

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DISTÚRBIOS DA  
COMUNICAÇÃO HUMANA

INFLUÊNCIA DA COGNIÇÃO E DO METABOLISMO  
LIPÍDICO-INFLAMATÓRIO-OXIDATIVO NO  
DESEMPENHO AUDITIVO DE IDOSOS APÓS  
ADAPTAÇÃO DE PRÓTESES AUDITIVAS

**TESE DE DOUTORADO**

Alexandre Hundertmarck Lessa

**Santa Maria, RS, Brasil  
2015**

INFLUÊNCIA DA COGNIÇÃO E DO METABOLISMO  
LIPÍDICO-INFLAMATÓRIO-OXIDATIVO NO DESEMPENHO  
AUDITIVO DE IDOSOS APÓS ADAPTAÇÃO DE PRÓTESES  
AUDITIVAS

Alexandre Hundertmarck Lessa

Tese (Modelo Alternativo) apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Distúrbios da Comunicação Humana, Área de Concentração Fonoaudiologia e Comunicação Humana: clínica e promoção, Linha de Pesquisa Audição: diagnóstico, habilitação e reabilitação, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Distúrbios da Comunicação Humana**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maristela Julio Costa**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2015**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Hundertmarck Lessa, Alexandre  
Influência da cognição e do metabolismo lipídico-  
inflamatório-oxidativo no desempenho auditivo de idosos  
após adaptação de próteses auditivas / Alexandre  
Hundertmarck Lessa.-2015.  
145 p.; 30cm

Orientadora: Maristela Julio Costa  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-  
Graduação em Distúrbios da Comunicação Humana, RS, 2015

1. Auxiliares de Audição 2. Cognição 3. Estresse  
Oxidativo 4. Idoso 5. Transtornos da Percepção Auditiva  
I. Julio Costa, Maristela II. Título.

---

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Alexandre Hundertmarck Lessa. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: R. Ramiro Barcelos, 2600 - Santa Cecília, Porto Alegre - RS, 90035-003

Endereço eletrônico: alexandrehl@gmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Distúrbios da Comunicação  
Humana**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de  
Doutorado

**INFLUÊNCIA DA COGNIÇÃO E DO METABOLISMO LIPÍDICO-  
INFLAMATÓRIO-OXIDATIVO NO DESEMPENHO AUDITIVO DE  
IDOSOS APÓS ADAPTAÇÃO DE PRÓTESES AUDITIVAS**

elaborada por  
**Alexandre Hundertmarck Lessa**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Distúrbios da Comunicação Humana**

**Comissão Examinadora:**

**Maristela Julio Costa, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**  
(Presidente/Orientadora)

**Adriane Ribeiro Teixeira, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. (UFRGS)**

**Eliara Pinto Vieira Biaggio, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**

**Maria Cecilia Martinelli Iorio, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. (Unifesp)**

**Michele Vargas Garcia, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**

Santa Maria, 11 de dezembro de 2015.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, Paulo e Zulmar, pela impossibilidade de descrever em palavras todos os agradecimentos que devo a vocês; por fazerem a distância física ser minimizada através do enorme apoio e amor constantes; pelo exemplo que sempre me deram de honestidade e perseverança. Tenham certeza que me sinto cada vez mais realizado, quero seguir lhes vendo, também sempre ainda mais felizes! Amo muito vocês!

À minha irmã Bethieli, pela amizade e amor que compartilhamos por toda nossa vida; pelo apoio e pela torcida recíproca a cada etapa, pelo amor eterno de irmão!

À minha irmã Clarissa e meus amados sobrinhos Luca e Luísa, pelo carinho e pela compreensão de que apesar da dolorosa distância, meu amor é grandioso e incondicional.

Ao meu amor e meus amigos, por entenderem minha ausência em muitos momentos e por alegrarem outros tantos. Pela convicção de que tenho grandiosos tesouros que me acompanham e pelos quais tenho tanto amor e carinho. Obrigado pela certeza de que fortes e verdadeiros laços podem ser criados ao longo das nossas vidas, perto ou longe de qualquer raiz; e também por nos acompanharmos, entendermos e lutarmos, sempre com alegria e incentivo. Obrigado por tornarem o colorido do mundo ainda mais agradável!

À minha orientadora Dra. Maristela Julio Costa, pela oportunidade de trabalharmos juntos, pela sua dedicação, conhecimento, confiança, amizade e carinho. Agradeço imensamente por acreditar no meu trabalho e desejo que esta parceria, há quase oito anos estabelecida, não tenha fim com o encerramento de mais este ciclo que conquisto sob tua orientação! Sua atuação profissional e acadêmica me inspirou e segue inspirando! Obrigado por tudo!

À Dra. Adriane Ribeiro Teixeira, por aceitar compor as bancas de qualificação e defesa desta tese, pelas suas valiosas contribuições e por sempre compartilhares gentilmente teus sábios conhecimentos. Alegro-me poder contar com a sua colaboração em mais esta etapa!

À Dra. Eliara Pinto Vieira Biaggio, pela participação em cada etapa de avaliação desta tese e pelas suas relevantes e pertinentes contribuições em todas elas. Obrigado!

À Dra. Maria Cecília Martinelli Iorio, pelo aceite em compor as bancas de qualificação e defesa desta tese e pelas valorosas contribuições prestadas. É um prazer imensurável ter a participação de alguém que tanto admiro, por seu pioneirismo e pelos trabalhos magníficos que escrevestes e orientastes.

À Dra. Michele Vargas Garcia, por compor a banca de defesa da tese e pelas pertinentes contribuições. Sou grato também por seu apoio em momentos tão importantes, pela sua disponibilidade de sempre e pelas discussões e ensinamentos que tanto instigam e enriquecem meu saber.

À Dra. Valdete Alves Valentins dos Santos Filha, por compor a suplência da banca de defesa da tese. Obrigado também por tornar sempre prazeroso e alegre nosso encontro e pela torcida pelo meu sucesso – saiba que ela é recíproca!

À Dra. Maria Fernanda Manica Rizzi Cattani, por trazer contribuições tão importantes de uma área distinta, que tanto me encantou conhecer e pelo auxílio na etapa final do trabalho.

À Dra. Ivana Beatrice Mânica da Cruz, pela participação na banca de qualificação desta tese, pela sua gentileza e pelo auxílio essencial na análise estatística e interpretação dos dados desta tese.

À equipe do Laboratório de Biogenômica da UFSM, pelas análises realizadas e em especial à Me. Thaís Doeler Algarve, pelo auxílio na interpretação de tantas avaliações que eram inicialmente desconhecidas por mim.

À Dra. Edi Lúcia Sartorato e à equipe do Laboratório de Genética Molecular Humana do Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), pelas análises realizadas, pelos ensinamentos e pela agradável recepção prestada em visita feita a Campinas na fase inicial da minha pesquisa, especialmente à Dra. Sueli Matilde da Silva Costa.

Ao Dr. Aron Ferreira da Silveira, por gentilmente fazer o primeiro contato entre a equipe do Laboratório de Biogenômica e eu.

À antiga e à atual equipe do Núcleo de Seleção e Adaptação de Próteses Auditivas (NUSEAPA) da UFSM, por terem participado de diferentes etapas da minha formação, pelas trocas, pelo companheirismo, pelo crescimento conjunto e pela oportunidade de ter trabalhado nesta competente equipe.

À equipe do Serviço de Atendimento Fonoaudiológico (SAF) e Programa de Pós-Graduação em Distúrbios da Comunicação Humana (PPGDCH) da UFSM, por tornarem nossos ambientes e rotinas mais organizados e também mais leves e agradáveis. Obrigado pelo excelente convívio proporcionado em tantos anos.

Aos alunos da UFSM, com os quais pude iniciar meu exercício de docência e confirmar a vontade de seguir o caminho que eu havia escolhido.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pela bolsa concedida no período anterior à minha entrada como docente na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Aos colegas docentes do curso de Fonoaudiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), pelo incentivo na conclusão do meu doutorado, pelo convívio e aprendizados, que seguiremos construindo juntos.

Às fonoaudiólogas e às funcionárias e funcionários do Instituto de Psicologia e Faculdade de Odontologia da UFRGS.

Aos alunos da UFRGS, pela oportunidade de contribuir com a formação de vocês, pelas trocas que estabelecemos e pelos aprendizados diários que me transmitem. Sou muito feliz de exercer com vocês a profissão de docente em uma Universidade pública e de qualidade, sonho almejado desde muito breve na minha formação profissional.

Aos pacientes idosos, pelos quais tenho eterno carinho, admiração e gratidão. Obrigado por compartilharem tantas vivências e por me deixarem ainda mais apaixonado por atuar com pessoas incríveis que têm tanto a contribuir com quaisquer outros que tenham o prazer de escutá-los.

À UFSM, por tudo que vivi, aprendi e desenvolvi ao longo dos quase dez anos de formação nesta Instituição!

*“Deixo tudo assim  
Não me importo em ver a idade em mim  
Ouço o que convém  
Eu gosto é do gasto*

*Sei do incômodo e ela tem razão  
Quando vem dizer, que eu preciso sim  
De todo o cuidado  
E se eu fosse o primeiro a voltar  
Pra mudar o que eu fiz  
Quem então agora eu seria?*

*Ah, tanto faz  
Que o que não foi não é  
Eu sei que ainda vou voltar  
Mas eu, quem será?*

*Deixo tudo assim  
Não me acanho em ver  
Vaidade em mim  
Eu digo o que condiz  
Eu gosto é do estrago*

*Sei do escândalo  
E eles têm razão  
Quando vêm dizer  
Que eu não sei medir  
Nem tempo e nem medo*

*E se eu for o primeiro a prever  
E poder desistir  
Do que for dar errado?*

*Ahhh! Ora, se não sou eu  
Quem mais vai decidir  
O que é bom pra mim?  
Dispensar a previsão  
Ah, se o que eu sou  
É também o que eu escolhi ser  
Aceito a condição*

*Vou levando assim  
Que o acaso é amigo  
Do meu coração  
Quando fala comigo  
Quando eu sei ouvir”*

**O Velho e o Moço – Rodrigo Amarante**

# RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Distúrbios da Comunicação Humana  
Universidade Federal de Santa Maria

## **INFLUÊNCIA DA COGNIÇÃO E DO METABOLISMO LIPÍDICO-INFLAMATÓRIO- OXIDATIVO NO DESEMPENHO AUDITIVO DE IDOSOS APÓS ADAPTAÇÃO DE PRÓTESES AUDITIVAS**

**AUTOR:** ALEXANDRE HUNDERTMARCK LESSA

**ORIENTADORA:** MARISTELA JULIO COSTA

Santa Maria, 11 de dezembro de 2015.

Esta tese teve como objetivos realizar o rastreamento de mutações genéticas associadas à perda auditiva; avaliar o status cognitivo, os níveis de estresse oxidativo, o perfil lipídico e inflamatório, além da percepção de fala e de habilidades do processamento auditivo em pacientes idosos com perda auditiva, a fim de verificar associação entre estas variáveis e possível influência destes aspectos na mudança de desempenho auditivo, após três meses de uso de próteses auditivas, considerando o período de aclimatização. Para isso, 12 idosos com perda auditiva bilateral simétrica de grau leve a moderado foram avaliados. Inicialmente, foram submetidos a diversas análises sanguíneas para análise genética e para avaliar seu metabolismo lipídico, inflamatório e oxidativo. Foram também avaliados cognitivamente por meio da Bateria *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease*; quanto às habilidades auditivas de resolução e ordenação temporal, além de separação e integração binaural, por meio dos testes *Random Gap Detection Test*, Testes Padrão de Duração e de Frequência e Teste Dicótico de Dígitos; em relação à percepção de fala, foram avaliados pela obtenção de Índices de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio e no Ruído, por meio do Teste Listas de Sentenças em Português Brasileiro. Após todas estas avaliações, os idosos fizeram uso de próteses auditivas pelo período de três meses e novamente tiveram as habilidades auditivas e as medidas relacionadas à percepção de fala avaliadas. Os dados foram correlacionados estatisticamente. Nenhum dos idosos apresentou qualquer das mutações genéticas testadas. Ao analisar apenas os dados iniciais, as habilidades auditivas de ordenação e resolução temporal tiveram correlação com algumas avaliações cognitivas e análises de níveis de estresse oxidativo; já as medidas de reconhecimento de fala tiveram correlação apenas com alguns níveis de estresse oxidativo. A diferença de desempenho, entre avaliação pré-adaptação de próteses auditivas e após o período de aclimatização, nas habilidades auditivas de ordenação e resolução temporal, além de integração binaural, teve correlação inversa com algumas avaliações cognitivas; observou-se também que a melhora na habilidade de resolução temporal teve correlação com níveis altos de uma citocina inflamatória e com níveis baixos de um marcador de estresse oxidativo; já na comparação de resultados entre os momentos de avaliação da percepção de fala, nenhuma das variáveis demonstrou diferença estatisticamente significativa. Com isso, percebeu-se que mesmo com prejuízo cognitivo, os idosos apresentam possibilidade de estimulação da plasticidade neural; verificou-se também que as habilidades auditivas, especialmente àquelas ligadas ao processamento auditivo temporal, assim como a percepção de fala em situações de silêncio e ruído, sofreram certa influência, principalmente de níveis de estresse oxidativo, medidos por meio de análises sanguíneas.

**Palavras-chave:** Auxiliares de Audição. Cognição. Estresse Oxidativo. Idoso. Metabolismo. Percepção de Fala. Presbiacusia. Testes Genéticos. Transtornos da Percepção Auditiva.

# **ABSTRACT**

Doctorate's Thesis  
Post-Graduation Program in Human Communication Disorders  
Federal University of Santa Maria

## **COGNITION AND LIPID, INFLAMMATORY, OXIDATIVE METABOLISM INFLUENCE ON OLDER PEOPLE AUDITORY PERFORMANCE POST HEARING AIDS FITTING**

**AUTHOR:** ALEXANDRE HUNDERTMARCK LESSA

**ADVISOR:** MARISTELA JULIO COSTA

Santa Maria, December 11th, 2015.

This thesis aimed to track some genetic mutations associated with hearing loss; to assess cognitive status, oxidative stress level, lipid and inflammatory profile also speech perception and auditory processing skills in elderly patients with hearing loss in order to verify the association between these variables and possible influence of these aspects in changing auditory performance after three months of hearing aids use, considering the acclimatization period. For this, 12 hearing-impaired older people were evaluated. Initially, several blood tests to track some genetic mutations and to check their lipid, inflammatory and oxidative metabolism were done. Cognitively, they were evaluated by the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease; as the hearing abilities of temporal resolution and ordering, and binaural separation and integration through the Random Gap Detection Test, Duration and Pitch Pattern Sequence tests, Dichotic Digits Test; regarding speech perception the patients were evaluated by obtaining Sentences Recognition Indexes in Silence and Noise through the Lists of Sentences in Brazilian Portuguese. After all these evaluations, geriatric patients made use of hearing aids for three months and had auditory skills and measures related to speech perception assessed again. The data were correlated statistically. None of the subjects presented any tested genetic mutations. By analyzing only the initial data, the auditory abilities of temporal ordering and resolution were correlated with some cognitive assessments and oxidative stress levels; concerning the speech recognition, measures were correlated only with some oxidative stress levels. With regard to the difference in performance between pre-hearing aid fitting evaluation and after the acclimatization period, the hearing abilities of temporal ordering and resolution, and binaural integration, had an inverse correlation with some cognitive assessments; it was also observed that the improvement in temporal resolution ability was correlated with high levels of an inflammatory cytokine and low levels of a oxidative stress marker; otherwise the comparison of results between speech perception evaluations, none of the variables showed a statistically significant difference. Thus, it was realized that even cognitive impaired older people present possibility of stimulating neural plasticity; moreover it also found that auditory skills, especially those related to the temporal auditory processing, and the speech perception in quiet and noisy situations, suffered some influence, especially by oxidative stress levels, measured through blood tests.

**Keywords:** Aged; Auditory Perception; Auditory Perceptual Disorders; Cognition; Genetic Testing. Hearing Aids; Oxidative Stress; Presbycusis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Avaliações realizadas pré (inicial) e após três meses (final) da adaptação de próteses auditivas ..... 32

### ARTIGO 2

Figura 1 – Valores obtidos em diferentes momentos de avaliação para o *Random Gap Detection Test*, em idosos com perda auditiva, segundo os níveis de marcadores inflamatório e oxidativo, e valores de significância entre as medidas ..... 79

### ARTIGO 3

Figura 1 – Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças, de acordo com níveis de marcadores bioquímicos de idosos com perda auditiva ..... 103

Figura 2 – Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças obtidos na avaliação inicial e diferença de desempenho entre a avaliação inicial e a avaliação final em idosos com perda auditiva ..... 104

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

- Tabela 1 – Valores de significância e correlação entre resultados de testes de habilidades auditivas e avaliações neuropsicológicas, obtidas na fase pré-adaptação de próteses auditivas, em idosos com perda de audição ..... 52
- Tabela 2 – Valores de significância e correlação entre resultados de avaliações neuropsicológicas e a diferença de desempenho entre avaliações inicial e final de testes que avaliam as habilidades auditivas em idosos com perda de audição ..... 54

### ARTIGO 2

- Tabela 1 – Níveis médios e desvio-padrão das mensurações oxidativas de idosos com perda auditiva, que apresentaram resultados alterados ou dentro da normalidade em cada teste de habilidades auditivas e análise estatística ..... 77
- Tabela 2 - Resultados obtidos nas avaliações de habilidades auditivas, realizadas pré e pós-adaptação de próteses auditivas em idosos com perda auditiva e análise estatística da diferença entre os momentos de avaliação ..... 78

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2 RESENHA TEÓRICA .....</b>	<b>20</b>
2.1 Relação da audição, cognição e processamento auditivo .....	20
2.2 Perfil lipídico-inflamatório-oxidativo .....	22
2.3 Estudos genéticos e moleculares, ligados à audição .....	26
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>28</b>
3.1 Delineamento do estudo .....	28
3.2 Considerações éticas .....	28
3.3 Local da realização do estudo .....	29
3.4 Amostra .....	29
3.5 Procedimentos e avaliações .....	30
3.5.1 Bateria <i>Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease</i> (CERAD) .....	32
3.5.2 <i>Random Gap Detection Test</i> (RGDT) .....	33
3.5.3 Teste Padrão de Duração (TPD) .....	33
3.5.4 Teste Padrão de Frequência (TPF) .....	34
3.5.5 Teste Dicótico de Dígitos (TDD) .....	34
3.5.6 Obtenção das medidas de Reconhecimento de Sentenças .....	35
3.5.6.1 Treinamento .....	36
3.5.6.2 Pesquisa dos Limiares de Reconhecimento de Sentenças .....	36
3.5.6.3 Pesquisa dos Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças .....	36
3.5.7 Análise dos biomarcadores .....	37
3.5.7.1 Coleta e armazenamento das amostras .....	37
3.5.7.2 Análise dos parâmetros do perfil lipídico e glicêmico .....	37
3.5.7.3 Análise dos marcadores inflamatórios .....	38
3.5.7.4 Análise do perfil oxidativo .....	38
3.5.7.4.1 Produto Proteico de Oxidação Avançada (AOPP) .....	38
3.5.7.4.2 Ensaio Fluorimétrico de quantificação de DNA livre por PicoGreen .....	39
3.5.7.4.3 Ensaio da diclofluoresceína diacetato (DCFH-DA) – Análise da Produção intracelular de EROs .....	39
3.5.7.4.4 <i>Ferritin-reducing Ability of Plasma</i> (FRAP) .....	39
3.5.8. Estudo genético: Triagem de mutações nos principais genes envolvidos na surdez .....	40
3.6 Levantamento e análise estatística dos dados .....	41
<b>4 ARTIGO 1 .....</b>	<b>42</b>
<b>5 ARTIGO 2 .....</b>	<b>63</b>
<b>6 ARTIGO 3 .....</b>	<b>89</b>

<b>7 DISCUSSÃO GERAL .....</b>	<b>113</b>
<b>8 CONCLUSÕES .....</b>	<b>121</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>123</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>137</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>144</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A perda auditiva gradual e progressiva que acompanha a idade, conhecida como presbiacusia, é caracterizada pela diminuição da sensibilidade auditiva, principalmente para frequências altas, além da dificuldade para compreender a fala em um ambiente ruidoso, detectar a localização de um som e realizar o processamento central de estímulos acústicos (HUANG, 2007).

A presbiacusia compromete a capacidade para executar as atividades da vida diária dos idosos e aumenta o risco de declínio funcional (MONEGO; COSTA, 2003). Ela está altamente correlacionada com o declínio cognitivo em idosos (MARTIN; JERGER, 2005; PICHORA-FULLER; STINGH, 2006; LIN, 2011; PANZA; SOLFRIZZI; LOGROSCINO, 2015). Autores afirmam que as pessoas com deficiência sensorial alocam mais recursos atencionais para processar a informação sensorial, disponibilizando, assim, menor reserva cognitiva para outras tarefas (LINDENBERGER; BALTES, 1994; SCHNEIDER; DANEMAN; PICHORA-FULLER, 2002).

Uma explicação possível para as significativas correlações entre cognição e sucesso da protetização em novos usuários de próteses auditivas é que aqueles sujeitos com melhores habilidades cognitivas têm uma vantagem em reaprender como associar o som ao significado (PICHORA-FULLER, 2007), envolvendo mais facilmente áreas do cérebro para o ajuste ao complexo processo de adaptação de próteses auditivas (PICHORA-FULLER, 2009).

Em estudos realizados, verificou-se que a variância dos resultados de idosos em testes de reconhecimento de fala tem baixa correlação apenas com a perda auditiva apresentada, ao passo que parte dela poderia ser explicada por fatores cognitivos. Quando a audibilidade é restaurada, diferenças individuais no desempenho entre idosos já não podem ser atribuídas a limiares auditivos; ao invés disso, outros fatores, típicos da idade ou medidas cognitivas, emergem como correlatos ao desempenho no reconhecimento de fala. Logo, o uso de próteses auditivas, muitas vezes, pode não compensar totalmente as dificuldades auditivas dessa população (HUMES, 2002, 2007).

Ao considerarem a relação entre desempenho cognitivo e perda auditiva, pesquisadores demonstraram que idosos com perda auditiva apresentaram escores mais baixos em tarefas cognitivas do que os idosos sem perda auditiva (TAY et al., 2006). Outro estudo evidenciou que a perda auditiva é uma das principais causas para mau desempenho em tais tarefas (RÄIHÄ et al., 2001). Pesquisadores (MARTIN; JERGER, 2005) consideram que uma parte das dificuldades de reconhecimento de fala dos idosos derivam de declínio relacionado à idade em capacidades cognitivas, mudanças no processamento auditivo, ou uma combinação dos dois.

Além dos aspectos referentes à cognição, é importante também considerarmos na população idosa outros fatores de risco como estresse, distúrbios vasculares, doenças sistêmicas, dentre outros, que são agravantes e somatórios para a presbiacusia. (VIUDE, 2002).

O estresse oxidativo causa danos a moléculas importantes do organismo, como as membranas celulares (peroxidação lipídica), além de mutações no Ácido Desoxirribonucleico (DNA) (FRONZA et al., 2011). Investigações têm sugerido que o estresse oxidativo causado por diversos fatores de risco podem alterar a audição (OHLEMILLER, 2009; CHEN; TANG, 2014), isso pelo fato de o estresse oxidativo ocorrer em qualquer parte do organismo, logo, é sugerido que também poderia interferir nas funções da via auditiva (FRONZA et al., 2011).

Radicais livres podem agir sobre vários mediadores inflamatórios, contribuindo para uma inflamação geral responsável por danos aos tecidos (NIJVELDT, 2001), além de estarem ligados com processos de envelhecimento corporal (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). Recentemente, o estresse oxidativo tem sido considerado como um dos fatores de risco de dano microvascular (CAPACCIO et al., 2012).

A hipertensão arterial é outro fator que tem sido associado a risco de declínio em habilidades cognitivas ao longo do envelhecimento (MAGALHÃES et al., 2008). Estudos têm demonstrado desempenho cognitivo mais baixo em idosos portadores de hipertensão, quando comparados aos normotensos (BORTOLOTTI, 1999) e tais alterações cognitivas dizem respeito principalmente a problemas de disfunção executiva e de atenção (DI NUCCI et al., 2010).

Devido à associação de lesões ateroscleróticas com sinais de inflamação local e sistêmica (MELO et al., 2007), é razoável pensar que a microvasculatura

auditiva é também atingida em processos inflamatórios sistêmicos. Logo, a presente pesquisa justifica-se por investigar justamente como a cognição e as possíveis alterações lipídico-inflamatórias-oxidativas influenciam o processo de adaptação de próteses auditivas e o desempenho em habilidades auditivas de pacientes idosos.

Acrescenta-se que há relação do dano auditivo a desordens vasculares, uma vez que a história de doença cardiovascular pode ser um marcador de uma ruptura no sistema microvascular da estria vascular da cóclea (TORRE et al., 2005) e que a perturbação do fluxo sanguíneo pode danificar a microcirculação da cóclea, conforme relatado em recente estudo (CAPACCIO et al., 2012). Além disso, altos níveis de colesterol também influenciam a audição (RAJAGOPALAN et al., 2007).

Por todas as dificuldades que a perda auditiva pode impor aos sujeitos por ela acometidos, deve-se tentar amenizar seus efeitos, a fim de melhorar a qualidade de vida destes indivíduos e, para tal, o uso de próteses auditivas é uma possibilidade (CIORBA et al., 2012).

Em relação aos pacientes com déficit cognitivo e deficiência auditiva, pesquisadores afirmaram que estes se beneficiam com o uso de próteses auditivas e ressaltam que tal melhora não tem relação quanto ao incremento cognitivo destes idosos, mas sim, quanto à melhora de funções auditivas (VAN HOOREN et al., 2005). Em outro estudo, os autores (ALLEN et al., 2003) concluíram que após seis meses de uso, as próteses auditivas não reduziram os sintomas comportamentais e psiquiátricos, mas houve evidências de que os pacientes obtiveram melhoras globais na comunicação.

Acredita-se que idosos sem déficit cognitivo apresentem melhores resultados com a protetização. Ao considerar a adaptação de próteses auditivas como algo que possibilitará que o indivíduo escute novamente os sons que lhe rodeia, é razoável pensar que recursos cognitivos serão disponibilizados para desempenhar outras atividades e, assim, facilitar a plasticidade neural por meio da entrada sensorial dos sons. Da mesma forma, idosos que apresentem menos alterações lipídicas, danos vasculares e danos oxidativos podem ter mais facilidade na melhora de habilidades auditivas, estimuladas a partir da protetização.

A etiologia da perda auditiva é, muitas vezes, desconhecida e seu diagnóstico etiológico nem sempre é fácil de ser estabelecido. Assim, o estudo molecular tem

sido recentemente realizado e tem auxiliado pesquisadores a identificar algumas mutações genéticas que podem ser causadoras de tal deficiência, inclusive em idosos.

O estudo da cognição e do perfil lipídico, além do metabolismo inflamatório, oxidativo e molecular, associado a avaliações do processamento auditivo em idosos, pode elucidar a influência de tais aspectos no sucesso da adaptação de próteses auditivas desta população. A falta de estudos que correlacionem todas estas variáveis justifica a presente pesquisa de doutorado.

Com isso, esta tese teve como objetivos:

- Realizar o estudo molecular em idosos deficientes auditivos por meio do rastreamento de mutações genéticas associadas à perda auditiva;
- Avaliar o status cognitivo, a presença de estresse oxidativo, o perfil lipídico-inflamatório, o reconhecimento de fala e habilidades do processamento auditivo nos idosos pesquisados;
- Verificar a associação dos resultados de testes que avaliam habilidades auditivas com o desempenho cognitivo, além de verificar a influência destes na adaptação de próteses auditivas desta população;
- Verificar se o metabolismo lipídico-oxidativo-inflamatório influencia em habilidades do processamento auditivo e, se exercem função na mudança de desempenho nas habilidades auditivas, a partir da adaptação de próteses auditivas em sujeitos idosos;
- Verificar se a percepção de fala em diferentes condições de escuta está associada ao metabolismo lipídico-inflamatório-oxidativo em idosos com perda auditiva, bem como se estes aspectos influenciam na mudança de desempenho para tal a partir da adaptação de próteses auditivas nestes sujeitos.

Esta tese apresenta-se no Modelo Alternativo, constituindo-se dos capítulos de Introdução, Resenha Teórica, Metodologia, Artigo 1, Artigo 2, Artigo 3, Discussão Geral e Conclusões.

O capítulo de Resenha Teórica está subdividido em três tópicos: Relação da audição, cognição e processamento auditivo em idosos; Perfil lipídico-inflamatório-oxidativo; e Estudos genéticos e moleculares, ligados à audição. Este capítulo não

visa fazer uma revisão bibliográfica sobre cada tema, mas sim situar o leitor em cada um dos assuntos que envolvem a presente tese.

Na Metodologia, estão apresentados detalhadamente os materiais e os métodos utilizados na pesquisa, a fim de possibilitar a replicação destes por outros pesquisadores.

Nos artigos, estão descritos apenas os métodos analisados em cada um deles, assim como os resultados, a discussão e as conclusões realizadas. Os três artigos serão submetidos para publicação em periódicos científicos da área.

Por fim, após a apresentação dos resultados da tese, inseridos nos artigos, tem-se os capítulos de Discussão Geral e Conclusões, que se propõem a discutir e realizar conclusões acerca de todos estes.

## 2 RESENHA TEÓRICA

### 2.1 Relação da audição, cognição e processamento auditivo em idosos

Com o envelhecimento, além do declínio da função auditiva, é percebido declínio da memória e de outras funções corticais superiores como a linguagem, a capacidade de planejamento, e o sequenciamento (PINHEIRO et al., 2012). As pesquisadoras acrescentaram que as dificuldades auditivas nos idosos decorrem de disfunções em estruturas envolvidas no processamento neurológico da informação auditiva que também afetam negativamente a compreensão e a síntese da linguagem.

A audição decresce não só quantitativa, mas também qualitativamente e é comum a queixa do idoso de dificuldade em entender a linguagem falada, particularmente quando outras pessoas falam ao mesmo tempo, ou seja, quando há competição com mensagens de fundo (LIPORACI; FROTA, 2010). Assim, a presbiacusia acarreta a diminuição da habilidade de compreensão, redução na inteligibilidade de fala e comprometimento do processo de comunicação verbal, principalmente em ambiente com ruído competitivo, reduzindo gradativamente o contato social do idoso (MAGALHÃES; IORIO, 2011).

Pesquisas verificaram que a presbiacusia está correlacionada com o declínio cognitivo em idosos (MARTIN; JERGER, 2005; PICHORA-FULLER; STINGH, 2006; KOPPER; TEIXEIRA; DORNELES, 2009; LIN, 2011; PINHEIRO et al., 2012) e uma delas (LIN, 2011) pontuou que a redução no status cognitivo causada por um decréscimo de 25 *decibels* (dB) na audição é semelhante à causada por uma diferença de 7 anos de idade entre um sujeito e outro.

