



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓSGRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

NATÁLIA LOMBARDI ASSUMPÇÃO

**EFEITO DA MELATONINA NA OTOPROTEÇÃO EM ROEDORES: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA.**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Mestre em Ciências
Médicas pelo Programa de Pós Graduação em
Ciências Médicas da Universidade de Brasília.

Brasília – DF
2023

NATÁLIA LOMBARDI ASSUMPÇÃO

**EFEITO DA MELATONINA NA OTOPROTEÇÃO EM ROEDORES: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA.**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do Título de Mestre em Ciências
Médicas pelo Programa de Pós Graduação em
Ciências Médicas da Universidade de Brasília.

Aprovado em: ___/___/___

Banca Examinadora

Professor Doutor André Luiz Lopes Sampaio (presidente)
Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília

Professora Doutora Eliete Neves da Silva Guerra
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília

Doutora Monique Antunes de Souza Chelminski
Membro externo

Professor Doutor Eduardo Magalhães da Silva (suplente)
Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília

Dedico este trabalho

À minha filha, *Silvia*, razão do meu viver e minha maior força.

À minha mãe *Denise*, pelo amor e apoio incondicional, em todos os momentos em que me senti desacreditada e sem forças para seguir.

À minha madrinha *Sissa* pelo mesmo amor e apoio incondicional, nas horas leves e pesadas, minha segunda mãe.

Ao meu padrinho *Marcio*, pelas palavras sábias e técnicas, em situações adversas.

À minha avó *Maria* e meu avó *Nelson* por toda estrutura e alicerce de uma vida.

À minha prima *Giuliana*, irmã que a vida meu deu.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. André Luiz Lopes Sampaio**, pelo acolhimento acadêmico e confiança.

À minha amiga, **Lucieny Silva Martins Serra** pela incomensurável ajuda e companheirismo durante todas as etapas deste estudo.

À **Universidade de Brasília e ao Programa de Ciências Médicas**, seu corpo docente, direção e administração que me proporcionaram um ensino de qualidade, confiança e ética e principalmente ao **Gledson Alessandro Ribeiro da Silva** pelo suporte oferecido na parte burocrática e final desta jornada.

Ao amigo **Dr Carlos Amilcar Salgado**, pela prestimosa contribuição para entendimento dos princípios da metanálise de pesquisas médicas.

À amiga, colega de profissão e de mestrado **Carla Giovanna Silva Borges**, pelo companheirismo e apoio concedidos do início ao fim deste trabalho.

À amiga **Dra Jéssica Kuchar**, pelo apoio incalculável durante a fase de elaboração de resultados desta dissertação.

À amiga **Dra Juliana de Araújo Gusmão**, pela imensurável ajuda na realização da metanálise de dados.

À **Vanessa Veis Ribeiro** pela colaboração durante a realização das etapas da revisão sistemática e metanálise.

À **Vanessa Conceição Rocha Araújo de Menezes** por toda compreensão e apoio durante o período da minha dedicação ao mestrado.

À toda **família Lombardi** por ser a minha base e suporte indiscutíveis, e em especial, aos meus primos **Doutor Alexandre Lombardi Vidal Leite Ribeiro e Geovani Lombardi** pelo incondicional apoio, ainda que a distância.

À Equipe do **Laboratório de Ensino e Pesquisa** por todo o suporte oferecido durante a realização do mestrado.

Às minhas amigas **Adriana Lannes Oliver, Raquel Alves Nobre, Ana Clarissa dos Santos Pires, Alice Gusmão Perazonni e Michelle Rocha** simplesmente por estarem sempre por perto.

E, finalizando, agradeço a **Deus**, que, através da minha Fé, apesar de todos os percalços, proporcionou-me a conclusão deste estudo.

“A probabilidade supre as deficiências do nosso conhecimento e conduz-nos em sua ausência, responsabilizando-se pelas coisas de que não temos certeza.”

(Locke)

RESUMO

Introdução: A melatonina representa uma promissora substância antioxidante capaz de minimizar os efeitos da perda auditiva induzida por ototóxicos. Estudos experimentais in vivo tem sido realizado para testar a otoproteção da melatonina.

Objetivo: Analisar a eficácia otoprotetora da melatonina por meio de uma revisão sistemática de estudos experimentais em roedores

Métodos: Foram encontrados 154 artigos em quatro bases de dados. A estratégia PICOS (População, Intervenção; Comparação e Desfecho) foi usada para definir os critérios de elegibilidade. Os estudos que atenderam aos critérios de inclusão para a segunda etapa foram incluídos em uma síntese qualitativa e cada tipo de estudo foi analisado pela ferramenta de risco de viés SYRCLE's RoB e o check list da Camarades.

Resultados: Sete artigos foram selecionados e desses, quatro elegíveis para participar da metanálise. Foi possível obter sete desfechos de acordo com as frequências auditivas em comum apresentadas entre os estudos, considerando o mínimo de três frequências comuns. Os desfechos analisados foram para as frequências de 1500, 2000, 3000, 4000,5000, 6000 e 8000Hz.

Conclusão: O pequeno número de estudos avaliados trouxe resultados consistentes nas frequências mais altas. As evidencias ainda são pré clínicas. No entanto, estudos pré-clínicos, "in vivo" extensivos são necessários para garantir que esses efeitos benéficos tenham sido abordados antes dos ensaios clínicos transacionados.

Palavras Chave: melatonina, roedores, agentes ototóxicos, otoproteção.

ABSTRACT

Melatonin is a promising antioxidant substance that can minimize the effects of ototoxicity-induced hearing loss. *In vivo* experimental studies have been performed to test the otoprotective efficacy of melatonin. *Objective:* To analyze the otoprotective efficacy of melatonin by systematic review of experimental studies with rodents. *Methods:* Altogether, 154 articles were found in four databases. The PICOS strategy (Population, Intervention, Comparison, and Outcome) was used to define the eligibility criteria. Studies that met the inclusion criteria for the second step were included in a qualitative synthesis. Each study type was analyzed with the SYRCLE's RoB criteria and Camarades check list. *Results:* Seven articles were selected, and four were included in the meta-analysis. *It* was possible to obtain seven outcomes according to the standard auditory frequencies presented among the studies, considering a minimum of three standard frequencies. The outcomes analyzed were for the frequencies of 1500, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, and 8000 Hz. *Conclusion:* s. Despite the limited number of studies that were evaluated, the results appeared consistent in higher frequencies. However, the methodology of the available studies did not meet the necessary methodological rigor that promotes the safe replicability of these studies. The evidence is still preclinical. However, extensive preclinical, *in vivo* studies are needed to ensure these beneficial effects have been addressed prior to translated clinical trials.

Keywords: melatonin, rodents, ototoxic agents, otoprotection

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características das bases de dados bibliográficos	28
Tabela 2 -	Estratégia de busca utilizada em cada base de dados	30
Tabela 3 -	Número de artigos encontrados por base de dados	35
Tabela 4 -	Descrição dos artigos selecionados para a etapa qualitativa do estudo.:	37
Tabela 5 -	Risco de viés dos estudos incluídos, avaliados por meio do <i>JBIC Critical Appraisal Checklist for Quasi-Experimental Studies</i>	40
Tabela 6 -	Risco de viés dos estudos incluídos, avaliados por meio do <i>JBIC Critical Appraisal Checklist for Randomized Controlled Trials</i>	41
Tabela 7 -	Resumo do risco de viés dos estudos incluídos segundo o <i>JBIC Critical Appraisal Checklist</i>	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Anatomia da orelha interna -	15
Figura 2 -	Órgão de Corti (órgão espiral)	15
Figura 3 -	Estrutura química da melatonina	16
Figura 4 -	Síntese do hormônio melatonina em mamíferos	17
Figura 5 -	Esquema do processo de apoptose celular	19
Figura 6 -	Fluxograma PRISMA referente ao processo de seleção dos artigos	36
Figura 6-	Forest Plot da análise das frequências de 1500 Hz a 8000 Hz	45

LISTA DE ABREVIATURAS

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
OMS	Organização Mundial de Saúde
AASI	Aparelho de amplificação sonora individual
LIBRAS	Linguagem Brasileira de Sinai
EROS	Espécie reativa de oxigênio
CCE	Células Ciliadas Externas
EOA	Emissões Otoacústicas Evocadas
PEATE	Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico
dB	Decibel
dBNPS	Decibel Nível de Pressão Sonora
EOAPD	Emissões Otoacústicas Evocadas Auditivas por produto de distorção
EOAE	Emissões Otoacústicas Auditivas
EOAT	Emissões Otoacústicas Auditivas Transientes.
RS	Revisão sistemática
MeSH	Medical Subject Headings -
Hz	Hertz
mg	miligrama
ml	mililitro
µg	micrograma
MLT	melatonina
DXT	Dexametazona

