – orelha direita implantada bomba osmótica via do Edaravone e orelha esquerda mantida intacta como controle.	3 h/130 dB/ ruído centrado em 4 kHz.	PEATE nas frequências de 2,4 e 8 kHz - 3 dias após a implantação da bomba osmótica e 2 semanas após a exposição ao ruído. Histologia– duas semanas após a exposição ao ruído.	As mudanças no limiar na frequência de 8 kHz nas orelhas tratadas foram significativamente menores do que nas orelhas controle (p<0,05). O número de células ciliadas externas ausentes/defeituosas após a exposição ao ruído foi menor nas orelhas tratadas com edaravone.
Chen, et al. (2014) (52)	A solução salina saturado de hidrogênio (1 ml/100 g) - via intraperitoneal - 3 dias (uma vez ao dia) e 1 hora antes da exposição ao ruído.	3 grupos: Grupo 1: 20 animais/ Solução salina saturado de hidrogênio (1 ml/100 g) + ruído; Grupo 2: 20 animais/ Solução salina normal (0,9%) + ruído; Grupo 3: 15 animais/controle (não tratamento de ruído).	1 h/ 130 dB/ ruído de banda estreita centrado 2,5-3,5 kHz	PEATE clique - antes da exposição, imediatamente, 1, 3, 7 e 14 dias após exposição ao ruído. As EOAPD foram medidas nas frequências de 500, 750, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 6000 e 8000 Hz. 7 e 14 dia após exposição, os animais foram sacrificados para exames histológicos e microscopia de varredura.	O grupo hidrogênio teve menos mudança no limiar PEATE em comparação ao grupo salina normal, 3, 7 e 14 dias após a exposição. Na análise das EOAPD 14 dias após a exposição ao ruído as amplitudes do grupo de solução salina saturada de hidrogênio foram significativamente melhores que o grupo de solução salina normal, especialmente nas frequências de 0,5, 0,75, 1, 2, 3 e 4kHz (p<0,01/p<0,05). A microscopia eletrônica de varredura mostrou que a morfologia das células ciliadas foi minimamente danificada nos animais tratados com solução salina saturada de hidrogênio. Os níveis de LPO e MDA 7 dias após exposição ao ruído, do grupo solução salina normal foram significativamente maiores do que o grupo de solução salina saturada de hidrogênio (p<0,01). Não foi observada diferença significativa nos níveis de OH entre os dois grupos expostos ao ruído no 7 dia após a exposição ao ruído. Na comparação com o grupo não exposto, houve diferença significativa (p<0,01).
Lin, et al. (2011) (63)	A água supersaturada com hidrogênio - via oral - acesso ilimitado a partir de 14 dias antes da exposição.	2 grupos: Grupo 1: 17 animais/ água hidrogenada + ruído; Grupo 2: 17 animais/ água normal + ruído.	3 h/ 115 dB/ ruído de banda estreita centrado 4 kHz	PEATE nas frequências de 2, 4, 8 e 16 kHz - antes da exposição, imediatamente, 1, 3, 7 e 14 dias após exposição ao ruído. As EOAPD foram medidas nas frequências de 1 a 16 kHz.	No 14 dia após a exposição ao ruído, foi observada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos apenas na frequência de 4 kHz (p<0,05). Na análise das EOAPD na frequência de 16 kHz, houve diminuição acentuada na amplitude das EOAPD imediatamente após a exposição, porém ambos os grupos exibiram função quase normal 14 dias após a exposição ao ruído.
Zhou, et al. (2012) (68)	Solução salina rica em hidrogênio - via intraperitoneal - intervalos de 12 horas, por 6 dias, iniciando 24 horas após a exposição ao ruído.	4 Grupos: grupo HS+NOISE: 10 animais/ Solução salina rica em hidrogênio + ruído ; Grupo NS+NOISE: 10 animais/ solução salina normal + ruído; Grupo NOISE ALONE: 10 animais / não tratamento + ruído; Grupo NO TREATMENT: 10 animais/ não tratamento e não ruído.	4 h/ 115 dB/ ruído de banda estreita centrado 4 kHz	PEATE no estímulo clique e nas frequências de 2, 4, 8 e 16 kHz - antes do tratamento e reavaliada 1 e 7 dias após exposição ao ruído. As EOAPD foram medidas nas frequências de 553, 783, 1105, 1560, 2211, 3125, 4416, 6250 e 8837 Hz. Após a realização do exame, os animais foram	Na avaliação realizada no 7 dia, o grupo que recebeu solução rica em hidrogênio (hs+noise) apresentou uma redução significativa dos limiares do PEATE, na comparação com os outros dois grupos expostos ao ruído (p<0,01); na comparação com o grupo sem tratamento, também foi identificada uma diferença significativa nos valores médios (p<0,01). Na avaliação das EOAPD, foi observada diferença estatisticamente significativa na comparação entre o grupo HS+NOISE e os grupos NS+NOISE e NOISE ALONE (P<0,01) em todas as frequências, exceto 553 e 783 Hz. Na análise do número de células ciliadas ausentes, o número de células ciliadas ausentes foi significativamente maior nos grupos