A cognição envolve todo o funcionamento mental, como as habilidades de pensar, de perceber, de lembrar, de sentir, de raciocinar e de responder aos estímulos externos (RABELO, 2009). A autora referiu ainda que se torna mais difícil armazenar e recuperar informações mesmo em idosos que permanecem com as capacidades cognitivas preservadas.

Uma grande ativação cerebral ocorre quando se torna necessário ouvir em ambientes de difícil escuta, logo, para compreender a fala em ambientes acusticamente desfavoráveis, o idoso com perda auditiva neurossensorial necessita de um maior esforço, pois utiliza predominantemente os recursos cognitivos para interpretação da informação (MAGALHÃES; IORIO, 2011). A deficiência na entrada sensorial ou nos processos cognitivos necessários para a interpretação dos sons da fala acarreta obstáculos para a comunicação. Assim, quando a entrada está comprometida, mais recursos cognitivos são necessários para a compreensão da fala, ativando processos compensatórios para obter melhor desempenho (MAGALHÃES; IORIO, 2011).

O uso da audiometria tonal e vocal, para a avaliação da audição do idoso, parece não ser suficiente para prover informações a respeito da forma e do quanto a perda auditiva influencia a sua comunicação, uma vez que a auto percepção de sua capacidade de ouvir é muitas vezes pior do que o esperado por seu audiograma (LIPORACI; FROTA, 2010). Por isso torna-se tão importante a aplicação de outras avaliações, como a do processamento auditivo e do reconhecimento de fala por meio de sentenças nesta população.

Testes de processamento auditivo avaliam como o sujeito recebe as informações acústicas utilizando habilidades auditivas essenciais para que o que ele ouve seja apreendido e em tal avaliação deve constar a análise dos processos temporais (LIPORACI; FROTA, 2010). Já a avaliação do reconhecimento de fala por meio de sentenças possibilita simular situações mais próximas àquelas vividas pelos indivíduos em seu dia a dia (SONCINI et al., 2003; THEUNISSEN; SWANEPOEL; HANEKOM, 2009).

Diversos autores referiram que as habilidades cognitivas, que comumente encontram-se em declínio na população idosa, são exigidas para um bom reconhecimento de fala no ruído (AKERROYD, 2008; GORDON-SALANT; YENI-KOMSHIAN; FITZGIBBONS, 2008; LUNNER; RUDNER; RÖNNERBERG, 2009).

Com o avanço da tecnologia, as próteses auditivas são uma possibilidade para auxiliar na comunicação e estão cada vez mais sofisticadas, a fim de suprir as necessidades do deficiente auditivo (PINHEIRO et al., 2012). A influência do processamento auditivo e da cognição no benefício com as próteses auditivas

também é relatada (LUNNER, 2003) e tais aspectos podem ser considerados, desde a seleção, indicação e adaptação das mesmas (VIACELLI; COSTA-FERREIRA, 2013).

Um recente estudo ressaltou que a investigação da condição cognitiva do indivíduo idoso pode ser importante para o sucesso da adaptação das próteses auditivas e demonstrou tendência de melhor desempenho com as próteses em sujeitos sem alteração cognitiva (ÁVILA et al., 2011), embora, como demonstrou outra pesquisa, mesmo idosos deficientes auditivos com demência estabelecida apresentam melhora na percepção de fala com a adaptação de próteses auditivas (ALLEN et al., 2003).

Pesquisadoras encontraram melhora no processamento auditivo, principalmente naqueles idosos submetidos ao treinamento auditivo, mas também naqueles que apenas fizeram uso das próteses auditivas (MEGALE; IORIO; SCHOCHAT, 2010).

Outro estudo, que avaliou os pacientes antes e após um período mínimo de três meses após a adaptação de próteses auditivas, encontrou melhores resultados na reavaliação tanto no Índice de Reconhecimento de Fala, como no Teste Dicótico de Dígitos, que avalia o processamento auditivo. Para este, inclusive, com diferença estatisticamente significativa entre idosos com e sem déficit cognitivo (PINHEIRO et al., 2012).

## **2.2 Perfil lipídico-inflamatório-oxidativo**

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN), parte integrante do metabolismo humano, é observada em diversas condições fisiológicas e elas têm importante função biológica, como no controle da pressão sanguínea e na fagocitose, um fenômeno em que essas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor. Por outro lado, quando sua produção é exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue controlar e restabelecer o equilíbrio (VASCONCELOS et al., 2007).

O sistema de defesa antioxidante tem o objetivo principal de manter o processo oxidativo dentro dos limites fisiológicos e passíveis de regulação,

impedindo, dessa forma, que os danos oxidativos se amplifiquem, culminando em danos sistêmicos irreparáveis (BARBOSA et al., 2010). O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes, que leva conseqüentemente a um dano celular (BARBOSA et al., 2010). Ele resulta de uma baixa atividade de mecanismos antioxidantes e há fortes evidências de que o estresse oxidativo tem importância capital em processos fisiológicos, como o envelhecimento e conseqüências em muitas condições patológicas, dentre elas, câncer, diabetes, doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e inflamatórias (PREISER, 2012).

O sangue humano é uma excelente fonte de marcadores *in vivo* de estresse oxidativo, pois nele são transportados e redistribuídos antioxidantes modificados por ação de ERO e ERN. Por isso, o sangue é considerado uma amostra biológica potencialmente informativa, já que quando obtida de um sujeito, pode descrever seu estado de saúde no momento da coleta (JACOBS et al., 2005).

O estresse oxidativo causa dano a moléculas importantes do organismo como as membranas celulares (peroxidação lipídica) e mutações no Ácido Desoxirribonucleico (DNA) (FRONZA et al., 2011). Investigações têm sugerido que o estresse oxidativo causado por diversos fatores de risco podem alterar a audição (OHLEMILLER, 2009; CHEN; TANG, 2014), isso pelo fato de o estresse oxidativo ocorrer em qualquer parte do organismo, logo, é sugerido que também poderia interferir nas funções da via auditiva (FRONZA et al., 2011). Estudiosos indicaram, inclusive, a participação do estresse oxidativo em comprometimento do sistema auditivo central (CHEN et al., 2010; ZENG et al., 2014).

Da mesma forma, há relação do dano auditivo a desordens vasculares (CAPACCIO et al., 2012) e pelas evidências da relação entre hipertensão arterial e elevação de marcadores inflamatórios, estes serão explorados.

A proteína C reativa de alta sensibilidade (hsPCR) é um biomarcador que verifica inflamação vascular e sistêmica, desde estágios iniciais e seus valores elevados podem ser considerados como fatores de risco para doença cardiovascular, pois podem ser preditivos para o desenvolvimento de hipertensão futura em indivíduos aparentemente normotensos, o que sugere que a inflamação

possa preceder o desenvolvimento subsequente da hipertensão (SAITO et al., 2003).

Já a Interleucina-6 (IL-6) é o mediador que ativa a síntese hepática de proteínas de fase aguda potencializando um círculo inflamatório, onde pequenos volumes de placas inflamadas podem gerar grande elevação nos marcadores inflamatórios, o que permite a sua detecção no sangue periférico (LIBBY; RIDKER, 1999). Ela é uma citocina envolvida em uma série de atividades imunológicas, especialmente na síntese de substâncias pelo fígado (GOMES; NETO; BISPO, 2009) e é amplamente expressa durante a reação inflamatória, o que produz efeitos indesejáveis em vários órgãos (TONET et al., 2008).

Normalmente a IL-6 é expressa em níveis baixos, exceto durante infecção, trauma ou outros fatores estressantes e dentre os fatores que regulam a sua expressão estão o estrógeno e a testosterona (GOMES; NETO; BISPO, 2009). Assim, em idosos após a menopausa ou andropausa, seus níveis podem estar elevados mesmo na ausência de infecção, trauma ou estresse (ERSHLER; KELLER, 2000).

Autores referem que o aumento da idade associado à elevação sérica da IL-6 é responsável por algumas das mudanças típicas da velhice, como diminuição da massa corporal magra, osteopenia, anemia, diminuição da albumina e de colesterol e aumento de proteínas inflamatórias, como proteína C-reativa (PCR) (GOMES; NETO; BISPO, 2009). Além disso, o aumento da idade associado à IL-6 tem sido associado a doenças linfoproliferativas, mieloma múltiplo, osteoporose e doença de Alzheimer (ERSHLER; KELLER, 2000).

A hiperglicemia também tem vínculo com a síntese imediata de marcadores como a IL-6, com aumentos significativos em diabéticos (SOUZA et al., 2008) e os seus níveis diminuem com o emagrecimento (COSTA; DUARTE, 2006). Níveis elevados de IL-6 estão associados ao risco aumentado de futuras isquemias miocárdicas (RIDKER et al., 2000).

O marcador inflamatório Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) é relacionado a distúrbios metabólicos como obesidade e quadros de resistência à insulina (PEREIRA; VALENSIO; MAGOSSO, 2013). Ele está ligado aos níveis de colesterol LDL em placas ateroscleróticas e em pacientes com histórico de problemas circulatórios, o TNF- $\alpha$  está associado a um maior risco de recorrência de eventos coronários (RIDKER et al., 2000).

Pelo fato de os níveis de TNF- $\alpha$  estarem diretamente correlacionados com o IMC (Índice de massa corporal), uma dieta controlada, exercícios físicos, e logo, perda de peso, promovem a diminuição dos níveis dessa adipocina, e como resultado, há um aumento da sensibilidade à insulina (WISSE, 2004).

A patologia do aparelho circulatório pode afetar diretamente a orelha interna de muitas maneiras, prejudicando uma série de habilidades do sistema auditivo, comprometendo o processamento do sinal acústico ou da fala e, conseqüentemente, a habilidade do indivíduo para a comunicação (MOORE, 1996). Autores acrescentaram que pelo menos uma parte das anomalias auditivas observadas, tanto em nível periférico, quanto central, parece estar relacionada com vias bioquímicas, dano oxidativo induzido por radicais livres e inflamação (HAASE et al., 2011).

Um dos mecanismos vasculares patológicos descritos é o aumento da viscosidade sanguínea, que leva à diminuição do fluxo sanguíneo capilar e acaba diminuindo o transporte de oxigênio (BACHOR et al., 2001), o que acarreta a hipóxia tecidual e possíveis perdas auditivas aos seus portadores (OHINATA et al., 1994). Além disso, devido à hipertensão arterial, podem ocorrer modificações iônicas dos potenciais celulares, levando à diminuição da audição (RAREY et al., 1996).

A pressão elevada no sistema vascular pode resultar em hemorragias na orelha interna, que recebe suprimento de sangue advindo da artéria cerebelar inferior anterior, a qual fornece suporte à artéria do ouvido interno (BACHOR et al., 2001), podendo levar às perdas auditivas súbitas ou progressivas (KATZ, 1989).

A história de doença cardiovascular pode ser um marcador de uma ruptura no sistema microvascular da estria vascular da cóclea (TORRE et al., 2005) e a perturbação do fluxo sanguíneo pode danificar a microcirculação da cóclea, conforme relatado em recente pesquisa (CAPACCIO et al., 2012).

Além de estudiosos que associaram uma redução na sensibilidade auditiva com o comprometido suporte sanguíneo à cóclea (SEIDMAN; QUIRK; SHIRWANY, 1999), outros afirmaram ainda que altos níveis de colesterol também influenciam na audição (RAJAGOPALAN et al., 2007).

### 2.3 Estudos genéticos e moleculares, ligados à audição

As perdas auditivas genéticas representam aproximadamente 50% das perdas auditivas congênitas em países desenvolvidos (TEKIN; ARNOS; PANDYA, 2001). Segundo autores, até 60% das perdas auditivas de grau severo e manifestação pré-lingual tem origem genética (LUBIANCA-NETO; KURC, 2012). As perdas não sindrômicas representam 70% dentre as perdas auditivas genéticas congênitas (CÓSER; CÓSER, 2003).

As perdas auditivas de causas genéticas não sindrômicas tem como uma das principais manifestações, a perda auditiva neurosensorial familiar progressiva, que pode apresentar várias formas clínicas e ter herança dominante, recessiva ou mitocondrial (ESTEVES, 2013).

As perdas auditivas genéticas não sindrômicas são, majoritariamente, monogênicas e heterogêneas. A perda auditiva autossômica dominante costuma ter grau mais leve do que a autossômica recessiva (CÓSER; CÓSER, 2003). Os genes autossômicos recessivos são responsáveis, em sua maioria, por perdas auditivas pré-linguais, neurosensoriais e de grau leve a profundo, já os genes autossômicos dominantes, perdas auditivas neurosensoriais, condutivas, ou mistas, que podem aparecer mais tardiamente e até na vida adulta (RESENDES; WILLIAMSON; MORTON, 2001).

As perdas auditivas autossômicas recessivas representam 80% das não sindrômicas e, um único gene, o gap junction beta-2 protein (GJB2) é responsável por 50% dessas perdas. Segundo pesquisadores uma única mutação, a c.35delG, que é causadora de perda auditiva, destaca-se como a mais prevalente nesse gene (SARTORATO et al., 2000).

Devido à alta prevalência de mutações no gene GJB2, principalmente a c.35delG, como possíveis causadoras de perda auditiva neurosensorial, um recente estudo (ESTEVES, 2013) investigou a presença da mutação c.35delG/GJB2 em sujeitos com perda auditiva e, no decorrer do estudo, foi considerada a recomendação (LUBIANCA-NETO, 2007) para que deleções del(GJB6-D13S1830) e del(GJB6-D13S1854) no gene gap junction beta-6 protein (GJB6) fossem investigadas após a mutação do GJB2, nos indivíduos heterozigotos para c.35delG/GJB2.

A mutação mitocondrial A1555G tem sido apresentada como a principal causa de deficiência auditiva induzida pelo uso de aminoglicosídeos (MALIK et al., 2003). Esta mutação torna o DNA mitocondrial (mtDNA) mais semelhante ao DNA bacteriano e, portanto, mais susceptível à ação dos antibióticos (HUTCHIN; CORTOPASSI, 2000). Antes da administração destes antibióticos, os médicos podem investigar a história de perda auditiva induzida por aminoglicosídeos e considerar a triagem para mutação A1555G em pacientes que deverão se submeter ao tratamento com aminoglicosídeos (GODINHO; KEOGH; EAVEY, 2003).

Na China, um estudo sobre as características audiológicas associadas à mutação no DNA mitocondrial de uma família com 41 membros portadores de surdez encontrou que a deficiência auditiva estava relacionada à mutação mitocondrial A1555G no gene 12S rRNA. Os achados do mesmo revelaram perda auditiva neurossensorial, bilateral, simétrica, muitas vezes de caráter progressivo e com uma grande variação na época de manifestação da perda. Segundo os autores, fatores ambientais podem ser determinantes na expressividade clínica da mutação (XING et al., 2000).

Em pesquisa semelhante, realizada na Itália, com 55 membros de 6 famílias, todos afetados por deficiência auditiva não-sindrômica decorrente da mutação mitocondrial A1555G, a perda auditiva mostrou-se geralmente simétrica, de instalação lenta e progressiva, afetou principalmente as frequências altas e o grau variou de leve a moderado (MORALES et al., 2002).

Numa população dinamarquesa, a prevalência da perda auditiva neurossensorial decorrente de tal alteração do DNA mitocondrial e os sinais clínicos evidenciaram que a deficiência auditiva causada pela mutação mitocondrial A1555G apresenta fenótipos bastante variados no que se refere às características audiológicas, como o grau, configuração e época da manifestação da perda auditiva (ØSTERGAARD et al., 2002).

## **3 METODOLOGIA**

### **3.1 Delineamento do estudo**

O presente estudo tem caráter quantitativo, do tipo intervencional, descritivo e longitudinal.

### **3.2 Considerações éticas**

Este estudo faz parte do projeto “Distúrbios de Audição: Avaliação e Intervenção”, devidamente registrado no Gabinete de Projetos do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) sob o número (nº) 032630 e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UFSM, com parecer de nº 127.520 e certificado de nº 05765712.3.0000.5346.

Os indivíduos convidados foram submetidos à pesquisa, somente após prévia informação sobre os objetivos, procedimentos que seriam adotados, riscos, benefícios, local de armazenamento dos dados e descarte dos mesmos. Estes dados estavam contidos em um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (ANEXO A), que foi assinado por aqueles que concordaram em participar do estudo.

Os participantes poderiam entrar em contato com o examinador pessoalmente ou por telefone quando julgassem necessário e lhes foi assegurado o direito a esclarecimento de quaisquer dúvidas sobre os objetivos, procedimentos ou outro aspecto relativo a este trabalho. Além disso, tiveram total liberdade de continuar participando ou não da pesquisa, conforme a sua disponibilidade, sem qualquer constrangimento ou interrupção dos tratamentos aos quais estavam sendo submetidos.

Os dados são sigilosos e os sujeitos não serão identificados em hipótese alguma.

### 3.3 Local da realização do estudo

A aplicação dos testes e coleta do material biológico para o presente estudo foram realizadas no Laboratório de Próteses Auditivas do Serviço de Atendimento Fonoaudiológico (SAF) da UFSM. As amostras de material biológico, coletadas por farmacêutica habilitada, foram enviadas para análise no Laboratório de Biogenômica da Instituição e no Laboratório de Genética Molecular Humana do Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

### 3.4 Amostra

Setenta e quatro idosos inseridos em um Programa desenvolvido na UFSM e que faz parte da Política Nacional de Atenção à Saúde Auditiva do Ministério da Saúde, atendidos no Núcleo de Seleção e Adaptação de Próteses Auditivas (NUSEAPA) da Instituição, foram convidados a participar do estudo.

Foram adotados alguns critérios de seleção, assim, para fazerem parte da pesquisa, os sujeitos deveriam:

- ter idade igual ou superior a 60 anos (sujeito considerado idoso para países em desenvolvimento);
- ser alfabetizados;
- apresentar diagnóstico audiológico de perda auditiva simétrica bilateral do tipo neurossensorial de grau leve a moderado (DAVIS; SILVERMAN, 1970);
- apresentar limiar de reconhecimento de fala de no máximo 65 decibels (dB) na melhor orelha;
- estar aguardando a adaptação de próteses auditivas e não ter experiência prévia com uso de amplificação sonora;
- participar de todas as etapas da pesquisa.

Vinte e seis idosos compareceram à consulta inicial. Qualquer indivíduo que, por algum motivo, não tenha aceitado participar da pesquisa, não tenha cumprido os critérios de seleção ou que tenha apresentado algum fator que pudesse interferir nas avaliações, como histórico referenciado ou evidente alteração visual ou motora, foi excluído da pesquisa. Com isso, 18 sujeitos participaram da avaliação inicial.

Após a realização das avaliações iniciais, os idosos foram protetizados bilateralmente e fizeram uso efetivo das próteses auditivas pelo período de três meses, considerando o período de aclimatização (GATEHOUSE, 1992), até que foram novamente avaliados. O uso diário das próteses auditivas foi considerado efetivo quando igual ou superior a oito horas, tempo este que foi controlado por meio da ferramenta denominada “*data logging*”, que apresenta esta informação no *software*.

### **3.5 Procedimentos e avaliações**

Os sujeitos passaram por avaliações inicial e final.

A avaliação inicial se deu antes da adaptação das próteses auditivas e foi realizada em quatro momentos, com intervalos de uma semana entre os mesmos.

Na primeira data, os sujeitos foram submetidos à aplicação dos seguintes testes: Mini Exame do Estado Mental; Desenho do Relógio; Fluência Verbal para nomes de animais; Teste de Nomeação de Boston; Lista de Palavras – Recordação Imediata, Recordação Tardia e Reconhecimento; Habilidade Construtiva e Evocação da Praxia Construtiva, contidos na bateria neuropsicológica *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease* (CERAD) (MORRIS et al., 1989; adaptação brasileira de BERTOLUCCI et al., 1998).

Na segunda oportunidade, por meio do teste Listas de Sentenças em Português (LSP), foram obtidos os Limiares de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio (LRSS) e no Ruído (LRSR) e os Índices de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio (IPRSS) e no Ruído (IPRSR). Além disso, nesta data, foram escolhidas as próteses auditivas, que seriam adaptadas posteriormente nos sujeitos.

Já na terceira semana, ocorreu a coleta de material biológico (sangue periférico) dos sujeitos, para posterior análise do perfil lipídico-inflamatório-oxidativo

e molecular. Este foi o único procedimento de coleta realizado por uma farmacêutica habilitada. Todos os demais foram realizados pelo mesmo avaliador.

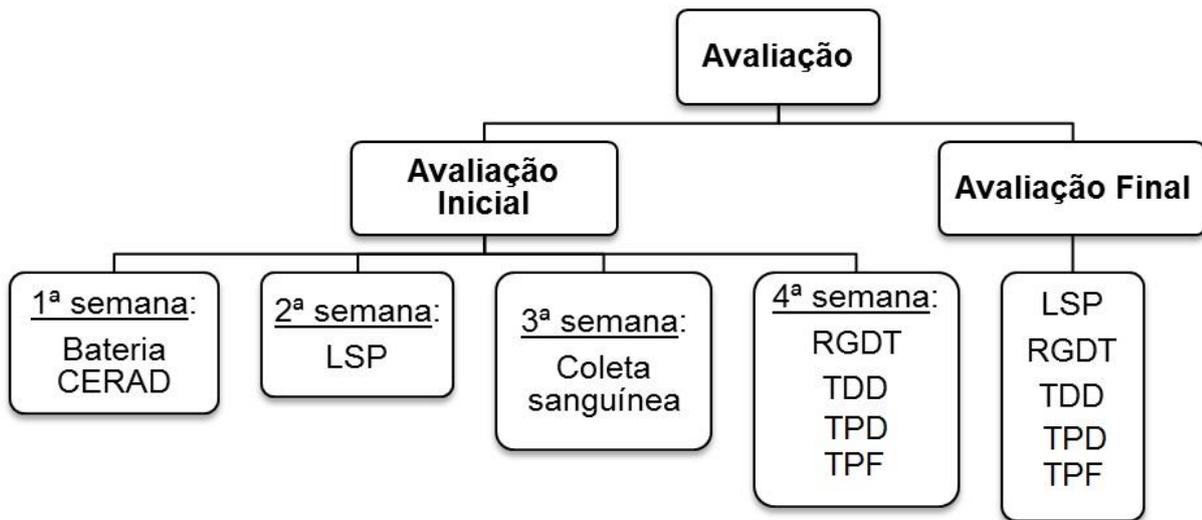
Por fim, na quarta consulta, os pacientes foram submetidos aos testes *Random Gap Detection Test* (RGDT), Teste Dicótico de Dígitos (TDD), Teste Padrão de Duração (TPD) e Teste Padrão de Frequência (TPF) e ocorreu a adaptação das próteses auditivas nos idosos, que foram devidamente orientados quanto ao uso, cuidados e manuseio. Todos os sujeitos foram adaptados bilateralmente com próteses auditivas de mesma tecnologia.

Cerca de 15 dias após a adaptação, os sujeitos compareceram a uma consulta para verificar como estava o uso, para elucidação de quaisquer dúvidas e para possíveis ajustes na regulação das próteses, quando necessário. Entre esta consulta e a etapa de reavaliação, os pacientes poderiam agendar retornos, caso julgassem necessário, porém apenas um deles fez tal solicitação.

Já a avaliação final ocorreu após o período de aclimatização, três meses após a adaptação (GATEHOUSE, 1992). Nesta, os mesmos testes foram aplicados, exceto a Bateria CERAD e a coleta de material biológico aos 12 pacientes que compareceram a todas as consultas. O principal motivo do abandono do estudo deveu-se ao fato de os mesmos estarem satisfeitos com a adaptação às próteses auditivas, por residirem em cidades distantes ou ainda por, muitas vezes, terem necessidade de acompanhantes, o que dificulta o comparecimento para mais consultas e reavaliações.

Tanto na avaliação inicial, quanto final, as medidas foram obtidas sem uso de próteses auditivas, em cabina tratada acusticamente, utilizando-se um audiômetro digital de dois canais, marca *Fonix*, modelo FA-12, tipo I, fones supra-aurais tipo TDH-39 P, da marca *Telephonics* e um sistema de amplificação com caixas de som Iridium PA100 para medidas em campo sonoro. Os estímulos foram apresentados por *Compact Discs (CDs)* inseridos em um *CD Player Digital* da marca Toshiba, modelo 4149, acoplado ao audiômetro.

A fim de facilitar a visualização dos procedimentos realizados nas avaliações inicial e final, o esquema abaixo (Figura 1) ilustra os mesmos.



Legenda: CERAD = *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease*; LSP = Listas de Sentenças em Português; RGDT = *Random Gap Detection Test*; TDD = Teste Dicótico de Dígitos; TPD = Teste Padrão de Duração; TPF = Teste Padrão de Frequência.

**Figura 1.** Avaliações realizadas pré (inicial) e após três meses (final) da adaptação de próteses auditivas.

As avaliações realizadas estão brevemente descritas a seguir:

### 3.5.1 Bateria *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease* (CERAD)

A bateria neuropsicológica CERAD (MORRIS et al., 1989; adaptação brasileira de BERTOLUCCI et al., 1998) envolve a avaliação de múltiplas funções cognitivas, permite detectar quadros demenciais em idosos (BERTOLUCCI et al., 2001). Tal bateria foi testada (MORRIS et al., 1989) e apresentou alto índice de concordância entre examinadores. Outro estudo apontou sua utilidade para detecção de demência em fase inicial (WELSH et al., 1991).

Esta bateria é composta por diversos subtestes. No presente estudo, foram utilizados para avaliação das funções cognitivas os seguintes: Mini Exame do Estado Mental; Desenho do Relógio; Fluência Verbal: Animais; Teste de Nomeação de Boston; Lista de Palavras (Recordação Imediata, Recordação Tardia e Reconhecimento); Habilidade Construtiva e Evocação da Praxia Construtiva.

### 3.5.2 *Random Gap Detection Test* (RGDT)

O RGDT (KEITH, 2000) é um teste que avalia a habilidade auditiva de resolução temporal e envolve a apresentação binaural de um gap inserido em um tom puro nas frequências de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz. O objetivo da avaliação é a determinação do menor intervalo de tempo, em milissegundos (ms), que pode ser detectado pelo sujeito e é obtido pela percepção do mesmo em uma série de pares de estímulos.

O intervalo entre cada par de tons puros varia em intervalos de 0 ms; 2 ms; 5 ms; 10 ms; 15 ms; 20 ms; 25 ms; 30 ms e 40 ms em cada frequência. Os sujeitos foram instruídos a responder gestualmente, se estavam ouvindo um ou dois tons, e então a determinação do limiar foi calculada pela média aritmética dos limiares de detecção de gap obtidos para cada frequência (BELLIS, 2003).

Nos pacientes que não conseguiram identificar os intervalos, aplicou-se a versão expandida, com intervalos de 50 ms; 60 ms; 70 ms; 80 ms; 90 ms; 100 ms; 150 ms; 200 ms; 250 ms e 300 ms.

O RGDT foi aplicado por fones supra-aurais com apresentação bilateral simultânea a 30 dB nível de sensação (NS) ou nível de máximo conforto para o participante (KUK et al., 2014).

### 3.5.3 Teste Padrão de Duração (TPD)

O TPD (AUDITEC, 1997) consiste na apresentação, de modo monótico, de sequências de três tons de 1000 Hz que se diferenciam em duas durações: 500 ms (Longo – L) e 250 ms (Curto – C).

Foi utilizado nível de apresentação de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante (KUK et al., 2014), por fones supra-aurais, com 15 sequências

em cada orelha, que deveriam ser respondidas em forma de nomeação (por exemplo: Curto, Longo, Longo). As sequências poderiam variar em LLC, LCL, LCC, CCL, CLC e CLL. O teste avalia o reconhecimento, ordenação temporal e nomeação de padrões de duração.

#### 3.5.4 Teste Padrão de Frequência (TPF)

O TPF (AUDITEC, 1997) consiste na apresentação, de modo monótico, de sequências de três tons de 300 ms que se diferenciam em duas frequências: 1430 Hz (Fino – F) e 880 Hz (Grosso – G).

Foi utilizado nível de apresentação de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante (KUK et al., 2014), por fones supra-aurais, com 15 sequências em cada orelha, que deveriam ser respondidas em forma de nomeação (por exemplo: Fino, Grosso, Grosso). As sequências poderiam variar em GGF, GFG, GFF, FFG, FGF e FGG. O teste avalia o reconhecimento, ordenação temporal e nomeação de padrões de frequência.

#### 3.5.5 Teste Dicótico de Dígitos (TDD)

O TDD (SANTOS; PEREIRA, 1997) é composto por listas de palavras dissílabas (números “quatro”, “cinco”, “sete”, “oito”, “nove”), ditas simultaneamente de forma dicótica. Em sua aplicação, na etapa que avalia integração binaural, o paciente deveria prestar atenção e repetir todas as palavras que escutasse. Após, na etapa que avalia separação binaural ou escuta direcionada, deveria repetir o que escutou somente de um lado e depois do outro, ignorando o que lhe foi dito na orelha contralateral. Por isso, realizou-se tal avaliação por fones supra-aurais e o nível de apresentação dos estímulos foi de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante (KUK et al., 2014).

Os acertos foram quantificados por orelha em ambas as etapas.

### 3.5.6 Obtenção das medidas de Reconhecimento de Sentenças

O teste Listas de Sentenças em Português Brasileiro (LSP-BR) (COSTA, 1998) é composto por uma lista de 25 sentenças denominada 1A (COSTA; IORIO; MANGABEIRA-ALBERNAZ, 1997), outras sete listas, denominadas 1B, 2B, 3B, 4B, 5B, 6B e 7B, cada uma com 10 sentenças foneticamente balanceadas (COSTA, 1997; COSTA; IORIO; MANGABEIRA-ALBERNAZ, 2000) além de um ruído com espectro de fala (COSTA; IORIO; MANGABEIRA-ALBERNAZ, 1998).

Os LRSS, LRSR, IPRSS e IPRSR foram obtidos em cabina tratada acusticamente, utilizando-se um audiômetro digital de dois canais, além de um sistema de amplificação com caixas de som para medidas em campo sonoro.

Foi realizada previamente a calibração do equipamento para a obtenção das medidas em campo sonoro. Para estabelecer os parâmetros de calibração do canal das sentenças, foi utilizado como referência o tom puro presente na primeira faixa do *CD*. Por sua vez, para a calibração do ruído presente no outro canal do *CD*, por se tratar de um som contínuo, utilizou-se o próprio ruído como referência. A saída de cada canal foi calibrada usando o *VU-meter* do audiômetro. Tanto o tom puro, presente no canal um, quanto o ruído, presente no canal dois, foram ajustados no nível zero.

As sentenças e o ruído, gravados em *CD*, em canais independentes, foram apresentados por *CD Player Digital*, acoplado ao audiômetro e caixas de som descritos.

A obtenção de tais medidas se deu na seguinte ordem: Limiar de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio (LRSS), Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio (IPRSS), Limiar de Reconhecimento de Sentenças no Ruído (LRSR) e Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças no Ruído (IPRSR). Antes de iniciá-las, foi realizado o treinamento para familiarização dos participantes com o teste.

### 3.5.6.1 Treinamento

Para o treinamento das medidas obtidas em silêncio, foram apresentadas as sentenças de 1 a 5 da lista 1A, sem a presença de ruído competitivo. Em seguida, foram obtidos os LRSS e IPRSS.

