

## Artigos de revisão

# Modelos animais para avaliação auditiva: revisão de literatura

## *Animal models for hearing evaluations: a literature review*

Aléxia dos Reis<sup>(1)</sup>  
Suelen Pizzolatto Dalmolin<sup>(1)</sup>  
Eliane Dallegre<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Fonte de auxílio à pesquisa: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

Conflito de interesses: inexistente

Recebido em: 09/02/2017  
Aceito em: 31/05/2017

**Endereço para correspondência:**  
Eliane Dallegre  
Rua Sarmiento Leite, 245 - Porto Alegre  
Rio Grande do Sul, Brasil  
CEP: 90050-170  
E-mail: elianedal@ufcspa.edu.br

### RESUMO

O objetivo dessa revisão é delinear os modelos animais viáveis para a pesquisa pré-clínica auditiva, considerando suas características anatômicas, fisiológicas, vantagens e desvantagens. Foram consultadas as bases de dados Scielo, Pubmed e Periódicos Capes, utilizando descritores envolvendo audição, testes auditivos e espécies animais, individualmente e cruzados entre si. Foram lidos os resumos dos artigos encontrados nas bases de dados, com posterior seleção baseada nos critérios: artigos disponíveis em sua integridade, uso de modelos animais em procedimentos audiológicos que incluísse a descrição dos métodos de avaliação, as vantagens e/ou desvantagens do uso da espécie, publicados entre 1995 e 2016. Apesar da existência de modelos alternativos, os mamíferos são ainda amplamente utilizados em pesquisa. Constatou-se que os ratos, camundongos e cobaias são frequentemente utilizados e, além destes, ovelhas, coelhos e chinchilas. Os métodos para avaliação auditiva contemplam principalmente emissões otoacústicas por produto de distorção, potencial evocado auditivo de tronco encefálico e avaliação histológica, principalmente em roedores. A escolha do animal de experimentação para avaliação do sistema auditivo depende de fatores anatômicos, fisiológicos, econômicos, espaciais, psicossociais e do objetivo da avaliação.

**Descritores:** Modelos Animais; Audição; Fonoaudiologia

### ABSTRACT

This review aims to outline which animal models are viable for preclinical hearing research, considering their anatomical and physiological characteristics, and their advantages and disadvantages of use. PubMed, Scielo, and Portal Periódicos Capes were consulted, using descriptors concerning hearing, hearing tests and animal species, individually and crossed with each other. The abstracts of the articles found in the databases were read, with subsequent selection based on the following criteria: free articles, use of animal models in audiological procedures that included the description of the evaluation methods, the advantages and/or disadvantages of using the species, and published between 1995 and 2016. Despite the existence of alternative models, mammals are still widely used in research. It has been found that rats, mice and guinea pigs are frequently used, and, in addition to these, sheep, rabbits and chinchillas. The methods for auditory evaluation mainly comprise distortion product otoacoustic emissions, brainstem auditory evoked potential and histological evaluation, especially in rodents. Choosing the experimental animal to evaluate the auditory system depends on anatomical, physiological, economic, spatial and psychosocial factors, and on the evaluation's objective.

**Keywords:** Models, Animal; Hearing; Speech, Language and Hearing Sciences

## INTRODUÇÃO

No cenário atual, muitos ensaios científicos são realizados por métodos *in vitro*, dentro de um ambiente de laboratório controlado, ou *in silico*, mimetizando processos biológicos com o auxílio computacional. Ambos não utilizam animais, mas têm restrições, uma vez que determinadas pesquisas podem ser executadas somente *in vivo*.

A importância do uso de animais em pesquisas no avanço científico e no aprimoramento do conhecimento dos mecanismos fisiológicos de doenças é destacada em diversos estudos, frisando a importância da avaliação de técnicas *in vivo* que poderão ser aplicadas futuramente no ser humano<sup>1</sup>.

A fundamentação do uso de modelo animal perpassa por diversos aspectos até sua justificativa. Para que sejam utilizados seres vivos em pesquisa é essencial definir qual animal responderá melhor ao experimento, o que é possível por meio do conhecimento das características relativas à sua anatomofisiologia, dos testes adequados para a correta interpretação dos resultados e das vantagens e desvantagens do uso de cada uma das espécies.

Dessa forma, a presente revisão de literatura tem o objetivo de delinear os modelos animais viáveis para a pesquisa pré-clínica auditiva - ou seja, realizada em animais para prever possíveis efeitos em humanos - considerando suas características anatômicas, vantagens e desvantagens de uso.

## MÉTODOS

Foram consultadas as bases de dados Scielo, PubMed, e portal Periódicos Capes, utilizando descritores em língua inglesa envolvendo audição, testes auditivos e espécies animais, individualmente e cruzados entre si. Os descritores utilizados relacionados à audição foram *hearing, ear, auditory, hair cell, ear anatomy, anatomy hearing* e *hearing advantages*, enquanto os relacionados aos testes auditivos foram *distortion product, streams processing auditory cortex*. Quanto aos animais, os descritores utilizados para o

cruzamento dos termos foram: *animal, animal model, cat, dog, chinchilla, Rhesus, zebrafish* e *rabbits*.

Foram lidos os resumos dos artigos encontrados nas bases de dados, com posterior seleção baseada nos seguintes critérios de inclusão: uso de modelos animais em procedimentos audiológicos que incluísse a descrição dos métodos de avaliação, as vantagens e/ou desvantagens do uso da espécie e publicados entre os anos de 1995 e 2016.

Os critérios de exclusão foram: uso de modelos animais em procedimentos audiológicos sem a descrição do método de avaliação.

Outras fontes como os sites da Rede de Métodos Alternativos<sup>2</sup> (RENAMA) e do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal<sup>3</sup> (CONCEA) foram consultadas, com o objetivo de padronizar o conceito sobre a utilização consciente de animais e consulta de outras fontes, devidamente citadas, fora das bases de dados descritas.

## REVISÃO DA LITERATURA – RESULTADOS

Na Tabela 1 são apresentados os resultados das pesquisas conforme os descritores e bases de dados consultadas.

A busca por métodos alternativos para avaliação auditiva em modelos animais que sejam adequados para prever possíveis efeitos da exposição de agentes ototóxicos em humanos revela que dentre os métodos específicos, os produtos de distorção e o potencial evocado auditivo foram os mais utilizados (Tabela 2).