				sacrificados para exame histológico.	NS+NOISE e NOISEALONE do que nos grupos HS+NOISE e NO TREATMENT (p<0,01).
Diao et al. (2007) (71)	L-NAME (10 mg/kl) - via intraperitoneal - dois dias anteriores e 30 minutos antes da exposição ao ruído.	4 Grupos: Grupo 1: 20 animais/ solução salina e não ruído; Grupo 2: 10 animais/ L-NAME (10 mg/kl) e não ruído; Grupo 3: 20 animais/ Solução salina + ruído; Grupo 4: 20 animais/ L-NAME (10 mg/kl) + ruído;	5 h/ 115 dB/ ruído banda de oitava 4 kHz	PEATE estímulo clique e nas frequências de 2, 4, 6 e 8 kHz - 2 dias antes e 10 dias após exposição ao ruído ou simulação. Imediatamente após a segunda medição do PEATE, os animais de grupos I, III e IV foram sacrificados para exame histológico. Para análise do NO (NITRIC OXIDE) os animais foram eutanasiados 3 dias após a exposição ao ruído.	Dez dias após a exposição ao ruído, a média mudança de limiar no grupo III foi de 40 dB no clique e 35-50 dB para frequências de 2, 4, 6 e 8 kHz e o grupo IV, que recebeu L-NAME, foi de 25- 30 dB para todas as frequências e clique. O grupo III apresentou maior mudanças de limiar no clique e em todas as frequências (p<0,05) na comparação com o grupo IV. O nível de NO no grupo I foi 48,4 ± 24.1 mmol/gprot. O nível médio de NO 3 dias após exposição ao ruído nos grupos III e IV foi 120 ± 35 mmol/gprot e 75,7±15.3 mmol/gprot, respectivamente (diferença estatisticamente significativa para os animais do grupo III, em relação grupos I e IV (p<0,001)). Na análise da porcentagem média de perda de CCE, foi observada diferença estatisticamente significativa na comparação entre os grupos III (perda entre 10 a 20%) e IV (5 a 10%) (p<0,05).
Nagashima et al. (2010) (58)	Tempol (nas doses de 0,3, 3 e 30 mg/kg) e o e L-NAME (nas doses de 0,01, 0,1 e 1 mg/kg) - via intraperitoneal - 30 minutos antes da exposição ao ruído.	8 grupos divididos de acordo com a droga e dosagem utilizada + ruído : doses de 0, 0,3, 3,0 e 30 mg/kl de Tempol e doses de 0, 0,01, 0,1 e 1 mg/kl de L-NAME.	1 h/ 110 dB/ ruído banda de oitava 8 kHz	PEATE nas frequências de 4, 12 e 20 kHz - imediatamente, 1, 2, 5 e 7 dias após a exposição ao ruído. Análise de p-SEK-1, p-JNK e pc-Jun e p-ATF-2 - 2 horas após a exposição ao ruído. Análise da Conexina26 - 4 horas após a exposição ao ruído.	Na análise do PEATE, na comparação com o grupo controle (dose 0), foi observado que os animais que receberam doses maiores de Tempol (3 mg/kl ou mais) apresentaram diferença estatisticamente significativa na frequência de 4 kHz nas avaliações feitas no D5 (p<0,05) e D7 (p<0,01) e os animais que receberam a dosagem menor apresentaram diferença na comparação com o grupo controle apenas no D5. (p<0,05). Na frequência de 12 kHz apenas os animais que receberam dosagem de 3 ou 30 mg/kg apresentaram diferença estatisticamente significativa em todas as avaliações (p<0,05 e p<0,01 no 5 e 7 dia). Na frequência de 20 kHz foi observado que a dosagem menor produziu mudança estatisticamente significativa (p<0,05) nos dias 5 e 7 após o ruído. Na análise do PEATE, na comparação com o grupo controle, foi observado que os animais que receberam doses maiores de L-NAME (0,1 mg/kl ou mais) apresentaram diferença estatisticamente significativa nas frequência de 4 kHz nas avaliações do 5 e 7 dias (p<0,01); na frequência de 12 kHz os grupos com dosagens maiores apresentaram diferença estatisticamente significativa (p<0,05 e p<0,01 no 5 e 7 dia, e na frequência de 20 kHz foi observado que as dosagens maiores demonstraram diferença estatisticamente significativa em todas as avaliações (p<0,01). O Tempol (30 mg/kl) produziu uma redução significativa no aumento do número de células positivas na comparação com o grupo exposto ao ruído para p-SEK-1 (p<0,05), p-JNK (p<0,01) e pc-Jun (p<0,01). Na mesma comparação, o L-NAME (1,0 mg/kl) produziu uma redução significativa no aumento do número de células