Além de familiarizar os sujeitos com o teste, o treinamento serve também para a determinação do nível de apresentação inicial necessário, para que cada adulto ou idoso tenha êxito na primeira sentença de cada lista do teste. Assim, antes da obtenção das medidas com ruído, este foi realizado novamente, desta vez com as sentenças de 6 a 10 da lista 1A, com posterior obtenção das medidas de LRSS e IPRSS.

### 3.5.6.2 Pesquisa dos Limiares de Reconhecimento de Sentenças

Para determinar o LRSS foi utilizada a lista 5B sem a presença de ruído competitivo. Já para a obtenção do LRSSR foi usada a lista 6B, com ruído competitivo, mantido fixo/constante no nível de 65 dB NPS (A).

A estratégia utilizada foi a sequencial ou adaptativa, ou ainda, ascendente-descendente (LEVITT; RABINER, 1967). Esta permite mensurar o nível necessário para o indivíduo identificar, de forma correta, aproximadamente 50% dos estímulos de fala apresentados em uma determinada relação sinal/ruído (S/R).

### 3.5.6.3 Pesquisa dos Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças

Após a obtenção do limiar no silêncio, foi fixada a intensidade na qual foi obtido o LRSS, e então, determinado o IPRSS, utilizando a lista 1B, sem ruído competitivo.

Da mesma forma, fixou-se a relação sinal/ruído na qual foi obtido o LRSR e então realizada a pesquisa do IPRSR, utilizando a lista 3B, com ruído competitivo mantido constante a 65 dB NPS(A).

Os Índices foram calculados pela pontuação por palavras (COSTA et al., 2015). Esta forma de cálculo foi escolhida, uma vez que na pontuação tradicional, considera-se resposta correta apenas a repetição de todas as palavras de cada sentença e erro quando toda a frase ou apenas uma palavra contida na mesma é incorreta. Logo, pelo entendimento de que o erro é superestimado por esta estratégia de cálculo, optou-se pela citada.

Para este cálculo, são atribuídos dois pontos para cada palavra de conteúdo (substantivos, adjetivos, verbos, advérbios e numerais) repetida corretamente e um para cada palavra funcional (artigos, as preposições, as conjunções, os pronomes e as interjeições) correta. Ao término da apresentação da lista, é obtido o total de pontos e estes são multiplicados por um valor pré-estabelecido, que resultará no Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças.

### 3.5.7 Análise dos biomarcadores

#### 3.5.7.1 Coleta e armazenamento das amostras

A fim de determinar o perfil lipídico-inflamatório-oxidativo dos sujeitos, amostras de sangue periférico foram coletadas, em jejum de 12 horas, em tubos Vacutainer® com agente coagulante trombina e gel separador. As amostras foram processadas, aliquotadas e mantidas a - 20°C, para posterior análise.

#### 3.5.7.2 Análise dos parâmetros do perfil lipídico e glicêmico

Os níveis de colesterol total, triglicerídeos e glicose foram determinados de acordo com o método enzimático padrão utilizando os reagentes da Ortho-Clinical Diagnostics®. O high-density lipoprotein (HDL-colesterol) foi determinado no sobrenadante do plasma, segundo Bachorik e Albers (1986). Enquanto os níveis de low-density lipoprotein (LDL-colesterol) foram estimados por meio da equação de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

### 3.5.7.3 Análise dos marcadores inflamatórios

Os níveis de citocinas pró-inflamatórias Interleucina-1-beta (IL-1 $\beta$ ), Interleucina-6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interferon-gamma (IFn- $\gamma$ ) e a citocina anti-inflamatória Interleucina-10 (IL-10) foram medidos no soro por imunoenensaio (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA) de acordo com instruções do fabricante (*R&D Systems, Inc.*, Minneapolis, MN, EUA) e os níveis da proteína C reativa de alta sensibilidade (hsPCR) medidos por nefelometria (*Dade Behring*®, Newark, DE, EUA).

### 3.5.7.4 Análise do perfil oxidativo

A fim de avaliar o nível de estresse oxidativo, realizaram-se as análises de Produto Proteico de Oxidação Avançada (AOPP); quantificação de duplas fitas de ácido desoxirribonucleico (DNA) livre no plasma, por meio do reagente fluorescente ultrasensível PicoGreen; análise da produção intracelular de EROs, por meio do ensaio da diclofluoresceína diacetato (DCFH-DA) e medida da capacidade antioxidante do plasma com o *Ferritin-Reducing Ability of Plasma* (FRAP).

#### 3.5.7.4.1 Produto Proteico de Oxidação Avançada (AOPP)

Este é um marcador de estresse oxidativo, gerado pela oxidação de aminoácidos e proteínas. Os níveis dos produtos de oxidação proteica foram determinados por meio de um método descrito por Hanasand et al. (2012).

#### 3.5.7.4.2 Ensaio Fluorimétrico de quantificação de DNA livre por PicoGreen

O ensaio baseia-se na capacidade do corante fluorocromo específico (PicoGreen) fazer um complexo muito estável com DNA dupla fita (dsDNA) livre no plasma, em vez de DNA de cadeia simples (ssDNA), proteínas, dodecil sulfato de sódio (SDS) e ureia, ou seja, realiza-se quantificação de duplas fitas de DNA livre no plasma, por meio do reagente fluorescente ultrasensível PicoGreen. No presente estudo, foi realizada a técnica descrita segundo Ha et al. (2011).

#### 3.5.7.4.3 Ensaio da diclofluoresceína diacetato (DCFH-DA) – Análise da Produção intracelular de EROs

Neste teste a DCFH-DA é hidrolizada pelas esterases intracelulares em DCFH, o qual é mantido dentro da célula. Esta molécula não fluorescente é então oxidada em DFF fluorescente pelos oxidantes celulares. Para realizar esta medida, foi utilizada metodologia proposta por Lebel et al., 1992.

#### 3.5.7.4.4 *Ferritin-reducing Ability of Plasma* (FRAP)

O FRAP é mensurado a fim de verificar o quanto o organismo previne a oxidação do ferro no corpo. No estudo, foi medido pelo método descrito por Benzie e Strain (1996).

### 3.5.8 Estudo genético: Triagem de mutações nos principais genes envolvidos na surdez

Os métodos utilizados para o estudo genético estão brevemente descritos a seguir e encontram-se detalhadamente, como Apêndice (APÊNDICE A) da tese.

A extração do DNA genômico foi realizada a partir de leucócitos obtidos de sangue periférico, coletado em tubos Vacutainer contendo 10% do anticoagulante EDTA. Foi empregado o método de extração com fenol e clorofórmio. Todas as amostras foram testadas para c.35delG e IVS1+1G>A no gene GJB2, assim como para mutações no gene GJB6, a del (GJB6-D13S1830) e del (GJB6-D13S1854), e a m.1555A>G no gene mitocondrial MTRNR1.

Inicialmente, a mutação c.35delG foi rastreada em todos os pacientes por meio da técnica de PCR-alelo específico, como descrito por Scott et al. (1998). Além disso, para rastrear a mutação IVS1+1G>A localizada na região não codificante do gene GJB2 utilizou-se a técnica de RFLP-PCR (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Para a amplificação do éxon 1 e da região flanqueadora do sítio de splicing doador foram utilizados primers descritos por Denoyelle et al. (1999). Os segmentos amplificados foram digeridos com uma enzima de restrição *HphI*, de acordo com as condições recomendadas pelo fabricante.

A análise das deleções del(GJB6-D13S1830) e del(GJB6-D13S1854) foi realizada de acordo com protocolos descritos por Del Castillo et al. (2003, 2005). O rastreamento destas mutações foi realizado por meio de uma PCR *multiplex*, que investiga a presença de ambas as deleções em apenas uma reação.

O rastreamento da mutação m.1555A>G no gene mitocondrial MT-RNR1 foi realizado por amplificação pela técnica PCR, seguida por análise de restrição com a enzima BsmAI, tal como descrito por Prezant et al. (1993).

### **3.6 Levantamento e análise estatística dos dados**

Após o término das avaliações finais, os dados obtidos foram organizados em planilhas Excel e analisados pelo programa estatístico SPSS versão 19. Nos artigos a seguir, estão descritas detalhadamente as análises realizadas.

## **4 ARTIGO 1**

**Influência da cognição em habilidades auditivas de idosos pré e pós  
adaptação de próteses auditivas**

**Cognition influence on auditory skills pre and post hearing aids fitting in older  
people**

Cognição e habilidades auditivas em idosos

## RESUMO

**Objetivos:** verificar a correlação dos resultados de testes que avaliam habilidades auditivas com o desempenho cognitivo, além de verificar a influência destes na adaptação de próteses auditivas em população idosa. **Métodos:** Doze idosos com perda auditiva bilateral simétrica de grau leve a moderado foram avaliados cognitivamente por meio da Bateria *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease* (CERAD) e quanto às habilidades auditivas de resolução e ordenação temporal, além de separação e integração binaural, por meio dos testes *Random Gap Detection Test*, Testes Padrão de Duração e de Frequência e Teste Dicótico de Dígitos, antes da adaptação de próteses auditivas. Após três meses, tiveram as habilidades auditivas novamente avaliadas. Os dados foram correlacionados estatisticamente. **Resultados:** as habilidades auditivas de ordenação e resolução temporal tiveram correlação com algumas avaliações cognitivas. A diferença de desempenho nas habilidades auditivas de ordenação e resolução temporal, além de integração binaural, após aclimatização, teve correlação inversa com algumas avaliações cognitivas. **Conclusões:** idosos pesquisados apresentaram melhor desempenho nas habilidades de ordenação e resolução temporal auditiva, quanto melhor seu desempenho em alguns testes cognitivos. Já quando analisada a diferença de desempenho nas habilidades auditivas antes e três meses depois da adaptação de próteses auditivas, aqueles com pior desempenho cognitivo foram os que apresentaram melhora mais acentuada, demonstrando que mesmo com prejuízo cognitivo apresentam possibilidade de estimulação da plasticidade neural.

**Palavras-chave:** Auxiliares de Audição; Cognição; Idoso; Presbiacusia; Transtornos da Percepção Auditiva.

**ABSTRACT**

**Aim:** To investigate the correlation of auditory skills tests with cognitive performance, and evaluate their influence on the hearing aids fitting in aged people. **Methods:** This study was carried out with 12 hearing-impaired individuals over aged 60 years. They were cognitively assessed through the Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease Battery. The instruments used to evaluate resolution and temporal ordering, as well as separation and binaural integration, were Random Gap Detection Test, Duration Pattern Sequence and Pitch Pattern Sequence tests and Dichotic Digits Test. They were evaluated before the hearing aids fitting and after three months had re-evaluated the auditory abilities. The data were statistically correlated. **Results:** Auditory temporal skills were correlated with some cognitive assessments. The difference on some auditory abilities performance, after the acclimatization period, had an inverse correlation with some cognitive assessments. **Conclusions:** Aged people performed better on the auditory temporal skills, the better your performance on some cognitive tests. But when analyzing the performance difference in the auditory abilities before and three months after the hearing aids fitting, those with worse cognitive performance showed the most marked improvement, demonstrating that exists possibility of neural plasticity stimulating even on cognitive impaired ones.

**Keywords:** Aged; Auditory Perceptual Disorders; Cognition; Hearing Aids; Presbycusis.

## INTRODUÇÃO

A perda auditiva gradual e progressiva que acompanha a idade, conhecida como presbiacusia, é caracterizada pela diminuição da sensibilidade auditiva, principalmente para frequências altas, além da diminuição das capacidades de compreender a fala em ambientes ruidosos, detectar a localização dos sons e realizar o processamento central de estímulos acústicos.<sup>1</sup> Além disso, a presbiacusia está altamente correlacionada com o declínio cognitivo em idosos.<sup>2-4</sup>

A função sensorial e a cognição têm sido consistentemente associadas em idosos. Autores afirmam que as pessoas com deficiência sensorial alocam mais recursos relacionados à atenção para processar a informação sensorial, e com isso, disponibilizam menor reserva cognitiva para outras tarefas.<sup>5</sup>

Assim como os audiologistas começaram a reconhecer que os fatores cognitivos podem desempenhar um importante papel no desempenho auditivo, profissionais envolvidos na investigação sobre a compreensão da linguagem, estão começando a reconhecer que não é possível desprezar as dificuldades auditivas, tão comuns no envelhecimento.<sup>6</sup>

Considerando estas questões, na tentativa de amenizar os efeitos da deficiência auditiva e melhorar a qualidade de vida destes indivíduos idosos, o uso de próteses auditivas é uma possibilidade.<sup>7</sup>

Uma explicação possível para as significativas correlações entre cognição e sucesso da protetização, em novos usuários de próteses auditivas, é que aqueles com melhores habilidades cognitivas têm uma vantagem em reaprender como associar o som ao significado,<sup>8</sup> envolvendo mais facilmente áreas do cérebro para o ajuste ao complexo processo de adaptação de próteses auditivas.<sup>9</sup> Porém, pesquisadores afirmam que pacientes com déficit cognitivo e deficiência auditiva se beneficiam com o uso de próteses auditivas e ressaltam que tal melhora não tem relação quanto ao incremento cognitivo destes idosos, mas sim, quanto à melhora de funções auditivas.<sup>10</sup>

Ao considerar a adaptação de próteses auditivas como algo que possibilita que o indivíduo escute os sons que lhe rodeia, é razoável pensar que recursos

cognitivos são liberados para desempenhar outras atividades e, assim, facilitar a plasticidade neural por meio da entrada sensorial dos sons.

Assim sendo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o status cognitivo e habilidades auditivas nos idosos pesquisados, a fim de verificar a correlação dos resultados de testes que avaliam habilidades auditivas com o desempenho cognitivo, além de verificar a influência deste na mudança de desempenho nas habilidades auditivas após adaptação de próteses auditivas desta população.

## MÉTODOS

### *Aspectos éticos*

Este estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição de origem, com certificado de nº 05765712.3.0000.5346.

Os indivíduos convidados passaram a fazer parte da pesquisa, somente após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foi garantido o sigilo de suas identidades e os sujeitos tiveram liberdade de continuar participando ou não da pesquisa, sem qualquer constrangimento ou interrupção dos tratamentos aos quais estavam sendo submetidos.

### *Delimitação da pesquisa e participantes*

O presente estudo tem caráter quantitativo, do tipo intervencional, descritivo e longitudinal.

Idosos que eram atendidos em uma Instituição Federal de Ensino Superior e aguardavam a concessão de próteses auditivas, por meio de um Programa que faz parte da Política Nacional de Atenção à Saúde Auditiva do Ministério da Saúde do Brasil, foram convidados a participar do estudo.

Foram adotados como critérios de seleção que os sujeitos deveriam: ter idade igual ou superior a 60 anos (classificados como idosos em países em desenvolvimento); ser alfabetizados; apresentar diagnóstico audiológico de perda auditiva simétrica bilateral do tipo neurosensorial de grau leve a moderado;<sup>11</sup> apresentar limiar de reconhecimento de fala de no máximo 65 decibels em nível de audição (dB NA) na melhor orelha; estar aguardando a adaptação de próteses auditivas e não ter experiência prévia com uso de amplificação sonora; além de participar de todas as etapas da pesquisa.

Setenta e quatro sujeitos foram convidados e 26 concordaram em participar da pesquisa. Destes, 18 cumpriam todos os critérios e iniciaram as avaliações. Qualquer indivíduo que, por algum motivo, não tenha aceitado participar da pesquisa, não tenha cumprido os critérios de seleção ou que tenha apresentado algum fator que pudesse interferir nas avaliações, como importante alteração visual ou motora, foram excluídos da pesquisa, orientados com relação aos resultados das avaliações, e continuaram sendo atendidos de acordo com suas necessidades dentro do serviço.

### ***Procedimentos***

Os sujeitos passaram por duas avaliações: inicial e final. A avaliação inicial se deu antes da adaptação das próteses auditivas e foi realizada em diferentes sessões, com intervalo de uma semana entre elas.

Na primeira sessão desta etapa, os sujeitos foram submetidos à aplicação de testes (Mini Exame do Estado Mental; Desenho do Relógio; Fluência Verbal para nomes de animais; Teste de Nomeação de Boston; Lista de Palavras – Recordação Imediata, Recordação Tardia e Reconhecimento; Habilidade Construtiva e Evocação da Praxia Construtiva) contidos na adaptação brasileira<sup>12</sup> da bateria neuropsicológica *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease* (CERAD).<sup>13</sup>

Em outra sessão, os mesmos foram submetidos aos testes *Random Gap Detection Test* – RGDT;<sup>14</sup> Teste Dicótico de Dígitos – TDD;<sup>15</sup> Teste Padrão de Duração – TPD;<sup>16</sup> e Teste Padrão de Frequência – TPF.<sup>16</sup> A aplicação dos testes foi realizada no Laboratório de Próteses Auditivas do Serviço de Atendimento Fonoaudiológico da Instituição.

Após serem submetidos às avaliações iniciais, realizou-se então a escolha e adaptação das próteses auditivas nos idosos, que foram devidamente orientados quanto ao uso, cuidados e manuseio.

Todos os sujeitos foram adaptados bilateralmente com próteses auditivas de mesma tecnologia e fizeram uso das próteses auditivas pelo período de três meses, considerando o período de aclimatização,<sup>17</sup> até que foram novamente avaliados. O

uso diário das próteses auditivas foi considerado efetivo quando igual ou superior a oito horas, tempo este que foi controlado por meio da ferramenta denominada “*data logging*”, que apresenta esta informação no *software*.

Cerca de 15 dias após a adaptação, os sujeitos compareceram a uma consulta para verificar como estava o uso, para elucidação de quaisquer dúvidas e para possíveis ajustes na regulagem das próteses, quando necessário.

Já a avaliação final ocorreu após o período de aclimatização, três meses após a adaptação.<sup>17</sup> Nesta, os testes que avaliam as habilidades auditivas (RGDT, TDD, TPD e TPF) foram novamente aplicados nas mesmas condições de teste nos 12 pacientes que compareceram a todas as consultas. O principal motivo do abandono do estudo deveu-se ao fato de os mesmos estarem satisfeitos com a adaptação às próteses auditivas, por residirem em cidades distantes ou ainda por, muitas vezes, terem necessidade de acompanhantes, o que dificulta o comparecimento para mais consultas e reavaliações.

Tanto na avaliação inicial, quanto na final, as medidas foram obtidas sem uso de próteses auditivas, em cabina tratada acusticamente, utilizando-se um audiômetro digital de dois canais, marca *Fonix*, modelo FA-12, tipo I, fones supra-aurais tipo TDH-39 P, da marca *Telephonics*. Os estímulos foram apresentados por *Compact Discs (CDs)* inseridos em um *CD Player Digital* da marca *Toshiba*, modelo 4149, acoplado ao audiômetro.

As avaliações realizadas estão brevemente descritas a seguir:

#### *Bateria Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD)*

A bateria neuropsicológica CERAD<sup>12,13</sup> envolve a avaliação de múltiplas funções cognitivas e permite detectar quadros demenciais em idosos.<sup>18</sup> Tal bateria foi testada (Morris *et al.*, 1989) e apresentou alto índice de concordância entre examinadores. Outro estudo apontou sua utilidade para detecção de demência em fase inicial.<sup>19</sup>

Esta bateria é composta por diversos subtestes. No presente estudo, foram utilizados para avaliação das funções cognitivas os seguintes: Mini Exame do Estado Mental; Desenho do Relógio; Fluência Verbal: Animais; Teste de Nomeação

de Boston; Lista de Palavras (Recordação Imediata, Recordação Tardia e Reconhecimento); Habilidade Construtiva e Evocação da Praxia Construtiva.

### Random Gap Detection Test (RGDT)

O RGDT<sup>14</sup> é um teste que avalia a habilidade auditiva de resolução temporal e envolve a apresentação binaural de um gap inserido em um tom puro nas frequências de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz. O objetivo da avaliação é a determinação do menor intervalo de tempo em milissegundos (ms) que pode ser detectado pelo sujeito, e é obtido pela percepção do mesmo em uma série de pares de estímulos.

O intervalo entre cada par de tons puros varia em intervalos de 0 ms; 2 ms; 5 ms; 10 ms; 15 ms; 20 ms; 25 ms; 30 ms e 40 ms em cada frequência. Os sujeitos foram instruídos a responder gestualmente, se estavam ouvindo um ou dois tons, e então a determinação do limiar foi calculada pela média aritmética dos limiares de detecção de gap obtidos para cada frequência.<sup>20</sup> Nos pacientes que não conseguiram identificar os intervalos, aplicou-se a versão expandida, com intervalos de 50 ms; 60 ms; 70 ms; 80 ms; 90 ms; 100 ms; 150 ms; 200 ms; 250 ms e 300 ms.

O RGDT foi aplicado por fones supra-aurais com apresentação bilateral simultânea a 30 dB nível de sensação (NS) ou nível de máximo conforto para o participante.<sup>21</sup>

### Teste Dicótico de Dígitos (TDD)

O TDD<sup>15</sup> é composto por listas de palavras dissílabas (números “quatro”, “cinco”, “sete”, “oito”, “nove”), ditas simultaneamente de forma dicótica. Em sua aplicação, na etapa que avalia integração binaural, o paciente deveria prestar atenção e repetir todas as palavras que escutasse. Após, na etapa que avalia separação binaural ou escuta direcionada, deveria repetir o que escutou somente de um lado e depois do outro, ignorando o que lhe foi dito na orelha contralateral. Por isso, realizou-se tal avaliação por fones supra-aurais e o nível de apresentação dos estímulos foi de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante.<sup>21</sup> Os acertos foram quantificados por orelha em ambas as etapas.

### Teste Padrão de Duração – TPD

O TPD<sup>16</sup> consiste na apresentação, de modo monótono, de sequências de três tons de 1000 Hz que se diferenciam em duas durações: 500 ms (Longo – L) e 250 ms (Curto – C).

Foi utilizado nível de apresentação de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante,<sup>21</sup> por fones supra-aurais, com 15 sequências em cada orelha, que deveriam ser respondidas em forma de nomeação (por exemplo: Curto, Longo, Longo). As sequências poderiam variar em LLC, LCL, LCC, CCL, CLC e CLL. O teste avalia o reconhecimento, ordenação temporal e nomeação de padrões de duração.

### Teste Padrão de Frequência – TPF

O TPF<sup>16</sup> avalia o reconhecimento, ordenação temporal e nomeação de padrões de frequência e consiste na apresentação, de modo monótono, de sequências de três tons de 500 ms que se diferenciam em duas frequências: 1430 Hz (Fino – F) e 880 Hz (Grosso – G).

Foi utilizado nível de apresentação de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante,<sup>21</sup> por fones supra-aurais, com 15 sequências em cada orelha, que deveriam ser respondidas em forma de nomeação (por exemplo: Fino, Grosso, Grosso). As sequências poderiam variar em GGF, GFG, GFF, FFG, FGF e FGG. O teste

### ***Levantamento e análise estatística dos dados***

Após o término das avaliações finais, os dados obtidos foram comparados e correlacionados estatisticamente, utilizando o Coeficiente de Correlação de *Spearman*. Tal análise foi realizada correlacionando os dados da Bateria CERAD: 1) com os resultados das avaliações iniciais das habilidades auditivas dos sujeitos, 2) com a diferença de resultados entre as duas fases de avaliação. Foi fixado o nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

Doze idosos com idade média de  $68,3 \pm 6,1$  anos diagnosticados com perda auditiva periférica simétrica, e que estavam sendo avaliados para adaptação de próteses auditivas participaram da pesquisa.

Na tabela 1, vemos os testes da bateria CERAD que tiveram significância e correlação com cada teste aplicado para avaliar as habilidades auditivas do grupo na fase inicial do estudo.

**Tabela 1.** Valores de significância e correlação entre resultados de testes de habilidades auditivas e avaliações neuropsicológicas, obtidas na fase pré-adaptação de próteses auditivas, em idosos com perda de audição (n=12).

Avaliação inicial		
Teste – Habilidade Auditiva	Teste – Bateria Neuropsicológica	Correlação
RGDT	Testes do Relógio ( $p=0,002^*$ ) e de Reconhecimento de Palavras (memória) ( $p=0,025^*$ )	Fortemente negativa com ambos ( $rS=-0,797$ e $rS=-0,641$ )
TDD – Int. Bin. OD	Sem significância com quaisquer testes	-
TDD – Int. Bin. OE	Sem significância com quaisquer testes	-
TDD – Esc. Dir. OD	Sem significância com quaisquer testes	-
TDD – Esc. Dir. OE	Sem significância com quaisquer testes	-
TPD – OD	Teste do Relógio ( $p=0,012^*$ )	Fortemente positiva ( $rS=0,697$ )
TPD – OE	Teste do Relógio ( $p=0,009^*$ )	Fortemente positiva ( $rS=0,712$ )
TPF – OD	Mini Mental ( $p=0,025^*$ )	Fortemente positiva ( $rS=0,640$ )
TPF – OE	Mini Mental ( $p=0,018^*$ )	Fortemente positiva ( $rS=0,665$ )

\* Valor estatisticamente significante ( $p \leq 0,05$ ) – Teste Coeficiente de Correlação de Spearman.

Legenda: RGDT = Random Gap Detection Test; TDD – Int. Bin. = Teste Dicótico de Dígitos – etapa integração binaural; OD = orelha direita; OE = orelha esquerda; TDD – Esc. Dir. = Teste Dicótico de Dígitos – etapa escuta direcionada; TPD = Teste Padrão de Duração; TPF = Teste Padrão de Frequência; rS = coeficiente de correlação de Spearman.

A correlação fortemente negativa do RGDT com os dois testes indica que quanto menor (melhor) o RGDT, maior a pontuação nos testes. Já a correlação fortemente positiva do TPD e do TPF em ambas as orelhas, demonstra que quanto maior (melhor) a pontuação nestes, também maior (melhor) foi a pontuação no teste cognitivo.

Pelo fato de os testes RGDT, TDD, TPD e TPF terem sido aplicados antes e após a protetização, comparou-se os valores iniciais e finais dos mesmos. A tabela 2 apresenta os testes da bateria CERAD que tiveram significância e correlação justamente com esta diferença de desempenho entre as avaliações inicial e final de cada teste aplicado para avaliar as habilidades auditivas.

**Tabela 2.** Valores de significância e correlação entre resultados de avaliações neuropsicológicas e a diferença de desempenho entre avaliações inicial e final de testes que avaliam as habilidades auditivas em idosos com perda de audição (n=12).

<b>Diferença entre avaliação inicial e final X cognição</b>		
<b>Teste – Habilidade Auditiva</b>	<b>Teste – Bateria Neuropsicológica</b>	<b>Correlação</b>
<b>RGDT</b>	Reconhecimento de Palavras (memória) (p=0,042*)	Fortemente positiva (rS=0,593)
<b>TDD – Int. Bin. OD</b>	Testes do Relógio (p=0,021*), de Reconhecimento de Palavras (memória) (p=0,04*) e de Habilidade Construtiva (p=0,014*)	Fortemente negativa com os três (rS= 0,654; rS= 0,598; rS=683)
<b>TDD – Int. Bin. OE</b>	Sem significância com quaisquer testes	-
<b>TDD – Esc. Dir. OD</b>	Sem significância com quaisquer testes	-
<b>TDD – Esc. Dir. OE</b>	Sem significância com quaisquer testes	-
<b>TPD – OD</b>	Sem significância com quaisquer testes	-
<b>TPD – OE</b>	Sem significância com quaisquer testes	-
<b>TPF – OD</b>	Testes do Relógio (p=0,013*) e de Reconhecimento de Palavras (memória) (p=0,025*)	Fortemente negativa com os dois (rS=0,689; rS=0, 641)
<b>TPF – OE</b>	Testes do Relógio (p=0,017*), de Recordação Tardia (p=0,036*) e de Reconhecimento de Palavras (memória) (p=0,013*)	Fortemente negativa com os três (rS=0,670; rS=0,609; rS=0,691)

\* Valor estatisticamente significante (p≤0,05) – Teste Coeficiente de Correlação de Spearman.

Legenda: RGDT = Random Gap Detection Test; TDD – Int. Bin. = Teste Dicótico de Dígitos – etapa integração binaural; OD = orelha direita; OE = orelha esquerda; TDD – Esc. Dir. = Teste Dicótico de Dígitos – etapa escuta direcionada; TPD = Teste Padrão de Duração; TPF = Teste Padrão de Frequência; rS = coeficiente de correlação de Spearman.

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos diferentes testes (RGDT, TPD – OD e OE, TPF – OD e OE) que avaliam aspectos temporais do processamento auditivo (ordenação e resolução), aos quais os idosos foram submetidos, tiveram correlação com pelo menos uma das avaliações cognitivas e de memória na avaliação inicial. Tais correlações indicaram que os sujeitos com melhor cognição apresentaram melhor desempenho nestes testes, do que aqueles com pior desempenho cognitivo na avaliação individual.

Autores citam que déficits cognitivos e no processamento auditivo temporal ocorrem comumente em idosos.<sup>22</sup> A ocorrência de correlação entre os resultados dos testes que avaliam habilidades auditivas com avaliações cognitivas foi evidenciada por pesquisadores que encontraram pior desempenho em testes que avaliam o processamento auditivo em sujeitos com déficit cognitivo, quando comparados a sujeitos controle.<sup>23</sup>

Outra pesquisa demonstrou que idosos com maior comprometimento cognitivo apresentam pior performance em testes que avaliam habilidades auditivas, em relação àqueles com melhor reserva cognitiva.<sup>24</sup>

Quanto aos resultados iniciais do teste Dicótico de Dígitos, no presente estudo, não houve correlação com quaisquer avaliações da bateria CERAD. Já em outra pesquisa ocorreu associação dos resultados do teste Dicótico de Dígitos com testes cognitivos, ou seja, quanto melhor o desempenho cognitivo, melhor foi o resultado no teste de processamento auditivo dos sujeitos avaliados.<sup>25</sup>

Diversas pesquisas falam da relação entre a cognição e a presbiacusia,<sup>26-28</sup> inclusive autoras ponderam que se a perda auditiva realmente tem influência tão marcante no declínio cognitivo, a adaptação de próteses auditivas nos idosos deve ser fortemente estimulada, o mais cedo possível.<sup>29</sup>

A diferença de desempenho entre a avaliação inicial e a final indicou que os idosos com pior desempenho em testes cognitivos e de memória, foram os que mais tiveram melhora em suas habilidades auditivas com o uso das próteses auditivas. Isso, provavelmente, porque aqueles com melhor cognição já haviam tido resultado

satisfatório na primeira avaliação, assim não tiveram grande incremento, caracterizando um efeito teto de desempenho.

Em estudo em que habilidades matemáticas de idosos eram avaliadas, as autoras perceberam que os idosos da comunidade obtiveram porcentagens de acertos muito altas desde o início do teste e, portanto, julgaram que não foi possível avaliar grandes mudanças no desempenho ao longo das sessões, como nos idosos institucionalizados. Segundo elas, pode-se observar no caso dos idosos da comunidade o efeito teto com uma tendência de desempenho estável.<sup>30</sup>

Na presente pesquisa, entre os sujeitos que obtiveram o desempenho máximo ou perto do máximo já na primeira avaliação, as diferenças que poderiam ocorrer nas habilidades na avaliação final foram obscurecidas, por isso não foi possível avaliar alterações, caracterizando um efeito teto para estes indivíduos em determinados testes. Acredita-se que os testes aplicados são fáceis de serem realizados para parte da população pesquisada, que apresentou bons resultados cognitivos, o que justificaria o efeito teto obtido.