Em relação aos modelos animais na pesquisa audiológica, os roedores são os animais mais utilizados, muitas vezes na investigação dos mecanismos fisiopatológicos de danos auditivos e na possível reversão destes. Além desses animais, peixes, ovelhas, cães, gatos, macacos e outros modelos alternativos também foram citados.

Ao avaliar os resumos e estudos selecionados pelos critérios de inclusão, a seguir serão apresentadas e discutidas as características anatômicas, histológicas e audiológicas, que fundamentem a classificação dos modelos quanto às vantagens e desvantagens.

**Tabela 1.** Resultados das pesquisas conforme as bases de dados consultadas, descritores, artigos avaliados e referenciados

Base de dados	Descritores	Avaliados	Referenciados
Periódicos CAPES	Animal hearing	3	1
Scielo	Auditory and dogs	10	2
	Animal model anatomy	2	1
Pubmed	Chinchilla distortion product	10	6
	Rabbit model hearing	13	5
	Hair cell zebrafish	178	3
	Alternative methods animal ear	72	2
	Alternative methods animal hearing	27	2
	Hearing mice advantages	13	2
	Rabbit ear anatomy hearing	10	2
	Streams processing auditory cortex	82	2
	Auditory evaluation methods in animal models	18	1
	Alternative methods model insects hearing	2	1
	Cat ear anatomy	101	1
	Dogs ear anatomy	87	1
	Rabbit distortion product	12	1
	Rhesus hearing	34	1

**Tabela 2.** Estudos que contemplam avaliações auditivas em modelos animais

Avaliação	Espécies	Número de estudos
Emissão Otoacústica Produto De Distorção (EOAPD)	Paca <sup>12</sup> , Chinchila <sup>18,31,32,33</sup> , Cobaia <sup>26</sup> , Coelho <sup>28,29,34,40</sup> , Coelho/Rato/Chinchila <sup>30</sup>	11
Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE)	Paca <sup>12</sup> , Macaco <sup>15</sup> , Chinchila <sup>18,32</sup> , Coelho <sup>25</sup> , Cobaia <sup>26</sup> , Camundongo <sup>27</sup> , Cão <sup>36,37</sup>	9
Timpanometria	Chinchila <sup>18</sup> , Camundongo <sup>27</sup> , Coelho <sup>28,29</sup>	4
Microfonia coclear	Chinchila <sup>32,33</sup>	2
Potenciais somáticos; potenciais de ação compostos	Chinchila <sup>32,33</sup>	2
Potenciais Evocados Auditivos (AEPs)	Zebrafish <sup>19</sup> , Tartaruga <sup>38</sup>	2
Potenciais evocados do cóliculo inferior	Chinchila <sup>31,33</sup>	2
Componentes de potenciais evocados auditivos; potenciais de ação compostos evocados opticamente	Gato <sup>35</sup>	1
Emissão Otoacústica Transiente	Paca <sup>12</sup>	1
Respostas a tons puros	Gafanhoto (Locusta migratória) <sup>39</sup>	1
Métodos comportamentais	Tartaruga <sup>38</sup>	1
Otoscopia	Camundongo <sup>27</sup>	1
Cirurgia otológica	Porco <sup>8</sup>	1
Histologia por microscopia óptica	Gato <sup>6,35</sup> , Chinchila <sup>7,31,32</sup> , Cobaia <sup>9</sup> , Ovelha <sup>11</sup> , Macaco <sup>15</sup> , Cobaia/Rato <sup>17</sup> , Peixe Zebra <sup>19</sup> , Camundongo <sup>27</sup> , Coelho <sup>28</sup>	12
Histologia por microscopia eletrônica	Paca <sup>12</sup> , Cobaia/Rato <sup>17</sup> , Coelho <sup>25</sup> , Cobaia <sup>26</sup> Chinchila <sup>31,32</sup>	4
Citocleograma/Cocleograma	Chinchila <sup>31,32</sup>	2
Time-Lapse Imaging	Peixe Zebra <sup>22</sup>	1
Tomografia Computadorizada	Chinchila <sup>7</sup>	1

## Estudos anatômicos

A orelha externa de animais domésticos, como cão e gato, é composta por aurícula, meato acústico externo e membrana timpânica e tem como função a transmissão e direcionamento de ondas sonoras para a orelha média<sup>4</sup>. O canal auditivo externo não conduz diretamente à membrana timpânica, faz uma curva (importante para a inserção do otoscópio e limpeza)<sup>5</sup>.

A membrana timpânica separa a orelha externa da média, sendo sustentada por um anel timpânico, que é interrompido dorsalmente por uma incisura, e possui características de lâmina semitransparente, inclinada de formato oval no cão e pontuda no gato, circular no suíno e oval no equino e bovino<sup>4</sup>. Em gatos abrange a largura de anéis fibrocartilagosos que formam a entrada ao canal auditivo externo, sendo ela fina, semitranslúcida, de cor branco-acinzentada<sup>6</sup>.

A orelha média é composta pela cavidade timpânica, ossículos e tuba auditiva. Esta conecta a cavidade timpânica à parte nasal da faringe e equaliza a pressão atmosférica em ambos os lados da membrana timpânica<sup>4</sup>. O músculo tensor do tímpano proporciona maior sensibilidade do sistema de transmissão e o músculo estapediano possui efeito atenuante sobre a transmissão<sup>4</sup>.

A orelha interna possui um sistema de câmaras e ductos membranosos, o labirinto membranáceo, preenchido por endolinfa, que estimula as células sensoriais da orelha interna. O labirinto membranáceo compreende o labirinto vestibular, incluindo sáculo, utrículo e ductos semicirculares e o labirinto coclear, onde situa-se o órgão espiral de Corti e a cóclea<sup>4</sup>.

As diferenças mais relevantes em relação à anatomia humana incluem, no rato, o nervo facial, que emerge mais superficialmente e anterorostral do osso temporal, a espessura dos ossículos na orelha média, que ficam quase totalmente ocultos no epítimpano e a artéria carótida que passa entre as cruras do estribo<sup>1</sup>. Quanto às diferenças identificadas na chinchila, destacam-se a fusão dos ossículos martelo e bigorna<sup>7</sup>, e no porco, as análises demonstraram que a aparência externa do osso temporal apresenta discrepância quando comparadas aos humanos<sup>8</sup>.