					positivas para p-SEK-1(p<0,01), p-JNK (p<0,05) e pc-Jun (p<0,01). O aumento no número de p-ATF-2 na parede lateral de animais expostos ao ruído foi pelo menos em parte, abolido pelo tempol ou L-NAME (não houve diferença estatisticamente significativa). Foi analisado o efeito do Tempol (30 mg/kl) e L-NAME (1,0 mg/kl) na diminuição induzida por ruído no nível de conexina26 na parede lateral. Na comparação com o grupo exposto ao ruído, os grupos que utilizaram o tempol e L-NAME apresentaram diferença estatisticamente significativa (p<0,05 e p<0,01 respectivamente).
Ohinata et al (2003) (72)	L-NAME / NAC – via intraperitoneal - 30 minutos antes da exposição ao ruído via intraperitoneal.	3 grupos: Grupo controle: 16 animais/ Solução salina + ruído; Grupo L-NAME: 7 animais/ L-NAME (1 mg/kg) + não ruído; Grupo NAC: 7 animais/ NAC (500 mg/kg) + ruído.	5 h/115 dB/ ruído banda de oitava de 4 kHz	PEATE nas frequências de 2, 4, 8, 16 e 20 kHz - 2 dias antes e 10 dias após a exposição ao ruído. Análise histológica: após o último PEATE	O pré-tratamento com NAC reduziu significativamente a mudança no limiar induzido pelo ruído em todas as frequências (p<0,05 na comparação com o grupo controle exposto). O L-NAME foi ineficaz, na comparação com o grupo controle, apresentou redução da mudança do limiar apenas na frequência de 2 kHz (p<0,05), e aumento na mudança do limiar na frequência de 20 kHz (p<0,05). Os animais tratados com NAC tiveram atenuadas as perdas de CCE e CCI na comparação com o grupo controle (p<0,05) (não houve diferença significativa nos animais que utilizaram L-NAME). Os níveis de 8-isoprostano foram atenuados pelo tratamento medicamentoso de NAC no órgão de Corti, núcleo modiolar e parede lateral. O tratamento com L-NAME também reduziu os níveis de 8-isoprostano no núcleo modiolar e parede lateral, mas não no órgão de corti.
Ada et al. (2017) (78)	L-NAC (L-N-acetyl-cysteine) - via gavagem - 7 dias (10 minutos depois das 7ªdose diária, eles foram expostos ao ruído)	3 grupos: Grupo 1 (controle): 6 animais/ não drogas e não ruído; Grupo 2 (AT): 6 animais/ não drogas + ruído; Grupo 3 (NAC): 6 animais/ NAC (100 mg/kg) + ruído.	6 h/110 dB/ ruído branco de banda de 1 - 12 kHz	Microscopia eletrônica – os animais foram eutanasiados 30 minutos após o término da exposição ao ruído	A análise por microscopia de luz demonstrou que o grupo 1 (controle) não apresentou dano coclear (grupo não exposto); o grupo AT apresentou dano coclear evidente: ausência de estereocílios das CCI em algumas regiões; estereocílios das CCE severamente danificados com grande número ausente, principalmente nos giros basais da cóclea. O grupo 3 (NAC), também apresentou dano coclear, menor que no grupo 2, com menos células ausentes em CCI e CCE. Análise por microscopia de varredura demonstraram estruturas normais, CCE e CCI e célula de Hensen. O grupo TA apresentou danos epiteliais e perda de estereocílios. No grupo NAC houve perda de estereocílios, mas foi observado na comparação com o grupo TA que a estrutura celular estava quase normal e o alinhamento era vertical e simétrico das estruturas de estereocílios.
Bielefeld et al (2005) (76)	L-NAC – injeção intraperitoneal – uma hora antes de cada um dos quatro dias de exposição ao ruído.	2 grupos: Grupo controle: 5 animais/ Solução salina + ruído; Grupo NAC: 6 animais/ (325 mg/kg) + ruído.	6 h/4 dias/ 100 dB/ ruído banda de oitava centrado em 4 kHz	Citococleogram a – 21 dias após a exposição ao ruído.	As perdas médias de OHC para o grupo controle foram de 29 a 41% na faixa de 2 a 8 kHz. O grupo L-NAC teve perda média de CCE inferior a 10% na mesma região (diferença estatisticamente significante p<0,001).

Bielefe et al (2007) (77)	NAC – via gavagem - duas vezes ao dia, dois dias antes da exposição, uma vez 1 hora antes da exposição, uma vez uma hora após a exposição e duas vezes ao dia durante dois dias, após a exposição ao ruído.	2 grupos: Grupo controle: 6 animais/ Solução salina + ruído; Grupo NAC: 6 animais/ NAC (325 mg/kg) + ruído.	6 h/105 dB/ ruído banda de oitava contínua centrado em 4 kHz	PEATE nas frequências de 2, 4, 6 e 8 kHz - antes do ruído e 15 minutos, 1 semana e 3 semanas após a exposição ao ruído.	O tratamento com NAC reduziu significativamente a mudança no limiar induzido pelo ruído em todas as frequências ($p < 0,01$ na comparação com o grupo controle exposto) nas frequências de 2,4,6 e 8 kHz.
Fetoni et al. (2009) (51)	NAC (500 mg/kg/dia) - via intraperitoneal - imediatamente após a exposição e a cada 24 horas nos dois dias seguintes.	2 grupos: Grupo controle: 8 animais/ Solução salina + ruído; Grupo NAC: 10 animais/ NAC (500 mg/kg) + ruído.	30 m/ 120 dB/ tom puro contínuo de 6 kHz	Microscopia eletrônica – os animais foram eutanasiados uma semana após a exposição ao ruído	No grupo controle foi identificada uma perda maciça de células ciliadas na área localizada a 14-16 mm do ápice, a área correspondente à codificação de células ciliadas para 8-14 kHz. O grupo que recebeu tratamento com NAC mostrou apenas uma perda moderada de CCE nas mesmas regiões e estereocílios normais. Na contagem de células no giro basal foram encontradas $43,4 \pm 3,1\%$ de células dos animais do grupo controle, enquanto $80,9 \pm 6,8\%$ no grupo NAC. Na volta média, $68,6 \pm 5,3\%$ (primeira porção) e $92,9 \pm 4,6\%$ (segunda porção) de CCE foram contadas em animais controle, enquanto, respectivamente, $85,8 \pm 4\%$ e $94,2 \pm 2,6\%$ foram contados em animais do grupo NAC. E no giro apical foram encontradas $96,5 \pm 3\%$ nos animais do grupo controle e $98,9 \pm 1\%$ nos animais do grupo NAC.
Lorito et al. (2006) (66)	NAC - via intraperitoneal - 1 hora antes da exposição, após 5, 24, 32, 48, 56 e 168 horas após a exposição ao ruído.	5 grupos: Grupo A: 4 animais/ NAC (1200 mg/kg) + ruído; Grupo B: 4 animais/ NAC (1500 mg/kg) + ruído; Grupo C: 4 animais/ NAC (1800 mg/kg) + ruído; Grupo D: 2 animais/ NAC (2100 mg/kg) + ruído; Grupo E: 4 animais que serviram de grupo controle.	4 h/ 105 dB/ ruído banda de oitava 8 kHz	PEATE nas frequências de 8, 10, 12 e 16 kHz; EOAT (relação s/r e reprodutibilidade) medidas nas frequências de 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0 kHz e EOAPD (amplitude) medida nas frequências de 4 a 16 kHz em três protocolos de intensidade distintos. As avaliações ocorreram 1 hora antes do ruído, 1 hora após e 168 horas (7 dias) após a exposição ao ruído.	Na análise das EOAT, 168 horas após o ruído, apenas o grupo B, (1500 mg/kg de L-NAC) diferiu estatisticamente do grupo E (controle); os demais grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa. Na análise das EOAPD, 168 horas após o ruído, no protocolo P1 de menor intensidade, nenhum grupo apresentou proteção significativa. Nos protocolos de maior intensidade, P2 e P3, apenas o grupo B (1500 mg/kg de L-NAC) apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais grupos. Os dados do PEATE demonstraram que o grupo B (1500 mg/kg de L-NAC) apresentou mudança do limiar em 8 kHz de 20 dB, em 10 kHz de 15 dB, em 12 kHz de 12dB e em 16 kHz de 8 dB. O estudo não apresenta os resultados do PEATE dos outros grupos.
Lorito et al. (2008) (67)	NAC - via intraperitoneal.	4 grupos: Grupo A: 12 animais/ 4 NAC durante 2 dias, injetadas a cada 12 horas	4 h/105 dB/ ruído banda de oitava em 8 kHz	PEATE nas frequências de 8 e 16 kHz; EOAPD medidas nas frequências	No protocolo 60/50, o grupo A apresentou mudança estatisticamente significativa em todas as frequências, exceto em 9 kHz ($p < 0,05$); o grupo B apresentou mudança estatisticamente