Por outro lado, para aqueles com menor desempenho cognitivo, a mudança foi mais evidente, já que melhoraram bastante em suas habilidades auditivas. Este é um achado importante, pois demonstra que, além do fato de a plasticidade ocorrer em sujeitos de terceira idade normais cognitivamente,<sup>31</sup> mesmo idosos com pior status cognitivo estão propensos a mudanças neuronais. Isto vai ao encontro dos estudos de Calero e Navarro, que afirmaram que mesmo indivíduos com comprometimento cognitivo leve ainda apresentam neuroplasticidade suficiente para levar a mudanças neuronais.<sup>32-33</sup>

Este achado reafirma ainda o que foi pontuado por outros estudiosos: pacientes com déficit cognitivo e deficiência auditiva se beneficiam com o uso de próteses auditivas e esta melhora está relacionada ao incremento de funções auditivas.<sup>10</sup>

No presente estudo, a necessidade de diversos retornos para avaliações e o fato de os idosos avaliados, fazerem parte de um serviço específico de saúde pública, foram algumas das limitações do estudo que levaram a um reduzido número de participantes.

Ressalta-se que os idosos avaliados na presente pesquisa apenas fizeram uso das próteses auditivas e receberam acompanhamento do fonoaudiólogo responsável pela protetização, porém sem terapia de reabilitação auditiva. Acredita-

se que sujeitos submetidos a programas de treinamento auditivo teriam benefícios ainda mais evidentes nas avaliações finais, em comparação às iniciais.

Estudos semelhantes em outras populações idosas são necessários para melhor elucidar as relações entre o desempenho em habilidades auditivas e os aspectos cognitivos. Somadas aos resultados encontrados, pesquisas futuras auxiliarão os profissionais na prática clínica e também da comunidade científica a compreender tais relações e melhor abordar estes aspectos com os pacientes idosos e seus familiares.

## CONCLUSÕES

Os idosos da amostra pesquisada, ainda sem uso de próteses auditivas, apresentaram melhor desempenho nas habilidades de ordenação e resolução temporal auditiva, quanto melhor havia sido seu desempenho em alguns testes cognitivos. Não houve correlação entre os testes cognitivos e as habilidades de integração e separação binaural.

Já quando analisada a diferença de desempenho nas habilidades auditivas entre as avaliações realizadas, antes e três meses depois da adaptação de próteses auditivas, aqueles idosos com pior desempenho cognitivo apresentaram melhora mais acentuada em algumas habilidades auditivas com o uso das próteses. Isso demonstra que mesmo idosos com prejuízo cognitivo podem ter a plasticidade neural estimulada e melhorar seu desempenho em importantes habilidades auditivas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Huang T. Age-related hearing loss. *Minn Med* 2007; **90**: 48-50.
- 2 Martin JS, Jerger JF. Some effects of aging on central auditory processing. *JRRD* 2005; **42**: 25-44.
- 3 Pichora-Fuller MK, Singh G. Effects of age on auditory and cognitive processing: implications for hearing aid fitting and audiologic rehabilitation. *Trends Amplif* 2006; **10**: 29-59.
- 4 Lin FR. Hearing loss and cognition among older adults in the United States. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011; **66A**: 1131-1136.
- 5 Schneider BA, Daneman M, Pichora-Fuller MK. Listening in aging: from discourse comprehension to psychoacoustics. *Can J Exp Psychol* 2002; **56**: 139-152.
- 6 Wingfield A, Amichetti NM, Lash A. Cognitive aging and hearing acuity: modeling spoken language comprehension. *Front Psychol* 2015; **6**:684. doi:10.3389/fpsyg.2015.00684
- 7 Ciorba A, Bianchini C, Pelucchi S, Pastore A. The impact of hearing loss on the quality of life of elderly adults. *Clin Interv Aging* 2012; **7**: 159-163.
- 8 Pichora-Fuller MK. *Audition and cognition: What audiologists need to know about listening*. In: Palmer C, Seewald R. *Hearing Care for Adults*. Stäfa, Switzerland: Phonak, 2007. pp. 71-85.
- 9 Pichora-Fuller MK. How cognition might influence hearing aid design, fitting, and outcomes. *Hear J* 2009; **62**: 32-38.
- 10 Van Hooren SAH, Anteunis LJC, Valentijn SAM *et al*. Does cognitive function in older adults with hearing impairment improve by hearing aid use? *Int J Audiol* 2005; **44**: 265-271.

- 11 Davis H, Silverman RS. *Hearing and deafness*. Nova York: Rinehart & Wiston, 1970.
- 12 Bertolucci PHF, Okamoto IH, Toniolo Neto J, Ramos LR, Brucki SMD. Desempenho da população brasileira na bateria neuropsicológica do Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). *Rev Psiquiatr Clín Psiquiatr* 1998; **25**: 80-83.
- 13 Morris JC, Heyman A, Mohs RC *et al*. The Consortium to Establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimers's disease. *Neurol* 1989; **39**: 1159-1165.
- 14 Keith RW. *Random gap detection test*. Missouri: Auditec of Saint Louis, 2000.
- 15 Santos MFC, Pereira LD. *Escuta com dígitos*. In: Pereira LD, Schochat E. Processamento auditivo central: manual de avaliação. São Paulo: Lovise, 1997. pp. 147-150.
- 16 Auditec. *Evaluation manual of pitch pattern sequence and duration pattern sequence*. Missouri, 1997.
- 17 Gatehouse S. The time course and the magnitude of perceptual acclimatization to frequency responses: evidence from monoaural fitting of hearing aids. *J Acoust Soc Am* 1992; **92**: 1258-1268.
- 18 Bertolucci PHF, Okamoto IH, Brucki SMD, Siviero MO, Toniolo Neto J, Ramos LR. Applicability of the CERAD neuropsychological battery to brazilian elderly. *Arg Neuro-Psiquiatr* 2001; **59**: 532-536.
- 19 Welsh KA, Butters N, Hughes J, Mohs R, Heyman A. detection of abnormal memory in mild cases of Alzheimer's disease using CERAD neuropsychological measures. *Arch Neurol* 1991; **48**: 278-281.
- 20 Bellis TJ. *Assessment and management of central auditory processing disorders: in the educational setting from science to practice*. California: Thomson Delmar Searning, 2003.
- 21 Kuk F, Keenan DM, Lau C, Crose B, Schumacher J. Evaluation of a Localization Training Program for Hearing Impaired Listeners. *Ear Hearing* 2014; **35**: 652-666.

- 22 Füllgrabe C, Moore BC, Stone MA. Age-group differences in speech identification despite matched audiometrically normal hearing: contributions from auditory temporal processing and cognition. *Front Aging Neurosci* 2015; **6**:347. doi: 10.3389/fnagi.2014.00347.
- 23 Gates GA, Anderson ML, Feeney MP, McCurry SM, Larson EB. Central auditory dysfunction in older persons with memory impairment or Alzheimer dementia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; **134**: 771-777.
- 24 Idrizbegovic E, Hederstierna C, Dahlquist M, Nordström CK, Jelic V, Rosenhall U. Central auditory function in early Alzheimer's disease and in mild cognitive impairment. *Age Ageing* 2011; **40**: 249-254.
- 25 Pinheiro MMC, Iorio MCM, Miranda EC, Dias KZ, Pereira LD. A influência dos aspectos cognitivos e dos processos auditivos na aclimatização das próteses auditivas em idosos. *J Soc Bras Fonoaudiol* 2012; **24**: 309-315.
- 26 Lin FR, Yaffe K, Xia J *et al.* Hearing loss and cognitive decline in older adults. *JAMA Intern Med* 2013; **173**: 293-299.
- 27 Barnabei R, Bonuccelli U, Maggi S *et al.* Hearing loss and cognitive decline in older adults: questions and answers. *Aging Clin Exp Res* 2014; **26**: 567-573.
- 28 Panza F, Solfrizzi V, Logroscino G. Age-related hearing impairment: a risk factor and frailty marker for dementia and AD. *Nat Rev Neurol* 2015; **11**: 166-175.
- 29 Wayne RV, Johnsrude IS. A review of causal mechanisms underlying the link between age-related hearing loss and cognitive decline. *Ageing Res Rev* 2015; **23**: 154-166.
- 30 Rossit RAS, Ramos LZ, Lopes CF. Performance of elder people in mathematical tasks of conditional discrimination auditive and visual. *Braz J Behav Anal* 2010; **6**: 149-166.
- 31 Porto FHG, Fox AM, Tusch ES, Sorondb F, Mohammed AH, Daffner KR. In vivo evidence for neuroplasticity in older adults. *Brain Research Bulletin* 2015; **114**: 56-61.

32 Calero MD, Navarro E. Relationship between plasticity, mild cognitive impairment and cognitive decline. *Arch Clin Neuropsych* 2004; **19**: 653-660.

33 Calero MD, Navarro E. Cognitive plasticity as a modulating variable on the effects of memory training in elderly persons. *Arch Clin Neuropsych* 2007; **22**: 63-72.

## **5 ARTIGO 2**

**Impacto do metabolismo lipídico-inflamatório-oxidativo nas habilidades  
auditivas após adaptação de próteses auditivas em idosos**

**Lipid-inflammatory-oxidative metabolism impact on auditory skills post hearing  
aids fitting in older adults**

Metabolismo e habilidades auditivas em idosos

**RESUMO**

O presente estudo teve como objetivos verificar se o metabolismo lipídico-oxidativo-inflamatório influencia em habilidades do processamento auditivo e se exercem função na mudança de desempenho, a partir da adaptação de próteses auditivas em idosos. Doze sujeitos com perda auditiva bilateral foram submetidos a análises sanguíneas para avaliar seu metabolismo lipídico, inflamatório e oxidativo e a testes de habilidades do processamento auditivo. Após três meses da protetização, tiveram as habilidades novamente avaliadas e os dados foram correlacionados estatisticamente. Na avaliação pré-adaptação, níveis de estresse oxidativo demonstraram certa influência no processamento temporal; já quanto à diferença de desempenho entre avaliação pré e pós aclimatização, houve correlação da habilidade de resolução temporal com um marcador inflamatório e um oxidativo.

**Palavras-chave:** Auxiliares de Audição; Estresse Oxidativo; Idoso; Metabolismo; Presbiacusia; Transtornos da Percepção Auditiva.

**ABSTRACT**

This study aimed to verify if the lipid, oxidative and inflammatory metabolism influences in auditory processing skills and if these aspects exercised function on performance changing with hearing aids fitting in elderly ones. This study was carried out with 12 hearing-impaired individuals over aged 60 years. They were submitted to several blood analyses to check your lipid, inflammatory and oxidative metabolism and to some auditory abilities tests. Three months later, they had the auditory abilities re-evaluated. The data were statistically correlated. In the pre-hearing aids fitting evaluation, the oxidative stress levels shown some influence in the temporal auditory processing. For the performance difference between pre and post acclimatization assessments, it was observed correlation of temporal resolution ability with one inflammatory and one oxidative marker.

**Keywords:** Aged; Auditory Perceptual Disorders; Hearing Aids; Metabolism; Oxidative Stress; Presbycusis.

## INTRODUÇÃO

A presbiacusia, perda auditiva decorrente da idade, é um acometimento muito comum na população idosa [Lin et al., 2011]. Devido ao rápido aumento desta população em países em desenvolvimento como o Brasil, a prevalência da presbiacusia tende a aumentar, o que é preocupante, uma vez que ela acarreta dificuldade na compreensão da fala, comprometendo a comunicação e podendo levar a consequências psicológicas, sociais e cognitivas [Mick et al., 2014; Panza et al., 2015].

Autores referem que mudanças relacionadas à idade não ocorrem de maneira uniforme e que mais de um processo pode agir sobre o sistema auditivo. Assim, a interação de fatores genéticos e ambientais [Liu and Yan, 2007] pode incrementar a doença microvascular e a geração do estresse oxidativo que estão associadas à ocorrência da presbiacusia [Ohlemiller, 2009; Chen and Tang, 2014].

O estresse oxidativo causa dano a moléculas importantes do organismo e investigações têm sugerido que o excesso deste pode alterar a audição [Ohlemiller, 2009; Chen and Tang, 2014], isso pelo fato de o estresse oxidativo ocorrer em qualquer parte do organismo, logo, é sugerido que também poderia interferir nas funções da via auditiva [Fronza et al., 2011]. Estudiosos indicaram, inclusive, a participação do estresse oxidativo em comprometimento do sistema auditivo central [Chen et al., 2010; Zeng et al., 2014].

Da mesma forma, há relação do dano auditivo a desordens vasculares [Capaccio et al., 2012] e pelas evidências da relação entre hipertensão arterial e elevação de marcadores inflamatórios, essa investigação é importante.

Pesquisadores sugerem que não só a via auditiva periférica, mas também a via auditiva central pode estar afetada na presbiacusia [Liu and Yan, 2007]. Isso é evidenciado pela dificuldade de os idosos realizarem o processamento auditivo central das informações, que se observa principalmente por suas queixas de dificuldades na comunicação, especialmente em situações desfavoráveis de escuta [Panza et al., 2015].

Uma possibilidade para suprir as dificuldades advindas desta perda auditiva é o uso de próteses auditivas, que se bem adaptadas, acarretam em melhora da qualidade de vida dos idosos [Lane and Clark, 2014]. Por isso, a adaptação das

próteses deve ser bem acompanhada, uma vez que estudos mostram que a plasticidade neuronal pode ser estimulada em idosos [Porto et al., 2015], inclusive com melhora nos resultados de avaliações das habilidades auditivas [Van Hooren et al., 2005].

Como em alguns casos a perda auditiva periférica pode estar relacionada ao metabolismo lipídico-oxidativo-inflamatório, a presente pesquisa teve como objetivos: verificar se o metabolismo lipídico-oxidativo-inflamatório influencia também o desempenho em habilidades do processamento auditivo e se exercem função na mudança de desempenho nas habilidades auditivas, a partir da adaptação de próteses auditivas em sujeitos idosos.

## MÉTODOS

### *Delimitação do estudo e participantes*

O presente estudo tem caráter quantitativo, do tipo intervencional, descritivo e longitudinal.

Idosos que eram atendidos em uma Instituição Federal de Ensino Superior e aguardavam a concessão de próteses auditivas, por meio de um Programa que faz parte da Política Nacional de Atenção à Saúde Auditiva do Ministério da Saúde do Brasil, foram convidados a participar do estudo.

Para participar, os idosos deveriam: ter idade igual ou superior a 60 anos (idade inicial para ser considerado idoso em países em desenvolvimento); ser alfabetizados; apresentar diagnóstico audiológico de perda auditiva simétrica bilateral do tipo neurosensorial de grau leve a moderado [Davis e Silverman, 1970]; apresentar limiar de reconhecimento de fala de no máximo 65 decibels em nível de audição (dB NA) na melhor orelha; estar aguardando a adaptação de próteses auditivas e não ter experiência prévia com uso de amplificação sonora; além de participar de todas as etapas da pesquisa.

Setenta e quatro sujeitos foram convidados e 26 concordaram em participar da pesquisa. Destes, 18 cumpriam todos os critérios e iniciaram as avaliações. Qualquer indivíduo que, por algum motivo, não tenha aceitado participar da pesquisa, não tenha cumprido os critérios de seleção ou que tenha apresentado algum fator que pudesse interferir nas avaliações, como importante alteração visual ou motora, foram excluídos da pesquisa, orientados com relação aos resultados das avaliações, e continuaram sendo atendidos de acordo com suas necessidades dentro do serviço.

O estudo foi devidamente registrado e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição de origem, com certificado de nº 05765712.3.0000.5346. Todos os sujeitos concordaram em participar da pesquisa, por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## **Procedimentos**

Os sujeitos passaram por duas avaliações: inicial e final. A avaliação inicial ocorreu antes da adaptação das próteses auditivas em diferentes sessões. Nesta, os sujeitos foram submetidos à aplicação dos testes *Random Gap Detection Test* – RGDT [Keith, 2000], Teste Dicótico de Dígitos – TDD [Santos and Pereira, 1997], Teste Padrão de Duração – TPD [Auditec, 1997] e Teste Padrão de Frequência – TPF [Auditec, 1997]. Ocorreu também a coleta de material biológico (sangue periférico) dos sujeitos, para posterior análise do perfil lipídico-inflamatório-oxidativo.

A aplicação dos testes e coleta do material biológico foram realizadas no Laboratório de Próteses Auditivas do Serviço de Atendimento Fonoaudiológico da Instituição. As amostras de material biológico foram enviadas para análise no Laboratório de Biogenômica da Instituição.

Após serem submetidos às avaliações iniciais, foi realizada a escolha e adaptação das próteses auditivas nos idosos, que foram devidamente orientados quanto ao uso, cuidados e manuseio. Todos os sujeitos foram adaptados bilateralmente com próteses auditivas de mesma tecnologia e fizeram uso das próteses auditivas pelo período de três meses, considerando o período de aclimatização [Gatehouse, 1992], até que foram novamente avaliados.

O uso das próteses auditivas foi considerado efetivo quando igual ou superior a oito horas diárias. Esta informação foi verificada por meio da ferramenta denominada “*data logging*”, presente no *software*.

Cerca de 15 dias após a adaptação, os sujeitos compareceram a uma consulta para verificar como estava o uso, para elucidar quaisquer dúvidas e para possíveis ajustes na regulação das próteses, quando necessário.

Já a avaliação final ocorreu após o período de aclimatização, três meses após a adaptação [Gatehouse, 1992]. Nesta, os quatro testes que avaliam habilidades auditivas (RGDT, TDD, TPD e TPF) foram novamente aplicados nas mesmas condições de teste com os 12 pacientes que compareceram a todas as consultas. O principal motivo do abandono do estudo deveu-se ao fato de os mesmos estarem satisfeitos com a adaptação às próteses auditivas, por residirem

em cidades distantes ou ainda por, muitas vezes, terem necessidade de acompanhantes, o que dificulta o comparecimento para mais consultas e reavaliações.

Tanto na avaliação inicial, quanto na final, as medidas foram obtidas sem uso de próteses auditivas, em cabina tratada acusticamente, utilizando-se um audiômetro digital de dois canais, marca *Fonix*, modelo FA-12, tipo I, fones supra-aurais tipo TDH-39 P, da marca *Telephonics*. Os estímulos foram apresentados por *Compact Discs (CDs)* inseridos em um *CD Player Digital* da marca *Toshiba*, modelo 4149, acoplado ao audiômetro.

As avaliações realizadas estão brevemente descritas a seguir:

## **Testes de habilidades auditivas**

### *Random Gap Detection Test (RGDT)*

O RGDT [Keith, 2000], teste que avalia a habilidade auditiva de resolução temporal, envolve a apresentação binaural de um gap inserido em um tom puro nas frequências de 500, 1000, 2000 e 4000 Hz. O intervalo entre cada par de tons puros varia em intervalos de 0 ms; 2 ms; 5 ms; 10 ms; 15 ms; 20 ms; 25 ms; 30 ms e 40 ms em cada frequência. Para os pacientes que não conseguiram identificar tais intervalos, aplicou-se a versão expandida, com intervalos de 50 ms; 60 ms; 70 ms; 80 ms; 90 ms; 100 ms; 150 ms; 200 ms; 250 ms e 300 ms.

O objetivo da avaliação é determinar o menor intervalo de tempo, em milissegundos (ms), que pode ser detectado pelo sujeito e é obtido pela percepção do mesmo em uma série de pares de estímulos.

Os sujeitos foram instruídos a responder se haviam ouvido um ou dois tons. Assim, calculou-se a média aritmética dos limiares de detecção de gap obtidos para cada frequência, a fim de determinar o limiar [Bellis, 2003]. O RGDT foi aplicado por fones supra-aurais com apresentação bilateral simultânea a 30 dB nível de sensação (NS) ou nível de máximo conforto para o participante [Kuk et al., 2014].

### Teste Dicótico de Dígitos (TDD)

O TDD [Santos and Pereira, 1997] é composto por listas de palavras dissílabas (números “quatro”, “cinco”, “sete”, “oito”, “nove”), ditas simultaneamente de forma dicótica. Para avaliação da integração binaural, o paciente deveria prestar atenção e repetir todas as palavras que escutasse. Após, na etapa que avalia separação binaural ou escuta direcionada, deveria repetir o que escutou somente de um lado e depois do outro, ignorando o que lhe foi dito na orelha contralateral. Por isso, realizou-se tal avaliação por fones supra-aurais e o nível de apresentação dos estímulos foi de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante [Kuk et al., 2014]. Os acertos foram quantificados por orelha em ambas as etapas.

### Teste Padrão de Duração – TPD

O TPD [Auditec, 1997] avalia o reconhecimento, ordenação temporal e nomeação de padrões de duração. Tal teste consiste na apresentação, de modo monótico, de sequências de três tons de 1000 Hz que se diferenciam em duas durações: 500 ms (Longo – L) e 250 ms (Curto – C).

Foi utilizado nível de apresentação de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante [Kuk et al., 2014], por fones supra-aurais, com 15 sequências em cada orelha, que deveriam ser respondidas em forma de nomeação (por exemplo: Curto, Longo, Longo). As sequências poderiam variar em LLC, LCL, LCC, CCL, CLC e CLL.

### Teste Padrão de Frequência – TPF

O TPF [Auditec, 1997] consiste na apresentação, de modo monótico, de sequências de três tons de 300 ms que se diferenciam em duas frequências: 1430 Hz (Fino – F) e 880 Hz (Grosso – G).

Foi utilizado nível de apresentação de 30 dB NS ou nível de máximo conforto para o participante [Kuk et al., 2014], por fones supra-aurais, com 15 sequências em cada orelha, que deveriam ser respondidas em forma de nomeação (por exemplo: Fino, Grosso, Grosso). As sequências poderiam variar em GGF, GFG, GFF, FFG, FGF e FGG. Tal teste avalia o reconhecimento, ordenação temporal e nomeação de padrões de frequência.

## **Análise dos biomarcadores**

### *Coleta e armazenamento das amostras*

A fim de determinar o perfil lipídico-inflamatório-oxidativo dos sujeitos, amostras de sangue periférico foram coletadas, em jejum de 12 horas, em tubos *Vacutainer*® com agente coagulante trombina e gel separador. As amostras foram processadas, aliqüotadas e mantidas a - 20°C, para posterior análise.

### *Análise dos parâmetros do perfil lipídico e glicêmico*

Os níveis de colesterol total, triglicerídeos e glicose foram determinados de acordo com o método enzimático padrão utilizando os reagentes da *Ortho-Clinical Diagnostics*®. O *high-density lipoprotein* (HDL-colesterol) foi determinado no sobrenadante do plasma, segundo Bachorik e Albers (1986). Enquanto os níveis de *low-density lipoprotein* (LDL-colesterol) foram estimados por meio da equação de Friedewald [Friedewald et al., 1972].

### *Análise dos marcadores inflamatórios*

Os níveis de citocinas pró-inflamatórias Interleucina-1-beta (IL-1 $\beta$ ), Interleucina-6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) e a citocina anti-inflamatória Interleucina-10 (IL-10) foram medidos no soro por

imunoensaio (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA) de acordo com instruções do fabricante (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, EUA) e os níveis da proteína C reativa de alta sensibilidade (hsPCR) medidos por nefelometria (Dade Behring®, Newark, DE, EUA).

#### *Análise do perfil oxidativo*

A fim de avaliar o nível de estresse oxidativo, realizaram-se as análises de Produto Proteico de Oxidação Avançada (AOPP); quantificação de duplas fitas de ácido desoxirribonucleico (DNA) livre no plasma, por meio do reagente fluorescente ultrasensível PicoGreen; análise da produção intracelular de EROs, por meio do ensaio da diclofluoresceína diacetato (DCFH-DA) e medida da capacidade antioxidante do plasma com o *Ferritin-Reducing Ability of Plasma* (FRAP).

#### Produto Proteico de Oxidação Avançada (AOPP)

Este é um marcador de estresse oxidativo, gerado pela oxidação de aminoácidos e proteínas. Os níveis dos produtos de oxidação proteica foram determinados por meio de um método descrito por Hanasand et al. (2012).

#### Ensaio Fluorimétrico de quantificação de DNA livre por PicoGreen

O ensaio baseia-se na capacidade do corante fluorocromo específico (PicoGreen) fazer um complexo muito estável com DNA dupla fita (dsDNA) livre no plasma, em vez de DNA de cadeia simples (ssDNA), proteínas, dodecil sulfato de sódio (SDS) e ureia, ou seja, realiza-se quantificação de duplas fitas de DNA livre no plasma, por meio do reagente fluorescente ultrasensível PicoGreen. No presente estudo, foi realizada a técnica descrita segundo Ha et al. (2011).

### Ensaio da diclofluoresceína diacetato (DCFH-DA) – Análise da Produção intracelular de EROs

Neste teste a DCFH-DA é hidrolizada pelas esterases intracelulares em DCFH, o qual é mantido dentro da célula. Esta molécula não fluorescente é então oxidada em DFF fluorescente pelos oxidantes celulares. Para realizar esta medida, foi utilizada metodologia proposta por Lebel et al., 1992.

### Ferritin-reducing Ability of Plasma (FRAP)

O FRAP é mensurado a fim de verificar o quanto o organismo previne a oxidação do ferro no corpo. No estudo, foi medido pelo método descrito por Benzie e Strain (1996).

### **Levantamento e análise estatística dos dados**

Os dados foram inicialmente organizados em planilha eletrônica Excel e posteriormente analisados pelo programa estatístico SPSS versão 19 e pelo programa *Graphpad Prism* (versão 9.0). Os resultados de variáveis quantitativas foram apresentados pela média  $\pm$  desvio-padrão (SD) e das variáveis categóricas pelas frequências relativa e absoluta (% , n).

Os biomarcadores basais do perfil lipídico e glicêmico, estresse oxidativo e inflamação foram comparados entre indivíduos com desempenho esperado e alterado para as habilidades testadas do processamento auditivo (resolução temporal – RGDT; integração e separação binaural – TDD integração binaural e TDD escuta direcionada; e ordenação temporal – TPD e TPF), por meio do Teste t de Student para amostras independentes.

O impacto da adaptação das próteses nas habilidades auditivas investigadas foi avaliado por meio do Teste t de *Student* para amostras pareadas. Para verificar o possível efeito dos marcadores bioquímicos nas habilidades auditivas após a adaptação das próteses, os mesmos foram categorizados utilizando pontos de corte

de referência ou por valores do percentil 50, quando a variável não possuía ponto de corte utilizado na clínica médica. A partir disso, comparou-se a mudança de desempenho nas habilidades auditivas dos idosos com melhores e piores resultados para cada marcador bioquímico.

Utilizou-se como nível de significância  $p \leq 0,05$  para todas as análises.

## RESULTADOS

Nesta pesquisa, participaram 12 idosos com idade média de  $68,3 \pm 6,1$  anos diagnosticados com perda auditiva periférica simétrica, e que estavam sendo avaliados para adaptação de próteses auditivas.

Marcadores bioquímicos, relacionados ao perfil lipídico, glicêmico, metabolismo oxidativo e inflamatório, foram avaliados e comparados com os resultados encontrados nas habilidades auditivas na avaliação inicial. A comparação se deu entre os valores encontrados para cada marcador com o desempenho esperado e alterado em cada habilidade do processamento auditivo.

Nenhuma associação significativa foi observada entre a comparação de sujeitos com normalidade e alteração nas habilidades auditivas avaliadas pelos testes RGDT; TDD – etapas integração binaural e escuta direcionada; TPF e TPD e o perfil lipídico (colesterol total, HDL e LDL; triglicerídeos), glicêmico (glicose) e marcadores inflamatórios (hsPCR; IL-1- $\beta$ ; IL-6; TNF- $\alpha$ ; IFN- $\gamma$ ; IL-10). Os valores foram todos  $p > 0,05$ , por isso, os dados não serão apresentados detalhadamente.

Entretanto, quando realizada a análise dos resultados iniciais de testes de habilidades auditivas com mensurações de estresse oxidativo (Tabela 1), indivíduos com valores de RGDT e TPD da orelha esquerda alterados apresentaram níveis de espécies reativas de oxigênio – ROS – plasmático (DCFH-DA) mais elevados do que indivíduos com desempenho dentro do esperado. Já a alteração no TPD da orelha direita foi associada com níveis elevados de DNA livre no plasma (PicoGreen), o que indica morte celular.

**Tabela 1.** Níveis médios e desvio-padrão das mensurações oxidativas de idosos com perda auditiva, que apresentaram resultados alterados ou dentro da normalidade em cada teste de habilidades auditivas e análise estatística.

Teste	Desempenho	n	DCFH-DA		PG		AOPP		FRAP	
			Média ± DP	P	Média±DP	p	Média ± DP	p	Média ± DP	p
RGDT	Nor	6	93044,88 ± 8590,006	0,046*	22,98 ± 6,462	0,27	13,57 ± 3,549	0,682	772,17 ± 368,706	0,181
	Alt	6	109908,63 ± 15942,542		28 ± 8,345		15,58 ± 11,142		515,5 ± 235,778	
TDD-Int-OD	Nor	3	94020,16 ± 12939,355	0,346	23,36 ± 5,712	0,092	15,27 ± 4,05	0,871	768 ± 271,144	0,47
	Alt	9	103962,29 ± 15555,003		31,88 ± 10,213		14,34 ± 9,091		602,44 ± 343,985	
TDD-Int-OE	Nor	1	84853,88	-	23,98 ± 5,76	-	10,8	-	651	-
	Alt	11	102987,93 ± 14803,655		42,1		14,92 ± 8,248		643,18 ± 339,891	
TDD-EscDir-OD	Nor	6	97134,46 ± 12699,795	0,341	24,16 ± 7,04	0,569	13,77 ± 3,306	0,743	743,5 ± 406,922	0,309
	Alt	6	105819,06 ± 17089,362		26,82 ± 8,529		15,38 ± 11,255		544,17 ± 204,05	
TDD-EscDir-OE	Nor	10	99656,87 ± 13321,196	0,374	19,69 ± 4,223	0,255	15,08 ± 8,665	0,646	639,4 ± 336,474	0,921
	Alt	2	110576,23 ± 26402,902		26,65 ± 7,705		12,05 ± 2,192		666 ± 367,696	
TPD-OD	Nor	5	95859,66 ± 10665,29	0,26	21,63 ± 5,271	0,029*	18,7 ± 11,482	0,242	621,2 ± 277,918	0,849
	Alt	7	105488,97 ± 17163,357		30,89 ± 7,355		11,63 ± 1,947		660 ± 374,604	
TPD-OE	Nor	8	94513,06 ± 8513,774	0,014*	23,42 ± 6,111	531	16,4 ± 9,29	0,281	695,5 ± 344,859	0,461
	Alt	4	115404,2 ± 16549,9		26,52 ± 8,41		10,93 ± 1,989		540,5 ± 293,685	
TPF-OD	Nor	9	101032,28 ± 15000,002	0,869	23,15 ± 8,177	0,562	15,64 ± 8,966	0,446	629,89 ± 364,103	0,81
	Alt	3	102810,21 ± 18517,687		26,27 ± 7,722		11,37 ± 2,417		685,67 ± 209,457	
TPF-OE	Nor	11	102346,78 ± 15469,348	0,533	22,68	0,718	14,66 ± 8,336	0,905	618,18 ± 326,872	0,388
	Alt	1	91906,56		25,75 ± 7,9		13,6		926	

\* Valor estatisticamente significante ( $p \leq 0,05$ ) - Teste t de Student para amostras independentes.