TCR	Tacrolimo
μ l	Microlitro
DF	Graus de Liberdade
CHI ²	Teste de metanálise que avalia Heterogeneidade
Z	Teste de metanálise que avalia Heterogeneidade
TAU ²	Teste de metanálise que avalia Heterogeneidade
I/O FUNCION	Teste específico de Emissões Otoacústicas Evocadas
PD GRAN	Teste específico de Emissões Otoacústicas Evocadas
I ²	Teste de metanálise que avalia Heterogeneidade
%	Percentual
sc	Subcutânea
cc	Centímetros Cúbicos
MP	Bomba microsmótica
GM	Gentamicina
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 ANATOMIA DA ORELHA.....	14
2.2 MELATONINA.....	16
2.3 APOPTOSE CELULAR.....	18
2.3.1 Ototoxicidade	20
2.3.2. Ototoxicidade por Aminoglicosídeo	20
2.3.3 Ototoxicidade por Agentes Quimioterápicos	21
2.4 EXAMES AUDIOLÓGICOS.....	22
2.4.1 Emissões Otoacústicas Evocadas (EOAE)	22
2.4.2 Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico	24
3 OBJETIVOS	26
4 MÉTODOS	27
4.1 ESTRATÉGIA DE PESQUISA.....	27
4.1.1 Critérios de Elegibilidade	31
4.2 SÍNTESE QUALITATIVA.....	32
4.3 SÍNTESE QUANTITATIVA.....	33
5 RESULTADOS	35
5.1 SÍNTESE QUALITATIVA.....	35
5.2 SÍNTESE QUANTITATIVA.....	43
6 DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

A deficiência auditiva é caracterizada por uma alteração neurossensorial ou condutiva que pode variar de grau leve até profundo. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), demonstram que 10% da população mundial é atingida por essa condição. Existe uma previsão de que cerca de 2,5 bilhões de pessoas terá algum grau de perda auditiva em 2050[1].

No Brasil, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 5% da população apresentam perda auditiva, dos quais 2.7 milhões são portadores de perda auditiva profunda[2] [3].

A surdez está presente na vida dos indivíduos há milhares de anos. Na antiguidade, não havia um contexto bem estabelecido de direitos que amparassem as pessoas surdas. De um lado, a esses indivíduos eram imputados castigos divinos, abandonos e sacrifícios justificados por “forças sobrenaturais”. Por serem considerados indomesticáveis, intratáveis e selvagens, ficavam à margem da política e de manifestações sociais[4] [5]. Ao contrário, sob a tutela das leis hebraicas, os surdo-mudos eram cuidados e protegidos como crianças.

Com o passar do tempo e a evolução da medicina e da tecnologia surgem os primeiros aparelhos auditivos, em 1998. Eram semelhantes a enormes trombetas em forma de chifre com uma parte larga e aberta em uma das extremidades, que captava o som e o direcionava para o conduto auditivo do paciente. O desenvolvimento do aparelho auditivo moderno só se tornou possível graças à contribuição de dois grandes inventores, Alexander Graham Bell, que amplificou eletronicamente o som em seu telefone usando um microfone de carbono e uma bateria, e Thomas Edison, que inventou o transmissor de carbono que transformava os sons em sinais elétricos que eram conduzidos através dos fios e convertidos de volta em sons[6].

Ambas invenções foram aproveitadas para produção dos aparelhos auditivos e durante a Revolução Industrial começaram a ser produzidos em massa, porém ainda apresentavam dimensões maiores do que a ideal, além do alto custo. Meados do século XX foi marcado pelo início dos aparelhos digitais e primeiros implantes cocleares.

Além do uso da tecnologia dos AASI e dos IC a comunicação do indivíduo surdo acontece com o uso da Linguagem Brasileira de Sinais (LIBRAS). Trata-se de uma

linguagem de modalidade gestual-visual que permite a comunicação por meio de gestos e sinais e se tornou uma importante ferramenta de inclusão social nos dias atuais[7] [8].

Partindo do pressuposto de que a saúde não é apenas ausência de doença, mas também a presença de bem estar mental, psicológico e social, a perda auditiva, em qualquer grau, pode gerar transtornos na vida do indivíduo. A preocupação com relação aos impactos gerados pela surdez está crescendo no mundo à medida que a população aumenta sua longevidade, visto que há uma grande parcela de surdos dentre os idosos[9].

Independente da idade em que se estabelece, a surdez pode causar impactos relacionados à qualidade de vida e à atividade laboral, bem como alterações comportamentais como isolamento social, e, em alguns casos, pode também contribuir para a ocorrência de processos demenciais[10] [11]. Quando essa condição se estabelece em fase pré-lingual, ou seja, em fase anterior ao desenvolvimento da linguagem, no nascimento ou nos primeiros anos de vida, esse impacto é ainda maior, podendo gerar falta de acesso a linguagem oral quando não diagnosticada precocemente[12].

Atualmente, apesar da tecnologia desenvolvida na indústria farmacêutica, ainda não existe uma droga capaz de prevenir ou curar a surdez. Neste sentido a melatonina um antioxidante, configura-se como uma promissora substância capaz de minimizar os efeitos desta condição nos seres humanos. Diversos experimentos têm sido realizados com uso de modelos animais nos quais os pesquisadores testam a melatonina como substância otoprotetora. Nesse sentido, já foram publicados estudos em animais roedores na área do envelhecimento, antineoplásicos, uso de aminoglicosídeos e perda auditiva induzida por ruído[13] [14] [15] [16] [17]. Alguns destes estudos[17] [14] publicado pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa em Otorrinolaringologia. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da melatonina como agente otoprotetor associada ao uso de substâncias ototóxicas, por meio da realização de uma revisão sistemática da literatura.

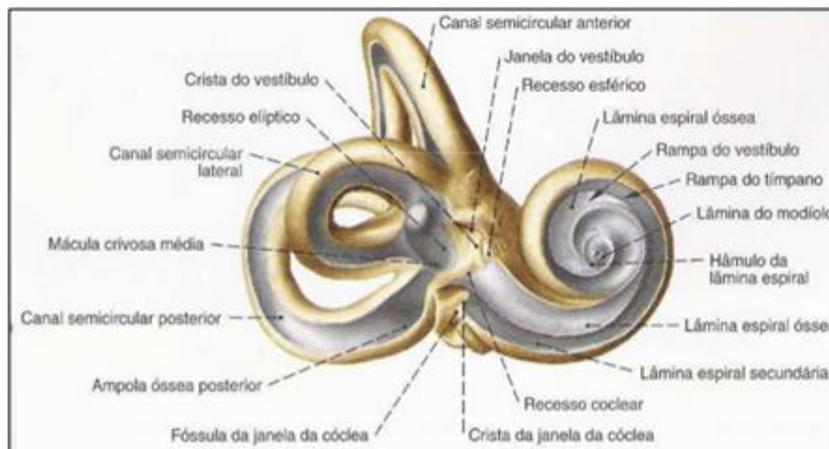
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ANATOMIA DA ORELHA

A orelha, órgão responsável pela audição e pelo equilíbrio é dividida em três componentes: orelha externa, média e interna. Na orelha interna encontra-se a cóclea, com o órgão de Corti, responsáveis pela audição e, ainda os canais semicirculares, responsáveis pelo equilíbrio. Essa região da orelha pode ser diretamente afetada pela ototoxicidade[14].

A cóclea é um órgão de 9 mm de diâmetro com estrutura em forma de cone, composta por três “camadas” paralelas que se afilam da base para o ápice em formato espiral ao longo de uma estrutura óssea denominada modíolo. A porção basal da cóclea é mais alargada e possui duas janelas, a oval e a redonda. Suas camadas são denominadas: escala vestibular, escala média ou ducto coclear, e escala timpânica. A primeira está em posição superior e limita-se com a orelha média através da janela oval. A escala média está em uma posição intermediária onde se localiza o órgão de Corti e é delimitada, em sua base, pela membrana basilar. A escala timpânica está em localização inferior e limita-se com a orelha média por meio da janela redonda[18].

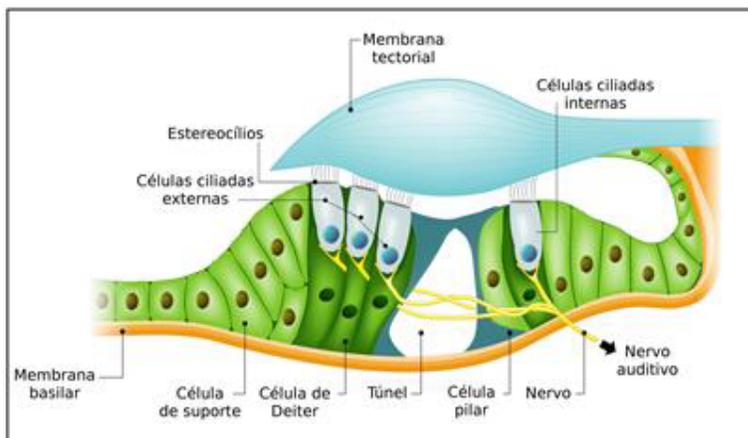
As escalas vestibular e timpânica comunicam-se por meio de uma estrutura denominada helicotrema, situado no ápice da cóclea que carrega em seu interior a perilinfa[18].



Fonte: Sobotta – Atlas de Anatomia Humana. Volume 1 Cabeça, Pescoço e Extremidade Superior. 21.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000.

Figura 1 - Anatomia da orelha interna.

O ducto coclear é constituído pelo ligamento espiral, membrana basilar e membrana vestibular. Em seu interior está localizado o órgão de Corti, este, por sua vez, formado por células de sustentação, células ciliadas internas dispostas em uma fileira medial e células ciliadas externas dispostas lateralmente às internas[18].