		começando uma hora antes da exposição + ruído; Grupo B: 12 animais / NAC imediatamente antes da exposição + ruído; Grupo C: 12 animais/ NAC 24 horas após a exposição + ruído; Grupo D (controle): 12 animais/ Solução salina + ruído.		de 4, 4,5, 5, 5,6, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14 e 16 kHz em três protocolos de intensidade distintos (L1=60 e L2=50 dB NPS; L1=50 e L2=40 dB NPS; L1=40 e L2=30 dB NPS; As avaliações ocorreram antes do ruído e 168 horas (7 dias) após a exposição ao ruído.	significante nas frequências de 4 a 9 kHz (p<0,05); no grupo C não houve mudança estatisticamente significante e no grupo D a mudança estatisticamente significante ocorreu nas frequências de 5,6, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 16 kHz (p<0,05). No protocolo 50/40, o grupo A apresentou mudança estatisticamente significante em todas as frequências, exceto em 4 e 9 kHz(p<0,05).; o grupo B apresentou mudança estatisticamente significante nas frequências de 4 a 9 kHz (p<0,05).; no grupo C não houve mudança estatisticamente significante e no grupo D a mudança estatisticamente significante ocorreu nas frequências de 4,5, 6, 8, 10, 11 e 16 kHz (p<0,05). E no protocolo com menor intensidade, 40/30, o grupo A apresentou mudança estatisticamente significante em todas as frequências, exceto em 4 kHz(p<0,05).; o grupo B apresentou mudança estatisticamente significante nas frequências de 5, 5,6, 6, 7, 8 e 14 kHz (p<0,05).; no grupo C não houve mudança estatisticamente significante e no grupo D a mudança estatisticamente significante ocorreu nas frequências de 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14 e 16 kHz (p<0,05).
Rhee, Chang (2021) (73)	NAC (100 mg/kg) - via intraperitoneal - 12 dias, com início 1 dia após a exposição ao ruído.	2 Grupos: Grupo noise com 6 animais que foram expostas ao ruído; Grupo NAC com 6 animais que receberam NAC + ruído.	5 h/ 116 dB/ Banda estreita com largura de banda de 1/3 de oitava centrado em 16 kHz	PEATE nas frequências de 8, 16 e 32 kHz - antes da exposição, imediatamente após, 6 e 12 dias após exposição ao ruído. Análise histológica- após a realização do último PEATE.	Não foi observada proteção estatisticamente significante em termos funcionais e histológicos com a utilização do NAC.
Wu et al (2020) (84)	NAC - via intraperitoneal - 24 horas antes, 2 horas antes imediatamente após e 24 horas após a exposição ao ruído).	4 grupos: Grupo I (controle): 4 animais Solução salina + não ruído; grupo II (NAC) 3 animais receberam NAC (325 mg/kg) + não ruído; Grupo III (ruído) com 4 animais/ Solução salina + ruído; grupo VI (NAC/ruído): 4 animais/ NAC (325 mg/kg + ruído;	2 h/100 dB/ ruído banda de oitava de 8 a 16 kHz	PEATE nas frequências de 8, 16 e 32 kHz 2 horas antes e 2 horas após a exposição ao ruído, uma vez por semana nas 3 semanas subsequentes.	O tratamento com NAC, na avaliação de 4-HNE em CCE reduziu significativamente o acúmulo de ROS induzido por ruído em CCEs (p<0,05) e atenuou significativamente a ativação de AMPK α desencadeada por exposição ao ruído (p< 0,001).
Fetoni, et al (2009) (53)	Qter (100 mg/kg) - via intraperitoneal - 1 hora antes da exposição ao ruído e uma vez ao dia durante 3 dias.	4 grupos: Grupo não exposto: 3 animais não ruído + não tratamento; Grupo controle ruído: 14 animais/ ruído + não tratamento; Grupo expostos ao ruído/veículo: 10 animais/ solução salina + ruído; Grupo	1 h/120 dB/ Tom contínuo de 6 kHz.	PEATE nas frequências de 2, 4, 6, 8, 12, 16 e 20 kHz - antes, 1h, 2,7 e 21 dias após a exposição ao ruído. Microscopia eletrônica de varredura (SEM) os animais foram eutanasiados	Os animais do grupo controle expostos ao ruído tiveram uma diminuição mais pronunciada do limiar médio no 7 dia após o trauma envolvendo todas as frequências com maior atenuação na faixa de frequência baixa e alta. No dia 21 houve uma pequena diferença em relação ao dia 7, para as frequências médias e altas. No grupo exposto ao ruído tratado com Qter, as mudanças diminuíram no dia 7 e os valores foram ainda mais atenuados no dia 21.