Legenda: DCFH-DA = Diclofluoresceína diacetato; PG = PicoGreen; AOPP = Produto Proteico de Oxidação Avançada; FRAP = Ferritin-reducing Ability of Plasma; DP = desvio padrão; Nor = normal; Alt = alterado; RGDT = Random Gap Detection Test; ms = milissegundos; TDD-Int = Teste Dicótico de Dígitos – etapa integração binaural; OD = orelha direita; % = por cento; OE = orelha esquerda; TDD-EscDir = Teste Dicótico de Dígitos – etapa escuta direcionada; TPD = Teste Padrão de Duração; TPF = Teste Padrão de Frequência.

A mudança de desempenho nos testes que avaliam as habilidades testadas foi também demonstrada (Tabela 2). O RGDT e o TDD na etapa de integração binaural de ambas as orelhas apresentaram melhora estatisticamente significativa na

avaliação após três meses da adaptação das próteses auditivas. Não foi observado efeito estatisticamente significativo para TDD na etapa de escuta direcionada, assim como para TPD e TPF de ambas as orelhas.

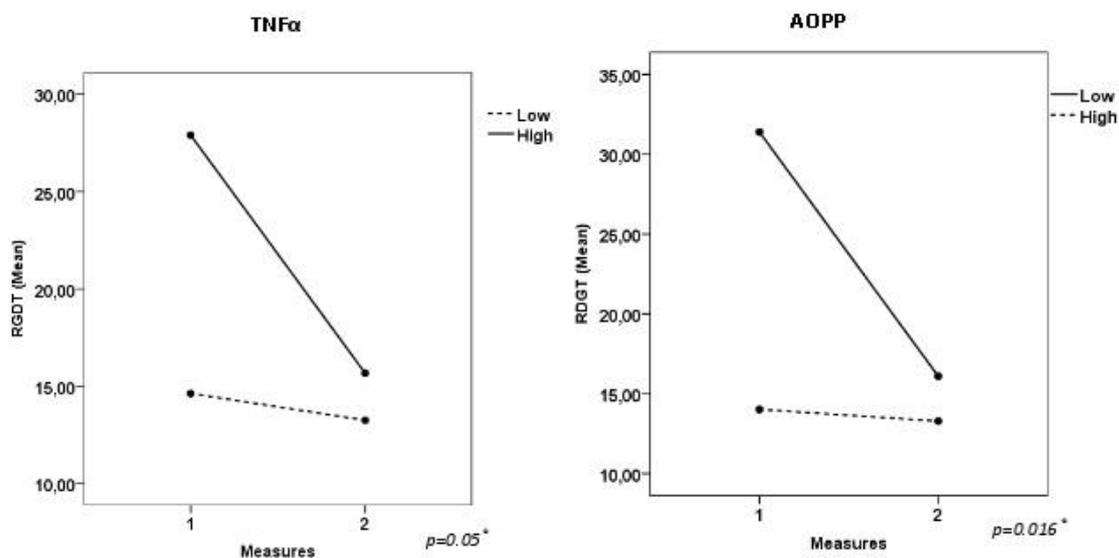
**Tabela 2.** Resultados obtidos nas avaliações de habilidades auditivas, realizadas pré e pós-adaptação de próteses auditivas em idosos com perda auditiva e análise estatística da diferença entre os momentos de avaliação.

	Avaliação inicial			Avaliação final			p
	Mín	Máx	Média ± DP	Mín	Máx	Média ± DP	
<b>RGDT (ms)</b>	2	50	21,26 ± 14,3	2	47,5	14,46 ± 20	0,018*
<b>TDD-Int-OD (%)</b>	12,5	97,5	64,17 ± 27,6	5	97,5	72,71 ± 24,9	0,025*
<b>TDD-Int-OE (%)</b>	37,5	90	66,46 ± 19,3	40	100	76,04 ± 19,2	0,024*
<b>TDD-EscDir-OD (%)</b>	0	100	79,17 ± 29,1	0	100	81,25 ± 30	0,336
<b>TDD-EscDir-OE (%)</b>	50	100	87,92 ± 21,6	40	100	86,25 ± 17,1	0,785
<b>TPD-OD (%)</b>	20	100	74,46 ± 24,6	26,7	100	78,33 ± 25,33	0,244
<b>TPD-OE (%)</b>	33,3	100	75,53 ± 27,6	13,3	100	76,77 ± 22,67	0,368
<b>TPF-OD (%)</b>	40	100	85,53 ± 7,33	80	100	92,8 ± 17,33	0,092
<b>TPF-OE (%)</b>	40	100	90,53 ± 12	60	100	92,8 ± 16,67	0,493

\* Valor estatisticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) - Teste t de Student para amostras pareadas.

Legenda: Mín = mínimo; Máx = máximo; DP = desvio padrão; RGDT = Random Gap Detection Test; ms = milissegundos; TDD-Int = Teste Dicótico de Dígitos – etapa integração binaural; OD = orelha direita; % = por cento; OE = orelha esquerda; TDD-EscDir = Teste Dicótico de Dígitos – etapa escuta direcionada; TPD = Teste Padrão de Duração; TPF = Teste Padrão de Frequência.

A seguir foi realizada análise do impacto da interação entre habilidades auditivas e marcadores lipídicos, glicêmicos e oxidativo-inflamatórios na adaptação às próteses. A habilidade auditiva que demonstrou ser mais diretamente afetada por marcadores bioquímicos a partir da adaptação das próteses auditivas foi a de resolução temporal, avaliada pelo RDGT. No caso, duas variáveis influenciaram a melhora nesta habilidade: TNF $\alpha$  e AOPP e esta melhora está demonstrada abaixo (Figura 1). Esta figura demonstra que indivíduos com níveis elevados do marcador inflamatório (TNF $\alpha$ ) e com níveis mais baixos do marcador oxidativo (AOPP) apresentaram uma melhora significativa no desempenho para o teste RGDT quando comparados com indivíduos com melhores níveis de TNF $\alpha$  e piores níveis de AOPP, respectivamente.



\* Valor estatisticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) - Teste t de Student para amostras pareadas.

Legenda: TNFα = Fator de Necrose Tumoral-α; AOPP = Produto Proteico de Oxidação Avançada; RGDT – Random Gap Detection Test; 1 = Avaliação inicial; 2 = Avaliação final.

**Figura 1.** Valores obtidos em diferentes momentos de avaliação para o *Random Gap Detection Test*, em idosos com perda auditiva, segundo os níveis de marcadores inflamatório e oxidativo, e valores de significância entre as medidas.

Para outras variáveis existiram algumas tendências de interação entre a adaptação às próteses auditivas e marcadores bioquímicos. Entretanto, elas foram mais tênues e não houve significância. Por este motivo, os resultados não foram apresentados detalhadamente.

## DISCUSSÃO

Marcadores bioquímicos relacionados ao perfil lipídico e glicêmico, além do metabolismo oxidativo e inflamatório, foram avaliados nos idosos da pesquisa. Quando se realizou a comparação de sujeitos com normalidade e alteração na avaliação inicial das habilidades auditivas testadas e o perfil lipídico, glicêmico e marcadores inflamatórios, nenhuma associação significativa foi observada.

Já quando realizada a análise dos resultados iniciais de testes de habilidades auditivas com mensurações de estresse oxidativo, indivíduos com valores alterados de RGDT e DPS da orelha esquerda apresentaram níveis de ROS plasmático (*reactive oxygen species*), medidos pelo DCFH-DA, mais elevados do que indivíduos com desempenho dentro do esperado. Além disso, a alteração no DPS da orelha direita foi associada com níveis elevados de DNA livre no plasma – mensurados por meio do *PicoGreen* – que indica morte celular [Jaeschke et al., 2012].

A concentração elevada de espécies reativas de oxigênio (ROS) pode gerar uma condição conhecida como estresse oxidativo, cujos resultados podem ser bastante danosos ao organismo humano [Oliveira and Schoffen, 2010]. No presente estudo, os idosos com maior concentração de ROS tiveram pior desempenho em testes que avaliam a resolução e a ordenação temporal. Somado a isto, os idosos com níveis mais elevados de DNA livre no plasma, condição que também indica dano celular, tiveram pior desempenho em teste que avalia a ordenação temporal. Dessa maneira, observando os dados da população estudada, há indícios de que o processamento auditivo temporal pode sofrer influência do estresse oxidativo.

Os efeitos cumulativos de diversos fatores podem causar danos relativamente graves às células ciliadas internas, ao nervo auditivo e aos nervos centrais auditivos [Ruan et. al., 2014]. Não foram encontrados na literatura outros estudos que tenham avaliado a relação do processamento auditivo com as variáveis aqui pesquisadas. Porém autores relatam que muitas características de envelhecimento são moduladas pelo estresse oxidativo, o que seria causado, dentre outros aspectos, pelo desequilíbrio entre a produção e a catálise de ROS [Labunskyy and Gladyshev, 2013]. Já foi demonstrada, por exemplo, elevação do estresse oxidativo em sujeitos com espectro autístico [Rossignol and Frye, 2014].

Após três meses de uso das próteses auditivas, os idosos do presente estudo foram novamente submetidos aos testes que avaliam as habilidades auditivas, para verificar se houve mudança no desempenho e se esta foi influenciada pelo perfil lipídico e glicêmico e pelo metabolismo inflamatório e oxidativo. Pela comparação entre os resultados, verificou-se que, nesta análise, apenas o desempenho da habilidade de resolução temporal, avaliada pelo teste RGDT sofreu influência de uma variável inflamatória (TNF $\alpha$ ) e uma oxidativa (AOPP).

Os idosos que apresentavam taxas elevadas para a variável inflamatória, inicialmente apresentavam um desempenho no RGDT pior que aqueles com melhores níveis, porém demonstraram-se propensos a uma melhora muito grande, enquanto aqueles com níveis mais adequados de TNF $\alpha$ , pouco melhoraram.

Esse pequeno incremento no RGDT dos pacientes com menores taxas da citocina inflamatória pode ter sido causado por um resultado satisfatório já na primeira avaliação, caracterizando um efeito teto para a medida. Efeito este que já foi percebido em populações idosas e relatado por pesquisadores de diferentes áreas, como equilíbrio [Pardasaney et al., 2012] e matemática [Rossit et al., 2010]. Pelo fato de alguns idosos terem apresentado resultado muito bom já na primeira avaliação, não foi possível dimensionar na totalidade, com o instrumento utilizado, a melhora que pode ter ocorrido para tal habilidade avaliada nesta parte da amostra estudada.

Por outro lado, a informação de que os indivíduos com maior inflamação sistêmica da amostra conseguiram ter a plasticidade estimulada, e seu desempenho na habilidade auditiva avaliada positivamente incrementada, é uma informação importante. Isto porque estudos vêm discutindo o papel da citocina TNF $\alpha$  em relação a aspectos relacionados à memória, à doença de Alzheimer e mudanças neuronais no envelhecimento [McAfoose et al., 2009; Swardfager et al., 2010]. Os autores citam que os resultados seguem inconsistentes, já que em algumas pesquisas a presença da TNF $\alpha$  evidencia-se como importante no processo de desenvolvimento neuronal, enquanto em outros como determinante para o declínio cognitivo e disfunção neuronal.

Como referido, uma variável oxidativa também influenciou a mudança de desempenho da habilidade de resolução temporal. Os pacientes com níveis mais

baixos do marcador AOPP tiveram uma grande melhora na reavaliação, o que sugere que indivíduos com menor oxidação estão propensos a um incremento significativo em sua performance auditiva.

O processamento auditivo temporal é especialmente importante quando se pensa na comunicação dos pacientes idosos, pois influencia diretamente na percepção das informações de fala, para a discriminação de pistas sutis presentes na mensagem ouvida, para o reconhecimento de traços distintivos entre fonemas e para a discriminação de palavras semelhantes [Dlouha et al., 2007].

A relação do processamento auditivo com as variáveis aqui investigadas ainda não havia sido pesquisada, porém muitos autores já descreveram associação, por exemplo, de altos níveis de AOPP com diferentes acometimentos: nefrológico [Descamps-Latscha et al., 2005], cardíaco [Feng et al., 2010], depressivo [Vargas et al., 2013], diabetes [Korkmaz et al., 2013], espectro autístico [Rossignol and Frye, 2012] e diferentes tipos de câncer [Maia Ribeiro et al., 2013; Kilic et al., 2014].

Acredita-se que estudos semelhantes em outras populações idosas são necessários para melhor elucidar as relações entre o desempenho em habilidades auditivas e todos os fatores metabólicos investigados, uma vez que estes têm sido cada vez mais valorizados em pesquisas sobre diversas alterações. Isto ajudará a expandir o conhecimento acerca de um assunto ainda pouco explorado na prática clínica e comunidade científica.

Com base em nossos achados, sugere-se que alterações nos níveis inflamatórios e oxidativos podem ter influência no desempenho de habilidades auditivas centrais, especialmente as que avaliam o aspecto temporal dos sons.

## CONCLUSÕES

A presente pesquisa demonstrou que nenhuma associação significativa foi observada entre a comparação de idosos com normalidade e alteração nas habilidades auditivas avaliadas e o perfil lipídico, glicêmico e marcadores inflamatórios. Entretanto, houve algumas associações com mensurações de estresse oxidativo e habilidades de ordenação e resolução temporais.

Quanto à diferença de desempenho em habilidades auditivas com a adaptação das próteses auditivas, a mais diretamente afetada por marcadores inflamatórios e oxidativos, foi a de resolução temporal. Para outras habilidades auditivas foram verificadas algumas tendências de interação entre a adaptação às próteses e marcadores bioquímicos, porém sem significância.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Auditec. Evaluation manual of pitch pattern sequence and duration pattern sequence. Missouri: Auditec of Saint Louis, 1997.

Bachorik OS, Albers JJ. Precipitation methods for quantification of lipoproteins. *Method Enzymol* 1986; 129:78-100.

Bellis TJ. Assessment and management of central auditory processing disorders the educacional setting. California, Thomson Delmar Searning, 2003.

Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239:70-76.

Capaccio P, Pignataro L, Gaini LM, Sigismund PE, Novembrino C, De Giuseppe R, Uva V, Tripodi A, Bamonti F. Unbalanced oxidative status in idiopathic sudden sensorineural hearing loss. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012; 269:449-453.

Chen B, Zhong Y, Peng W, Sun Y, Kong WJ. Age-related changes in the central auditory system: Comparison of D-galactose-induced aging rats and naturally aging rats. *Brain Reas* 2010; 1344: 43-53.

Chen H, Tang J. The role of mitochondria in age-related hearing loss. *Biogerontol* 2014; 15: 13-19.

Davis H, Silverman RS. Hearing and deafness. New York, Rinehart & Wiston, 1970.

Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, London GM, Jungers P. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 39-47.

Dlouha O, Novak A, Vokral J. Central auditory processing disorder (CAPD) in children with specific language impairment (SLI). Central auditory tests. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2007; 71: 903-907.

Feng Y, Shen C, Ma G, Wang J, Chen Z, Dai Q, Zhi H, Yang C, Fu Q, Shang G, Guan Y. Prolonged pain to hospital time is associated with increased plasma advanced oxidation protein products and poor prognosis in patients with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction. *Heart Vessels* 2010; 25: 374-378.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.

Fronza AB, Menna-Barreto DC, Tochetto TM, Cruz IBM, Silveira AF. Association between auditory pathway efferent functions and genotoxicity in young adults. *Braz J Otorhinolaryngol* 2011; 77: 107-114.

Gatehouse S. The time course and the magnitude of perceptual acclimatization to frequency responses: evidence from monoaural fitting of hearing aids. *J Acoust Soc Am* 1992; 92: 1258-1268.

Ha TTN, Huy NT, Murao LA, Lan NTP, Thuy TT, Tuan HM, Nga CTP, Tuong VV, Dat TV, Kikuchi M, Yasunami M, Morita K, Huong VTQ, Hirayama K. Elevated Levels of Cell-Free Circulating DNA in Patients with Acute Dengue Virus Infection. *PLoS One* 2011; 6: e25969. DOI: 10.1371/journal.pone.0025969

Hanasand M, Omdal R, Norheim KB, Gøransson LG, Brede C, Jonsson G. Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 901-906.

Jaeschke H, McGill MR, Ramachandran A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metab Rev* 2012; 44: 88-106.

Keith RW. Random gap detection test. Missouri, Auditec of Saint Louis, 2000.

Kilic N, Yavuz Taslipinar M, Guney Y, Tekin E, Onuk E. An investigation into the serum thioredoxin, superoxide dismutase, malondialdehyde, and advanced oxidation protein products in patients with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2014; 21:4139-4143.

Korkmaz GG, Altinoglu E, Civelek S, Sozer V, Erdenen F, Tabak O, Uzun H. The association of oxidative stress markers with conventional risk factors in the metabolic syndrome. *Metabolism* 2013; 62: 828-835 .

Kuk F, Keenan DM, Lau C, Crose B, Schumacher J. Evaluation of a localization training program for hearing impaired listeners. *Ear Hear* 2014; 35: 652-666.

Labunskyy VM, Gladyshev VN. Role of reactive oxygen species-mediated signaling in aging. *Antioxid Redox Signal* 2013; 19: 1362-1372 .

Lane KR, Clark MK. Assisting older persons with adjusting to hearing aids. *Clin Nurs Res*. DOI:10.1177/1054773814563350.

Lebel CP, Ischiropoulos H, Bondy SC. Evaluation of the probe 2', 7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem Res Toxicol* 1992; 5: 227-231.

Lin FR, Thorpe R, Gordon-Salant S, Ferrucci L. Hearing loss and cognition among older adults in the United States. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011;66A:1131-1136.

Liu XZ, Yan D. Ageing and hearing loss. *J Pathol* 2007; 211: 188-197.

Maia Ribeiro EA, Ribeiro EE, Viegas K, Teixeira F, dos Santos Montagner GF, Mota KM, Barbisan F, da Cruz IB, de Paz JA. Functional, balance and health determinants

of falls in a free living community Amazon riparian elderly. *Arch Gerontol Geriatr* 2013; 56: 350-357.

McAfoose J, Koerner H, Baune BT. The effects of TNF deficiency on age-related cognitive performance. *Psychoneuroendocrino* 2009; 34: 615-619.

Mick P, Kawachi I, Lin FR. The Association between Hearing Loss and Social Isolation in Older Adults. *Otolaryng Head Neck* 2014; 150: 378-384.

Ohlemiller KK. Mechanisms and Genes in Human Strial Presbycusis from Animal Models. *Brain Res* 2009; 1277: 70-83.

Oliveira MC, Schoffen JPF. Oxidative stress action in cellular aging. *Braz Arch Biol Technol* 2010; 53: 1333-1342.

Panza F, Solfrizzi V, Logroscino G. Age-related hearing impairment - a risk factor and frailty marker for dementia and AD. *Nat Rev Neurol* 2015; 11: 166-175.

Pardasaney PK, Latham NK, Jette AM, Wagenaar RC, Ni P, Slavin MD, Bean JF. Sensitivity to Change and Responsiveness of Four Balance Measures for Community-Dwelling Older Adults. *Phys Ther* 2012; 92: 388-397.

Porto FHG, Fox AM, Tusch ES, Sorondb F, Mohammed AH, Daffner KR. In vivo evidence for neuroplasticity in older adults. *Brain Res Bull* 2015; 114: 56-61.

Rossignol DA, Frye RE. Evidence linking oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and inflammation in the brain of individuals with autism. *Front Phys* 2014; 5: 1-15.

Rossit RAS, Ramos LZ, Lopes CF. Performance of elder people in mathematical tasks of conditional discrimination auditive and visual. *Braz J Behav Anal* 2010; 6: 149-166.

Ruan Q, Ma C, Zhang R, Yu Z. Current status of auditory aging and anti-aging research. *Geriatr Gerontol Int* 2014;14: 40-53.

Santos MFC, Pereira LD. “Escuta com dígitos”. In: Pereira LD, and Schochat E., editors. *Processamento auditivo central: manual de avaliação*. São Paulo, Lovise. 1997, pp. 147-50.

Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2010; 68: 930-941.

Van Hooren SAH, Anteunis LJC, Valentijn SAM, Bosma H, Ponds RWHM, Jolles J, van Boxtel MP. Does cognitive function in older adults with hearing impairment improve by hearing aid use? *Int J Audiol* 2005; 44: 265-271.

Vargas HO, Nunes SO, de Castro MR, Vargas MM, Barbosa DS, Bortolasci CC, Venugopal K, Dodd S, Berk M. Oxidative stress and inflammatory markers are associated with depression and nicotine dependence. *Neurosci Lett* 2013; 544: 136-140.

Zeng L, Yang Y, Hu Y, Sun Y, Du Z, Xie Z, Zhou T, Kong W. Age-Related Decrease in the Mitochondrial Sirtuin Deacetylase Sirt3 Expression Associated with ROS Accumulation in the Auditory Cortex of the Mimetic Aging Rat Model. *PLoS One* 2014; 9: e98726. DOI: 10.1371/journal.pone.0088019

## **6 ARTIGO 3**

**Análise genética e influência do metabolismo lipídico-inflamatório-oxidativo na percepção de fala de idosos com perda auditiva**

**Genetic analysis and lipid-inflammatory-oxidative metabolism on hearing-impaired older adults speech perception**

Metabolismo e percepção de fala em idosos

## RESUMO

**Objetivos:** Realizar o rastreamento de mutações genéticas associadas à perda auditiva; além de verificar se o metabolismo lipídico-inflamatório-oxidativo influencia no desempenho para reconhecer a fala e, se estes aspectos influenciam na mudança de desempenho para tal, a partir da adaptação de próteses auditivas em sujeitos idosos. **Métodos:** 12 idosos com perda auditiva bilateral simétrica de grau leve a moderado foram submetidos a diversas análises sanguíneas para rastrear mutações genéticas e avaliar seu metabolismo lipídico, inflamatório e oxidativo. Foram também avaliados quanto ao reconhecimento de fala, pela obtenção de Índices de Reconhecimento de Sentenças no silêncio e no ruído (por meio do Teste Listas de Sentenças em Português), antes da adaptação de próteses auditivas. Após três meses da protetização, tiveram as medidas novamente obtidas. Os dados foram correlacionados estatisticamente. **Resultados:** Nenhum dos idosos apresentou qualquer das mutações genéticas testadas. Na avaliação inicial, apenas os níveis de diclofluoresceína diacetato (DCFH-DA) e Produto Proteico de Oxidação Avançada (AOPP) exerceram influência nas medidas obtidas no silêncio e de *Ferritin-Reducing Ability of Plasma* (FRAP), no ruído. Já na comparação de resultados pré e pós-adaptação de próteses auditivas, nenhuma das variáveis demonstrou diferença estatisticamente significativa. **Conclusões:** Os idosos avaliados não apresentaram nenhuma mutação genética testada. Variáveis ligadas ao estresse oxidativo exerceram influência no desempenho de idosos para reconhecer a fala, tanto no silêncio, quanto no ruído. Nenhum dos biomarcadores apresentou influência estatisticamente significativa na mudança de desempenho auditivo, após o período de aclimatização das próteses auditivas, na população estudada.

**Palavras-chave:** Auxiliares de Audição; Estresse Oxidativo, Idoso; Percepção de Fala; Testes Genéticos.

## ABSTRACT

**Purpose:** To track some genetic mutation associated with hearing loss; to verify if the lipid, inflammatory, oxidative metabolism influences the performance in speech perception and if these aspects influence the change in speech perception test, with hearing aids fitting in elderly ones. **Methods:** This study was carried out with 12 hearing-impaired individuals over aged 60 years. They were submitted to several blood analyses to check your lipid, inflammatory and oxidative metabolism. They were also assessed for speech perception, obtaining Sentences Recognition Indexes in Quiet and in Noise (through the Lists of Sentences in Brazilian Portuguese test) before the hearing aids fitting. After three months, the measures were obtained again. The data were statistically correlated. **Results:** None of the subjects presented any tested genetic mutations. At baseline, only the Dichloro-dihydro-fluorescein diacetate (DCFH-DA) and Advanced Oxidation Protein Products (AOPP) levels exerted influence on obtained measurements in silence and the Ferritin-Reducing Ability of Plasma (FRAP), in noise. In the comparison of pre and post hearing aids fitting, none of the variables showed a statistically significant difference. **Conclusion:** The older people evaluated showed no tested genetic mutation. Variables related to oxidative stress exerted influence on the elderly people speech perception performance, both in silence and in noise. None of the biomarkers showed a statistically significant influence on the auditory performance change after the acclimatization period, in the studied population.

**Keywords:** Aged; Genetic Testing; Hearing Aids; Oxidative Stress; Speech Perception.

## INTRODUÇÃO

A perda auditiva decorrente da idade, denominada presbiacusia, é um acometimento muito comum na população idosa<sup>1</sup>; população esta que cresce rapidamente, principalmente em países em desenvolvimento. A exemplo disso, no Brasil, a parcela de pessoas com mais de 60 anos aumentou quase 100% em duas décadas, uma vez que esta contabilizava cerca de 10,7 milhões em 1991 e ultrapassou os 20,5 milhões em 2010<sup>2</sup>.

Com o grande crescimento do número de idosos, a prevalência da presbiacusia tende a aumentar, o que é preocupante, pois esta acarreta dificuldade na compreensão da fala e conseqüente prejuízo na comunicação dos sujeitos, o que pode levar também a comprometimentos psicológicos, sociais e cognitivos<sup>3,4</sup>.

A dificuldade para reconhecer a fala em situações de difícil escuta, como na presença de ruído competitivo e velocidade de fala aumentada é referida como uma das principais queixas dos idosos, especialmente naqueles com perda auditiva<sup>4,5</sup>. Porém apenas a perda auditiva não explica completamente tais dificuldades<sup>5,6</sup>.

A avaliação do reconhecimento da fala por meio de testes que utilizem sentenças é importante, pois desta forma é possível simular situações mais próximas àquelas vividas cotidianamente pelos indivíduos<sup>7</sup>. A aplicação do teste Listas de Sentenças em Português Brasileiro – LSP-BR<sup>8</sup> possibilita investigar a habilidade de reconhecimento de sentenças, tanto na presença, quanto na ausência de ruído.

Pelo fato de fatores de risco como estresse, distúrbios vasculares, doenças sistêmicas, dentre outros, serem agravantes e somatórios para a presbiacusia<sup>9</sup>, considerando que as mudanças relacionadas à idade não ocorrerem de maneira uniforme e por mais de um processo poder agir sobre o sistema auditivo, a pesquisa da relação entre o desempenho de idosos com as mais diferentes variáveis é importante.

A interação de fatores genéticos e ambientais<sup>10</sup> podem incrementar a doença microvascular e a geração do estresse oxidativo que estão associadas à ocorrência da presbiacusia<sup>11,12</sup>. Questiona-se se estes fatores, além de terem impacto na perda auditiva periférica, influenciam também o desempenho dos idosos em reconhecer a fala.

Estudos mostram que a plasticidade neuronal pode ser estimulada em idosos<sup>13</sup> e uma alternativa para suprir as dificuldades decorrentes da perda auditiva é o uso de próteses auditivas, que se bem adaptadas, acarretam em melhora da qualidade de vida dos idosos<sup>14</sup>.

Dessa maneira, além de realizar o rastreamento de algumas mutações genéticas associadas à perda auditiva, o presente estudo teve como objetivos verificar se a percepção de fala em diferentes condições de escuta está associada ao metabolismo lipídico-inflamatório-oxidativo em idosos com perda auditiva, bem como se estes aspectos influenciam na mudança de desempenho para tal, a partir da adaptação de próteses auditivas nestes sujeitos.

## MÉTODOS

Esta pesquisa foi devidamente registrada e aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição de origem, com certificado de nº 05765712.3.0000.5346 e caracteriza-se como um estudo de caráter quantitativo, do tipo intervencional, descritivo e longitudinal.

Pacientes que eram atendidos em uma Instituição Federal de Ensino Superior e aguardavam a concessão de próteses auditivas, por meio de um Programa que faz parte da Política Nacional de Atenção à Saúde Auditiva do Ministério da Saúde do Brasil, foram convidados a participar do estudo. Aqueles que concordaram em participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Para fazerem parte da pesquisa, os sujeitos deveriam seguir alguns critérios de seleção: ter idade igual ou superior a 60 anos (idade mínima para ser considerado idoso em países em desenvolvimento); ser alfabetizados; apresentar diagnóstico audiológico de perda auditiva simétrica bilateral do tipo neurosensorial de grau leve a moderado<sup>15</sup>; apresentar limiar de reconhecimento de fala de no máximo 65 decibels em nível de audição (dB NA) na melhor orelha; estar aguardando a adaptação de próteses auditivas e não ter experiência prévia com uso de amplificação sonora; além de participar de todas as etapas da pesquisa.

Cerca de 70 sujeitos foram convidados e 26 concordaram em participar da pesquisa. Destes, 18 cumpriam todos os critérios e iniciaram as avaliações. Os sujeitos passaram por duas avaliações: inicial e final. A avaliação inicial se deu antes da adaptação das próteses auditivas. Nesta, ocorreu a coleta de material biológico (sangue periférico) dos sujeitos, para posterior análise genética e do perfil lipídico-inflamatório-oxidativo. Nesta etapa, por meio do teste Listas de Sentenças em Português Brasileiro (LSP-BR)<sup>8</sup>, foram obtidos também os Limiares de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio (LRSS) e no Ruído (LRSR) e os Índices de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio (IPRSS) e no Ruído (IPRSR).

A aplicação dos testes e coleta do material biológico foram realizadas no Laboratório de Próteses Auditivas do Serviço de Atendimento Fonoaudiológico da Instituição. As amostras de material biológico, coletadas por farmacêutica habilitada, foram enviadas para análise nos Laboratórios de Biogenômica da Instituição e de Genética Molecular Humana de Universidade parceira.

Após a realização das avaliações iniciais, realizou-se a seleção e adaptação das próteses auditivas nos idosos, que foram devidamente orientados quanto ao uso, cuidados e manuseio. Todos tiveram próteses auditivas de mesma tecnologia adaptadas bilateralmente e fizeram uso das próteses auditivas pelo período de três meses, considerando o período de aclimatização<sup>16</sup>, até que foram novamente avaliados. O uso diário das próteses auditivas foi considerado efetivo quando igual ou superior a oito horas, tempo este que foi controlado por meio da ferramenta denominada “*data logging*”, que apresenta esta informação no *software*.

Cerca de 15 dias após a adaptação, os sujeitos compareceram a uma consulta para verificar como estava o uso, para elucidação de quaisquer dúvidas e para possíveis ajustes na regulagem das próteses, quando necessário.