Anatomicamente, há diferença entre o VIII nervo da cobaia e do homem, devido ao fato da cobaia possuir o componente coclear envolvido pelo vestibular até que ambos os fascículos se juntem de tal forma que não se possa distinguir o componente vestibular do coclear<sup>9</sup>. Nos macacos, a tuba de Eustáquio é mais curta e flexível, principalmente nos primeiros anos de

vida, e a função fisiológica é inferior devido à anatomia dos músculos paratubais<sup>10</sup>.

Na ovelha, o osso temporal não apresenta antro definido - como existe na mastóide humana - e as células da mastóide não são preenchidas por adipócitos e células precursoras da hematopoiese<sup>11</sup>. Esse animal apresenta bula anatômica, sua mastóide não é areada e o hipotímpano se abre inferiormente para a bula<sup>11</sup>. Além disso, as emissões otoacústicas nos animais apresentam resultados diferentes dos encontrados em humanos, podendo estes serem correlacionados com as diferenças já conhecidas nos padrões de células ciliadas<sup>12</sup>.

A utilização do macaco como modelo animal para avaliação auditiva é especialmente recomendada na análise da função do córtex cerebral nos déficits de processamento central, pois essa área possui mais similaridades entre macacos e humanos do que humanos e roedores<sup>13-15</sup>. Além disso, existem semelhanças dos macacos em relação aos humanos quanto ao dano auditivo progressivo, que aumenta em severidade com o envelhecimento<sup>15</sup>.

A função da tuba de Eustáquio no humano é inferior quando comparada a macacos provavelmente devido às diferenças na anatomia dos músculos tensor do véu palatino e levantador do véu palatino entre as duas espécies. Além disso, autores frisam que a ocorrência de otites médias em humanos, principalmente na infância, é extraordinariamente maior do que em macacos de seus laboratórios<sup>10</sup>.

Existem similaridades entre a anatomia da orelha humana e da ovelha, com a vantagem de as vias de acesso utilizadas para a cirurgia serem preservadas no procedimento. Uma importante similaridade entre o sistema auditivo de humanos e ovelhas é a relação de tamanho entre as estruturas<sup>16</sup>.

Ratos apresentam junção frágil da bula timpânica e duas e meia espiras na cóclea. Tais animais não são tão fáceis de manipular quanto a cobaia e frequentemente apresentam otite média, pois a membrana timpânica não veda todo o conduto auditivo externo e em função da horizontalidade da tuba de Eustáquio inerente à anatomia dos ratos<sup>1</sup>.

A cobaia, por sua vez, possui uma bula inteiriça, martelo e bigorna fundidos e três e meia espiras na cóclea<sup>17</sup>. Na cobaia o osso temporal, a cóclea e seus componentes e o nervo vestibulo-coclear possuem semelhanças com as estruturas encontradas no homem, o que torna um excelente modelo para estudos comparados ao ouvido humano. Esse animal

não possui meato acústico interno, somente externo, e sua tuba de Eustáquio é cartilaginosa<sup>9</sup>.

Autores afirmam que, em pesquisas com drogas que tenham efeito na cóclea, a cobaia é um melhor modelo do que o rato devido ao maior número de espiras cocleares<sup>17</sup>. Além disso, a cobaia apresentou fácil manipulação para experimentos cirúrgicos do estribo, janela oval e membrana timpânica e também para microdissecção devido ao tamanho e rigidez do osso temporal<sup>17</sup>.

As pacas também são utilizadas em pesquisas audiológicas e, anatomicamente, a cóclea desses animais possui uma estrutura em espiral constituída por 3 e 1/2 espiras, denominadas: espira basal (1 volta), espira 2 (1 volta), espira 3 (1 volta) e espira apical (1/2 volta)<sup>12</sup>.

Uma das vantagens da utilização da chinchila em pesquisas sobre o sistema auditivo está no fácil acesso para cirurgia das estruturas da orelha média, pois esse animal possui grande bula timpânica<sup>18</sup>. A orelha desse modelo possui similaridades em relação à humana, como o estribo, a cóclea, a distribuição das células ciliadas e o sistema vestibular<sup>7</sup>. No entanto, possui diferenças anatômicas comparada à orelha do homem, como a fusão dos ossículos martelo e bigorna, também identificada no cobaio<sup>7</sup>.

O peixe zebra (*Danio rerio*) não possui um órgão auditivo, como a cóclea, mas apresenta órgãos otolíticos vestibulares semelhantes aos dos mamíferos, como o sáculo e utrículo<sup>19</sup>. Além disso, esses peixes possuem um conjunto acessível de células ciliares na linha lateral, neuromastos, similares aos de outros vertebrados de sangue frio como as salamandras, tritões e girinos<sup>20</sup>. Também possuem órgãos pequenos que demandam menos células para cumprir uma função no organismo<sup>21</sup> e o acesso às células ciliadas na superfície corporal do peixe zebra é um fator que permite a precisa determinação das vezes de exposição a um agente, no caso do estudo, a cisplatina<sup>22</sup>.

Entretanto, apesar do modelo peixe zebra ter vantagem sobre o modelo mamífero em relação ao fácil acesso às células ciliadas sensoriais, alguns dados obtidos no peixe não podem ser aplicados nos mamíferos devido às diferenças celulares, características moleculares do teleosteo e das células auditivas de mamíferos<sup>23</sup>.

O porco é um modelo alternativo para cirurgia otológica, pois anatomicamente o osso temporal encontra-se na mesma posição que em humanos, e a membrana timpânica, a orelha média e a cadeia

ossicular possuem similaridades quanto às dimensões das estruturas. A linha temporal, a espinha suprêmeica, o canal auditivo externo e as células mastóideas são considerados pontos de referência clássicos encontrados nos humanos, porém, essas estruturas não foram identificadas no porco. Além disso, possui vantagens em relação à cirurgia do estribo, como a fácil manipulação e visão da articulação incudoestapedial<sup>8</sup>. A desvantagem de utilizá-lo como modelo é a dificuldade de acesso à orelha média devido ao osso temporal possuir uma cobertura com tecido mole. O sistema de células pneumatizadas é localizado inferiormente à cavidade timpânica anterior e não posteriormente, como em humanos, não possui antro e para a visualização do canal lateral é preciso remover parte do canal auditivo externo<sup>8</sup>.