		exposto Qter: 14 animais/ Qter (100 mg/kg)+ ruído.		após o último PEATE (21 dia). Imunocoloração de caspase 3 – os animais foram eutanasiados 24 horas após a exposição ao ruído. Ensaio TUNEL – os animais foram eutanasiados no dia 2.	A porcentagem de células ativas de caspase 3 na área correspondente ao dano maior foi de 62,0±4,5% nas cócleas expostas ao ruído, e esse valor foi fortemente reduzido nas cócleas tratadas com Qter (2,0 ± 1,0%). Para o ensaio túnel nenhum núcleo positivo foi identificado no grupo não exposto ao ruído. A porcentagem de núcleos TUNEL positivos marcados foi de 87,7% ±9,3% nas cócleas dos animais expostos ao ruído e 3,2 ± 4,4% nos animais também expostos, mas tratados com Qter. Foi observada diferença significativa na perda das células ciliadas externas entre o grupo tratado e o grupo controle exposto ao ruído (F(2,15)=207.18;P=0.000).
Fetoni et al (2012) (54)	Qter– via intraperitonia/ intratimpânica - 1 hora antes da exposição ao ruído.	5 grupos: Grupo 1 (controle ruído): 15 animais/ não tratamento + ruído; grupo II (ruído +Qter): 15 animais: Qter (100 mg/kg) via intraperitoneal + ruído; Grupo III (ruído + Qter transtimpânica): 4 animais/ 20 ml de Qter na orelha direita e solução de ringer lactato na orelha esquerda + ruído; Grupo IV (ruído + Qter transtimpânica): 15 animais/ 40 ml de Qter na orelha direita e solução de ringer lactato na orelha esquerda + ruído; Grupo controle de solução salina (1 ml): 3 animais/ solução salina + ruído; Grupo controle IP: 3 animais/ Qter intraperitoneal (100 ml/kg) + não ruído; Grupo controle TT: 3 animais/ perfundidos via transtimpânica com veículo solução de Ringer com lactato e na orelha esquerda com solução salina + não ruído.	1 h/120 dB/ Tom contínuo de 10 kHz.	PEATE nas frequências de 6, 12, 16, 20, 24 e 32 kHz - antes, 1, 3, 7 e 21 dias após a exposição ao ruído. A coloração de dihidroetídio (DHE) foi realizada no 1, 3 e 7 dia após a exposição ao ruído. Ensaio TUNEL os animais foram eutanasiados no dia 3. Cocleograma e avaliação quantitativa da sobrevivência das CC – 9 animais foram eutanasiados após a realização do PEATE no D21.	Os animais do grupo 1 tiveram na medição do dia 21 uma mudança final no limiar de 15 a 20 dB para frequências baixas e 25-30 dB para frequências médias e altas. Os animais tratados via transtimpânica com solução Qter 20% (grupo III) apresentaram menor recuperação do desvio do limiar (dados não mostrados). Nos animais do grupo II e IV, tratados via intraperitoneal e transtimpânico, na concentração de 40%, a mudança do limiar atingiu cerca de 10 dB. Não houve mudança na avaliação realizada no dia 21. A análise estatística encontrou diferença significativas no PEATE entre o grupo I versus grupo II e IV (p<0,001), entre grupos e momentos (p<0,001) e entre medidas (p<0,001). Não houve diferença entre os grupos II e IV (tratados via intraperitoneal e transtimpânico), portanto a mudança do limiar induzida pelo ruído não foi diretamente relacionada à modalidade de tratamento medicamentoso. O tratamento com Qter reduziu significativamente a morte de CCE nos grupos II e IV (p<0,005 na comparação dos grupos com o grupo I- controle ruído). Foi observado que a intensidade de coloração de fluorescência DHE para a produção de superóxido foi maior no grupo I do que nos grupos II e IV. Não foram observadas diferenças relevantes entre os grupos II e IV. No ensaio TUNEL, no grupo I foram identificados núcleos marcados como TUNEL positivos dentro das CCE e células não sensoriais na região da cóclea correspondente ao giro basal médio. Nos animais tratados com Qter de forma sistêmica (grupo II), observou-se uma diminuição dos núcleos positivos na mesma região do grupo I. Não foram observadas diferenças relevantes entre os grupos II e IV na porção do giro médio-basal da cóclea.