Já a avaliação final ocorreu após o período de aclimatização, três meses após a adaptação<sup>16</sup>. Nesta, os testes que avaliam o reconhecimento de fala por meio de sentenças foram novamente aplicados. Tanto na avaliação inicial, quanto na final, as medidas foram obtidas sem o uso das próteses auditivas.

Dos 18 pacientes, apenas 12 concluíram a avaliação final. O principal motivo do abandono do estudo deveu-se ao fato de os mesmos estarem satisfeitos com a adaptação às próteses auditivas, por residirem em outras cidades ou ainda por muitas vezes precisarem de acompanhantes, o que dificultava o comparecimento para mais consultas e reavaliações. As avaliações realizadas estão brevemente descritas a seguir:

### **Estudo genético: Triagem de mutações nos principais genes envolvidos na surdez**

A extração do DNA genômico foi realizada a partir de leucócitos obtidos de sangue periférico, coletado em tubos *Vacutainer* contendo 10% do anticoagulante EDTA. Foi empregado o método de extração com fenol e clorofórmio. Todas as amostras foram testadas para c.35delG e IVS1+1G>A no gene GJB2, assim como

para mutações no gene GJB6, a del (GJB6-D13S1830) e del (GJB6-D13S1854), e a m.1555A>G no gene mitocondrial MTRNR1.

Inicialmente, a mutação c.35delG foi rastreada em todos os pacientes por meio da técnica de PCR-alelo específico<sup>17</sup>. Além disso, para rastrear a mutação IVS1+1G>A localizada na região não codificante do gene *GJB2* utilizou-se a técnica de *RFLP-PCR* (*Restriction Fragment Length Polymorfism*). Para a amplificação do éxon 1 e da região flanqueadora do sítio de splicing doador foram utilizados *primers* descritos por pesquisadores<sup>18</sup>. Os segmentos amplificados foram digeridos com uma enzima de restrição *HphI*, de acordo com as condições recomendadas pelo fabricante.

A análise das deleções del(*GJB6-D13S1830*) e del(*GJB6-D13S1854*) foi realizada de acordo com protocolos descritos<sup>19,20</sup>. O rastreamento destas mutações foi realizado por meio de uma PCR *multiplex*, que investiga a presença de ambas as deleções em apenas uma reação.

O rastreamento da mutação m.1555A>G no gene mitocondrial MT-RNR1 foi realizado por amplificação pela técnica PCR, seguida por análise de restrição com a enzima *BsmAI*<sup>21</sup>.

## **Análise dos biomarcadores**

### *Coleta e armazenamento das amostras*

A fim de determinar o perfil lipídico-inflamatório-oxidativo dos sujeitos, amostras de sangue periférico foram coletadas, em jejum de 12 horas, em tubos *Vacutainer*® com agente coagulante trombina e gel separador. As amostras foram processadas, aliquotadas e mantidas a - 20 graus *Celsius* (°C), para posterior análise.

### *Análise dos parâmetros do perfil lipídico e glicêmico*

Os níveis de colesterol total, triglicerídeos e glicose foram determinados de acordo com o método enzimático padrão utilizando os reagentes da *Ortho-Clinical Diagnostics*®. O *high-density lipoprotein* (HDL-colesterol) foi determinado no sobrenadante do plasma<sup>22</sup>. Enquanto os níveis de *low-density lipoprotein* (LDL-colesterol) foram estimados por meio da equação de Friedewald<sup>23</sup>.

#### *Análise dos marcadores inflamatórios*

Os níveis de citocinas pró-inflamatórias Interleucina-1-beta (IL-1 $\beta$ ), Interleucina-6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) e a citocina anti-inflamatória Interleucina-10 (IL-10) foram medidos no soro por imunoensaio (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA) de acordo com instruções do fabricante (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, EUA) e os níveis da proteína C reativa de alta sensibilidade (hsPCR) medidos por nefelometria (Dade Behring®, Newark, DE, EUA).

#### *Análise do perfil oxidativo*

A fim de avaliar o nível de estresse oxidativo, realizaram-se as análises de Produto Proteico de Oxidação Avançada (AOPP); quantificação de duplas fitas de ácido desoxirribonucleico (DNA) livre no plasma, por meio do reagente fluorescente ultrasensível PicoGreen; análise da produção intracelular de EROs, por meio do ensaio da diclofluoresceína diacetato (DCFH-DA) e medida da capacidade antioxidante do plasma com o *Ferritin-Reducing Ability of Plasma* (FRAP).

#### Produto Proteico de Oxidação Avançada (AOPP)

Este é um marcador de estresse oxidativo, gerado pela oxidação de aminoácidos e proteínas. Os níveis dos produtos de oxidação proteica foram determinados por meio de um método descrito em recente pesquisa<sup>24</sup>.

#### Ensaio Fluorimétrico de quantificação de DNA livre por PicoGreen

O ensaio baseia-se na capacidade do corante fluorocromo específico (PicoGreen) fazer um complexo muito estável com DNA dupla fita (dsDNA) livre no plasma, em vez de DNA de cadeia simples (ssDNA), proteínas, dodecil sulfato de sódio (SDS) e ureia, ou seja, realiza-se quantificação de duplas fitas de DNA livre no plasma, por meio do reagente fluorescente ultrasensível PicoGreen. No presente estudo, foi realizada a técnica descrita por pesquisadores japoneses<sup>25</sup>.

#### Ensaio da diclofluoresceína diacetato (DCFH-DA) – Análise da Produção intracelular de EROs

Neste teste a DCFH-DA é hidrolizada pelas esterases intracelulares em DCFH, o qual é mantido dentro da célula. Esta molécula não fluorescente é então oxidada em DFF fluorescente pelos oxidantes celulares. Para realizar esta medida, foi utilizada uma clássica metodologia<sup>26</sup>.

#### *Ferritin-reducing Ability of Plasma (FRAP)*

O FRAP é mensurado a fim de verificar o quanto o organismo previne a oxidação do ferro no corpo. No estudo, utilizou-se metodologia definida para tal<sup>27</sup>.

## **Obtenção das medidas de Reconhecimento de Sentenças**

O teste Listas de Sentenças em Português Brasileiro (LSP-BR)<sup>8</sup> é composto por uma lista de 25 sentenças denominada 1A, outras sete listas, denominadas 1B, 2B, 3B, 4B, 5B, 6B e 7B, cada uma com 10 sentenças foneticamente balanceadas<sup>28</sup>, além de um ruído com espectro de fala<sup>29</sup>.

Os LRSS, LRSR, IPRSS e IPRSR foram obtidos em cabina tratada acusticamente, utilizando-se um audiômetro digital de dois canais, além de um sistema de amplificação com caixas de som para medidas em campo sonoro.

Foi realizada previamente a calibração do equipamento, tanto do canal das sentenças, quanto do ruído. Além disso, realizou-se o treinamento para obtenção das medidas sem e com a presença de ruído competitivo, a fim de familiarizar o paciente com o teste e para determinar a intensidade inicial necessária.

Após isso, a obtenção das medidas se deu na seguinte ordem: Limiar de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio (LRSS), Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio (IPRSS), Limiar de Reconhecimento de Sentenças no Ruído (LRSR) e Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças no Ruído (IPRSR).

### Pesquisa dos Limiares de Reconhecimento de Sentenças

Para determinar o LRSS foi utilizada a lista 5B sem a presença de ruído competitivo. Já para a obtenção do LRSR foi usada a lista 6B, com ruído competitivo, mantido fixo/constante no nível de 65 dB em nível de pressão sonora (NPS (A)).

A estratégia utilizada foi a sequencial ou adaptativa, ou ainda, ascendente-descendente<sup>30</sup>. Esta permite mensurar o nível necessário para o indivíduo identificar,

de forma correta, aproximadamente 50% dos estímulos de fala apresentados em uma determinada relação sinal/ruído (S/R).

### Pesquisa dos Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças

Após a obtenção do limiar no silêncio, foi fixada a intensidade na qual foi obtido o LRSS, e então, determinado o IPRSS, utilizando a lista 1B, sem ruído competitivo.

Da mesma forma, fixou-se a relação sinal/ruído na qual foi obtido o LRSR e então realizada a pesquisa do IPRSR, utilizando a lista 3B, com ruído competitivo mantido constante a 65 dB NPS(A).

Os Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças foram calculados com base na pontuação por palavras<sup>31</sup>, uma vez que com esta nova estratégia, todas as palavras das frases são consideradas, permitindo assim uma avaliação mais precisa da percepção de fala do indivíduo.

### **Levantamento e análise dos dados**

Após o término das avaliações, os dados foram inicialmente organizados em planilha eletrônica Excel e posteriormente analisados pelo programa estatístico SPSS versão 19.

A influência dos marcadores bioquímicos nos dados obtidos para o reconhecimento de fala, na avaliação inicial, foi testada, por meio do Teste t de Student.

Para verificar o possível efeito dos marcadores bioquímicos no reconhecimento de fala após a adaptação das próteses, os mesmos foram categorizados utilizando pontos de corte de referência ou por valores do percentil 50, quando a variável não possuía ponto de corte utilizado na clínica médica. A partir disso, comparou-se a mudança de desempenho nos índices de reconhecimento de sentenças dos idosos com melhores e piores resultados para cada marcador

bioquímico, para verificar a influência destes no reconhecimento de fala, por meio do Teste t de Student para amostras pareadas.

Realizou-se também a análise estatística, referente à comparação de desempenho entre avaliação pré e pós-adaptação de próteses auditivas, com os dados de toda a amostra, por meio do Teste t de Student.

Utilizou-se como nível de significância  $p \leq 0,05$  para todas as análises.

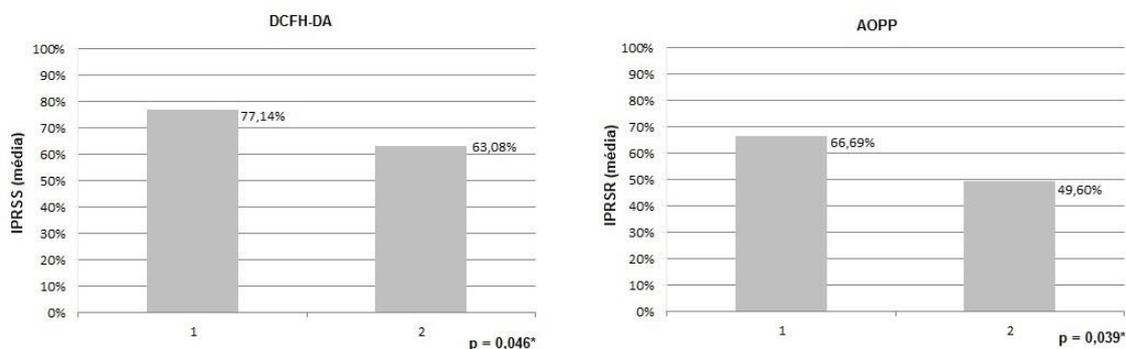
## RESULTADOS

Foram incluídos 12 idosos (nove homens e três mulheres) com idade média de  $68,3 \pm 6,1$  anos diagnosticados com perda auditiva periférica simétrica, e que estavam sendo avaliados para adaptação de próteses auditivas.

A avaliação genética dos pacientes mostrou que nenhum sujeito da amostra apresentava mutações relacionadas à perda auditiva para os polimorfismos 35delG no gene GJB2, deleções 1 e 2 no gene GJB6, m.1555A>G no gene mitocondrial MTRNR1 e IVS1+1G>A no gene GJB2.

Também por meio da análise sanguínea, foram verificados os níveis dos marcadores bioquímicos relacionados ao perfil lipídico e glicêmico e ao metabolismo oxidativo e inflamatório. Estes foram avaliados e comparados com os índices percentuais de reconhecimento de sentenças encontrados na avaliação inicial. A comparação se deu entre os valores encontrados para cada índice percentual de reconhecimento de sentenças obtido e os maiores e menores níveis de cada marcador.

Na análise com os marcadores relacionados ao perfil lipídico e glicêmico e o metabolismo inflamatório, todas as análises apresentaram valor de  $p \geq 0,05$ , ou seja, nenhuma demonstrou diferença estatisticamente significativa. Já na comparação entre os índices de reconhecimento de fala, relacionados às variáveis que analisam o estresse oxidativo, duas delas demonstraram certa influência. A seguir (Figura 1), estão expostos os Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças, que tiveram diferença estatisticamente significativa ( $p \leq 0,05$ ), de acordo com a diferença entre os níveis dos marcadores (IPRSS *versus* DCFH-DA, IPRSR *versus* AOPP).



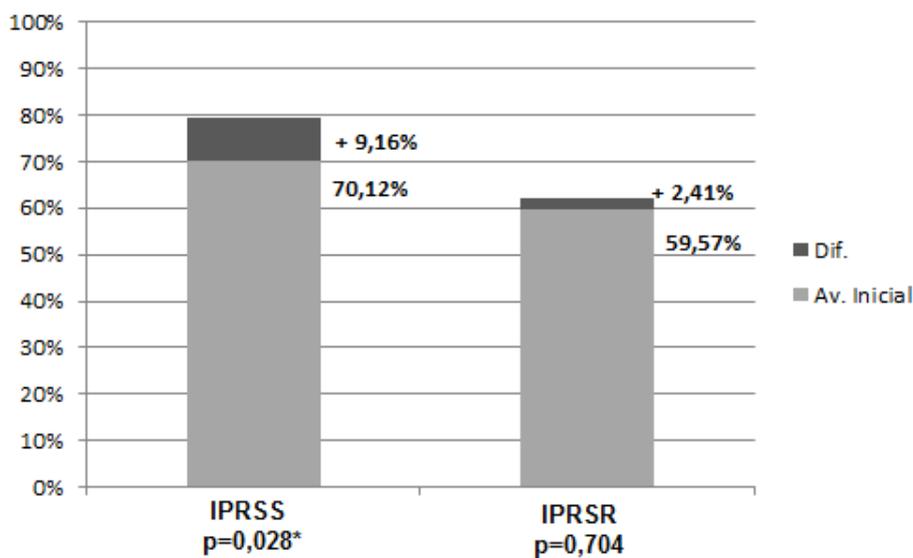
\* Valor estatisticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) – Teste t de Student.

Legenda: DCFH-DA = Diclofluoresceína diacetato; AOPP = Produto Proteico de Oxidação Avançada; 1 = grupo de idosos com menores níveis do biomarcador; 2 = grupo de idosos com maiores níveis do biomarcador; IPRSS = Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio; IPRSR = Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças no Ruído.

**Figura1.** Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças, de acordo com níveis de marcadores bioquímicos de idosos com perda auditiva.

A mudança de desempenho nos Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças foi também comparada aos níveis obtidos dos marcadores bioquímicos relacionados ao perfil lipídico e glicêmico e ao metabolismo oxidativo e inflamatório, porém os valores de significância ficaram entre  $p=0,076$  e  $p=0,767$ , não tendo sido, portanto, observado efeito estatisticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) para qualquer delas e não sendo, por isso, expostas detalhadamente.

Já que não houve significância na comparação com quaisquer variáveis, estão expostos a seguir os valores dos IPRSS e IPRSR na avaliação inicial e a mudança de desempenho nos testes de reconhecimento de fala do grupo total de avaliados (Figura 2).



\* Valor estatisticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ) – Teste t de Student.

Legenda: Dif. = diferença entre avaliação inicial e final; Av. = avaliação; IPRSS = Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças no Silêncio; IPRSR = Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças no Ruído.

**Figura 2.** Índices Percentuais de Reconhecimento de Sentenças obtidos na avaliação inicial e diferença de desempenho entre a avaliação inicial e a avaliação final em idosos com perda auditiva.

O IPRSS dos idosos apresentou melhora estatisticamente significativa na avaliação após três meses da adaptação das próteses auditivas. Não foi observado efeito estatisticamente significativo para IPRSR.

## DISCUSSÃO

A avaliação genética dos pacientes indicou que nenhum idoso da amostra apresentava mutações relacionadas à perda auditiva para os polimorfismos analisados. Assim, não foi possível comparar resultados de sujeitos com e sem alteração genética, porém estas análises foram úteis para que, juntamente aos dados da anamnese e avaliações auditivas, a perda auditiva dos sujeitos pudesse ser considerada como sendo preponderantemente associada ao processo do envelhecimento<sup>32</sup>.

Estudiosos, em sua pesquisa, afirmaram ser os primeiros a investigar a associação de fatores genéticos com mensurações de reconhecimento de palavras<sup>33</sup>. Nesta, houve associação, demonstrando que estes fatores exercem influência nos aspectos centrais da presbiacusia.

Na presente pesquisa, marcadores bioquímicos relacionados ao perfil lipídico e glicêmico, além do metabolismo oxidativo e inflamatório, foram também avaliados nos idosos. Quando se realizou a comparação dos Índices de Reconhecimento de Sentenças obtidos na avaliação inicial com o perfil lipídico, glicêmico e marcadores inflamatórios, nenhuma associação significativa foi observada.

Já quando realizada a análise dos resultados iniciais das medidas de reconhecimento de fala com mensurações de estresse oxidativo, foi demonstrada diferença estatisticamente significativa para alguns dos testes. Como demonstrado na Figura 1, idosos com menores níveis de DCFH-DA tiveram um melhor desempenho no reconhecimento de fala em ambiente silencioso e aqueles com menores níveis de AOPP, com o Índice obtido no ruído.

Acredita-se que muitas mudanças ocorridas no envelhecimento, incluindo a presbiacusia, estejam associadas ao aumento do estresse oxidativo, que é o resultado da acumulação de danos por espécies reativas de oxigênio (ROS), um subproduto natural do metabolismo aeróbico<sup>10</sup>.

Em um estudo, foi administrada substância para produzir o efeito de envelhecimento na orelha interna de ratos, porém citaram que os efeitos disso no sistema auditivo central permaneciam pouco compreendidos. Os autores concluíram

que um aumentado estresse oxidativo traz consequências centrais na presbiacusia, podendo explicar parcialmente os déficits no processamento auditivo temporal, localização sonora e relação sinal-ruído observados no envelhecimento de humanos<sup>34</sup>.

Estudos anteriores já indicavam que o estresse oxidativo tinha um papel causal na presbiacusia<sup>35</sup>. Os dados de recente pesquisa mostraram que o acúmulo de estresse oxidativo está envolvido também na função central da presbiacusia, devido aos níveis medidos no córtex auditivo de cobaias<sup>36</sup>. Pesquisadores relataram que as características da presbiacusia em ratos são muito semelhantes às de humanos<sup>37</sup>, por isso os dados encontrados são relacionados aos de humanos.

Embora não tenham sido avaliados aspectos referentes ao processamento central dos sons e percepção de fala, em um estudo realizado, pesquisadores encontraram influência da queixa de dificuldade auditiva com níveis mais altos de danos oxidativos<sup>38</sup>.

A melhora que os idosos apresentaram, principalmente para a medida obtida para a percepção de fala no silêncio (Figura 2), demonstrou que as próteses auditivas incrementaram seu desempenho comunicativo, porém esta melhora não foi associada com as mensurações bioquímicas nos pacientes avaliados.

Em estudo, no qual os sujeitos também foram avaliados sem uso de próteses auditivas, por meio do LSP-BR, para verificar o efeito da aclimatização, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre o desempenho para reconhecer a fala no silêncio após 14 dias, mas houve significância no incremento, após 90 dias. Já no ruído, foi encontrada diferença estatisticamente significativa logo após 14 dias de protetização<sup>39</sup>. Porém, outros autores<sup>40</sup> relataram que não foram encontrados efeitos da aclimatização nos sujeitos avaliados em seu estudo.

Os diferentes achados referidos na literatura podem ser influenciados por fatores próprios do desenho da pesquisa, adaptação uni ou bilateral, a severidade da perda auditiva, o tempo de uso das próteses, dentre outros<sup>41</sup>, uma vez que a aclimatização e os efeitos desta dependem de novas experiências auditivas e também das circunstâncias que envolvem cada indivíduo, que podem levar a diferentes resultados no que se refere ao desempenho, especialmente na inteligibilidade de fala.

Ressalta-se que os idosos avaliados na presente pesquisa apenas fizeram uso das próteses auditivas e receberam acompanhamento do fonoaudiólogo

responsável pela protetização, porém sem terapia de reabilitação auditiva. Possivelmente sujeitos submetidos a programas de treinamento auditivo teriam benefícios ainda mais evidentes nas avaliações finais, em comparação às iniciais, principalmente nas medidas obtidas no ruído, que são ainda mais desafiadoras aos sujeitos idosos.

Acredita-se que estudos semelhantes em outras populações idosas são necessários para melhor elucidar as relações entre o desempenho para reconhecer a fala em diferentes situações de escuta e todos os fatores metabólicos investigados. Isto porque cada vez mais estes têm sido valorizados em pesquisas sobre diversas alterações e não existem relações claras quanto a tais aspectos no desempenho auditivo. Isto poderá ajudar a expandir o conhecimento na prática clínica e comunidade científica acerca de um assunto ainda pouco explorado.

A necessidade de diversos retornos para avaliações e o fato de os idosos avaliados neste estudo fazerem parte de um serviço específico de saúde pública foram algumas das limitações da pesquisa, que levaram a um reduzido número de participantes. Apesar disso, com base em nossos achados, sugere-se que alterações nos níveis oxidativos podem ter influência no desempenho de os sujeitos reconhecerem a fala. Tal influência não foi percebida na comparação dos resultados pré-adaptação de próteses auditivas com as obtidas após período de aclimatização, na população estudada.

## **CONCLUSÕES**

A presente pesquisa demonstrou que nenhum dos idosos apresentou qualquer das mutações genéticas testadas.

Concluiu-se também que, na amostra estudada, houve influência no desempenho para reconhecer a fala na avaliação inicial, tanto no silêncio, quanto no ruído, apenas de variáveis ligadas ao estresse oxidativo.

Por fim, nenhum dos biomarcadores apresentou influência estatisticamente significativa na mudança de desempenho auditivo, após o período de aclimatização das próteses auditivas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lin FR. Hearing loss and cognition among older adults in the United States. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2011; 66A(10):1131-6.
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Sinopse dos Resultados do Censo Demográfico 2010. Rio de Janeiro, 2011.
3. Mick P, Kawachi I, Lin FR. The Association between Hearing Loss and Social Isolation in Older Adults. *Otolaryng. Head. Neck*. 2014;150(3):378-84.
4. Panza F, Solfrizzi V, Logroscino G. Age-related hearing impairment: a risk factor and frailty marker for dementia and AD. *Nat. Rev. Neurol*. 2015;11:166-75.
5. Gordon-Salant S, Fitzgibbons PJ, Yeni-Komshian GH. Auditory temporal processing and aging: implications for speech understanding of older people. *Audiol Res*. 2011;1(1):e4.
6. Wong PCM, Ettliger M, Sheppard JP, Gunasekera GM, Dhar S. Neuroanatomical Characteristics and Speech Perception in Noise in Older Adults. *Ear Hear*. 2010;31(4):471–9.
7. Theunissen M, Swanepoel W, Hanekom J. Sentence recognition in noise: Variables in compilation and interpretation of tests. *Int J Audiol*. 2009;48(11):743-57.
8. Costa MJ. Listas de sentenças em português: apresentação e estratégias de aplicação na audiolgia. Santa Maria: Pallotti; 1998.
9. Viude A. Fatores associados à presbiacusia em idosos. 120 f. [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2002.
10. Liu XZ, Yan D. Ageing and hearing loss. *J Pathol*. 2007; 211:188-97.
11. Ohlemiller KK. Mechanisms and Genes in Human Strial Presbycusis from Animal Models. *Brain Res*. 2009; 24(1277): 70–83.

12. Chen H, Tang J. The role of mitochondria in age-related hearing loss. *Biogerontol.* 2014;15:13-9.
13. Porto FHG, Fox AM, Tusch ES, Sorondb F, Mohammed AH, Daffner KR. In vivo evidence for neuroplasticity in older adults. *Brain Res Bull.* 2015;114:56-61.
14. Lane KR, Clark MK. Assisting older persons with adjusting to hearing aids. *Clin Nurs Res.* 1054773814563350, first published on December 17, 2014. doi:10.1177/1054773814563350.
15. Davis H, Silverman RS. *Hearing and deafness.* Nova York: Rinehart & Wiston; 1970.
16. Gatehouse S. The time course and the magnitude of perceptual acclimatization to frequency responses: evidence from monoaural fitting of hearing aids. *J Acoust Soc Am.* 1992; 92(3):1258-68.
17. Scott DA, Kraft ML, Carmi R, Ramesh A, Elbedour K, Yairi Y et al. Identification of mutations in the connexin 26 gene that cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. *Hum Mutat.* 1998;11(5):387-94.
18. Denoyelle F, Marlin S, Weil D. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. *Lancet.* 1999;353:1298-303.
19. Del Castillo FJ, Rodríguez-Ballasteros M, Alvares A, Hutchin T, Leonardi E, de Oliveira CA et al. A novel deletion involving the connexin 30 gene del(GJB6-D13S1854) , found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin 26) in subjects with DFNB1 nonsyndromic hearing impairment. *J Med Genet.* 2005;42(7):588-94.
20. Del Castillo I, Moreno-Pelayo MA, Del Castillo FJ, Brownstein Z, Marlin S, Adina Q et al. Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 locus in hearing impairment subjects: a multicenter study. *Am F Hum Genet.* 2003;73(6):1452-8.
21. Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet.* 1993;4:289-94.

22. Bachorik OS, Albers JJ. Precipitation methods for quantification of lipoproteins. *Method. Enzymol.* 1986;129:78-100.

23. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499-502.

24. Hanasand M, Omdal R, Norheim KB, Gøransson LG, Brede C, Jonsson G. Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. *Clin. Chim. Acta.* 2012;413:901-6.

25. Ha TT, Huy NT, Murao LA, Lan NT, Thuy TT, Tuan HM et al. Elevated Levels of Cell-Free Circulating DNA in Patients with Acute Dengue Virus Infection. *PloS One*, 2011. 6:e25969. doi: 10.1371/journal.pone.0025969

26. Lebel CP, Ischiropoulos H, Bondy SC. Evaluation of the probe 2', 7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem. Res. Toxicol.* 1992; 5:227-231.

27. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996;239(1):70-6.

28. Costa MJ, Iorio MCM, Mangabeira-Albernaz PL. Desenvolvimento de um teste de fala para avaliar a habilidade de reconhecer a fala no silêncio e no ruído. *Pró-Fono.* 2000; 12(2):9-16.

29. Costa MJ, Iorio MCM, Mangabeira-Albernaz PL. Desenvolvimento de um ruído com espectro de fala. *Acta AWHO.* 1998;17(2):84-89.

30. Levitt H, Rabiner LR. Use of a sequential strategy in intelligibility testing. *J Acoust Soc Am.* 1967;42(1):609-12.

31. Costa MJ, Santos SN, Lessa AH, Mezzomo CL. Proposta de aplicação do Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças em indivíduos com distúrbio de audição. *CoDAS.* 2015;27:148-54.

32. Yamasoba T, Lin FR, Someya S, Kashio A, Sakamoto T, Kondo K. Current concepts in age-related hearing loss: Epidemiology and mechanistic pathways. *Hear Res.* 2013;303:30-8.
33. Newman DL, Fisher LM, Ohmen J, Parody R, Fong CT, Frisina ST et al. GRM7 variants associated with age-related hearing loss based on auditory perception. *Hear Res.* 2012;294(0):125-32.
34. Chen B, Zhong Y, Peng W, Sun Y, Kong W. Age-related changes in the central auditory system: Comparison of D-galactose-induced aging rats and naturally aging rats. *Brain Res.* 2010;1344:43-53.
35. Jiang H, Talaska AE, Schacht J, Sha SH. Oxidative imbalance in the aging inner ear. *Neurobiol Aging.* 2007;28:1605-12.
36. Zeng L, Yang Y, Hu Y, Sun Y, Du Z, Xie Z et al. Age-Related Decrease in the Mitochondrial Sirtuin Deacetylase Sirt3 Expression Associated with ROS Accumulation in the Auditory Cortex of the Mimetic Aging Rat Model. *PLoS One.* 2014;9(5):e98726. doi: 10.1371/journal.pone.0098726
37. Bovo R, Ciorba A, Martini A. Environmental and genetic factors in age-related hearing impairment. *Aging Clin Exp Res.* 2011;23(1):3-10.
38. Fronza AB, Menna Barreto DC, Tochetto TM, Cruz IBM, Silveira AF. Associação entre funções da via auditiva eferente e genotoxicidade em adultos jovens. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2011;77(1):107-14.
39. Santos SN, Petry T, Costa MJ. Índice percentual de reconhecimento de sentenças no silêncio e no ruído: efeitos da aclimatização no indivíduo avaliado sem as próteses auditivas. *Rev. CEFAC.* 2010;12(5):733-40.
40. Humes LE, Wilson DL. An examination of changes in hearing-aid performance and benefit in the early over a 3-year period of hearing-aid use. *J. Speech Lang. Hear. Res.* 2003;46(1):137-45.
41. Dawes P, Munro KJ, Kalluri S, Edwards B. Acclimatization to Hearing Aids. *Ear Hear.* 2014;35(2):203-12.

## 7 DISCUSSÃO GERAL

Os objetivos a serem alcançados, descritos no capítulo introdutório da tese, foram subdivididos nos três artigos expostos. Nestes, os resultados obtidos foram apresentados e discutidos a partir do confronto com outras publicações e com a percepção do autor acerca dos mesmos. Estas ideias discutidas estão aqui reunidas.

Resultados obtidos em testes que avaliam aspectos temporais do processamento auditivo (ordenação e resolução), aos quais os idosos foram submetidos, tiveram correlação com pelo menos uma das avaliações cognitivas e de memória na avaliação inicial dos pacientes. Tais correlações indicaram que os sujeitos com melhor cognição apresentaram melhor desempenho nestes testes, do que aqueles com pior desempenho cognitivo na avaliação individual.

Autores citam que déficits cognitivos e no processamento auditivo temporal ocorrem comumente em idosos (FÜLLGRABE; MOORE; STONE, 2015). A ocorrência de correlação entre os resultados dos testes que avaliam habilidades auditivas com avaliações cognitivas foi evidenciada por pesquisadores que encontraram pior desempenho em testes que avaliam o processamento auditivo em sujeitos com déficit cognitivo, quando comparados a sujeitos controle (GATES et al., 2008).

Outra pesquisa demonstrou que idosos com maior comprometimento cognitivo apresentam pior performance em testes que avaliam habilidades auditivas, em relação àqueles com melhor reserva cognitiva (IDRIZBEGOVIC et al., 2011).

Quanto aos resultados iniciais do teste Dicótico de Dígitos, no presente estudo, não houve correlação com quaisquer avaliações da bateria CERAD. Já em outra pesquisa ocorreu associação dos resultados do teste Dicótico de Dígitos com testes cognitivos, ou seja, quanto melhor o desempenho cognitivo, melhor foi o resultado no teste de processamento auditivo dos sujeitos avaliados (PINHEIRO et al., 2012).

Diversas pesquisas falam da relação entre a cognição e a presbiacusia (LIN et al., 2013; BARNABEI et al., 2014; PANZA; SOLFRIZZI; LOGROSCINO, 2015),

inclusive autoras ponderam que se a perda auditiva realmente tem influência tão marcante no declínio cognitivo, a adaptação de próteses auditivas nos idosos deve ser fortemente estimulada, o mais cedo possível (WAYNE; JOHNSRUDE, 2015).