Uma avaliação comparou o desenvolvimento, organização, estrutura e função de um circuito neuronal específico em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) com as codornas transgênicas, focando em duas regiões do cérebro, fundamentais no circuito de localização sonora no tronco-auditivo. Os resultados demonstraram que existem similaridades estruturais e funcionais entre os neurônios das regiões analisadas entre a codorna transgênica e a galinha, podendo a codorna ser um ótimo modelo<sup>24</sup>.

## Estudos histológicos

A utilização de métodos histológicos permite a avaliação da fisiopatologia da perda auditiva. Nesse sentido, um estudo analisou lesão coclear induzida por meningite bacteriana experimental em coelhos, observando estruturas como o órgão de Corti, células ciliadas, células suporte, *stria vascularis*, escala timpânica, membrana basilar, scala media, ligamento espiral e membrana tectória por microscopia eletrônica<sup>25</sup>.

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada em cobaias para avaliar a toxicidade aguda de organofosforado no sistema auditivo<sup>26</sup>. Por meio do mesmo método evidenciou-se a presença três e meia espiras na cóclea, células de Hensen, membrana tectória, membrana de Reissner e órgão de Corti nesse animal<sup>17</sup>. Em ratos foi possível evidenciar a presença de membrana tectória, membrana de Reissner e o órgão de Corti<sup>1</sup>. Essa análise também possibilitou a caracterização eletrofisiológica, funcional e ultraestrutural da orelha interna da paca<sup>12</sup>.

Outra possibilidade trata-se da avaliação histológica por microscopia óptica, que avaliou o funcionamento

da orelha média de cepas genéticas de 61 camundongos<sup>27</sup>. As orelhas externa, média e interna de gatos também foram analisadas por esse método<sup>6</sup>, bem como a cóclea de coelhos expostos à vibração<sup>28</sup>. Além disso, características do osso temporal da orelha permitem a visualização por meio de microscopia óptica dos aspectos celulares, arquitetura da orelha, espaços intracavitários e anatomia<sup>11</sup>.

Uma análise menos utilizada é o *time-lapse imaging*. Um estudo realizado com peixe zebra analisou a morte de células ciliadas na linha lateral induzida por cisplatina utilizando esse exame de imagem<sup>22</sup>. Cabe ressaltar que esse animal é considerado um bom modelo para a avaliação da perda de células ciliadas<sup>19</sup>.

### Estudos sobre avaliação audiológica

As emissões otoacústicas produto de distorção (EOAPD) são vastamente citadas na literatura em estudos com modelos animais. Análises de pré e pós-exposição ao ruído em coelhos demonstraram que as EOAPD podem ser utilizadas para avaliar e diagnosticar a perda auditiva inicial induzida por ruído, mesmo quando o resultado da audiometria tonal é normal<sup>29</sup>.

Já foi evidenciada similaridade de características de EOAPD entre humanos, coelhos, chinchilas e ratos<sup>30</sup>, e essa avaliação foi utilizada para determinar se a aplicação de sulfoximina butionina por infusão diretamente na cóclea melhorava a ototoxicidade da carboplatina na cóclea de chinchilas<sup>31</sup>. A severidade da ototoxicidade causada por esse medicamento foi avaliada não apenas por EOAPD, mas também por potenciais evocados do cóclculo inferior e anatomicamente através de citococleogramas<sup>31</sup>. Em pesquisa cujo objetivo foi diferenciar os mecanismos inibitórios relacionados aos músculos tensor do tímpano e estapédio em chinchilas, as análises ocorreram por meio de EOAPD em tempo real, o que permitiu a comparação separadamente de componentes sistema olivococlear medial e do reflexo do músculo da orelha média<sup>18</sup>.

Em um estudo a carboplatina foi aplicada em chinchilas para verificar se lesões seletivas em células ciliadas internas e em fibras nervosas auditivas gerariam resultados de testes eletrofisiológicos característicos aos apresentados em casos de neuropatia auditiva. Os autores avaliaram os animais por microfonia coclear, EOAPD, potenciais somáticos, potenciais de ação compostos e PEATE<sup>32</sup>.

Em outra análise com aplicação de carboplatina em orelhas de chinchilas, o objetivo foi investigar os

efeitos do dano morfológico inicial na cóclea e no nervo auditivo no sistema auditivo central e periférico. Para a avaliação das células ciliares externas foram utilizados microfonia coclear e EOAPD. Para avaliar as células ciliares internas, foram utilizados os potenciais somáticos; os componentes de potenciais de ação foram medidos para avaliar a função e integridade das células ciliares internas e as fibras sinápticas aferentes no nervo auditivo. Os potenciais evocados mesencefálicos foram medidos no cóclculo inferior para avaliar o funcionamento do sistema auditivo central. Os resultados indicaram que as medidas dos limiares e amplitudes falharam em detectar patologia periférica até que um dano relativamente alto fosse alcançado<sup>33</sup>.

As EOAPD e a timpanometria foram utilizadas em coelhos na investigação sobre efeitos da vibração na audição. O protocolo foi constituído por audiometria basal, períodos de descanso, períodos de exposição, períodos de descanso<sup>28</sup>. Esse exame também foi o escolhido em um estudo sobre a toxicidade aguda de organofosforado no sistema auditivo de cobaias, juntamente com o PEATE<sup>26</sup>.

Ainda utilizando coelhos, um experimento realizou aplicação tópica de Papaverina diretamente na artéria auditiva interna e no nervo cocleovestibular, comparando o fluxo sanguíneo da cóclea e as EOAPD entre o grupo controle e o grupo tratado, constatando-se a perda funcional de atividade coclear<sup>34</sup>.

Em gatos, os testes encontrados na literatura para avaliar a função coclear pesquisada foram componentes de potenciais evocados auditivos e potenciais de ação compostos evocados opticamente gravados na janela redonda. Os resultados demonstram a efetividade da radiação pulsada infravermelha em estimular neurônios auditivos sem causar dano detectável, porém uma das limitações na eficácia da estimulação das células do gânglio espiral por radiação pulsada infravermelha pode ser a presença de uma quantidade significativa de ossos na frente da fibra óptica, o que causaria difração e dispersão da luz<sup>35</sup>.