<p>Fetoni et al (2013) (55)</p>	<p>Qter foi dissolvido em solução salina na dose de 100 mg/kg. via intraperitoneal solução Qter foi preparada e administrada aos animais do grupo NoiseQter iniciando 3 d antes da primeira sessão traumatizante e durante os 10 d de exposição ao ruído. A injeção foi aplicada 1 h antes das sessões de trauma acústico. Os animais do grupo CtrlQter receberam um tratamento medicamentoso semelhante por um total de 13 dias sem exposição ao ruído.</p>	<p>4 grupos: Grupo noise: 79 animais/ não tratamento + ruído; Grupo Noise/Qter: 69 animais/ Qter (100 mg/kg) + ruído; Grupo Ctrl: 40 animais/ solução salina + não ruído; Grupo CtrlQte: 53 animais/ Qter (100 mg/kg) + não ruído .</p>	<p>1 h/100 dB/ 10 dias/ Faixa de 10 kHz.</p>	<p>PEATE nas frequências de 6, 12, 16, 20, 24 e 32 kHz - 3 dias antes da exposição ao ruído(D -3); antes da primeira exposição ao ruído (D 0); antes das sessões de ruído subsequentes (D 1, 3, 7); e após o término das sessões de ruído (D11, 30 e 60). Coloração de diidroetídio (DHE) e imunocoloração de 4-hidroxi-2-nonenal (4HNE) nos dias 1 e 11. Western Blot nos grupos Controle e CtrlQter, no dia 1, CtrlQter no dia 11, grupo Noise nos dias 1,3,11 e 60 e no grupo NoiseQter nos dias 1 e 11. Coloração de rodamina-faloidina (Rh-Ph) e coloração de Nissi após o último PEATE (D60)</p>	<p>Nos animais expostos ao ruído que utilizaram o Qter, houve uma melhora de 60% dos valores dos limiares em comparação ao grupo que não utilizou Qter (noise), a partir do D11 (p<0,0001). A coloração DHE estava fraca na cóclea do grupo controle. A fluorescência foi intensa nas CC e SGNs nos animais do grupo noise. No grupo NoiseQter a fluorescência aumentou desde o dia 1 até o dia 11, e os efeitos do ruído foram neutralizados pela utilização do Qter (fraca fluorescência). A análise por Western blot demonstrou um nível aumentado da expressão de 4HNE nos dias 1,3 e 11 (p<0,001 na comparação D1 e D11). A expressão diminuiu significativamente no D60, atingindo o nível do D1 (p<0,001 na comparação D11 e D60). O tratamento com o Qter, no grupo exposto ao ruído impediu a expressão inicial no D1 e reduziu a imunorreatividade no final do tratamento (D11) (p<0,001 na comparação dos grupos noise x noiseQter no dia 1 e dia 11.</p> <p>Na avaliação quantitativa da sobrevida das CC, observou-se no grupo noise perda acentuada de CCE e leve desaparecimento das CCI. A perda de CCE foi mais pronunciada no giro médio (p<0,0001), menos evidente no giro basal (p<0,05), e ausente no apical.</p> <p>No grupo NoiseQter a perda de CC foi significativamente reduzida (p<0,05 apenas no giro médio na comparação com o grupo controle).</p> <p>Na avaliação do gânglio espiral, o grupo controle mostra o canal de Rosenthal repleto de SGNs e fascículos de fibras nervosas auditivas. No grupo noise, o SGN parece menor, com densidade reduzida e fibras mais finas na comparação com o controle (p<0,0001 na comparação com o controle no giro médio e p<0,05 no giro basal). O grupo que foi exposto ao ruído e recebeu Qter preservou SGNs e fibras (p<0,001 na comparação com o controle no giro médio e p<0,05 no giro basal).</p>
<p>Fetoni et al (2016) (56)</p>	<p>Qter (100 mg/kg) - via intraperitoneal - diariamente 1 hora antes da exposição, até o final do tratamento.</p>	<p>4 grupos: Grupo controle: 15 ratos/ não tratamento + ruído; Grupo exposição ao ruído : 15 ratos/ não tratamento + ruído; Grupo Ruído QTER: 15 ratos/ Qter (100 mg/kg) + ruído; Grupo controle + Qter: 15 ratos que receberam o Qter (100 mg/kg) + não ruído.</p>	<p>60 m/ 98 dB SPL/ tom puro contínuo em 10 kHz / 5 dias consecutivos por semana, durante 3 semanas.</p>	<p>EOAPD nas frequências de 6, 8, 12, 16, 20 e 24 kHz - previamente e 7, 14 e 21 dias após o início do tratamento. PEATE nas frequências de 6, 12, 16, 20, 24 e 32 kHz - previamente, 7, 14 e 21 dias após o início do tratamento. Coloração Rh-ph); Coloração de Nissl); Coloração de miosina 7A; avaliação do</p>	<p>Nos animais expostos ao ruído, as amplitudes das EOAPD diminuiram progressivamente do dia 7 ao dia 21, atingindo cerca de 15-20 dB (p<0,01 na comparação entre o exame prévio e D21). O grupo que foi exposto ao ruído e recebeu Qter apresentou uma atenuação na queda da amplitude das EOAPD (p<0,01 na comparação entre o exame prévio e D21). Entre os grupos que foram expostos ao ruído houve uma diferença estatisticamente significante na avaliação realizada no D21, nas frequências de 20 e 24 kHz , com melhora dos resultados no grupo que recebeu Qter(p<0,05). Nos animais do grupo exposto ao ruído, sem utilização de Qter, apresentaram limiares do PEATE elevados no D21 (cerca de 40 dB para</p>

estresse oxidativo (superóxido e peroxidação lipídica); medição das defesas antioxidantes endógenas (imunocoloração de SODs) e análise da intensidade do espectro de fluorescência.

as frequências entre 12-24 kHz) ($p < 0,001$ na comparação entre o D7 e o D21). Os animais do grupo exposto ao ruído, tratados com Qter, apresentaram uma piora do limiar ao longo do tempo, porém com o dano atenuado na comparação com o grupo que não foi tratado. No D21 houve uma mudança de limiar de cerca de 20 dB ($p < 0,001$ na comparação entre o D7 e o D21).