A diferença de desempenho entre a avaliação inicial e a final indicou que os idosos com pior desempenho em testes cognitivos e de memória, foram os que mais tiveram melhora em suas habilidades auditivas com o uso das próteses auditivas. Isso, provavelmente, porque aqueles com melhor cognição já haviam tido resultado satisfatório na primeira avaliação, assim não tiveram grande incremento, caracterizando um efeito teto de desempenho.

Em estudo em que habilidades matemáticas de idosos eram avaliadas, as autoras perceberam que os idosos da comunidade obtiveram porcentagens de acertos muito altas desde o início do teste e, portanto, julgaram que não foi possível avaliar grandes mudanças no desempenho ao longo das sessões, como nos idosos institucionalizados. Segundo elas, pode-se observar no caso dos idosos da comunidade o efeito teto com uma tendência de desempenho estável (ROSSIT; RAMOS; LOPES, 2010).

Pesquisadores também citaram o efeito teto ao falar sobre a escala de equilíbrio de Berg, que avalia a propensão a quedas. Neste caso, o mesmo ocorre pelo fato de o paciente geralmente escolher o membro de sua preferência em algumas atividades, o que limita a observação de ganhos adicionais após uma intervenção terapêutica (WOELLNER; ARAUJO; MARTINS, 2014).

Na presente pesquisa, entre os sujeitos que obtiveram o desempenho máximo ou perto do máximo já na primeira avaliação, as diferenças que poderiam ocorrer nas habilidades na avaliação final foram obscurecidas, por isso não foi possível avaliar alterações, caracterizando um efeito teto para estes indivíduos em determinados testes. Acredita-se que os testes aplicados são fáceis de serem cumpridos para parte da população pesquisada, que apresentou bons resultados cognitivos, o que justificaria o efeito teto obtido.

Por outro lado, para aqueles com menor desempenho cognitivo, a mudança foi mais evidente, já que melhoraram bastante em suas habilidades auditivas. Este é um achado importante, pois demonstra que, além do fato de a plasticidade ocorrer em sujeitos de terceira idade normais cognitivamente (PORTO et al., 2015), mesmo idosos com pior status cognitivo estão propensos a mudanças neuronais. Isto vai ao encontro dos estudos de Calero e Navarro, que afirmaram que mesmo indivíduos

com comprometimento cognitivo leve ainda apresentam neuroplasticidade suficiente para levar a mudanças neuronais (CALERO; NAVARRO, 2004, 2007).

Este achado reafirma ainda o que foi pontuado por outros estudiosos: pacientes com déficit cognitivo e deficiência auditiva se beneficiam com o uso de próteses auditivas e esta melhora está relacionada ao incremento de funções auditivas (VAN HOOREN et al., 2005).

Este foi um resultado muito importante a ser apresentado aos profissionais clínicos e sociedade acadêmica, a fim de nortear condutas e pesquisas futuras.

Também havia o objetivo de analisar a influência de fatores genéticos no desempenho dos idosos, porém a avaliação genética dos pacientes inseridos no estudo mostrou que nenhum deles apresentava mutações relacionadas à perda auditiva para os polimorfismos analisados. Dessa maneira, não foi possível comparar resultados de sujeitos com e sem alteração genética, porém estas análises foram úteis para que, juntamente aos dados da anamnese e avaliações auditivas, a perda auditiva dos sujeitos pudesse ser considerada como sendo preponderantemente associada ao processo do envelhecimento (YAMASOBA et al., 2013).

Marcadores bioquímicos relacionados ao perfil lipídico e glicêmico, além do metabolismo oxidativo e inflamatório, foram ainda avaliados nos idosos da pesquisa. Quando se realizou a comparação de sujeitos com normalidade e alteração na avaliação inicial das habilidades auditivas testadas e o perfil lipídico, glicêmico e marcadores inflamatórios, nenhuma associação significativa foi observada.

Já quando realizada a análise dos resultados iniciais de testes de habilidades auditivas com mensurações de estresse oxidativo, indivíduos com valores alterados de RGDT e TPD da orelha esquerda apresentaram níveis de ROS plasmático (reactive oxygen species), medidos pelo DCFH-DA, mais elevados do que indivíduos com desempenho dentro do esperado. Além disso, a alteração no TPD da orelha direita foi associada com níveis elevados de DNA livre no plasma – mensurados por meio do PicoGreen – que indica morte celular (JAESCHKE; MCGILL; RAMACHANDRAN, 2012).

A concentração elevada de espécies reativas de oxigênio (ROS) pode gerar uma condição conhecida como estresse oxidativo, cujos resultados podem ser

bastante danosos ao organismo humano (OLIVEIRA; SCHOFFEN, 2010). No presente estudo, os idosos com maior concentração de ROS tiveram pior desempenho em testes que avaliam a resolução e a ordenação temporal. Somado a isto, os idosos com níveis mais elevados de DNA livre no plasma, condição que também indica dano celular, tiveram pior desempenho em teste que avalia a ordenação temporal. Dessa maneira, observando os dados da população estudada, há indícios de que o processamento auditivo temporal pode sofrer influência do estresse oxidativo.

Os efeitos cumulativos de diversos fatores podem causar danos relativamente graves às células ciliadas internas, ao nervo auditivo e aos nervos centrais auditivos (RUAN et al., 2014). Não foram encontrados na literatura outros estudos que tenham avaliado a relação do processamento auditivo com as variáveis aqui pesquisadas. Porém autores relatam que muitas características de envelhecimento são moduladas pelo estresse oxidativo, o que seria causado, dentre outros aspectos, pelo desequilíbrio entre a produção e a catálise de ROS (LABUNSKYY; GLADYSHEV, 2013). Já foi demonstrada, por exemplo, elevação do estresse oxidativo em sujeitos com espectro autístico (ROSSIGNOL; FRYE, 2014).

Após três meses de uso das próteses auditivas, os idosos do presente estudo foram novamente submetidos aos testes que avaliam as habilidades auditivas, para verificar se houve mudança no desempenho e se esta foi influenciada pelo perfil lipídico e glicêmico e pelo metabolismo inflamatório e oxidativo. Pela comparação entre os resultados, verificou-se que, nesta análise, apenas o desempenho da habilidade de resolução temporal, avaliada pelo teste RGDT sofreu influência de uma variável inflamatória (TNF $\alpha$ ) e uma oxidativa (AOPP).

Os idosos que apresentavam taxas elevadas para a variável inflamatória, inicialmente apresentavam um desempenho no RGDT pior que aqueles com melhores níveis, porém demonstraram-se propensos a uma melhora muito grande, enquanto aqueles com níveis mais adequados de TNF $\alpha$ , pouco melhoraram.

Esse pequeno incremento no RGDT dos pacientes com menores taxas da citocina inflamatória pode ter sido causado por um resultado satisfatório já na primeira avaliação, caracterizando um efeito teto para a medida, como já discutido previamente. Pelo fato de alguns idosos terem apresentado resultado muito bom já na primeira avaliação, não foi possível dimensionar na totalidade, com o instrumento

utilizado, a melhora que pode ter ocorrido para tal habilidade avaliada nesta parte da amostra estudada.

Por outro lado, a informação de que os indivíduos com maior inflamação sistêmica da amostra conseguiram ter a plasticidade estimulada, e seu desempenho na habilidade auditiva avaliada positivamente incrementada, é uma informação importante. Isto porque estudos vêm discutindo o papel da citocina TNF $\alpha$  em relação a aspectos relacionados à memória, à doença de Alzheimer e mudanças neuronais no envelhecimento (McAFOOSE; KOERNER; BAUNE, 2009; SWARDFAGER et al., 2010). Os autores citam que os resultados seguem inconsistentes, já que em algumas pesquisas a presença da TNF $\alpha$  evidencia-se como importante no processo de desenvolvimento neuronal, enquanto em outros como determinante para o declínio cognitivo e disfunção neuronal.

Como referido, uma variável oxidativa também influenciou a mudança de desempenho da habilidade de resolução temporal. Os pacientes com níveis mais baixos do marcador AOPP tiveram uma grande melhora na reavaliação, o que sugere que indivíduos com menor oxidação estão propensos a um incremento significativo em sua performance auditiva.

O processamento auditivo temporal é especialmente importante quando se pensa na comunicação dos pacientes idosos, pois influencia diretamente na percepção das informações de fala, para a discriminação de pistas sutis presentes na mensagem ouvida, para o reconhecimento de traços distintivos entre fonemas e para a discriminação de palavras semelhantes (DLOUHA; NOVAK; VOKRAL, 2007).

A relação do processamento auditivo com as variáveis aqui investigadas ainda não havia sido pesquisada, porém muitos autores já descreveram associação, por exemplo, de altos níveis de AOPP com diferentes acometimentos: nefrológico (DESCAMPS-LATSCHA et al., 2005), cardíaco (FENG et al., 2010), depressivo (VARGAS et al., 2013), diabetes (KORKMAZ et al., 2013), espectro autístico (ROSSIGNOL; FRYE, 2012) e diferentes tipos de câncer (MAIA RIBEIRO et al., 2013; KILIC et al., 2014).

Por estas associações despertarem cada vez mais interesse e valorização em tantas áreas de conhecimento da saúde, faz-se necessária a continuação de investigações semelhantes.

O estudo de questões ligadas à genética também cresce em diversas áreas do conhecimento. Como já referido, nos idosos do presente trabalho, as avaliações genéticas demonstraram que nenhum deles apresentava mutações para os polimorfismos analisados. Já estudiosos, em sua pesquisa, afirmaram ser os primeiros a investigar a associação de fatores genéticos com mensurações de reconhecimento de palavras (NEWMAN et al., 2012). Nesta, houve associação, demonstrando que estes fatores exercem influência nos aspectos centrais da presbiacusia, o que é de extrema relevância e deve seguir sendo analisado.

Na presente pesquisa, a avaliação dos marcadores bioquímicos relacionados ao perfil lipídico e glicêmico, além do metabolismo inflamatório, foi realizada nos idosos também a fim de comparar estas variáveis com os Índices de Reconhecimento de Sentenças obtidos na avaliação inicial. Ao observar tais dados, verificou-se que nenhuma associação significativa foi encontrada.

Já quando realizada a análise dos resultados iniciais das medidas de reconhecimento de fala com mensurações de estresse oxidativo, foi demonstrada diferença estatisticamente significativa para alguns dos testes. Idosos com menores níveis de DCFH-DA tiveram um melhor desempenho no reconhecimento de fala em ambiente silencioso e aqueles com menores níveis de AOPP, com o Índice obtido no ruído.

Acredita-se que muitas mudanças ocorridas no envelhecimento, incluindo a presbiacusia, estejam associadas ao aumento do estresse oxidativo, que é o resultado da acumulação de danos por espécies reativas de oxigênio (ROS), um subproduto natural do metabolismo aeróbico (LIU; YAN, 2007).

Em um estudo, foi administrada substância para produzir o efeito de envelhecimento na orelha interna de ratos, porém citaram que os efeitos disso no sistema auditivo central permaneciam pouco compreendidos. Os autores concluíram que um aumentado estresse oxidativo traz consequências centrais na presbiacusia, podendo explicar parcialmente os déficits no processamento auditivo temporal, localização sonora e relação sinal-ruído observados no envelhecimento de humanos (CHEN; TANG, 2010).

Estudos anteriores já indicavam que o estresse oxidativo tinha um papel causal na presbiacusia (JIANG et al., 2007). Os dados de recente pesquisa mostraram que o acúmulo de estresse oxidativo está envolvido também na função central da presbiacusia, devido aos níveis medidos no córtex auditivo de cobaias

(ZENG et al., 2014). Pesquisadores relataram que as características da presbiacusia em ratos são muito semelhantes às de humanos (BOVO; CIORBA; MARTINI, 2011), por isso os dados encontrados são associados aos de humanos.

Embora não tenham sido avaliados aspectos referentes ao processamento central dos sons e percepção de fala, em um estudo realizado, pesquisadores encontraram influência da queixa de dificuldade auditiva com níveis mais altos de danos oxidativos (FRONZA et al., 2011).

A melhora que os idosos apresentaram, principalmente para a medida obtida para a percepção de fala no silêncio, demonstrou que as próteses auditivas incrementaram seu desempenho comunicativo, porém esta melhora não foi associada com as mensurações bioquímicas nos pacientes avaliados .

Em estudo anterior, no qual os sujeitos também foram avaliados sem uso de próteses auditivas, por meio do LSP, para verificar o efeito da aclimatização, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre o desempenho para reconhecer a fala no silêncio após 14 dias, mas houve significância no incremento, após 90 dias. Já no ruído, foi encontrada diferença estatisticamente significativa logo após 14 dias de protetização (SANTOS; PETRY; COSTA, 2010).

Porém, outros autores (HUMES; WILSON, 2003) relataram que não foram encontrados efeitos da aclimatização nos sujeitos avaliados em seu estudo. A aclimatização implica no fato de novas experiências auditivas levarem a um incremento, especialmente na inteligibilidade de fala e a inconsistência e variabilidade nos achados da literatura podem ser influenciadas por fatores próprios do desenho da pesquisa, adaptação uni ou bilateral, a severidade da perda auditiva, o tempo de uso das próteses, dentre outros (DAWES et al., 2014).

Ressalta-se que os idosos avaliados na presente pesquisa apenas fizeram uso das próteses auditivas e receberam acompanhamento do fonoaudiólogo responsável pela protetização, porém sem terapia de reabilitação auditiva. Acredita-se que sujeitos submetidos a programas de treinamento auditivo teriam benefícios ainda mais evidentes nas avaliações finais, em comparação às iniciais, tanto em aspectos relacionados às habilidades específicas do processamento auditivo investigadas nesta tese, quanto nas medidas que verificam a percepção de fala,

principalmente naquela obtida na presença de ruído competitivo, que é ainda mais desafiadora aos sujeitos idosos.

No presente estudo, a necessidade de diversos retornos para avaliações e o fato de os idosos avaliados, fazerem parte de um serviço específico de saúde pública, foram algumas das limitações do estudo que levaram a um reduzido número de participantes.

Estudos semelhantes em outras populações idosas são necessários para melhor elucidar as relações entre o desempenho em habilidades auditivas e os aspectos cognitivos e todos os fatores metabólicos investigados, uma vez que estes têm sido cada vez mais valorizados em pesquisas sobre diversas alterações. Da mesma maneira, mais estudos que se interessem nestas questões irão melhor elucidar também as relações entre o desempenho para reconhecer a fala em diferentes situações de escuta e todos os fatores aqui abordados, uma vez que não existem relações claras quanto a tais aspectos no desempenho auditivo. Isto poderá ajudar a expandir o conhecimento na prática clínica e comunidade científica acerca de um assunto ainda pouco explorado.

Somadas aos resultados aqui encontrados, pesquisas futuras poderão auxiliar também os profissionais a encontrar a melhor maneira de abordar estes aspectos com os pacientes idosos e seus familiares.

Apesar das limitações metodológicas, com base em nossos achados, sugere-se que mesmo idosos com pior status cognitivo estão propensos a mudanças neuronais; que alterações nos níveis inflamatórios e oxidativos podem ter influência no desempenho de habilidades auditivas centrais, especialmente as que avaliam o aspecto temporal dos sons; e que alterações nos níveis oxidativos podem ter influência no desempenho dos sujeitos para reconhecer a fala, porém tal influência na percepção de fala não foi percebida na comparação dos resultados pré-adaptação de próteses auditivas com as obtidas após período de aclimatização, na população estudada.

## 8 CONCLUSÕES

Os objetivos estabelecidos neste estudo, com sujeitos idosos com perda auditiva, foram atingidos por meio de três trabalhos que abordaram os temas estabelecidos no início da pesquisa: 1) a influência de aspectos cognitivos no desempenho de habilidades ligadas ao processamento auditivo; 2) impacto do perfil lipídico e glicêmico e de marcadores inflamatórios e oxidativos no desempenho de habilidades ligadas ao processamento auditivo; 3) influência do perfil lipídico e glicêmico e de marcadores inflamatórios e oxidativos na percepção de fala.

Os resultados obtidos no primeiro estudo, de maneira geral, demonstraram que os idosos da amostra pesquisada, quando ainda sem uso de próteses auditivas, apresentaram melhor desempenho nas habilidades de ordenação e resolução temporal auditiva, quanto melhor havia sido seu desempenho em alguns testes cognitivos. No entanto, não houve correlação entre os testes cognitivos e as habilidades de integração e separação binaural.

Já quando analisada a diferença de desempenho nas habilidades auditivas entre as avaliações realizadas, antes e três meses depois da adaptação de próteses auditivas, aqueles com idosos com pior desempenho cognitivo foram os que apresentaram melhora mais acentuada em algumas habilidades auditivas com o uso das próteses. Isso demonstra que mesmo idosos com prejuízo cognitivo podem ter a plasticidade neural estimulada e melhorar seu desempenho em importantes habilidades auditivas.

No segundo artigo, foi demonstrado que nenhuma associação significativa foi observada entre a comparação de idosos com normalidade e alteração nas habilidades auditivas avaliadas e o perfil lipídico, glicêmico e marcadores inflamatórios. Entretanto, houve algumas associações com mensurações de estresse oxidativo e habilidades de ordenação e resolução temporais.

Quanto à diferença de desempenho em habilidades auditivas com a adaptação das próteses auditivas, a mais diretamente afetada por marcadores inflamatórios e oxidativos, foi a de resolução temporal. Para outras habilidades

auditivas existiram algumas tendências de interação entre a adaptação às próteses e marcadores bioquímicos, porém sem significância.

Com o terceiro estudo apresentado nesta tese, verificou-se que nenhum dos idosos apresentava qualquer das mutações genéticas testadas. Concluiu-se também que houve influência no desempenho para reconhecer a fala na avaliação inicial, tanto no silêncio, quanto no ruído, apenas de variáveis ligadas ao estresse oxidativo, na amostra estudada. Além disso, nenhum dos biomarcadores apresentou influência estatisticamente significativa na mudança de desempenho auditivo para reconhecer a fala, após o período de aclimatização das próteses auditivas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKERROYD, M. A. Are individual differences in speech reception related to individual difference in cognitive ability? A survey of twenty experimental studies with normal and hearing-impaired adults. **International Journal of Audiology**, v. 47, n. 2, p. 453-471, 2008.

ALLEN, N. H. et al. The effects of improving hearing in dementia. **Age and Ageing**, v. 32, n. 2, p. 189-193, 2003.

AUDITEC. **Evaluation manual of pitch pattern sequence and duration pattern sequence**. Missouri: Auditec of Saint Louis, 1997.

ÁVILA, V. D. et al. Relação entre o benefício do aparelho de amplificação sonora individual e desempenho cognitivo em usuário idoso. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 14, n. 3, p. 475-484, 2011.

BACHOR, E. et al. Vascular variations of the inner ear. **Acta Oto-Laryngologica**, v. 121, n. 1, p. 35-41, 2001.

BACHORIK, O. S.; ALBERS, J. J. Precipitation methods for quantification of lipoproteins. **Methods in Enzymology**, v. 129, p. 78-100, 1986.

BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARNABEI, R. et al. Hearing loss and cognitive decline in older adults: questions and answers. **Aging Clinical and Experimental Research**, v. 26, p. 567-573, 2014.

BATEL, R. et al. A microplate assay for DNA damage determination (fast micromethod). **Analytical Biochemistry**, v. 270, n. 2, p. 195-200, 1999.

BELLIS, T. J. **Assessment and management of central auditory processing disorders the educacional setting**. California: Thomson Delmar Searning, 2003. p. 64-75.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BERTOLUCCI, P. H. F. et al. Desempenho da população brasileira na bateria neuropsicológica do Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 25, p. 80-83, 1998.

BERTOLUCCI, P. H. F. et al. Applicability of the CERAD neuropsychological battery to brazilian elderly. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 59, n. 3, p. 532-536, 2001.

BORTOLOTTI, L. A. Distúrbios cognitivos no idoso hipertenso. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 6, n. 4, p. 388-393, 1999.

BOVO, R.; CIORBA, A.; MARTINI, A. Environmental and genetic factors in age-related hearing impairment. **Aging Clinical and Experimental Research**, v. 23, n. 1, p. 3-10, 2011.

CALERO, M. D.; NAVARRO, E. Relationship between plasticity, mild cognitive impairment and cognitive decline. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v. 19, p. 653-660, 2004.

CALERO, M. D.; NAVARRO, E. Cognitive plasticity as a modulating variable on the effects of memory training in elderly persons. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v. 22, p. 63-72, 2007.

CAPACCIO, P. et al. Unbalanced oxidative status in idiopathic sudden sensorineural hearing loss. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 269, p. 449-453, 2012.

CHEN, B. et al. Age-related changes in the central auditory system: Comparison of D-galactose-induced aging rats and naturally aging rats. **Brain Research**, v. 1344, p. 43-53, 2010.

CHEN, H.; TANG, J. The role of mitochondria in age-related hearing loss. **Biogerontology**, v.15, p. 13-19, 2014.

CIORBA, A. et al. The impact of hearing loss on the quality of life of elderly adults. **Journal of Clinical Interventions in Aging**, v. 7, p. 159-163, 2012.

CÓSER, P. L.; CÓSER, V. M. Surdez hereditária. In: CAMPOS, A. H. C.; COSTA, H. O. (Ed.). **Tratado de Otorrinolaringologia: Doenças, Otologia, Base de Crânio**. São Paulo: Rocca. 2003. p. 168-85.

COSTA, J. V.; DUARTE, J. S. Adipose tissue and adipokines. **Acta Médica Portuguesa**, v. 19, n. 3, p. 251-256, 2006.

COSTA, M. J. **Desenvolvimento de listas de sentenças em português**. 1997. 102 f. Tese (Doutorado em Distúrbios da Comunicação Humana) - Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1997.

COSTA, M. J.; IORIO, M. C. M.; MANGABEIRA-ALBERNAZ, P. L. Reconhecimento de fala: desenvolvimento de uma lista de sentenças em português. **Acta AWHO**, v. 16, n. 4, p. 164-173, 1997.

COSTA MJ. **Listas de sentenças em português: apresentação e estratégias de aplicação na audiolgia**. Santa Maria: Pallotti; 1998.

COSTA, M. J. et al. Proposta de aplicação do Índice Percentual de Reconhecimento de Sentenças em indivíduos com distúrbio de audição. **CoDAS**, v. 27, n. 2, p. 148-154, 2015.

COSTA, M. J.; IORIO, M. C. M.; MANGABEIRA-ALBERNAZ, P. L. Desenvolvimento de um ruído com espectro de fala. **Acta AWHO**, v. 17, n. 2, p. 84-89, 1998.

COSTA, M. J.; IORIO, M. C. M.; MANGABEIRA-ALBERNAZ, P. L. Desenvolvimento de um teste de fala para avaliar a habilidade de reconhecer a fala no silêncio e no ruído. **Pró-Fono Revista de Atualização Científica**, v. 12, n. 2, p. 9-16, 2000.

DAVIS, H.; SILVERMAN, R. S. **Hearing and deafness**. Nova York: Rinehart & Wiston; 1970.

DAWES, P. et al. Acclimatization to Hearing Aids. **Ear and Hearing**, v. 35, n. 2, p. 203-212, 2014.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DEL CASTILLO, F. J. et al. Prevalence and evolutionary origins of the del(GJB6-D13S1830) mutation in the DFNB1 locus in hearing impairment subjects: a multicenter study. **The American Journal of Human Genetics**, v. 73, n. 6, p. 1452-1458, 2003.

DEL CASTILLO, F. J. et al. A novel deletion involving the connexin 30 gene del(GJB6-D13S1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin 26) in subjects with DFNB1 nonsyndromic hearing impairment. **Journal of Medical Genetics**, v. 42, n. 7, p. 588-594, 2005.

DENOYELLE, F. et al. Prelingual deafness: high prevalence of a 30delG mutation in the connexin 26 gene. **Human Molecular Genetics**, v. 6, n. 12, p. 2173-2177, 1997.

DENOYELLE, F. et al. Clinical features of the prevalent form of childhood deafness, DFNB1, due to a connexin-26 gene defect: implications for genetic counselling. **Lancet**, v. 353, n. 9161, p. 1298-1303, 1999.

DESCAMPS-LATSCHA, B. et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 45, p. 39-47, 2005.

DI NUCCI, F. R. C. F. et al. Ausência de relação entre hipertensão arterial sistêmica e desempenho cognitivo em idosos de uma comunidade. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 37, p. 52-56, 2010.

DLOUHA, O.; NOVAK, A.; VOKRAL, J. Central auditory processing disorder (CAPD) in children with specific language impairment (SLI). Central auditory tests. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 71, p. 903-907, 2007.

ERSHLER, W. B.; KELLER, E. T. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. **Annual Review of Medicine**, v. 51, p. 245-270, 2000.

ESTEVES, M. C. B. N. **Identificação das mutações 35delG no gene da conexina 26 (gene GJB2) e del(GJB6-D13S1830) e del(GJB6-D13S1854) no gene da conexina 30 (gene GJB6) como causadoras de perda auditiva autossômica recessiva não síndrômica em famílias da região de Marília-SP, Brasil.** 2013. 173 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

FENG, Y. et al. Prolonged pain to hospital time is associated with increased plasma advanced oxidation protein products and poor prognosis in patients with percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction. **Heart and Vessels**, v. 25, p. 374-378, 2010.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, v. 18, p. 499-502, 1972.

FRONZA, A. B. et al. Associação entre funções da via auditiva eferente e genotoxicidade em adultos jovens. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 77, n. 1, p. 107-114, 2011.

FÜLLGRABE, C.; MOORE, B. C.; STONE, M. A. Age-group differences in speech identification despite matched audiometrically normal hearing: contributions from auditory temporal processing and cognition. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 6, p. 347, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4292733/>>. Acesso em: 24/07/2015.

GATEHOUSE, S. The time course and the magnitude of perceptual acclimatization to frequency responses: evidence from monoaural fitting of hearing aids. **The Journal of the Acoustical Society of America**, v. 92, n. 3, p. 1258-1268, 1992.

GATES, G. A. et al. Central auditory dysfunction in older persons with memory impairment or Alzheimer dementia. **Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery**, v. 134, p. 771-777, 2008.

GODINHO, R.; KEOGH, I.; EAVEY, R. Perda auditiva genética. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 69, n. 1, p. 100-104, 2003.

GOMES, M. A. M.; NETO, N. C. M.; BISPO, I. G. A. Interleucina-6, moléculas de adesão intercelular-1 e microalbuminúria na avaliação da lesão endotelial: revisão de literatura. **Revista da SOCERJ**, v. 22, n. 6, p. 398-403, 2009.

GORDON-SALANT, S.; YENI-KOMSHIAN, G.; FITZGIBBONS, P. The role of temporal cues in word identification by younger and older adults: effects of sentence context. **The Journal of the Acoustical Society of America**, v. 124, n. 5, p. 3249-3260, 2008.

HA, T. T. et al. Elevated levels of cell-free circulating DNA in patients with acute dengue virus infection. **PloS One**, v.. 6, p. e25969, 2011. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0025969>> Acesso em: 05/10/2014.

HAASE, G. M. et al. Antioxidant micronutrient impact on hearing disorders: concept, rationale, and evidence. **American Journal of Otolaryngology**, v. 32, n. 1, p. 55-61, 2011.

HANASAND, M. et al. Improved detection of advanced oxidation protein products in plasma. **Clinica Chimica Acta**, v.413, p. 901-906, 2012.

HUANG, T. Age-related hearing loss. **Minnesota Medicine**, v. 90, n. 10, p. 48-50, 2007.

HUMES, L. E. Factors underlying the speech-recognition performance of elderly hearing-aid wearers. **The Journal of the Acoustical Society of America**, v. 112, p. 1112-1132, 2002.

HUMES, L. E. The Contributions of Audibility and Cognitive Factors to the Benefit Provided by Amplified Speech to Older Adults. **Journal of the American Academy of Audiology**, v. 18, n. 7, p. 590-603, 2007.

HUMES, L. E.; WILSON, D. L. An examination of changes in hearing-aid performance and benefit in the early over a 3-year period of hearing-aid use. **Journal of Speech Language and Hearing Research**, v. 46, n. 1, p. 137-145, 2003.

HUTCHIN, T. P.; CORTOPASSI, G. A. Mitochondrial defects and hearing loss. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 57, p. 1927-1237, 2000.

IDRIZBEGOVIC, E. et al. Central auditory function in early Alzheimer's disease and in mild cognitive impairment. **Age and Ageing**, v. 40, p. 249-254, 2011.

JACOBS, J. M. et al. Utilizing human blood plasma for proteomic biomarker discovery. **Journal of Proteome Research**, v. 4, n. 4, p. 1073-1085, 2005.

JAESCHKE, H.; MCGILL, M. R.; RAMACHANDRAN, A. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. **Drug Metabolism Reviews**, v.44, p. 88-106, 2012.

JIANG, H. et al. Oxidative imbalance in the aging inner ear. **Neurobiology of Aging**, v. 28, p. 1605-1612, 2007.

KATZ, J. **Tratado de Audiologia Clínica**. São Paulo: Manole, 1989.

KEITH, R. W. **Random gap detection test**. Missouri: Auditec of Saint Louis, 2000.

KELSELL, D. P. et al. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. **Nature**, v. 387, n. 6628, p. 80-83, 1997.

KILIC, N. et al. An investigation into the serum thioredoxin, superoxide dismutase, malondialdehyde, and advanced oxidation protein products in patients with breast cancer. **Annals of Surgical Oncology**, v. 21, p. 4139-4143, 2014.

KOPPER, H.; TEIXEIRA, A. R.; DORNELES, S. Cognitive performance of a group of elders: influence of hearing, age, sex, and education. **International Archives of Otorhinolaryngology**, v.13, n. 1, p. 39-43, 2009.

KORKMAZ, G. G. et al. The association of oxidative stress markers with conventional risk factors in the metabolic syndrome. **Metabolism-Clinical and Experimental**, v. 62, p. 828-835, 2013.

KUK, F. et al. Evaluation of a Localization Training Program for Hearing Impaired Listeners. **Ear and Hearing**, v.35, n. 6, p. 652-666, 2014.

LABUNSKYY, V. M.; GLADYSHEV, V. N. Role of reactive oxygen species-mediated signaling in aging. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 19, p. 1362-1372, 2013.

LEBEL, C. P.; ISCHIROPOULOS, H.; BONDY, S. C. Evaluation of the probe 2', 7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. **Chemical Research in Toxicology**, v. 5, p. 227-231, 1992.

LEVITT, H.; RABINER, L. R. Use of a sequential strategy in intelligibility testing. **The Journal of the Acoustical Society of America**, v. 42, n. 1, p. 609-612, 1967.