Fonte: Shutterstock.com

Figura 2 - Órgão de Corti (órgão espiral)

A membrana tectorial é uma estrutura semelhante a um gel acelular composta de matriz extracelular. Ela parece ter um papel fundamental como transdutor sensorial devido ao seu íntimo contato com as células ciliadas[18].

A lamina espiral óssea, região formada pela projeção do modíolo, e a membrana basilar separam o ducto coclear da escala timpânica[18].

A metade superior da lâmina espiral está, em sua maior parte, localizada dentro

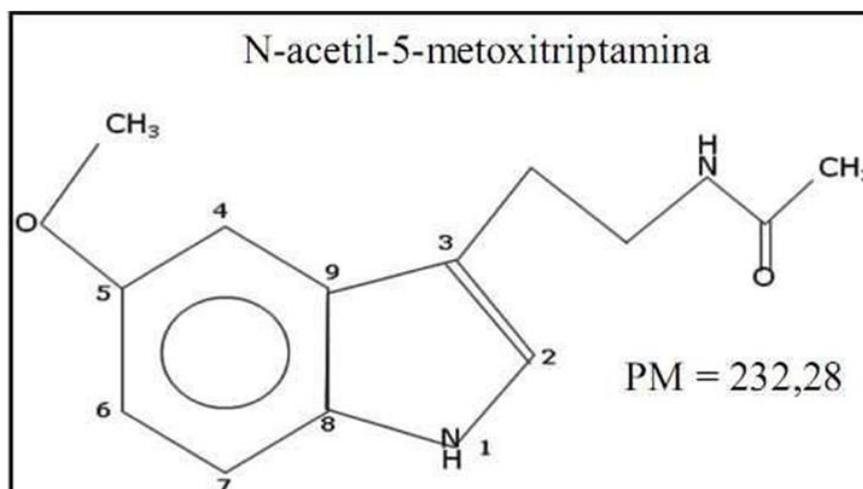
do ducto coclear; o periósteo que a reveste é espesso e dá origem a membrana vestibular. Esta, por sua vez, abriga uma camada de células epiteliais e outra de células mesoteliais e separa a escala vestibular do ducto coclear. Sua extensão vai do limbo da lâmina espiral óssea até a parte mais alta do ligamento espiral acima da estria vascular[18].

A estria vascular é um epitélio estratificado, bem vascularizado, localizado na parede lateral da cóclea na região do ligamento espiral. O ligamento espiral é uma camada provinda do espessamento do endósteo coclear[18].

2.2 MELATONINA

A melatonina (N acetyl-5-methoxytryptamine) é uma molécula onipresente na natureza, podendo ser encontrada em diversos organismos vivos[14].

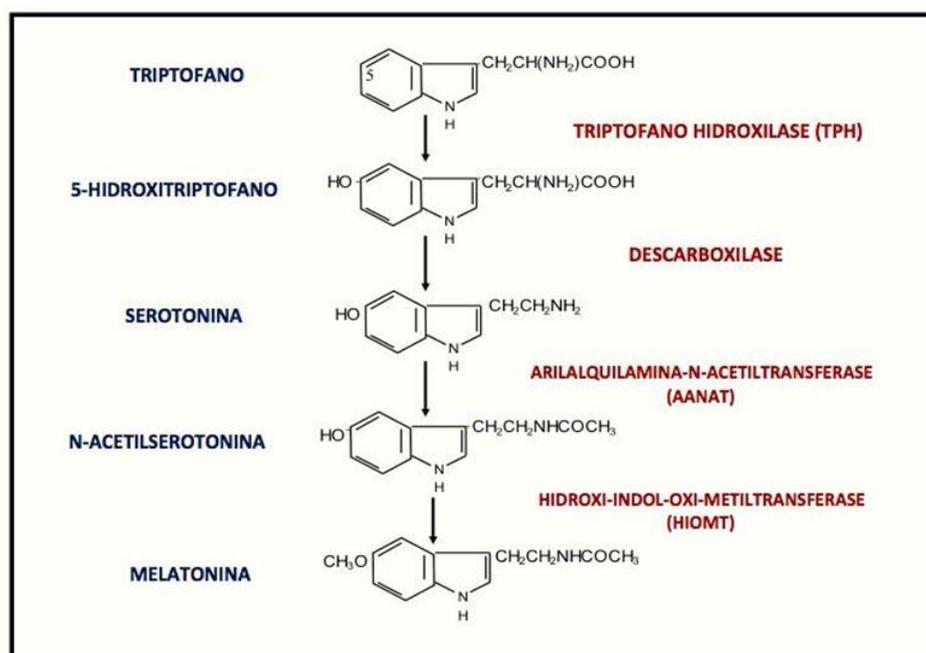
A Figura 3 apresenta a estrutura química da melatonina.



Fonte: Wikipédia Google
Figura 3 – Estrutura química da melatonina.

Em mamíferos, a produção da melatonina ocorre em alguns tecidos, porém, é centralmente produzida pela glândula pineal, que a sintetiza para funcionar como um hormônio. Os pinealócitos da glândula pineal contêm o aminoácido triptofano como precursor da melatonina. Este aminoácido sofre ação da enzima triptofano hidroxilase, que o transforma em 5-hidroxitriptofano. Essa substância, por sua vez, sofre ação de

descarboxilase, que a transforma em 5-hidroxitriptamina, também conhecida como serotonina. Por ação da enzima aril-alquil-N-acetiltransferase, é transformada em N-acetilserotonina, que, por fim, sofre ação da hidroxil-indol-oxi-metiltransferase, transformando-a em melatonina, N-acetil-5-metoxitriptamina[19] [20].



Fonte: Wikipédia Google

Figura 4 - Síntese do hormônio Melatonina em mamíferos.

A função mais conhecida da melatonina em vertebrados é a regulação do ciclo circadiano, além de participar da regulação dos sistemas imunológico e circulatório.[19] .

Além dessa função a melatonina é proficiente na eliminação de radicais livres e apresenta propriedades antioxidantes. Sua molécula tem características hidrofílicas e ao mesmo tempo hidrofóbica e é liberada a medida que é sintetizada dentro dos pinealócitos Esta liberação ocorre no líquido cefalorraquidiano do sistema nervoso central (SNC) durante a noite [21]. A mobilização do sistema enzimático intracelular e a quelação direta de espécies reativas de oxigênio (EROS) são mecanismos que representam a capacidade antioxidante natural e poderosa da melatonina. Seu mecanismo de ação dá-se por receptores de membrana específicos[22]. Em mamíferos, são de dois tipos, MT_1 e MT_2 .

Os receptores MT_1 e MT_2 pertencem à superfamília dos receptores ligados à proteína G (G_i , G_0 , G_q e G_{11}). A ligação desses receptores provoca uma alteração nas concentrações de nucleotídeos cíclicos intracelulares como AMPc e GMPc e nos níveis de cálcio no interior das células, conduz à ativação de subtipos de proteína quinase C, age na localização intracelular de receptores de hormônios esteróides e regula a sintetização da proteína G. Esses receptores de alta afinidade estão distribuídos em todo o organismo, do SNC a órgãos e tecidos periféricos. Eles são responsáveis por uma variedade de efeitos intracelulares conforme o tecido onde estão localizados e são responsáveis por efeitos fisiológicos importantes, como: regulação de funções endócrinas, atividade cardiovascular, imunomodulação, pigmentação da pele, dentre outros. Um terceiro sítio de ligação da melatonina, MT_3 foi identificado, todavia não foi considerado como um receptor e sim uma enzima quinona redutase 2, que participa na proteção contra o estresse oxidativo das células[22] [23].

O seu caráter lipofílico e lipossolúvel permite-lhe atravessar membranas e meios aquosos como o citoplasma, alcançando o compartimento intracelular, onde se fixa principalmente dentro do núcleo, no DNA[17].

A melatonina apresenta ações anti-inflamatória, antitumoral e imunomodulatória e pode ser considerada como um bom antioxidante, tanto pelos seus efeitos fisiológicos e farmacológicos como pela ausência de efeitos colaterais. O uso de antioxidantes pode ser uma alternativa viável na prevenção da ototoxicidade causada por antibióticos e quimioterápicos[19] [24] [25].

2.3 APOPTOSE CELULAR

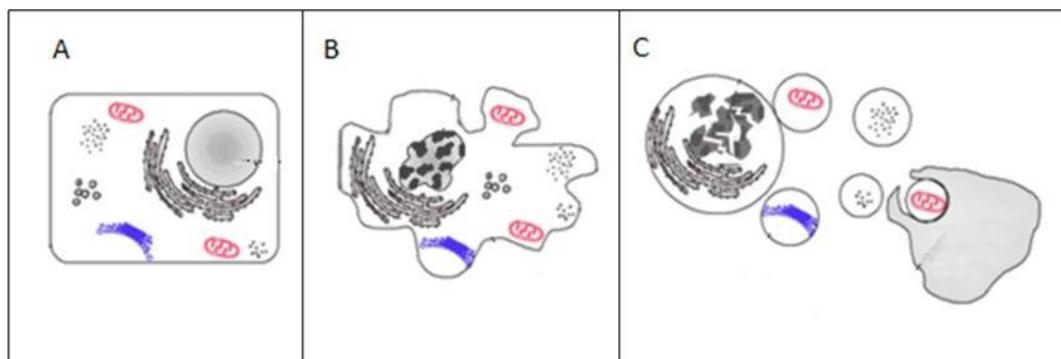
Apoptose, ou morte celular programada, é um processo essencial para a manutenção do desenvolvimento dos seres vivos, sendo importante para eliminar células supérfluas ou defeituosas[26].