Na análise do D21, foi observado entre os grupos que foram expostos ao ruído uma diferença estatisticamente significativa nas frequências de 6,12,16 e 20 kHz com melhora dos resultados no grupo que recebeu Qter ($p < 0,0005$).

No grupo exposto ao ruído o dano morfológico envolveu principalmente as CCEs na fileira externa. Nos grupos expostos ao ruído tratados com Qter a perda de CCE foi significativamente reduzida; na volta média a perda de CCE foi de 15 %.

Na comparação com o grupo que não foi exposto ao ruído, e os grupos expostos ao ruído apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na perda das CCE no giro médio, sendo esta perda significativamente reduzida no grupo exposto ao ruído e tratado com Qter.

Após a exposição ao ruído, no grupo exposto, a densidade dos neurônios do gânglio espiral (GE) foi reduzida em cerca de 20% ($p < 0,05$). No grupo exposto ao ruído tratados com Qter, houve um aumento do número de SGN preservados. Na comparação com o grupo que não foi exposto ao ruído, não houve diferença significativa.

A exposição ao ruído não afetou a viabilidade das células de Deiters nos animais dos grupos expostos ao ruído com e sem o tratamento com Qter.

A exposição ao ruído aumentou a quantidade de superóxido, na comparação com o grupo controle, principalmente no SGNs, ($p < 0,0001$) e órgão de Corti ($p < 0,001$). Contudo, o grupo que foi exposto ao ruído mas com tratamento com Qter, obteve uma diminuição significativa da expressão de superóxido na comparação com o grupo exposto ao ruído.

As cócleas dos animais expostos ao ruído indicaram um dano peroxidativo lipídico, na comparação com o grupo controle, todas as estruturas cocleares (SGN, Corti e estria vascular) ($p < 0,001$), No grupo com administração do Qter também houve uma diferença na comparação com o grupo controle em todas as estruturas cocleares (SGN, Corti e estria vascular) ($p < 0,05$), porém com uma redução da peroxidação lipídica em todas as estruturas cocleares na comparação com o grupo exposto ao ruído.

No grupo exposto ao ruído, a peroxidação lipídica envolveu principalmente a camada de CCE e apenas ligeiramente a camada celular de Deiters. O tratamento com o Qter reduziu a quantidade de peroxidação

					lipídica, não atenuou a peroxidação lipídica na camada celular de Deiters. Qter aumentou as respostas antioxidantes endógenas cocleares nas CCE após o ruído.
Hanci et al (2016) (79)	Resveratrol (300 mg/kg/dia) - via gavagem - 7 dias.	3 grupos: Grupo 1 (controle): 6 ratos/ não tratamento + não ruído; Grupo 2 (TA): 6 ratos/ não tratamento + ruído; Grupo C (RS+TA): 4 animais/ Resveratrol (300 mg/kg) + ruído.	6 h/110 dB/ 1-12 kHz	Microscopia eletrônica – os animais foram eutanasiados 30 minutos após o término da exposição ao ruído	A análise por microscopia de luz demonstrou que o grupo controle apresentou uma estrutura coclear de aparência normal; o grupo AT com perda predominantemente de CCI, com prejuízo também das CCE; e o grupo RES+TA apresentou estrutura coclear preservada e com aparência quase normal em comparação ao grupo TA. A análise por microscopia eletrônica de transmissão revelou CCE e estrutura de estereocílios normais no grupo controle. Foi identificado perda severa de estereocílios no grupo TA. Embora a perda de estereocílios tenha sido detectada no grupo RES+TA, células ciliadas e estereocílios pareciam normais em comparação ao grupo TA. Análise por microscopia de varredura revelou CCE e CCI normais e estereocílios dispostos verticalmente no grupo controle. O grupo TA apresentou perda significativa de estereocílios e os remanescentes estavam dispostos de forma assimétrica. No grupo RES+TA as células ciliadas e a estrutura dos estereocílios pareciam estar quase normais em comparação com as do grupo TA.
Li et al (2019) (82)	Resveratrol (30 mg/kg/dia) via intraoeritonal por 4 dias	3 grupos: Grupo controle: 6 ratos/ solução salina + não ruído; Grupo ruído: 6 ratos/ solução salina + ruído; Grupo ruído /resveratrol: 6 ratos resveratrol (30 mg/kg) + ruído.	3,5 h/116 dB SPL/ 8 kHz (banda estreita)	PEATE estímulo clique - D -3, 2, 8, 15, 22 e 29. A exposição ao ruído ocorreu no D0.	Após a exposição, os limiares dos grupos expostos, com e sem tratamento medicamentoso, foram elevados para 70,6 ± 15,8 dB (p < 0.001 versus grupo controle) no dia 2 e recuperados para aproximadamente 51,3 ± 7,9 dB (p < 0.001 versus grupo controle) no dia 8 até o dia 29, última avaliação pelo PEATE. O limiar auditivo do grupo controle se manteve estável em 25 dB durante toda a pesquisa. Os resultados sugerem o potencial terapêutico do resveratrol na perda auditiva induzida pelo ruído.
Seidman et al (2003)(83)	Resveratrol (430 mg/kg/dia) via gavagem por 3 semanas.	2 grupos: Grupo tratamento resveratrol: 5 animais/ Resveratrol (430 mg/kg) + ruído; Grupo controle: 5 animais/ solução salina (0,9 de NaCl) + ruído	24 h/105 dB SPL/ 4500 a 9000 Hz	PEATE nas frequências de 3,6,9,12 e 18 kHz - linha de base, D0, D3, D7 e 4 semanas após a exposição ao ruído), Avaliação histológica (citococleogram a) – Após término do período de estudo de 7 semanas.	Diferenças estatisticamente significantes nos limiares auditivos foram observadas na comparação do resveratrol com o grupo controle nas frequências de 6 e 9 kHz nos tempos (D0, D3, D7 e após 4 semanas). Na frequência de 12 kHz foi observada mudança no limiar no D0 e D7. A perda média de CCE no grupo controle foi de 1,3% e 0,48% no grupo tratamento resveratrol. No grupo controle, o pico de perda de CCE foi de 5,2%, na faixa de 7 a 9 kHz. No grupo tratamento resveratrol o pico foi de 2,7%, correspondendo a 7 a 8 kHz. Não foi observada mudança nas células ciliadas internas.