- LIBBY, P.; RIDKER, P. M. Novel inflammatory markers of coronary risk: theory versus practice. **Circulation**, v. 100, n. 11, p. 1148-1150, 1999.
- LIN, F. R. Hearing loss and cognition among older adults in the United States. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 66A, n. 10, p. 1131-1136, 2011.
- LIN, F. R. et al. Hearing loss and cognitive decline in older adults. **JAMA Internal Medicine**, v. 173, p. 293-299, 2013.
- LINDENBERGER, U.; BALTES, P. B. Sensory functioning and intelligence in old age: a strong connection. **Psychology and Aging**, v. 9, p. 339-355, 1994.
- LIPORACI, F. D.; FROTA, S. M. M. C. Resolução temporal auditiva em idosos. **Revista da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia**, v. 15, n. 4, p. 533-539, 2010.
- LIU XZ; YAN D. Ageing and hearing loss. **The Journal of Pathology**, v. 211, p. 188-197, 2007.
- LUBIANCA-NETO, J. F. Introdução ao diagnóstico da perda auditiva genética. In: ABORL (Org.). **Programa de Atualização e ORL**. Porto Alegre: Artmed, 2007. p. 89-122.
- LUBIANCA-NETO, J. F.; KURC, M. Surdez Hereditária. In: CALDAS NETO, S. et al. (Ed.). **Tratado de Otorrinolaringologia (Otologia/Otoneurologia)**. São Paulo: Roca, 2012. p. 191-212.
- LUNNER, T. Cognitive function in relation to hearing aid use. **International Journal of Audiology**, v. 42, p. S49-S58, 2003.
- LUNNER, T.; RUDNER, M.; RÖNNERBERG, J. Cognition and hearing aids. **Scandinavian Journal of Psychology**, v. 50, n. 5, p. 395-403, 2009.
- MAGALHÃES, R.; IORIO, M. C. M. Avaliação da restrição de participação e de processos cognitivos em idosos antes e após intervenção fonoaudiológica. **Jornal da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia**, v.23, n. 1, p. 51-56, 2011.
- MAGALHÃES, M. O. C. et al. Risk factors for dementia in a rural área on northeastern Brazil. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 66, n. 2-A, p. 157-162, 2008.

MAIA RIBEIRO, E. A. et al. Functional, balance and health determinants of falls in a free living community Amazon riparian elderly. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 56, p. 350-357, 2013.

MALIK, S. G. et al. Prevalence of the mitochondrial DNA A1555G mutation in sensorineural deafness patients in island Southeast Asia. **Journal of Human Genetics**, v. 48, n. 9, p. 480-483, 2003.

MARTIN, J. S.; JERGER, J. F. Some effects of aging on central auditory processing. **Journal of Rehabilitation Research & Development**, v. 42, n. 4, p. 25-44, 2005.

McAFOOSE, J.; KOERNER, H.; BAUNE, B. T. The effects of TNF deficiency on age-related cognitive performance. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, p. 615-619, 2009.

MEGALE, R. L.; IORIO, M. C. M.; SCHOCHAT, E. Treinamento auditivo: avaliação do benefício em idosos usuários de próteses auditivas. **Pró-Fono Revista de Atualização Científica**, v. 22, n. 2, p. 101-106, 2010.

MELO, S. E. S. F. C. et al. Hipertensão arterial, aterosclerose e inflamação: o endotélio como órgão-alvo. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 14, n. 4, p. 234-238, 2007.

MONEGO, E. T.; COSTA, E. F. A. Avaliação geriátrica ampla. **Revista UFG**, v. 5, n. 2, p. 11-15, 2003.

MOORE, B. Perceptual consequences of cochlear hearing loss and their implications for the design of hearing aids. **Ear and Hearing**, v. 17, n. 2, p. 133-161, 1996.

MORALES, A. et al. Audiometric features of familial hearing impairment transmitted by mitochondrial inheritance (A1555G). **Acta Otorrinolaringológica Española**, v. 53, n. 9, p. 641-648, 2002.

MORRIS, J. C. et al. The Consortium to Establish a registry for Alzheimer's disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimers's disease. **Neurology**, v. 39, p. 1159-1165, 1989.

NEWMAN, D. L. et al. GRM7 variants associated with age-related hearing loss based on auditory perception. **Hearing Research**, v. 294, n. 0, p. 125-132, 2012.

NIJVELDT, J. R. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, p. 418-425, 2001.

OHLEMILLER, K. K. Mechanisms and genes in human strial presbycusis from animal models. **Brain Research**, v. 24, n. 1277, p. 70-83, 2009.

OHINATA, Y. et al. Blood viscosity and plasma viscosity in patients sudden deafness. **Acta Oto-Laryngologica**, v. Suppl 114, n. 6, p. 601-607, 1994.

OLIVEIRA, M. C.; SCHOFFEN, J. P. F. Oxidative stress action in cellular aging. **Brazilian Archives of. Biology and Technology**, v. 53, n. 6, p. 1333-1342, 2010.

ØSTERGAARD, E. et al. The A1555G mtDNA mutation in Danish hearing-impaired patients: frequency and clinical signs. **Clinical Genetics**, v. 62, p. 303-305, 2002.

PANZA, F.; SOLFRIZZI, V.; LOGROSCINO, G. Age-related hearing impairment: a risk factor and frailty marker for dementia and AD. **Nature Reviews Neurology**, v.11, p. 166-75, 2015.

UNICAMP. **Método de teste para surdez de origem genética**. Patente N° P10005340-6, 2002.

PEREIRA, R. F.; VALENSSIO, R. T.; MAGOSSO, R. F. Influências do exercício físico sobre os marcadores inflamatórios. **Revista Conexão Eletrônica**, v. 10, n. 1, p. 66-74, 2013.

PICHORA-FULLER, M. K.; STINGH, G. Effects of age on auditory and cognitive processing: implications for hearing aid fitting and audiologic rehabilitation. **Trends in Amplification**, v. 10, n. 1, p. 29-59, 2006.

PICHORA-FULLER, M. K. Audition and cognition: What audiologists need to know about listening. In: PALMER, C.; SEEWALD, R. (Eds). **Hearing Care for Adults**. Stäfa, Switzerland: Phonak, 2007. p. 71-85.

PICHORA-FULLER, M. K. How cognition might influence hearing aid design, fitting, and outcomes. **The Hearing Journal**, v. 62, n. 11, p. 32-38, 2009.

PINHEIRO, M. M. C. et al. A influência dos aspectos cognitivos e dos processos auditivos na aclimatização das próteses auditivas em idosos. **Jornal da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia**, v. 24, n. 4, p. 309-315, 2012.

PORTO, F. H. G. et al. In vivo evidence for neuroplasticity in older adults. **Brain Research Bulletin**, v. 114, p. 56-61, 2015.

PREISER, J. C. Oxidative Stress. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 36, n. 2, p. 147-154, 2012.

PREZANT, T. R. et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. **Nature Genetics**, v. 4, p. 289-294, 1993.

RABELO, D. F. Comprometimento Cognitivo Leve em Idosos: avaliação, fatores associados e possibilidades de intervenção. **Revista Kairós Gerontologia**, v. 12, n. 2, p. 65-79, 2009.

RÄIHÄ, I. et al. Poor performance in the mini-mental state examination due to causes other than dementia. **Scandinavian Journal of Primary Health Care**, v. 19, n. 1, p. 34-38, 2001.

RAJAGOPALAN, L. et al. Tuning of the outer hair cell motor by membrane cholesterol. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 50, p. 36659-36670, 2007.

RAREY, K. E. et al. Correlative evidence of hypertension and altered cochlear microhomeostasis: electrophysiological changes in the spontaneously hypertensive rat. **Hearing Research**, v. 102, p. 63-69, 1996.

RESENDES, B. L.; WILLIAMSON, R. E.; MORTON, C. C. At the speed of sound: gene discovery in the auditory system. **The American Journal of Human Genetics**, v. 69, p. 923-935, 2001.

RIDKER, P. M. et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. **Circulation**, v. 101, n. 15, p. 1767-1772, 2000.

ROSSIGNOL, D. A.; FRYE, R. E. Evidence linking oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and inflammation in the brain of individuals with autism. **Frontiers in Physiology**, v. 5, p. 1-15, 2014.

ROSSIT, R. A. S.; RAMOS, L. Z.; LOPES, C. F. Performance of elder people in mathematical tasks of conditional discrimination auditive and visual. **Brazilian Journal of Behavior Analysis**, v. 6, p. 149-166, 2010.

RUAN, Q. Current status of auditory aging and anti-aging research. **Geriatrics & Gerontology International**, v. 14, p. 40-53, 2014.

SAITO, M. et al. Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protein to traditional cardiovascular risk factors. **Atherosclerosis**, v.167, n. 1, p. 73-79, 2003.

SANTOS, M. F. C.; PEREIRA, L. D. Escuta com dígitos. In: PEREIRA, L. D.; SCHOCHAT, E. **Processamento auditivo central: manual de avaliação**. São Paulo: Lovise, 1997. p. 147-150.

SANTOS, S. N.; PETRY, T.; COSTA, M. J. Índice percentual de reconhecimento de sentenças no silêncio e no ruído: efeitos da aclimatização no indivíduo avaliado sem as próteses auditivas. **Revista CEFAC**, v. 12, n. 5, p. 733-740, 2010.

SARTORATO, E. L. et al. Determination of the frequency of the 35delG allele in Brazilian neonates. **Clinical Genetics**, v. 58, p. 339-340, 2000.

SCHNEIDER, B. A.; DANEMAN, M.; PICHORA-FULLER, M. K. Listening in aging: from discourse comprehension to psychoacoustics. **Canadian Journal of Experimental Psychology**, v. 56, n. 3, p. 139-152, 2002.

SCOTT, D. A. et al. Identification of mutations in the connexin 26 gene that cause autosomal recessive nonsyndromic hearing loss. **Human Mutation**, v. 11, n. 5, p. 387-394, 1998.

SEIDMAN, M. D.; QUIRK, W. S.; SHIRWANY, N. A. Mechanisms of alterations in the microcirculation of the cochlea. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 884, p. 226-232, 1999.

SONCINI, F. et al. Correlação entre limiares de reconhecimento de sentenças no silêncio e limiares tonais. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.69, n.5, p. 672-677, 2003.

SOUZA, J. R. M. et al. Níveis séricos de interleucina-6 (IL-6), interleucina-18 (IL-18) e proteína-C reativa (PCR) na síndrome coronariana aguda sem supradesnivelamento do ST em pacientes com diabetes tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 90, n. 2, p. 94-99, 2008.

SWARDFAGER, W. et al. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. **Biological Psychiatry**, v. 68, p. 930-941, 2010.

TAY T. et al. Sensory and cognitive association in older persons: findings from an older australian population. **Gerontology**, v. 52, n. 6, p. 386-394, 2006.

TEKIN, M.; ARNOS, K. S.; PANDYA, A. Advances in hereditary deafness. **Lancet**, v. 358, p. 1082-1090, 2001.

THEUNISSEN, M.; SWANEPOEL, W.; HANEKOM, J. Sentence recognition in noise: Variables in compilation and interpretation of tests. **International Journal of Audiology**, v. 48, n. 11, p. 743-757, 2009.

TONET, A. C. et al. Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. **Brazilian Journal Of Medical and Biological Research**, v. 41, n. 1, p. 47-53, 2008.

TORRE, P. et al. The association between cardiovascular disease and cochlear function in older adults. **Journal of Speech Language and Hearing Research**, v. 48, n. 2, p. 473-481, 2005.

VAN HOOREN, S. A. H. et al. Does cognitive function in older adults with hearing impairment improve by hearing aid use? **International Journal of Audiology**, v. 44, p. 265-271, 2005.

VARGAS, H. O. et al. Oxidative stress and inflammatory markers are associated with depression and nicotine dependence. **Neuroscience Letters**, v. 544, p. 136-140, 2013.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.

VIACELLI, S. N. A.; COSTA-FERREIRA, M. I. D. Perfil dos usuários de AASI com vistas à amplificação, cognição e processamento auditivo. **Revista CEFAC**, v. 15, n. 5, p. 1125-1136, 2013.

VIUDE, A. **Fatores associados à presbiacusia em idosos**. 2002. 120 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

WAYNE, R. V.; JOHNSRUDE, I. S. A review of causal mechanisms underlying the link between age-related hearing loss and cognitive decline. **Ageing Research Reviews**, v. 23, p. 154-166, 2015.

WELSH, K. A. et al. Detection of abnormal memory in mild cases of Alzheimer's disease using CERAD neuropsychological measures. **Archives of Neurology**, v. 48, n. 3, p. 278-281, 1991.

WISSE, B. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, n. 11, p. 2792-2800, 2004.

WOELLNER, S. S.; ARAUJO, A. G. S.; MARTINS, J. S. Protocolos de equilíbrio e quedas em idosos. **Revista Neurociências**, v. 10, p. 104-117, 2014.

XING, G. et al. Audiological findings and mitochondrial DNA mutation in a large family with matrilineal sensorineural hearing loss. **Zhonghua Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi**, v. 35, n. 2, p. 98-101, 2000.

YAMASOBA, T. et al. Current concepts in age-related hearing loss: Epidemiology and mechanistic pathways. **Hearing Research**, v. 303, p. 30-38, 2013.

ZENG, L. et al. Age-Related Decrease in the Mitochondrial Sirtuin Deacetylase Sirt3 Expression Associated with ROS Accumulation in the Auditory Cortex of the Mimetic Aging Rat Model. **PLoS One**, v. 9, n. 5, p. e98726, 2014. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0088019>>. Acesso em: 07/06/2015.

# APÊNDICES

## Apêndice A – Metodologia detalhada utilizada para o estudo molecular

### 1 Extração do DNA genômico de sangue periférico

A extração do DNA (ácido desoxirribonucleico) genômico foi realizada a partir de leucócitos obtidos em 10 a 15mL (mililitros) de sangue periférico, coletado em tubos *Vacutainer* contendo 10% do anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetraacético dissódico 2H<sub>2</sub>O 0,5 M pH (potencial de hidrogênio iônico) 8,0). Foi empregado o método de extração com fenol e clorofórmio, padronizado no Laboratório de Genética Molecular Humana do CBMEG da UNICAMP, descrito a seguir:

Inicialmente, para lise das hemácias, foi adicionada a Solução A (Triton-X 100 a 1%; MgCl<sub>2</sub> 5 mM (milimolar); Sacarose 0,32 M; Tris-HCl 10 mM pH 8,0) ao sangue coletado, até atingir o volume de 50 mL. Após ser homogeneizado, o material foi mantido em gelo por 30 min (minutos). Posteriormente, o mesmo foi centrifugado a 2000 rpm (rotações por minuto) por 15 min a 4°C (graus *Celsius*). O sobrenadante foi então descartado e o precipitado (*pellet*) ressuspenso em 35 mL de Solução A. Esta última operação foi repetida até a obtenção de um *pellet* branco, livre de hemácias.

Posteriormente, foi adicionado 1 mL da solução B 1X (Na<sub>2</sub>EDTA 20 mM; NaCl 20 mM; Tris-HCl 20 mM pH 8,0) e 250 µL (microlitro) de solução C (para 1 mL de solução C: 0,5mL de solução B 1X, 1 mg (miligrama) de Proteinase K [*Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Alemanha*] e 0,5 mL de SDS 10%). O material foi incubado em banho-maria a 56°C por aproximadamente 2h (horas), ou em alguns casos, a 37°C por 18h.

Após esse período de incubação, foi iniciada a etapa de purificação do DNA genômico com fenol-clorofórmio que permitiu a remoção de peptídeos e proteínas de soluções aquosas. Foi então adicionado 1 mL de TE 1X (Tris-HCl 10 mM, pH 8,0; EDTA 1 mM) e quantidade suficiente de fenol saturado com Tris-HCl 10 mM pH 8,0

até dobrar o volume da amostra. Foi realizada a homogeneização por inversão lenta dos tubos durante 5 min, e para a separação e recuperação da fase aquosa (sobrenadante) o tubo foi centrifugado a 2500 rpm por 15 min à temperatura ambiente. O precipitado foi descartado e o sobrenadante passado para outro tubo. Tal procedimento repetiu-se por duas vezes, primeiro substituindo o fenol por uma solução de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1; v:v:v) e por último com uma solução clorofórmio:álcool isoamílico (24:1; v:v).

Para a precipitação do DNA, acrescentou-se 0,1 do volume da amostra de acetato de sódio 3 M pH 5,5 e 2,5 volumes de etanol absoluto gelado. O DNA precipitado foi recuperado com auxílio de uma haste plástica esterilizada e lavado com etanol 70%, para a retirada do excesso de sal, antes de ser ressuspensão em um volume de 200 µL de TE 1X. As amostras de DNA foram mantidas a 4°C.

Com o uso do DNA extraído do sangue coletado foi possível a realização do rastreamento de mutações genéticas.

## **2 Triagem de mutações nos principais genes envolvidos na surdez**

### **2.1 Rastreamento da mutação c.35delG no gene GJB2**

A mutação c.35delG (deleção da base nitrogenada guanina) no gene *GJB2* (*Gap Junction Beta* – Junção comunicante na formação Beta) foi rastreada pela técnica de PCR (*Polymerase chain reaction* – reação em cadeia de polimerase) alelo-específico. Os *primers* normal (NOR) e mutante (MUT) foram utilizados, em reações diferentes, para amplificar os alelos sem e com a mutação, respectivamente. O *primer* comum (COM) foi usado como *primer* reverso.

Com essas duas reações (NOR e MUT) é possível identificar cada indivíduo como sendo homozigoto normal, homozigoto mutante ou heterozigoto para a mutação c.35delG. Os *primers* A e B foram utilizados como controles internos de amplificação para as reações. Esta técnica foi desenvolvida no Laboratório de Genética Molecular Humana do CBMEG, a qual se encontra patenteada (UNICAMP, 2002).

## 2.2 Rastreamento de mutações no gene GJB2 por sequenciamento automático

### 2.2.1 Amplificação do gene GJB2

O éxon codificante do gene *GJB2*, com 681 pb (par de base), foi dividido para a amplificação pela técnica de PCR, de acordo com condições previamente descritas (KELSELL *et. al.*, 1997; DENOYELLE *et. al.*, 1997). As sequências dos *primers* e o tamanho dos fragmentos resultantes são mostrados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Sequências dos *primers* utilizados para a amplificação do gene *GJB2* e tamanho dos fragmentos gerados.

PAR	PRIMERS 5' 3'→	TAMANHO (pb)
1	Cx1F – CTC CCT GTT CTG TCC TAG Cx1R – GAC ACG AAG ATC AGC TGC	284
2	Cx2F – GCT ACG ATC ACT ACT TCC C Cx2R – GGT TGC CTC ATC CCT C	520

Para um volume de 50 µL de reação, foram utilizados: 200 a 500 ng (nanograma) de DNA genômico, 200µM de cada desoxinucleotídeo trifosfato (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 20 pmol de cada *primer* (direto e reverso), 2,5 U da enzima *Taq* (*Thermus aquaticus*) DNA polimerase em tampão de PCR 10X (Tris-HCl 10mM pH 8,8), 25 mM de MgCl<sub>2</sub>, completando com água até o volume final.

As amplificações foram realizadas em aparelho termociclador Veriti® 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems), sendo realizados 30 ciclos de aquecimento a 94°C para a desnaturação do DNA, seguido da temperatura de 60°C para o anelamento dos *primers*, e então de 72°C para a extensão das novas fitas.

Os produtos de amplificação foram visualizados em gel de agarose 1%, após coloração com brometo de etídio (Sigma). Os fragmentos do gene foram amplificados para posterior rastreamento de mutações por sequenciamento.

### 2.2.2 Purificação dos produtos de PCR

Os fragmentos amplificados pela técnica de PCR foram purificados utilizando-se o kit *Wizard SV Gel and PCR Clean-UP System* (Promega Corporation, EUA). Após a purificação, a quantidade e a pureza das amostras de DNA foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro NanoDrop® ND-8000 (Thermo Scientific).

### 2.2.3 Reação para Sequenciamento

As reações de sequenciamento foram realizadas no sequenciador automático ABI PRISM® 3700 DNA Analyzer utilizando-se o *BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystem, EUA), de acordo com o protocolo recomendado pelo fabricante. Para o preparo das reações foram utilizados: 40-80ng de DNA; 2µL do *mix BigDye*; 1µL do *primer* direto ou reverso (5pmol/µL); H<sub>2</sub>O (água) deionizada para completar 10µL.

Após a amplificação, as reações de sequenciamento foram purificadas. Primeiramente adicionou-se 2,5 µL de EDTA 125 mM e 25 µL de etanol 100%, após 15 min de incubação à temperatura ambiente (protegido da luz), a placa foi centrifugada por 45 min a 3700 rpm (4°C). O etanol foi descartado e foram adicionados 30 µL de etanol 70%. Uma nova centrifugação foi realizada por 10 min a 3700 rpm, sendo o etanol novamente descartado. Antes da colocação da placa no sequenciador, foram adicionados 10 µL de formamida seguida de homogeneização e centrifugação rápida. A amostra foi desnaturada (5 min a 95°C) e em seguida colocada no gelo por 10min.

### 2.2.4 Análise das sequências obtidas

As sequências obtidas foram analisadas e comparadas com as sequências normais dos genes, com o auxílio dos programas *Chromas Lite®* e *CLC Sequence Viewer 6.1* (CLC bio A/S).

## 2.3 Rastreamento da mutação IVS1+1G>A no gene GJB2

A mutação *IVS1+1G>A* foi rastreada pela técnica de RFLP-PCR (*Restriction Fragment Length Polymorfism*). Para amplificação, foram utilizadas condições previamente descritas (DENOYELLE et al., 1999) com o par de *primers* Cx26Ex1 F (5'-TCC GTA ACT TTC CCA GTC TCC GAG GGA AGA GG – 3') e Cx26Ex1 R (5'-CCC AAG GAC GTG TGT TGG TCC AGC CCC – 3').

Para um volume final de 50 µL, foram utilizados: 200 a 500 ng de DNA genômico, 200 µM de cada desoxinucleotídeo trifosfato (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 20 pmol de cada *primer* (direto e reverso), 2,5 U de enzima *Taq* DNA polimerase (Invitrogen, Brasil) em tampão de PCR 10X (Tris-HCL 10 mM pH 8,8), 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 2,5 µL de DMSO, completando com água até o volume final. As amplificações foram realizadas em aparelho termociclador Veriti® 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems).

Após a amplificação pela técnica de PCR, foram gerados fragmentos de 361 pb. Posteriormente, os produtos de amplificação foram submetidos à análise de restrição utilizando a enzima *Hph* I (Invitrogen) por 3h a 37°C. Para o preparo da reação de digestão foram utilizados: 17,5 µL do produto de PCR, 2,0 µL do tampão da enzima e 0,5 µL da enzima *Hph* I (5000U/µL). Para análise dos produtos gerados, os fragmentos foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%, corados e visualizados sob luz ultravioleta.

Em indivíduos que não são portadores da mutação *IVS1+1G>A* são gerados dois fragmentos: um de 117pb e outro de 244pb. Em indivíduos portadores da mutação, um dos sítios de restrição é abolido, sendo gerado apenas um fragmento de 361 pb. Para confirmar a presença da mutação, os produtos de PCR dos pacientes portadores da mutação *IVS1+1G>A* foram sequenciados utilizando os mesmos *primers* usados na PCR. A reação de sequenciamento e análise das sequências obtidas seguiram o protocolo já descrito acima.

#### 2.4 Rastreamento das deleções del(*GJB6-D13S1830*) e del(*GJB6-D13S1854*) no gene *GJB6*

A análise das deleções del(*GJB6-D13S1830*) e del(*GJB6-D13S1854*) foi realizada de acordo com protocolos adequados (DEL CASTILLO et al., 2003, 2005).

O rastreamento das mutações foi realizado por meio de uma PCR *multiplex*, que investiga a presença de ambas as deleções em apenas uma reação.

As sequências dos *primers* e o tamanho dos fragmentos resultantes são mostrados na Tabela 2. Os fragmentos de DNA resultantes da amplificação contêm os pontos de quebra de ambas as deleções, assim como um segmento do éxon 1 do gene *GJB6*, que é usado como controle para checar a eficiência da reação e distinguir os alelos heterozigotos e homozigotos para qualquer uma das duas deleções.

**Tabela 2.** Sequências dos *primers* utilizados na triagem das deleções del(*GJB6*-D13S1830) e del(*GJB6*-D13S1854) e tamanho dos fragmentos gerados.

Par	Posição	PRIMERS 5' → 3'	Tamanho (pb)
1	ponto de quebra da del( <i>GJB6</i> -D13S1830)	<b>GJB6</b> – TTT AGG GCA TGA TTG GGG TGA TTT <b>BKR1</b> – CAC CAT GCG TAG CCT TAA CCA TTT T	460
2	ponto de quebra da del( <i>GJB6</i> -D13S1854)	<b>DelBK1</b> – TCA TAG TGA AGA ACT CGA TGC TGT TT <b>DelBK2</b> – CAG CGG CTA CCC TAG TTG TGG T	564
3	éxon 1 do gene <i>GJB6</i>	<b>Ex1A</b> – CGT CTT TGG GGG TGT TGC TT <b>Ex1B</b> – CAT GAA GAG GGC GTA CAA GTT AGAA	333

Para um volume de 30 µL de reação, foram utilizados: 200 a 500 ng de DNA genômico, 200µM de cada desoxinucleotídeo trifosfato (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 20 pmol de cada *primer* (direto e reverso), 2,5 U de *Taq* DNA polimerase em tampão de PCR 10X (Tris-HCl 10mM pH 8,8), 25 mM de MgCl<sub>2</sub>, completando com água até o volume final.

As amplificações foram realizadas em aparelho termociclador Veriti® 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems).

Os produtos de amplificação foram visualizados em gel de agarose 1,5%, após coloração com brometo de etídio (Sigma). Indivíduos que não são portadores das deleções exibem a banda controle de 333 pb referente ao éxon 1 do gene *GJB6*. Indivíduos com a del(*GJB6*-D13S1830) em heterozigose apresentam, além da banda controle, uma banda de 460 pb. Já a del(*GJB6*-D13S1854) em heterozigose gera um fragmento de 564 pb, além da banda controle.

## 2.5 Rastreamento da mutação m.1555A>G no gene mitocondrial MTRNR1

Para o rastreamento da mutação m.1555A>G foram utilizadas condições previamente descritas (FRIEDMAN et al., 1999; IWASAKI et al., 2000), com o par de *primers* MIT-F (5' – GTC GAA GGT GGA TTT AGC AGT – 3') e MIT-R (5' – CAG AAG GTA TAG GGG TTA GTC – 3').

Para um volume de 50 µL de reação foram utilizados: 200 a 500 ng de DNA genômico, 200 µM de cada desoxinucleotídeos trifosfato (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 20 pmol de cada *primer* (direto e reverso), 2,5 U de *Taq* DNA polimerase em tampão de PCR 10X (Tris-HCl 10mM pH 8,8), 25 mM de MgCl<sub>2</sub>, completando com água até o volume final. As amplificações foram realizadas em aparelho termociclador Veriti® 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems).

Após a amplificação pela técnica de PCR, foram gerados fragmentos de DNAm<sub>t</sub> (Ácido desoxirribonucleico mitocondrial) de 2060pb. Posteriormente, os produtos de amplificação foram submetidos à análise de restrição utilizando a enzima *Bsm*AI (Invitrogen), por 2h a 55°C. Para o preparo da reação de digestão foram utilizados: 17,5 µL do produto de PCR, 2,0 µL do tampão da enzima e 0,5 µL da enzima *Bsm*AI (5000U/µL).

A análise dos produtos gerados foi realizada em gel de agarose 1,5%, após coloração com brometo de etídio (Sigma). Em indivíduos que não são portadores da mutação m.1555A>G são gerados 3 fragmentos: de 1100, 516 e 444 pb. Já em indivíduos portadores da mutação, um dos sítios de restrição é abolido, sendo gerados apenas 2 fragmentos: de 1616 e 444 bp.

## **ANEXOS**

### **Anexo A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE**

Vimos por meio deste, solicitar a sua participação em uma pesquisa científica na área da audição. A pesquisa será realizada pelo Fonoaudiólogo Mestre Alexandre Hundertmarck Lessa (CRFa-RS 9387), orientado pela Fonoaudióloga Professora Doutora Maristela Julio Costa, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

O trabalho intitulado "Influência da cognição e do perfil lipídico-inflamatório-oxidativo, sob diferentes aspectos na adaptação de próteses auditivas em idosos" tem por objetivo verificar a influência de diversos aspectos nas habilidades auditivas de idosos pré e pós adaptação de próteses auditivas e reabilitação auditiva.

A pesquisa será realizada no Serviço de Atendimento Fonoaudiológico (SAF) da UFSM, localizado na Rua Floriano Peixoto, 1750, 7º andar, Santa Maria – RS.

Os participantes deste estudo passarão por avaliações, que consistirão da apresentação de estímulos sonoros, podendo ser tons semelhantes a apitos, como também, sílabas, palavras ou frases. O examinador irá orientá-lo a como responder ao teste, por exemplo: “levante a mão toda vez que ouvir o apito” ou “repita a palavra/frase ouvida”. Esses estímulos serão apresentados através de fones de ouvido ou caixas de som. Tais avaliações serão realizadas antes de o indivíduo receber as próteses auditivas pelo Programa de concessão de próteses auditivas do Governo Federal e três meses após a adaptação dos mesmos. Além disso, será realizada coleta de sangue dos sujeitos, para análises clínicas.

Todos os sujeitos serão beneficiados, pois receberão os resultados das avaliações, inclusive dos níveis de colesterol, glicose e triglicérides no sangue, e poderão ser convidados a participar de um programa de treinamento auditivo, ao qual deverão comparecer por dez semanas consecutivas e os auxiliará para um melhor desempenho no uso das próteses auditivas.

Não haverá benefícios financeiros, nem custos aos envolvidos. O risco para os pacientes que concordarem em participar do estudo diz respeito apenas ao

cansaço que poderá ocorrer, devido ao tempo de avaliação e ao desconforto que pode ser causado pela coleta do sangue. Os pacientes poderão entrar em contato com o examinador pessoalmente ou pelo telefone (55) 3220-9234 para sanar quaisquer dúvidas relativas a este trabalho ou quando acharem necessário. Estes terão total liberdade de continuar participando ou não da pesquisa, conforme a sua disponibilidade, sem qualquer constrangimento ou interrupção dos tratamentos aos quais estiverem sendo submetidos.

Os dados, que ficarão armazenados no SAF da UFSM pelo período de cinco anos, sob responsabilidade do pesquisador, serão sigilosos e os participantes não serão identificados em hipótese alguma. Após tal período, os dados serão incinerados.

Eu, \_\_\_\_\_, RG nº \_\_\_\_\_, declaro que, após a leitura deste documento, estou de acordo com os itens acima descritos, concordando com a coleta de dados, informações e avaliações referentes ao projeto de pesquisa executada pelo Fgo. Alexandre Hundertmarck Lessa para fins de estudos científicos, pesquisas e apresentações em congressos e periódicos da área.

---

Voluntário

---

Fgo. Alexandre Hundertmarck Lessa  
CRFa 9387-RS

Santa Maria, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_.

---

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato: Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM – Av. Roraima, 1000 – Prédio da Reitoria – 7º andar – Campus Universitário – CEP: 97105-900 – Santa Maria – RS  
Tel: (55) 3220-9362 – email: comiteeticapesquisa@mail.ufsm.br