O equilíbrio entre a geração de células novas por meio do processo de divisão celular e a perda de células antigas através da morte celular é fundamental em tecidos saudáveis. Organismos multicelulares são capazes de induzir a morte celular programada como respostas a estímulos intracelulares ou extracelulares. (morte celular por

apoptose impresso). Os processos de morte celular são classificados de acordo com suas características morfológicas e bioquímicas, sendo eles: apoptose, autofagia, necrose, mitose catastrófica e senescência[26] [27].

O estresse oxidativo, que está relacionado ao acúmulo de radicais livres, é uma das causas do envelhecimento celular que traz como consequência o processo de morte celular por apoptose após a ativação das enzimas caspases[27] [26]

A apoptose é um fenômeno em que ocorre a retração da célula e perda da aderência com a matriz extracelular e células adjacentes. Neste processo, as organelas celulares mantêm sua morfologia, com exceção da mitocôndria que pode se romper. A seguir, a membrana celular sofre prolongamentos e o núcleo se desintegra em fragmentos envoltos pela membrana celular. Estas porções envoltas pela membrana celular são chamadas de apoptócitos. Os apoptócitos são rapidamente fagocitados por macrófagos (células do sistema imunológico com capacidade de fagocitar restos celulares) e removidos sem que haja um processo inflamatório[27] [26].



Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Fagócito>

Figura 5 - Esquema do processo de apoptose celular. A – célula normal; B – início da condensação e formação dos corpos apoptóticos; C – fagocitose dos corpos apoptóticos pelo macrófago.

A apoptose pode ocorrer por duas vias: a via extrínseca ou citoplasmática e a via intrínseca ou mitocondrial[28].

A via extrínseca é desencadeada por fatores externos capazes de ativar receptores de morte específicos (sequência de 65 aminoácidos) que se ligam a outros receptores específicos e interagem com moléculas chamadas de FAAD/MORT -1. A partir daí, a caspase - 8 será recrutada ativando a caspase – 3, executando a morte por apoptose [29].

Em contrapartida, a via intrínseca é ativada por estresse intra ou extracelular

em consequência de fatores de crescimento, danos no DNA, hipóxia ou ativação de processos cancerígenos. (morte por apoptose) Neste caso, a apoptose é controlada por uma família protéica composta por 25 proteínas, denominada de Bcl -2. Quando essa via é ativada, ocorrem mudanças na permeabilidade da membrana mitocondrial que culminam na ativação da caspase -9, liberando o citocromo C e aumentando a produção de EROS. Em consequência do aumento das EROS ocorre a resposta mitocondrial, marcando o início da apoptose[27] [26] [29].

O processo de apoptose tende a ser o processo mais comum de morte das células ciliadas [27] [26] [29].

2.4 OTOTOXICIDADE

A ototoxicidade é uma condição clínica geralmente causada por efeitos deteriorantes de agentes químicos que comprometem funções auditivas e/ou do sistema vestibular periférico, sendo caracterizada por uma perda auditiva neurossensorial de mais de 25 dB em uma ou mais frequências na faixa de 250 a 8000 Hz, com ou sem manifestações de vertigem ou desequilíbrio[30] [25].

2.4.1 Ototoxicidade por aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são antibióticos cuja ototoxicidade é irreversível e apresentam cocleotoxicidade e vestibulotoxicidade variáveis[31] [32].Entre eles, a estreptomina e a gentamicina são vestibulotóxicas, enquanto a amicacina, a neomicina, e a diidroestreptomina são principalmente cocleotóxicas. A lesão coclear pode produzir perda auditiva permanente e a lesão do sistema vestibular pode resultar em tontura, ataxia e/ou nistagno[33].

A ototoxicidade causada pelos aminoglicosídeos depende de diferentes fatores, como dosagem e duração do tratamento, tipo de medicamento, fatores genéticos e condições farmacotécnicas[34].

As alterações celulares envolvidas na cocleotoxicidade dos aminoglicosídeos

estão bem estabelecidos na literatura. A lesão coclear inicia-se no giro basal da cóclea. De acordo com a duração da exposição essa lesão progride em direção ao ápice, acometendo primeiramente as células ciliadas externas e em um segundo momento a camada de células ciliadas internas. O avanço do tratamento com a medicação ototóxica pode acometer as células de sustentação, estria vascular e células nervosas[35].

Estudos demonstram que a morte celular pela ação dos aminoglicosídeos está relacionada a apoptose e não à necrose. Acredita-se que espécies de radicais livres de oxigênio e nitrogênio são responsáveis por iniciar essa cascata apoptótica, cujo estímulo pode ser intrínseco, por via mitocondrial ou extrínseco, por ativação de caspagens por vias externas[35] [36].

A ototoxicidade por aminoglicosídeos é mediada pela interrupção da síntese de proteínas mitocondriais, pela superativação dos receptores glutamatérgicos (N- metil-D- aspartato) e a formação de radicais livres[35].

Os aminoglicosídeos têm alta afinidade com lipídios fosfáticos e interagem com metais de transição, como ferro e cobre. Evidências *in vitro* e *in vivo* sugerem que os aminoglicosídeos podem interagir com ferro e lipídios na formação de EROS, conferindo a ação ototóxica[36] [37] [38].

A ototoxicidade por aminoglicosídeos é mediada pela interrupção da síntese de proteínas mitocondriais, pela superativação dos receptores glutamatérgicos (N- metil-D- aspartato) e a formação de radicais livres[35].

2.4.2 Ototoxicidade por agentes quimioterápicos

A quimioterapia antineoplásica é uma abordagem de tratamento sistêmico das neoplasias malignas. Consiste na administração de substâncias químicas isoladas ou combinadas para tratamento de tumores malignos localizados ou disseminados.

Os fármacos quimioterápicos interferem nos mecanismos de sobrevivência, proliferação e migração celular. Não obstante atuam de forma não específica e podem lesar células malignas e benignas. Sendo assim, o tratamento com antineoplásicos pode gerar efeitos colaterais e, dentre esses, destaca-se a ototoxicidade[39] [40] [41] [42] [43].

Os quimioterápicos à base de platina desempenham papel importante no tratamento das neoplasias malignas. Alguns exemplos: vincristina, doxorubicina, gencitabina, ciclofosfamida, farmorubicina, oxaliplatina, carboplatina e cisplatina[44] [45] [46] [47]. Dentre elas, a cisplatina é a mais usada.

O mecanismo da ototoxicidade da cisplatina não está totalmente compreendido. A hipótese mais relatada é a produção de radicais livres e diminuição dos mecanismos antioxidantes de defesa da cóclea, levando à apoptose celular por meio da ativação da cascata das caspases. Outro mecanismo possível é a alteração da produção de proteínas do gene BCL-2, também responsável pelo controle apoptótico[48].

A cisplatina pode causar lesões cocleares e a intensidade desta lesão é maior em uso de doses elevadas e/ou cumulativas. Ao atingir o órgão de Corti, inicia sua ação destruidora pelas células de sustentação, em seguida Células Ciliadas Externas (CCE), seguindo pela estria vascular e gânglio espiral[49].

As manifestações da ototoxicidade causada pela cisplatina são: perda auditiva neurosensorial bilateral, zumbido ou vertigem.

É de grande importância o constante monitoramento da audição para identificação dos sinais precoces de ototoxicidade. Não obstante, não há prevenção ou tratamento eficaz para evitar a toxicidade coclear no cotidiano clínico.

2.5 EXAMES AUDIOLÓGICOS

A maneira mais eficaz de se avaliar a ototoxicidade na cóclea é por meio de exames audiológicos objetivos como as Emissões Otoacústicas Evocadas (EOA) e o Potencial Auditivo de Tronco encefálico (PEATE).

2.5.1 Emissões Otoacústicas Evocadas (EOAE)

As EOA são definidas como o processo de liberação da energia sonora produzida nas CCE da cóclea e que se propaga em direção à orelha média e ao meato acústico externo. Foram primeiramente descritas em 1948 por Thomas Gold, porém

na época não havia tecnologia suficiente para o desenvolvimento desse tipo de estudo. Assim, 30 anos depois, em 1978, elas foram observadas por David Kemp, que buscou a possibilidade de captar a energia sonora produzida pela cóclea, utilizando uma sonda inserida no meato acústico externo, com microfone e amplificador miniaturizados. Dessa forma, Kemp as definiu como a liberação de energia sonora na cóclea, provinda das células ciliadas externas como subproduto de processos de respostas mecânicas e que se propaga na orelha média até o meato acústico externo[50] [51] [52].