O potencial evocado auditivo de tronco encefálico (PEATE) também é muito utilizado na pesquisa auditiva. Além da vantagem do PEATE relacionada à avaliação desde a cóclea até tronco encefálico, trata-se de um exame não invasivo. Em um estudo com cães, os autores propõem valores de latência das ondas do exame como referência de normalidade para a comparação em cães da raça Boxer com diferentes doenças, bem como para a avaliação em cães de diferentes idades, nesse caso, sem sedação<sup>36</sup>. Uma das

desvantagens do exame é o eventual uso de sedação em caso de necessidade de contenção química, que em outro estudo ocorreu com administração intramuscular de morfina e acepromazina, as quais não interferiram na interpretação do potencial evocado, embora tenham causado prolongamento nas latências das ondas II, III e intervalos I-III e I-V, sem prejuízo nas suas identificações<sup>37</sup>.

O PEATE também foi utilizado em macacos Rhesus, em um estudo que investigou a presbiacusia<sup>15</sup>. Houve relação entre idade, aumento de limiar do PEATE e decréscimo na histopatologia coclear desse primata. Os animais estudados tinham de 10 anos e três meses a 35 anos e três meses, equivalentes a 30 e 105 anos humanos. Foi utilizada anestesia por cetamina e medetomidina para a realização do exame funcional, a fim de propiciar a posição adequada dos animais ao exame, sendo uma das desvantagens do método, já que existem evidências que a administração de anestésicos pode aumentar a latência das ondas avaliadas.

Uma diferença importante no PEATE realizado em pacas é que a onda IV do animal é equivalente à onda V em humanos, sendo a primeira utilizada como parâmetro para análise do limiar eletrofisiológico nessa avaliação<sup>12</sup>.

O funcionamento da orelha média de cepas genéticas de 61 camundongos foi avaliado por meio de timpanometria, otoscopia e análise das respostas auditivas tronco-cerebrais. A combinação dessas avaliações possibilita não apenas a análise morfológica da orelha média, mas também avaliação de inflamação<sup>27</sup>.

Um modelo experimental alternativo para avaliação auditiva é a tartaruga *Caretta caretta*. Potenciais evocados auditivos e métodos comportamentais foram escolhidos para a medição da audição de uma tartaruga fêmea adulta cativa completamente submersa. Foi evidenciado que os audiogramas coletados por meio do teste comportamental e de potenciais evocados auditivos são similares, sendo o de potenciais evocados auditivos vantajoso por poder ser conduzido em poucas horas e em animais não treinados<sup>38</sup>. Outro modelo alternativo, o peixe zebra, já foi avaliado por potenciais evocados auditivos para analisar a morte de células ciliadas induzida pela administração de aminoglicosídeos<sup>19</sup>.

Também há pesquisas na literatura utilizando gafanhotos *Locusta migratória* para análises auditivas. Esses animais são caracterizados pelas respostas das células receptoras auditivas em tons puros e por possuírem o órgão auditivo timpânico localizado no primeiro segmento abdominal<sup>39</sup>.

Além desses, coelhos foram modelos para testar os efeitos do manitol administrado topicamente na janela redonda após a indução de episódios de isquemias repetidas por compressão da artéria auditiva interna<sup>40</sup>.

## Outras características

Na literatura encontram-se estudos auditivos utilizando modelos alternativos. As aves, como a codorna, são muito utilizadas, pois possuem como vantagens seu pequeno tamanho, grande produção de ovos e maturidade sexual precoce, havendo possibilidade de desenvolvimento de linhagens transgênicas de codornas em laboratório<sup>24</sup>.

Os pássaros e as galinhas são citados como modelo de estudo para a avaliação de células ciliares, sendo as aves caracterizadas previamente quanto ao tempo de regeneração, identificação de tais células precursoras e dos processos celulares<sup>20</sup>.

O peixe zebra tem sido amplamente utilizado como modelo em pesquisas biológicas devido à sua tolerância às variações de temperatura, facilidade de reprodução, identificação de genes por meio de mutações e excelente embriologia. Os embriões são grandes e transparentes, podendo ser observados através do córion durante as primeiras vinte e quatro horas pós-fertilização<sup>21</sup>.

Em uma análise descritiva sobre a anatomia da orelha ovina, cujo um dos propósitos foi identificar um animal adequado para fins de experimentação e treinamento em cirurgia otológica, foram relatadas vantagens, como o comportamento dócil, não sendo necessário manter o animal confinado em laboratório. Dessa forma, em longos períodos observacionais as ovelhas puderam ser mantidas em fazendas, aumentando o conforto do animal e diminuindo a suscetibilidade à infecção por doenças do que se mantidas em laboratório. Além disso, a ovelha tem uma ampla disponibilidade devido às atividades econômicas relacionadas ao consumo de carne e uso de lã<sup>16</sup>.

A fácil manipulação da cobaia por seu pequeno porte e por ser um animal dócil também já foram destacadas na literatura<sup>9</sup>. Animais como gatos, cachorros e macacos - além de ter um tamanho de corpo diferente do humano - podem ser difíceis de lidar em laboratório por serem agressivos e suscetíveis a doenças, ter custo elevado e menor disponibilidade, podendo animais de estimação ocasionar um efeito psicossocial negativo e ter seu uso contestado por agências de direitos dos animais<sup>16</sup>.

## DISCUSSÃO

Na Tabela 3 encontram-se citadas vantagens e desvantagens do uso de modelos animais em avaliações audiológicas, por espécie.

Em relação às características anatômicas de mamíferos como modelos animais, observam-se diversas vantagens quanto ao seu uso em avaliações audiológicas, principalmente no que diz respeito às semelhanças anatômicas em relação aos humanos, destacando-se os macacos, apesar de algumas estruturas diferenciadas ou ausentes. No entanto, em alguns casos esses modelos animais necessitam de sedação para a realização dos testes, têm reflexo psicossocial negativo e são mais dispendiosos.