Seidman et al (2013) (1)	Resveratrol (5 mg/kg) - via gavagem - 3 dias	3 grupos: grupo A (controle): 4 animais não tratamento + não ruído; grupo B (veículo): 4 animais / cloreto de sódio 0,9% + ruído; Grupo C (resveratrol): 4 animais/ resveratrol (5 mg/kg) + ruído	24 horas contínuas/ ruído de banda larga / 105 dB.	Análise de Western Blot – Proteína COX-2 (ciclooxygenase-2) após a exposição ao ruído.	O grupo resveratrol (C) demonstrou redução na intensidade da proteína COX-2 na comparação com o grupo veículo (B) (também exposto ao ruído). Este, que recebeu solução salina aumentou 13,6 vezes e o grupo resveratrol aumentou 7,3 vezes (p<0.05). O grupo controle teve pouca ou nenhuma expressão de COX-2.
Xiong et al. (2017) (57)	Resveratrol (4,0 g de resveratrol/kg) - alimento por 2 meses (dose aproximada de 300 mg/kg de peso corporal/dia)	3 grupos: Grupo Controle: 12 animais/ ração padrão + exposição simulada; Grupo ruído: 11 animais/ ração padrão + ruído; Grupo ruído+resveratrol: 13 animais/ ração padrão com resveratrol + ruído. *Um adicional de 8 camundongos fêmeas foram utilizadas para avaliar a atividade SIRT1 desacetilase	1 h / NPS 120 dB / Frequência centrada em 10 kHz.	PEATE nas frequências de 4,8,16 e 32 kHz - (antes do tratamento - linha de base; antes da exposição ao ruído, imediatamente após e 15 dias após a exposição ao ruído). Imuno-histoquímica Atividade SIRT1 desacetilase	Após 15 dias da exposição ao ruído houve maior recuperação do grupo ruído+resveratrol em comparação ao grupo ruído nas frequências de 4 kHz (p=0,023) e 16 kHz (p=0,038). Mudança do limiar em 8 kHz no grupo ruído+resveratrol mostraram tendência a diminuir em comparação ao grupo ruído, porém não atingiram diferença estatisticamente significativa e não houve diferença na frequência de 32 kHz. Não houve diferença na perda da CCI na comparação entre os grupos expostos ao ruído. A proteína SIRT1 foi fortemente detectada em núcleos das CCE e gânglio espiral (GE). O pré-tratamento com resveratrol atenuou as reduções induzidas por ruído nas CCE (P=0,016) e GE (p+0,045) Na análise do dano oxidativo os níveis de 4HNE, marcador de estresse oxidativo, a utilização da ração com resveratrol diminuiu os níveis de 4HNE nas CCE (P= 0,035) e GE (p=0,016).
Minami, et al. (2007) (74)	Tempol - administrado a 3 mm na água potável - 24 dias, começando em 14 dias antes da exposição ao ruído. O grupo controle recebeu dieta não suplementada, mas idêntica, e água potável.	2 Grupos: Grupo 1 (controle): 6 animais não tratados + ruído; Grupo 2: 6 animais/ Tempol + ruído.	5 h/ 120 dB/ ruído de banda de oitava 4 kHz	PEATE nas frequências de 4, 8 e 16 kHz - antes do tratamento e reavaliada 1 e 10 dias após exposição ao ruído. Após a realização do último PEATE, os animais foram sacrificados para exame histológico.	Na comparação entre o grupo não tratado e o grupo tratado com tempol, foi observada no 10 dia redução na mudança no limiar nas frequências de 8 e 16 kHz (p< 0,05). A perda média de CCE na região de 5 a 15 mm do ápice da cóclea, no grupo sem tratamento foi de 51% e o grupo que foi tratado com tempol de 30% (p<0,01).
Murashita, et al. (2006) (64)	Tempol (30, 20 ou 10 mg/kg) - via intraperitoneal - imediatamente antes da exposição ao ruído.	2 Grupos: Grupo tempol: 15 animais/ Tempol nas doses de 30 (n=5), 20 (n=5) e 10 (n=5) + ruído; Grupo 2 com 5 animais que receberam solução salina + ruído.	4 h/ 128 dB/ tom puro 4 kHz	PEATE nas frequências de 4, 6, 8 e 16 kHz - ¼ horas antes da exposição, imediatamente após, uma e duas semanas após exposição ao ruído. Duas semanas após a exposição ao ruído, os animais foram sacrificados para exame histológico.	Na comparação entre o grupo tratado com solução salina e os grupos tratados com tempol, foi observada diferença estatisticamente significativa na mudança dos limiares do PEATE (p< 0,05 no grupo tratado com 20 mg/kg e p< 0,01 no grupo tratado com 30 mg/kg. Nenhum efeito protetor tenha foi observado após administração de 10 mg/kg (p> 0,05). Duas semanas após a exposição, foi observado o efeito de 30 mg/kg de tempol na perda de células ciliadas (em torno da região de 3,66 mm do ápice); *p< 0,05 para a primeira e segunda fileiras de células ciliadas externas na comparação com o grupo que recebeu veículo.