O teste de EOA possui grande utilidade clínica. É um procedimento rápido, objetivo, ou seja, não depende da resposta do paciente e não invasivo, podendo ser aplicado em ambientes sem tratamento acústico adequado. Sua sensibilidade abrange perdas auditivas de grau leve a profundo, uni ou bilaterais. Segundo alguns estudos, alterações sutis da função coclear são passíveis de serem detectadas durante o exame de EOA antes de se detectar mudanças significativas no audiograma.[52].

As emissões otoacústicas podem ser classificadas em espontâneas (EOAE) ou evocadas (EOA). As EOAE são sons de banda estreita, captados na ausência de estímulo acústico, e podem ser identificados em cerca de 50 a 60% dos indivíduos com audição normal[53].

Em contrapartida, as EOA são captadas apenas por meio de estímulos sonoros específicos e são classificadas de acordo com o tipo de estímulo utilizado. Essa classificação divide as EOA em transientes (EOAT) e por produto de distorção (EOAPD).

O estímulo acústico usado na captação das EOAT é breve (cliques ou *toneburst*) e multifrequencial; desta forma, a cóclea é estimulada amplamente. As EOAT estão presentes em 98% a 100% dos indivíduos com audição normal. A amplitude das respostas, entretanto, varia de acordo com características individuais, lado avaliado, interferência do nível de pressão sonora do estímulo e interferência do nível de ruído [53] [54].

A EOAPD são sinais sonoros de fraca intensidade que ocorrem após a estimulação por dois tons puros chamados f_1 e f_2 , que são apresentados concomitantemente com frequências sonoras muito próximas ($f_2/f_1 = 1,22$). Por convenção, o tom puro de frequência mais baixa é referido como f_1 primário e seu nível de intensidade é L1. O tom puro de frequência mais alto é f_2 e seu nível de

intensidade é L2. Os parâmetros analisados no exame de EOAPD são medidas de amplitude do sinal e a relação sinal ruído(S/R) Uma das grandes vantagens do uso da EOAPD é a possibilidade de avaliar frequência agudas, que são as primeiras a serem afetadas no processo de ototoxicidade causada pelos aminoglicosídeos. Por ser uma medida fisiológica eletroacústica, as EOAPD devem ser interpretadas como um teste de integridade da função coclear e não um teste quantitativo de audição[50] [51] [55].

2.5.2 Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE)

O SNC pode ser avaliado por técnicas eletrofisiológicas. As respostas eletrofisiológicas estão relacionadas à habilidade linguística do indivíduo. O primeiro estudo sobre atividades elétricas do cérebro ocorreu em 1875 por Richard Caton[56].

O conhecimento da fisiologia do sistema auditivo estabelece que um estímulo auditivo, ao atingir a orelha, provoca variações neurais em sua trajetória em direção ao córtex auditivo. Essas variações neurais são também chamadas de potenciais. Esses potenciais, quando gerados em resposta a uma estimulação sensorial, são denominados evocados. Os potenciais evocados auditivos fornecem uma medida objetiva da integridade do sistema auditivo[57].

Os potenciais evocados auditivos são classificados, de acordo com o tempo em que ocorrem, em latências curta, média e longa, e, com relação a origem anatômica, podem ser de tronco encefálico, subcortical e cortical[58] O PEATE é um potencial evocado auditivo de tronco encefálico de curta latência[59].

Por ser um exame objetivo e de fácil aplicação, é amplamente utilizado em pesquisas com animais, para se verificar a integridade da função auditiva.

Existem duas aplicações clínicas para a utilização do PEATE: a pesquisa do limiar eletrofisiológico e a pesquisa da integridade de vias auditivas. Ambas podem ser indicadas separadamente ou de modo combinado[59].

A primeira tem como finalidade identificar, de forma objetiva, o grau da perda auditiva em crianças ou adultos que, por motivos diversos, não estão aptos a realizarem a audiometria tonal. O procedimento é iniciar a pesquisa da onda V em 80 dBNPS e decrescer progressivamente de 20 em 20 dB até que não seja mais possível visualizar a onda. O procedimento em questão permite a determinação do grau da

perda auditiva, porém somente na região de frequências que abrangem o estímulo utilizado. O clique é um estímulo de curta duração capaz de excitar a orelha interna na faixa entre 2.000Hz e 4.000Hz [60]. Caso o estímulo utilizado seja o este, as frequências avaliadas serão as de 2000 a 4000 Hz. O estímulo *tone burst* é uma onda sinusoidal, com duração breve, caracterizado por um espectro de frequência com energia centrada na frequência de estimulação, predizendo com maior segurança o grau e configuração audiométrica.[61] No caso da utilização do *tone burst*, poderá variar de 500 a 4000 Hz[59].

Em contrapartida a pesquisa da integridade de vias auditivas tem como objetivo a verificação da condução do estímulo acústico do nervo coclear até o tronco encefálico, buscando identificar possíveis lesões ou disfunções no sistema nervoso auditivo central. Para tal, é usado os estímulos click ou *tone burst* na intensidade de 80 dBs, que permitirá a identificação das ondas I, III e V, a análise dos tempos de latência absoluta e dos intervalos interpicos entre elas. A análise dos tempos de latência permite a identificação de possíveis alterações no trajeto do estímulo, sugerindo alterações da via auditiva em tronco encefálico baixo ou alto. Por fim, ainda pode ser verificada a relação das amplitudes entre as ondas I e V, sendo a amplitude dessa última consideravelmente maior que a da primeira[62].

O procedimento do PEATE que realiza a pesquisa de integridade das vias auditivas é o mais utilizado em pesquisas clínicas com animais para se verificar o acometimento de possíveis lesões cocleares e/ou retrococleares.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal deste trabalho foi analisar a eficácia da melatonina como agente otoprotetor em modelos experimentais de roedores por meio de uma revisão sistemática da literatura.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a metodologia apresentada por estudos primários a respeito da eficácia otoprotetora da melatonina por meio de resultados de Emissões Otoacústicas Evocadas.
- Analisar a metodologia apresentada por estudos primários a respeito da eficácia otoprotetora da melatonina por meio de Avaliações histológicas.
- Analisar a metodologia apresentada por estudos primários a respeito da eficácia otoprotetora da melatonina por meio de resultados de PEATE.

- **4 MÉTODOS**

Trata-se de estudo de revisão sistemática da literatura para explorar os dados existentes sobre a eficácia da melatonina como agente otoprotetor diante do uso de substâncias ototóxicas. O planejamento adotado seguiu as etapas metodológicas descritas a seguir:

4.1 ESTRATÉGIA DE PESQUISA

A estratégia de busca seguiu os critérios recomendados pela estratégia Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA). O protocolo foi registrado em 16/12/2022 no banco de dados On Line de acesso aberto de protocolo de revisão sistemática - PRÓSPERO sob número CDR42022287455. A última consulta foi realizada em 31/08/2022.

As bases de dados utilizadas foram Lilacs, Pubmed, Web of Science, Scopus e Embase, além da literatura cinzenta do banco de dados Google Scholar.

Os termos foram combinados e personalizados para cada banco de dados pesquisado, conforme tabela abaixo. A literatura cinzenta foi consultada através do banco de dados Google Scholar. Não houve restrição quanto ao período de publicação ou idioma.

As palavras-chave usadas na estratégia de busca para identificar os artigos foram descritas e combinadas da seguinte forma:

Para população: "Rodentia"[Mesh] OR "Rodentia" OR "Rodentias" OR "Rodents" OR "Rodent" OR "Castor Beaver" OR "Beavers" OR "Beaver"

Para agentes ototóxicos: "Ototoxicity"[Mesh] OR "Ototoxicity" OR "Ototoxicities" OR "Drug-Induced Ototoxicity" OR "Drug Induced Ototoxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicity" OR "Drug Related Otological Toxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicities" OR "Drug-Induced Otological Toxicity" OR "Drug Induced Otological Toxicity" OR "Drug-Induced Otological Toxicities" OR "Drug-Related Ototoxicity" OR "Drug Related Ototoxicity" OR "Drug-Related Ototoxicities" OR "Drug-Induced Cochleotoxicity" OR "Drug Induced Cochleotoxicity" OR "Drug-Induced

Cochlear Toxicity" OR "Drug Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochlear Toxicity" OR "Drug Related Cochlear Toxicity" OR "Drug-Related Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochleotoxicity" OR "Drug Related Cochleotoxicity"

Para melatonina: melatonin.

Após a busca, as referências de cada banco de dados foram exportadas para o Programa RAYYAN com o objetivo de registrar todos os artigos duplicados encontrados na literatura científica, promover maior confiabilidade na seleção dos artigos e definir o critério de elegibilidade. O período desta busca ocorreu desde a criação das plataformas até agosto de 2022 e não houve restrição quanto ao idioma.

4.1.1 Critérios de Elegibilidade

A estratégia PICO (População, Intervenção, Comparação, Desfechos)[63] [64]. foi usada para definir os critérios de elegibilidade. Foram eles: 1) População: Animais roedores expostos a agentes ototóxicos; 2) Intervenção: Uso de melatonina como agente otoprotetor, 3) Comparação: Uso concomitante com placebo ou qualquer outro antioxidante; 4) Desfecho: Resultados de exames audiológicos como EOAPD, EOAT, e PEATE e resultado de avaliações histológicas.

Os critérios de exclusão adotados foram: 1) Estudos que não tenham utilizado melatonina como único agente otoprotetor; 2) Estudos em humanos; 3) Estudos com dados duplicados; 3) Estudos observacionais; 4) Cartas ao Editor, Revisões, abstracts e Opiniões.