Economicamente animais de pequeno porte são mais vantajosos em razão do menor volume de alimento ingerido e menor espaço requerido em laboratório para manutenção do conforto do animal. O tamanho dos animais parece não ser um fator completamente dependente em relação à manipulação do modelo, pois as ovelhas - apesar de possuírem porte significativamente maior do que ratos - são facilmente manipuladas em estudos audiológicos, ao contrário de relatos relacionados à possível dificuldade na manipulação de ratos.

Quanto às diferenças anatômicas entre humanos e animais, destaca-se a que ocorre em ratos, cuja membrana timpânica é semiocluída. Deve-se ter ciência de que esses animais, por possuírem essa característica, têm maior tendência à otite média, sendo um bom modelo para a mimetização dessa patologia. Contudo, em estudos cujo objetivo seja prejudicado pela ocorrência de otites, demais modelos deverão ser considerados.

Em relação à diferença entre o número de espiras do rato e da cobaia, os autores do estudo analisado sugerem que - em pesquisas que utilizem drogas que influenciem na cóclea -, seria melhor utilizar a cobaia, por ser o modelo com um número maior de espiras<sup>17</sup>. Esse estudo não justifica tal afirmação, mas pode haver relação entre a maior quantidade de voltas de espiras e um maior tamanho de membrana basilar, o que geraria um maior espectro de frequências e maior quantidade de células ciliadas.

Apesar da ausência de um órgão auditivo e de alguns resultados não serem aplicáveis em modelos animais de mamíferos, o peixe zebra é amplamente citado em análises de avaliação auditiva, principalmente na avaliação das células ciliadas na linha lateral deste modelo animal, demonstrando que as

características anatômicas, reprodutibilidade e habitat são relevantes para sua escolha em diferentes métodos de avaliação.

Como opção aos modelos animais já estabelecidos na literatura e comumente utilizados, verifica-se a ocorrência de modelos alternativos. Alguns animais possuem similaridades anatômicas, outros foram escolhidos pela praticidade, tamanho, reprodutibilidade e até mesmo pela possibilidade de reprodução transgênica.

A Rede de Métodos Alternativos ao uso de animais<sup>2</sup> (RENAMA) destaca a aplicação dos princípios dos 3R's: Redução (*Reduction*): o uso do menor número possível de animais para obter as informações necessárias no experimento; Refinamento (*Refinement*): deve-se minimizar a dor, sofrimento ou estresse do animal utilizado na experimentação; e Substituição (*Replacement*): quando o nível de informação necessária é adquirido sem a utilização de animais vertebrados vivos.

De acordo com as resoluções normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal<sup>3</sup> (CONCEA) é imprescindível visar a possibilidade de alternativas ao uso de animais, caso não exista, deve-se considerar que as técnicas propostas sejam as melhores, de forma a refinar o estudo e reduzir o número de animais utilizados.

Em relação à anatomia, atributos isolados podem não ser decisivos para a determinação do modelo animal utilizado, as vantagens e desvantagens das características do sistema auditivo dos animais deverão ser avaliadas para a escolha adequada.

Para o alcance dos objetivos propostos em pesquisa, o ideal é que haja um equilíbrio entre o método de avaliação auditiva, sua factibilidade em relação ao acesso aos equipamentos, a presença de um profissional treinado para avaliar o modelo animal e um considerável número de vantagens em termos anatômicos, estruturais e maior possibilidade de generalização para o sistema auditivo humano.

Foi encontrada na literatura grande disponibilidade de alternativas para a realização de avaliações auditivas, como EOAPD, potenciais evocados auditivos, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e citococleograma.

Em relação aos métodos de avaliação da audição, as EOAPD e o PEATE foram os mais utilizados, mostrando-se importantes ferramentas de pesquisa. Esses testes, por serem métodos objetivos e não invasivos, permitem a caracterização do dano auditivo



**Tabela 3.** Vantagens e desvantagens do uso de modelos animais, por espécie

<b>Espécie</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Chinchila	Fácil acesso para cirurgia das estruturas da orelha média <sup>18</sup> . Estrutura da orelha similar a humana <sup>7</sup> .	A anatomia deste animal dificulta o acesso ao canal auditivo <sup>7</sup> .
Coelho	Similaridade das características das emissões EOAPD entre humanos, coelhos e ratos <sup>30</sup> .	Possível dificuldade de acesso ao animal.
Cão	Vantagens anatômicas por semelhanças ao ser humano.	Custo elevado e menor disponibilidade; efeito psicossocial negativo <sup>16</sup> . Uso de sedação em caso de necessidade de contenção química <sup>37</sup> .
Peixe zebra	Tolerância a variações de temperatura, facilidade de reprodução, identificação de genes através de mutações e excelente embriologia <sup>21</sup> . Fácil acesso às células ciliadas; presença de órgãos otolíticos vestibulares semelhantes aos dos mamíferos <sup>19</sup> .	Ausência de um órgão auditivo propriamente dito <sup>19</sup> . Alguns dados obtidos no peixe não podem ser aplicados nos mamíferos <sup>23</sup> .
Gato	Vantagens anatômicas por semelhanças ao ser humano.	Custo elevado e menor disponibilidade; efeito psicossocial negativo <sup>16</sup> .
Macaco Rhesus ( <i>Macaca mulatta</i> )	Semelhanças dos macacos em relação aos humanos quanto ao dano auditivo progressivo que aumenta em severidade com o envelhecimento <sup>15</sup> .	Custo elevado e menor disponibilidade; efeito psicossocial negativo <sup>16</sup> . Uso de anestesia
Camundongo	Vasta disponibilidade de testes para avaliar o dano auditivo.	Há relação entre a idade e a resistência da membrana timpânica, o que pode gerar alteração da resposta da orelha média <sup>27</sup> .
Ovelhas	Suas características permitem visualização por meio de análise histológica dos aspectos celulares, arquitetura da orelha, espaços intracavitários e anatomia <sup>11</sup> ; comportamento dócil; podem ser mantidas em fazendas, aumentando o conforto do animal e diminuindo a suscetibilidade a infecção por doenças; ampla disponibilidade; vias de acesso em cirurgia são preservadas <sup>16</sup> . Similaridade de tamanho entre as estruturas de ovelhas e humanos.	Possível dificuldade de acesso ao animal.
Ratos	Presença de membrana tectória, membrana de Reissner, órgão de Corti e cóclea <sup>1,17</sup> .	Não é tão fácil de manipular; frequentemente apresentam otite média; Junção frágil da bula timpânica <sup>1,17</sup> .
Cobaios	Bula inteiriça, martelo e bigorna fundidos e três e meia espiras na cóclea, além de células de Hensen, membrana tectória, membrana de Reissner e o órgão de Corti; manipulação para experimentos cirúrgicos do estribo, janela oval e membrana timpânica e também para microdissecção devido ao tamanho e rigidez do osso temporal <sup>17</sup> . Fácil manipulação, dócil, anatomia do osso temporal semelhante a de humanos <sup>9</sup> .	Poucos estudos sobre o nervo vestibulococlear estão descritos na literatura <sup>9</sup> .
Paca	Características anatomofisiológicas favoráveis <sup>12</sup> .	Possível dificuldade de acesso ao animal.
Codorna	Pequeno tamanho, grande produção de ovos e maturidade sexual precoce <sup>24</sup> .	Dificuldade de acesso às estruturas da orelha interna.
Gafanhotos ( <i>Locusta migratória</i> )	Modelo animal de fácil manipulação devido ao tamanho e às características anatômicas.	Poucos estudos utilizando esse modelo; poucas técnicas comparado à outros modelos animais.
Tartaruga ( <i>Caretta caretta</i> )	Potenciais evocados auditivos vantajoso no sentido de poder ser conduzido em poucas horas e em animais não treinados <sup>38</sup> .	Possível dificuldade de acesso ao animal.
Porco	Osso temporal encontra-se na mesma posição que em humanos e a membrana timpânica, a orelha média e a cadeia ossicular possuem similaridades também quanto às dimensões das estruturas; fácil manipulação e visão da articulação incudoestapediana <sup>8</sup> .	Linha temporal, a espinha suprêmeática, o canal auditivo externo e as células mastoideas não foram identificadas nesse animal; dificuldade de acesso à orelha média <sup>8</sup> .