Os estudos foram analisados quanto à elegibilidade nas fases de triagem considerando os critérios de inclusão e exclusão. Na primeira fase, todos os estudos foram selecionados por dois revisores independentes com base na análise de títulos e dos resumos. Na segunda fase, os mesmos revisores analisaram o texto completo

de cada artigo selecionado, baseando-se nos critérios de inclusão e exclusão já estabelecidos e adicionaram a justificativa de exclusão para cada estudo descartado. No caso de conflito, um terceiro revisor seria consultado para a avaliação da elegibilidade.

Os dados de cada publicação foram coletados por dois revisores de forma independente baseados nos resultados dos exames de Emissões Otoacústicas, PEATE e/ou avaliações histológicas.

4.2 SÍNTESE QUALITATIVA

O viés pode ser introduzido em qualquer etapa de um estudo, levando à distorções no seu resultado e, portanto, ameaçando a validade interna. O instrumento utilizado para avaliação do risco de viés foi SYRCLE's RoB criteria e do check list da Camarades.

Durante esta fase, os mesmo dois revisores aplicaram avaliação do risco de viés de forma independente. Não houve discordância entre eles, dispensando-se a consulta a um terceiro revisor.

Parei aqui

4.3 SÍNTESE QUANTITATIVA

Para a realização da metanálise, foi necessário realizar o levantamento de dados gráficos de cada estudo. Os dados não estavam descritos nos artigos originais. Assim, fez-se necessário o envio de e-mails aos autores correspondentes. A data inicial de envio dos e-mails foi 13/09/2022. Após uma semana sem resposta dos autores, os e-mails forma disparados novamente e uma terceira vez, uma semana após. Apenas os autores de Araújo et al. responderam à solicitação. Para os demais, a ferramenta Graphreader.com. foi utilizada para obtenção dos dados.

Os dados extraídos para a metanálise foram organizados de acordo com as frequências auditivas em comum apresentadas por cada estudo. Aquelas que foram analisadas por pelo menos 3 estudos, foram agrupadas para compor cada desfecho.

Desta forma as frequências auditivas avaliadas como desfecho foram 1500, 2000,3000, 4000, 5000, 6000 e 8000 Hz.

A análise dos dados numéricos foi realizada e relatada de acordo com o Manual de revisão 5.4 (Cochrane - Centro de colaboradores, Denmark) e Stata 14 (StataCorp, Texas). Foi utilizada a diferença de média como medida de efeito. Um modelo de efeitos aleatórios foi ajustado aos dados. A heterogeneidade (τ^2) foi estimada usando-se o estimador de máxima verossimilhança restrita (Viechtbauer 2005). Além da estimativa de τ^2 , teste Q para heterogeneidade (Cochrane 1954) a estatística I^2 são relatados. Para os desfechos detectados com uma alta heterogeneidade (ou seja, $\tau^2 > 25$) o modelo de efeitos aleatórios foi utilizado.

O teste do qui-quadrado é um dos mais empregados para avaliar a significância da heterogeneidade, sendo convencionado um nível de significância mais conservador de $p < 0,10$, em lugar do usual $p < 0,05$. A magnitude da heterogeneidade é averiguada principalmente pelo cálculo do qui-quadrado, que varia de 0 a 100%. Um qui-quadrado superior a 50% indica heterogeneidade substancial e, acima de 75%, heterogeneidade considerável. A heterogeneidade neste caso, deve ser explicada e não eliminada.[65]

5 RESULTADOS

5.1 SÍNTESE QUALITATIVA

Foram identificados 154 artigos em 4 bases de dados. Após rastreamento de duplicidade, 51 artigos foram excluídos, restando 103 artigos.

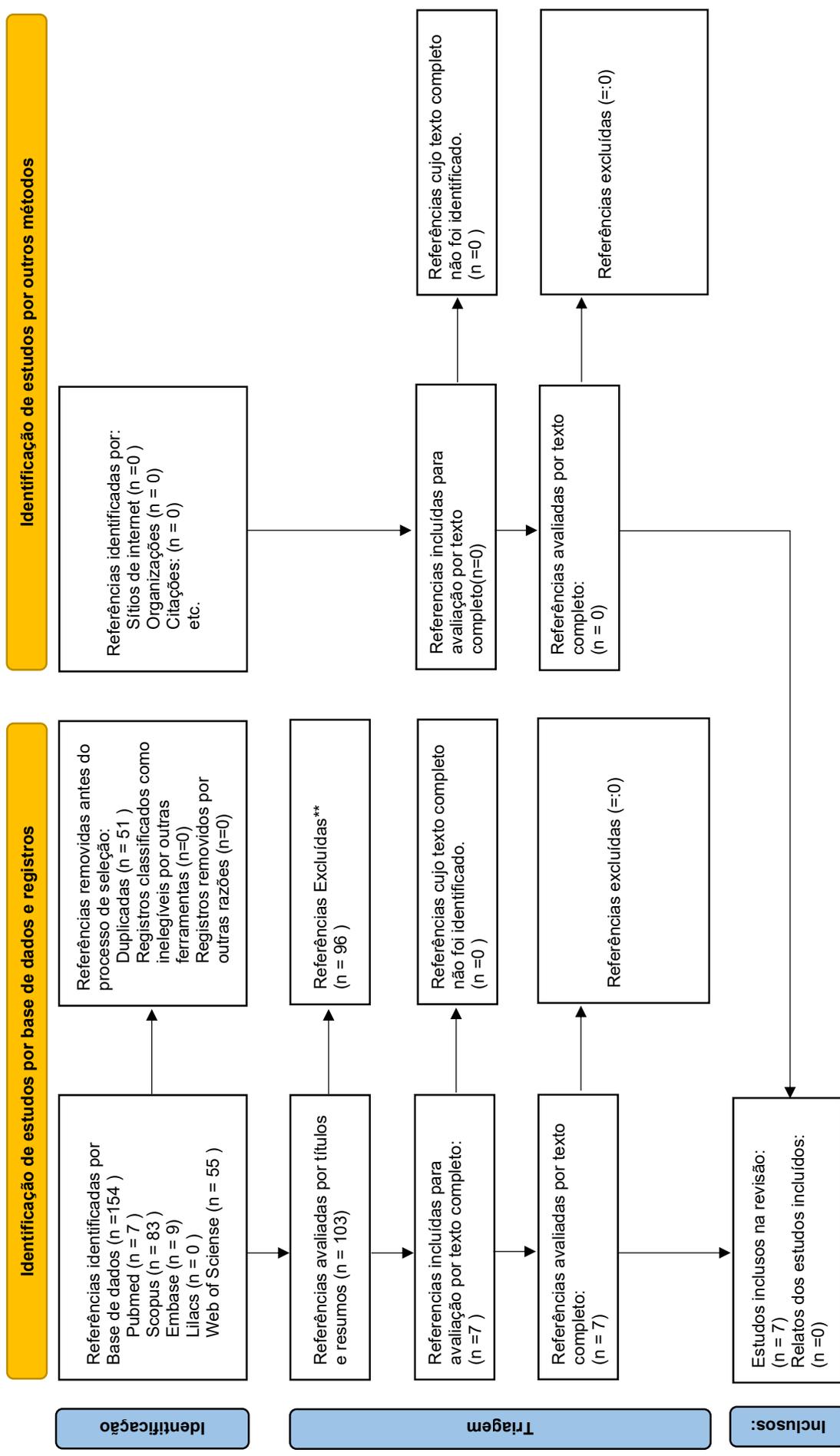
Tabela 1 -Número de artigos encontrados por base de dados

Database	Total de artigos encontrados
LILACS	0
PubMed	7
Web of science	55
Scopus	83
Embase	9

Após análise que incluía a leitura de título e resumo, 96 estudos foram excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão

Ao final, foram incluídos 7 artigos, conforme Fluxograma abaixo:

Figura 6 - Fluxograma PRISMA referente ao processo de seleção dos artigos. *From:* Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71. For more information, visit: <http://www.prisma-statement.org/>



Os artigos selecionados na última fase da presente revisão estão descritos na Tabela 4.

Tabela 2. Dados referentes aos artigos selecionados na etapa de revisão sistemática (continua)

Autor/ Ano de publicação	Amostra	Descrição dos grupos experimentais	Tempo de avaliação e exame utilizado	Desfechos
Araujo et al. (2019)	32 Roedores - Rato Wistar/fêmea com três meses de idade	4 GRUPOS – Solução Salina (1 mg/kg); 5 ratos/ Melatonina (1 mg/kg); 5 ratos / cisplatina (10 mg/kg); 12 ratos/ cisplatina (10 mg/kg) + melatonina (1 mg/kg) : 10 ratos	8 dia (D1 e D8)- EOAPD	D1 - (EOADP)sem significante diferença entre os grupos / D8 - Grupo da cisplatina + solução salina com valores mais baixos em comparação com o grupo da solução salina em todas as frequências. Não houve diferença entre os resultados dos grupos de solução salina, melatonina ou cisplatina + melatonina.
Bas et al. (2012)	25 Roedores - Rato Wistar/macho, não mencionada a idade	In vivo: Grupo: S (Bomba microosmótica : 200 mL de solução salina; gelfoam: 40 ML de solução salina); GM - Gentamicina (Bomba microosmótica: 10 mg pf GM in 200 mL de solução salina; geospuma: 10 mg de GM em 40 mL de solução salina); GM + DXM (dexametazona); GM + MLT; GM + TCR (MP: 10 mg de GM e DXM, MLT ou TCR (MP: 10 mg de GM e DXM, MLT ou TCR respectivamente, em cada 500 mM de concentração final em 200 mL de solução salina ; geospuma: 10 mg de GM e DXM, MLT ou TCR, respectivamente, em cada 500 mM de concentração final 40 mL de solução salina.	Estudo in vivo: 21 dias	n Vivo: EOAPD -Cócleas tratadas com solução salina obtiveram valores semelhantes ao do início do tratamento. Orelhas tratadas com GM demonstraram queda de limiares e valores basais nos dias 10,15,21. Não houve diferenças significativas entre os níveis basais e EOAPD para GM + DXM; GM+ MLT e GM+ TCR. PEATE - apenas orelhas tratadas com S mostraram uma elevação significativa no limiar no grupo de tratamento com geospuma em 10 dias após o tratamento e, em seguida, um retorno ao limiar de pré-tratamento em 15 dias após o tratamento, enquanto o tratamento da cóclea com GM por geospuma ou via MP mostrou aumentos significativos (P <0,05) no limiar PEATE em relação aos seus valores basais nos dias pós-tratamento 10-20 .No GM + DXM; Nos grupos tratados GM + MLT e GM + TCR, os valores dos limiares do PEATE foram semelhantes aos valores registrados para as orelhas tratadas com S com apenas uma elevação transitória nos limiares no Bomba microosmótica GM + DXM, GRUPO AT 10 dias e no MP gm+ tr grupo 15 dias pós-tratamento. Citococleograma: Cocleogramas :As preparações de superfície coradas com FITC-faloidina dos cinco grupos de animais indicam uma perda de OHCs no regiões de média a alta frequência das cócleas tratadas com GM, enquanto as c tratadas com solução salina perderam poucas células sensoriais auditivas. Tratamento de cócleas com GM não afetou a viabilidade de IHCs Nas regiões de média e alta frequência, o tratamento de cócleas expostas a GM com DXM, MLT ou TCR preveniu a maioria das perdas de CCE induzidas pela exposição a GM.

Tabela 2. Dados referentes aos artigos selecionados na etapa de revisão sistemática (continua)

Autor/ Ano de publicação	Amostra	Descrição dos grupos experimentais	Tempo de avaliação e exame utilizado	Desfechos
Demir et al. (2015)	24 Roedores - Rato Wistar/macho, não mencionada a idade.	3 Grupos: Grupo Controle - Dose única de solução salina intraperitoneal (12mg/kg) por 5 dias e 0.1 cc de solução salina trans timpânica por 5 dias. Grupo 2: Dose única de cisplatina intraperitoneal (12 mg/kg) e 0.1 cc de solução salina trans timpânica por 5 dias. Grupo 3: Dose única de cisplatina intraperitoneal (12 mg/kg) e 0.1 mg/ml de melatonina trans timpânica por 5 dias.	11 Dia- PEATE e EOA- realizados um dia anterior ao estudo e 10 dias após a dose de cisplatina	EOADP - VALORES E MUDANÇAS DE LIMIARES CALCULADOS. Grupo 1 apresentou limiares significativamente melhores que o Grupo 2. Grupo 1 e Grupo 3 não apresentou diferenças significativas. Grupo 3 apresentou quedas significantes em frequências altas em comparação com o grupo 2 /PEATE: Grupo 3 apresentou valores na frequência click em 4000, 60000 AND 8000HZ; sem diferenças entre os grupos 1 e 3. RESULTADOS Histológicos: Há menor quantidade de células ciliadas e epiteliais no grupo 3 comparado ao grupo 2.
Erdem et al. (2005)	44 -Roedores - Rato Sprague dawley- com 12 meses	5 Grupos (aplicação intraperitoneal)- Grupo Controle -4 ratos/ Grupo da melatonina (4 mg/kg/dia) : 4 ratos/Grupo da Amicacina (600/kg/dia): 12 ratos/ Grupo Amicacina + Dose Baixa de melatonina (0.4 mg/kg/dia): 12 ratos/ Grupo Amicacina + alta dose de melatonina(4 mg/kg/dia): 12 ratos	EOADP: DIA 0, DIA 5, DIA 10, DIA 15 -	Grupos controle e Melatonina - sem diferenças significantes na EOADP / Grupo da Amicacina- PD GRAM sem alterações durante o estudo/ Achados da ototoxicidade por amicacina encontrados na função I/O. NO 10° dia. Sem diferenças entre os dias 10° e 15°/ Grupo Amicacina dose baixa: Sem diferenças significantes na PD GRAM em todo o estudo/ Grupo AMICACINA DOSE ALTA: As amplitudes de PD gram e I/O functions foram reduzidas e os limiares de i/o foram aumentados devido a alta dose de melatonina.
Lopez Gonzalez et al. (2000)	180 Roedores - Rato - 20 Ratos em cada grupo Wistar/femea - com dois meses de idade	grupo 1- Controle/Grupo 2- Gentamicina(200mg/kg)/ Grupo 3 -Tobramicina(160mg/kg / Grupo 4 - Gentamicina + SC melatonina (250 µm)/Grupo 5- Tobramicina+ SC melatonina/Grupo 6 Gentamicina + (250 µm)melatonina intramuscular/ Grupo 7 -Tobramicina + melatonina intramuscular(250 µm)/ Grupo 8 - Gentamicina + melatonina dissolvida em água/ Grupo 9 - Tobramicina +melatonina dissolvida em água(10 mg/l)	5 Dias - Dia 1/ Dia 3/Dia 5 – EOADP Antibiograma	Grupo 1- Controle: sem diferenças significantes na EOADP do 1° ao 5° dia/Grupo 2- Gentamicina: Diferenças significantes na EOADP do 1° ao 5° dia/ Grupo 3 - Tobramicina: Diferenças menos significantes em comparação com os grupos de gentamicina e gentamicina + melatonina. Sem diferenças significantes entre os grupos que receberam melatonina de diferentes formas. Os antibiogramas comprovaram que não há interferência da melatonina na eficácia da Gentamicina e tobramicina. Antibiograma provou que a eficácia do aminoglicosídeo não é afetada com o uso da melatonina

Tabela 2: Dados referentes aos artigos selecionados na etapa de revisão sistemática (conclusão)

Autor/ Ano de publicação	Amostra	Descrição dos grupos experimentais	Tempo de avaliação e exame utilizado	Desfechos
Lopez Gonzalez et al. (2000)	140 - Roedores - Rato 20 ratos por grupo Wistar/femea com dois meses de idade	5 grupos - grupo 1 - controle: 20 ratos/ grupo 2 - solventes e melatonina: 20 ratos/ Grupo 3 - cisplatina: 20 RATOS/ Grupo 4 - Cisplatina + melatonina dissolvida em água (0 mg/l): 20 RATOS/Grupo V -Cisplatina + melatonina sub cutânea (250 µm): 20 ratos/ Grupo VI - cisplatina + Mistura de antioxidantes: 20 ratos/ Group VII - cisplatina + melatonina subcutânea + mistura de antioxidantes.	EOAPD: DIA 0, DIA 7, DIA 15	7 dias após tratamento: Queda de limiares maiores no grupo tratado com cisplatina e queda moderada no grupo de animais tratado com terapia combinada/ Dia 15 pós tratamento: queda de valores dos grupos tratados com cisplatina. Os grupos tratados com cisplatina + melatonina ou outra mistura de antioxidante apresentaram valores semelhantes ao grupo controle.
Ye et al. (2009)	54 Roedores - Porquinho da Índia - Não mencionado sexo e nem idade	4 GRUPOS - GRUPO 1 - 13 animais - Gentamicina (120 mg/kg/dia / GRUPO 2 - 13 animais: Gentamicina (120 mg/kg/dia) + Melatonina (0.3 ml/kg/dia) / Grupo 3 - 11 animais: melatonina - (0.3 ml/kg/dia) / Grupo 4 - 11 animais: Salina	17 dias de tratamento injetável e após esse período a realização da EOAPD	GRUPO 3 E 4 -MELATONINA E SOLUÇÃO SALINA - sem alterações no EOAPD.GRUPO DA GENTAMICINA demonstrou perda auditiva entre 3 e 8 kHz. Animais tratados com gentamicina + melatonina demonstraram redução da perda auditiva em todas as frequências, em comparação com o grupo da gentamicina, esta diferença foi estatisticamente significante em 3,4,6, e 8 kHz. A Histopatologia da cóclea demonstrou que o tratamento com melatonina exerceu um efeito protetor para as células ciliadas externas. O grupo da gentamicina demonstrou quase completa destruição de células ciliadas externas. Láminas de resultados histológicos dos grupos demonstraram que houve mais perda de células ciliadas externas no grupo 1 do que no grupo 2. A perda de células ciliadas no grupo 3 foi semelhante a do grupo 2.