de modo mais fidedigno do que técnicas comportamentais, principalmente em pesquisa com modelos animais. Contudo, limitam-se em relação à possível utilização de sedação ou anestesia, o que pode interferir na latência das ondas.

Histologicamente, a caracterização da morfologia celular pode facilitar a análise da fisiopatologia da perda auditiva. No entanto, a escolha do modelo animal interfere no tipo de avaliação a ser realizada. A contagem de células ciliadas em modelos animais alternativos, como peixes, tem sido realizada por métodos como o *time-lapse-imaging*, técnica menos difundida do que as microscopias óptica ou eletrônica, comuns em estudos com mamíferos e aves.

As variações nos estudos podem justificar-se pelo objetivo da pesquisa, bem como o modelo animal escolhido e o acesso ao equipamento. Sendo assim, é essencial o conhecimento das características do sistema auditivo do modelo escolhido, suas vantagens, desvantagens e limitações na prática experimental. Considerando todos esses aspectos, a determinação do número de animais deverá ser a menor possível, respeitando principalmente as normas propostas pelo RENAMA.

## CONCLUSÃO

A escolha do animal de experimentação para avaliação do sistema auditivo depende de fatores anatômicos, fisiológicos, econômicos, espaciais, psicossociais e do objetivo da avaliação. Os roedores ainda são os modelos animais mais utilizados e as avaliações auditivas mais citadas são as emissões otoacústicas por produto de distorção e o potencial evocado auditivo de tronco encefálico.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão de bolsa de mestrado.

## REFERÊNCIAS

1. Albuquerque AAS. Estudo comparativo da estrutura da orelha interna de ratos e cobaias através da microscopia eletrônica de varredura [monografia]. Jaboticabal (SP): Universidade de São Paulo; 2006.
2. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. 2014. Rede Nacional de Métodos Alternativos (RENAMA). [acesso em 17 de maio 2016]. Disponível em: <http://renama.org.br/>
3. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Normativas do CONCEA. Para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica. Lei, decreto, portarias, resoluções normativas, orientações técnicas. [acesso em 20 de março 2016]. Disponível em: [http://www.mct.gov.br/upd\\_blob/0238/238343.pdf](http://www.mct.gov.br/upd_blob/0238/238343.pdf)
4. König HE, Liebich HG. Órgão Vestibulococlear. In: König HE, Liebich HG. Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. 4ª ed. Porto Alegre (RS): Artmed; 2011. p. 613-28
5. König HE, Liebich HG. Orelha. In: König HE, Liebich HG. Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. 6ª ed. Porto Alegre (RS): Artmed; 2016. p. 601-14.
6. Sula MM, Njaa BL, Payton ME. Histologic Characterization of the Cat Middle Ear: In Sickness and in Health. *Vet Pathol.* 2014;51(5):951-67.
7. Carrasco ML, Cristóbal Maass OJ, Dentone SL, Miranda GG, Kakuljan PM. Estudio morfológico del oído medio e interno de la Chinchilla laniger. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello.* 2008;68(3):263-74.
8. Garcia LB, Andrade JSC, Testa JRG. Anatomical study of the pigs temporal bone by microdissection. *Acta Cir. Bras.* 2014;29(3):77-80.
9. Vasconcelos CAC. Aspectos descritivos e quantitativos da anatomia macroscópica e microscópica do nervo vestibulo-coclear de cobaias. [Dissertação]. Ribeirão Preto (SP) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2005.
10. Bluestone CD, Swarts JD. Human evolutionary history: Consequences for the pathogenesis of otitis media. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;143(6):739-44.
11. Soares HB. O estudo histológico do osso temporal do ovino- uma contribuição para a caracterização da ovelha como modelo animal para treinamento e investigação experimental em otologia [Dissertação]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, 2004.
12. Silva IA. Caracterização eletrofisiológica, funcional e ultraestrutural por microscopia eletrônica de varredura da orelha interna da Cuniculus paca: um novo modelo experimental [dissertação]. Ribeirão Preto (SP): Universidade Federal de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2012.

13. Rauschecker JP, Tian B. Mechanisms and streams for processing of “what” and “where” in auditory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(22):11800-6.
14. Kaas JH, Hackett TA. Subdivisions of auditory cortex and processing streams in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(22):11793-9.
15. Engle JR, Tinling S, Recanzone GH. Age-Related Hearing Loss in Rhesus Monkeys Is Correlated with Cochlear Histopathologies. Snyder J, ed. *PLoS ONE*. 2013;8(2):e55092.
16. Lavinsky L, Goycoolea M. In search of a teaching, training and experimental model for otological surgery. In: Tos M, Thompson J, editors. *Otitis Media Today*. Copenhagen (Dinamarca): Kugler Publications; 1997. p. 341-8.
17. Albuquerque AAS, Rossato M, De Oliveira JAA, Hyppolito MA. Conhecimento da anatomia da orelha de cobaias e ratos e sua aplicação na pesquisa otológica básica. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2009;75(1):43-9.
18. Wolter NE, Harrison RV, James AL. Separating the contributions of olivocochlear and middle ear muscle reflexes in modulation of distortion product otoacoustic emission levels. *Audiol Neurootol*. 2014;19(1):41-8.
19. Uribe PM, Sun H, Wang K, Asuncion JD, Wang Q, Chen CW et al. Aminoglycoside-Induced Hair Cell Death of Inner Ear Organs Causes Functional Deficits in Adult Zebrafish (*Danio rerio*). *PLoS One*. 2013;8(3):e58755.
20. Brignull HR, Raible DW, Stone JS. Feathers and Fins: Non-mammalian models for hair cell regeneration. *Brain Res*. 2009;1277:12-23
21. Dammski AP, Müller BR, Gaya C, Regonato D. Zebrafish - Manual de criação em Biotério. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2011. [acesso em: 20 de dezembro 2016] Disponível em: <http://www.aulas.agrarias.ufpr.br/Trabalhos/ZEBRAFISH%20-%20MANUAL%20DE%20CRIAC%3%87%C3%83O%20EM%20BIOT%3%89RIO.pdf%20-1.pdf>
22. Ou HC, Raible DW, Rubel EW. Cisplatin induced hair cell loss in zebrafish (*Danio rerio*) lateral line. *Hear Res*. 2007;233(1-2):46-53.
23. Monroe JD, Rajadinakaran G, Smith ME. Sensory hair cell death and regeneration in fishes. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2015;9:131.
24. Seidl AH, Sanchez JT, Schecterson L, Tabor KM, Wang Y, Kashima DT et al., Transgenic Quail as a Model for Research in the Avian Nervous System – A Comparative Study of the Auditory Brainstem. *J Comp Neurol*. 2013;521(1):5-23.
25. Osborne MP, Comis SD, Tarlow MJ, Stephen J. The cochlear lesion in experimental bacterial meningitis of the rabbit. *Int J Exp Pathol*. 1995;76(5):317-30.
26. Körbes D. Toxicidade de agrotóxico organofosforado no sistema auditivo periférico de cobaias: estudo anatômico e funcional [dissertação]. Santa Maria (RS): Universidade Federal de Santa Maria; 2009.
27. Zheng QY, Tong YCI, Alagramam KN, Yu H. Tympanometry Assessment of 61 Inbred Strains of Mice. *Hear Res*. 2007;231(1-2):23-31.
28. Moussavi Najarkola SA, Khavanin A, Mirzaei R, Salehnia M, Muhammadnejad A. Cochlear Damages Caused by Vibration Exposure. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2013;15(9):771-4.
29. Moussavi-Najarkola SA, Khavanin A, Mirzaei R, Salehnia M, Muhammadnejad A, Akbari M. Temporary and permanent level shifts in distortion product otoacoustic emissions following noise exposure in an animal model. *Int J Occup Environ Med*. 2012;3(3):145-52.
30. Martin GK, Stagner BB, Chung YS, Lonsbury-Martin BL. Characterizing distortion-product otoacoustic emission components across four species. *J Acoust Soc Am*. 2011;129(5):3090-103.
31. Henderson D, Hu BH, MCFadden SL, Zheng XY, Ding D. The role of glutathione in carboplatin ototoxicity in the chinchilla. *Noise Health*. 2000;3(9):1-10.
32. El-Badry MM, McFadden SL. Evaluation of Inner Hair Cell and Nerve Fiber Loss as Sufficient Pathologies Underlying Auditory Neuropathy. *Hear Res*. 2009;255(1-2):84-90.
33. El-Badry MM, McFadden SL. Electrophysiological Correlates of Progressive Sensorineural Pathology in Carboplatin-Treated Chinchillas. *Brain research*. 2007;1134(1):122-130.
34. Morawski K, Telischi FF, Merchant F, Namyslowski G, Lisowska G, Lonsbury-Martin BL. Preventing Internal Auditory Artery Vasospasm Using Topical Papaverine: An Animal Study. *Otol Neurotol*. 2003b;24(6):918-26.
35. Rajguru SM, Matic AI, Robinson AM, Fishman AJ, Moreno LE, Bradley A, et al.; Optical cochlear implants: evaluation of surgical approach and laser parameters in cats. *Hear Res*. 2010;269(1-2):102-11.

36. Palumbo MIP, Resende LAL, Pantoja JCF, Mayhew IG, Borges AS. Brainstem auditory-evoked potential in Boxer dogs. *Pesq. Vet. Bras.* 2014a;34(10): 1007-10.
37. Palumbo MIP, Ramos MC, Outeda NC, Resende LAL, Pantoja JCF, Borges AS. A seditação sobre os potenciais evocados auditivos em cões. *Cien. Rural.* 2014b;44(5):891-6.
38. Martin KJ, Sarah CA, Joseph CG, Anton DT, Gordon BB, David AM. Underwater hearing in the loggerhead turtle (*Caretta caretta*): a comparison of behavioral and auditory evoked potential audiograms. *J Exp Biol.* 2012;215(Pt 17):3001-9.
39. Gollisch T, Schütze H, Benda J, Herz AV. Energy Integration Describes Sound-Intensity Coding in an Insect Auditory System. *J Neurosci.* 2002;22(23):10434-48.
40. Morawski K, Telischi FF, Merchant F, Abiy LW, Lisowska G, Namyslowski G. Role of Mannitol in Reducing Postischemic Changes in Distortion-Product Otoacoustic Emissions (DPOAEs): A Rabbit Model. *Laryngoscope.* 2003a Sep;113(9):1615-22.