Tabela 3 Estudo metodológico de avaliação de qualidade utilizando CAMARADES checklist.

Autor, year	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	Total
Lopez e Gonzalez et al., 2000a	N	N	N	Y	N	Y	Y	Y	Y	N	5
Lopez e Gonzalez et al., 2000b	N	N	N	Y	N	Y	Y	Y	Y	N	5
Erdem et al., 2005	Y	Y	N	Y	N	Y	Y	Y	Y	N	7
Ye at al 2009	Y	N	Y	N	N	Y	Y	Y	U	N	5
Bas et al., 2012	Y	Y	N	N	Y	Y	Y	Y	Y	Y	8
Demir et al., 2015	Y	Y	N	N	Y	Y	Y	Y	Y	Y	7
Araujo et al., 2019	Y	Y	Y	Y	N	Y	Y	Y	Y	Y	9

Legenda:

(1) publicação revisada por pares, (2) controle de temperatura, (3) alocação aleatória para tratamento ou controle, (4) terapia cega de medicamentos, (5) avaliação cega do resultado, (6) uso de emissões otoacústicas pra avaliação, (7) modelo animal, (8) cálculo do tamanho da amostra, (9) conformidade com os regulamentos de bem-estar animal, (10) declaração de potencial conflito de interesses

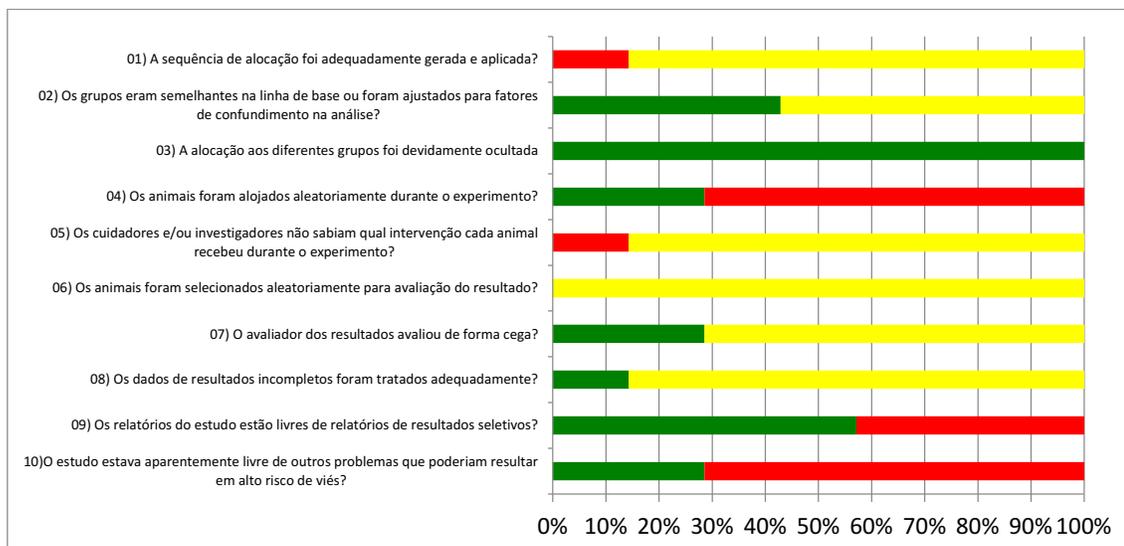


Figura 7 - Riscos de viés dos estudos incluídos, avaliados por meio do Syrcle" RoB.

Os estudos incluídos obtiveram “score” 5 [66] [67] [68], “score” 7 [16] [69] e “score” 8 [70] [14] por CAMARADES, indicando alcançar qualidade metodológica, especialmente no cálculo do tamanho da amostra, modelo animal utilizado e o uso de emissões otoacústicas para avaliação dos resultados, itens positivos em todos os estudos selecionados. Quanto a conformidade com os regulamentos de bem-estar animal exceto o estudo [68] não obteve score positivo.. A avaliação cega dos resultados foi bem avaliada exceto pelos estudos de [67] [66], o controle de temperatura ocorreu com clareza exceto em [67] [66] [68]. Quanto a terapia cega de medicamentos, somente [70] [69] e [68] não obtiveram scores positivos. No item que avalia a alocação aleatória para tratamento ou controle, os estudos [67] [66] [16] [70] [69] não obtiveram score positivo. A avaliação cega dos resultados foi realizada, exceto em [67] [66] [14] [68] [16]. A declaração de potencial conflito de interesses não foi apresentada por [67] [66] [16] [68].

O protocolo da avaliação do risco de viés por meio do SYRCLE RoB revelou um alto risco de viés, em todos os estudos elegíveis, retratando randomização inadequada, alocação não ocultada, cegamento dos cuidadores e avaliadores, conforme demonstrados na Figura 7.

5.2 SÍNTESE QUANTITATIVA

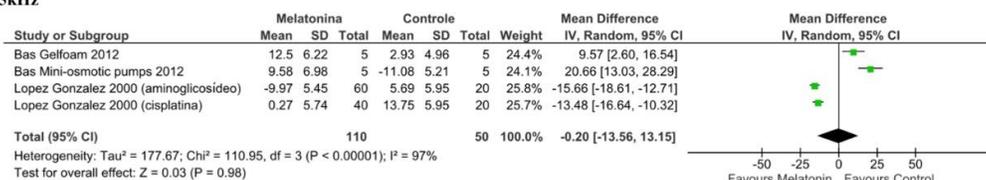
Os estudos de Erdem et al. (2004)[16], de Ye et al. (2009)[68] e Demir et al. (2015)[69] não apresentaram dados suficientes para inclusão na metanálise em nenhum dos desfechos avaliados (EOAPD, PEATE ou análise histológica), desse modo, foram excluídos e compuseram somente a revisão sistemática. Os estudos que compuseram a metanálise foram Lopez Gonzalez et al. (2000a)[66], Lopez Gonzalez et al. (2000b)[67], Bas et al. (2012)[70] e Araújo et al. (2019)[14]. O estudo de Bas et al. (2012)[70] foi desmembrado em dois, pois apresentou grupos controle e experimental independentes.

Os dados extraídos para a metanálise foram organizados de acordo com as frequências auditivas em comum apresentadas por cada estudo. Aquelas que foram analisadas por pelo menos 3 estudos, foram agrupadas para compor cada desfecho. Desta forma as frequências auditivas avaliadas como desfecho foram 1500, 2000,3000, 4000, 5000, 6000 e 8000 Hz.

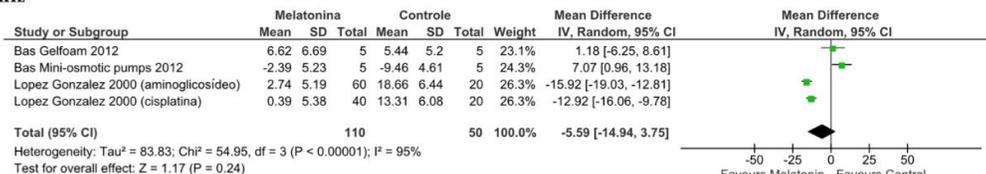
Nas frequências de 5000Hz, 6000Hz e 8000Hz, houve efeito protetor da melatonina na prevenção da redução na amplitude das EOADP observada durante o uso de drogas ototóxicas (5000Hz $p < 0,02$; 6000Hz $p < 0,05$; 8000Hz $p < 0,005$). Em 5000Hz a diferença de médias foi -9,01; IC 95% -16.65 a -1.36; $p = 0,02$; I2 93%. Em 6000Hz a diferença de médias foi -7.75; IC 95% -15.51 a 0.00; $p = 0,05$; I2 90%. Em 8000Hz a diferença de médias foi -4.88; IC 95% -8.26 a -1.49; $p = 0,005$; I2 0%.

Nas frequências mais graves – 1500Hz, 2000Hz, 3000Hz e 4000Hz – não foi demonstrado efeito protetor da melatonina, embora a metanálise tenha demonstrado uma tendência em direção a este efeito, nestas frequências o intervalo de confiança englobou o valor 0, não permitindo que sejam estabelecidas conclusões. Em 1500Hz a diferença de médias foi -0,20; IC 95% -13,56 a 13,15; $p = 0,98$; I2 97%. Em 2000Hz a diferença de médias foi -5,59; IC 95% -14,94 a 3,75; $p = 0,24$; I2 95%. Em 3000Hz a diferença de médias foi -4,65; IC 95% -14,87 a 5,56; $p = 0,37$; I2 97%. Em 4000Hz a diferença de médias foi -8,13; IC 95% -17,80 a 1,53; $p = 0,10$; I2 96%.

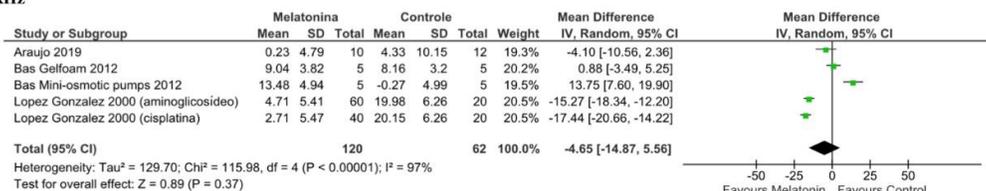
1,5kHz



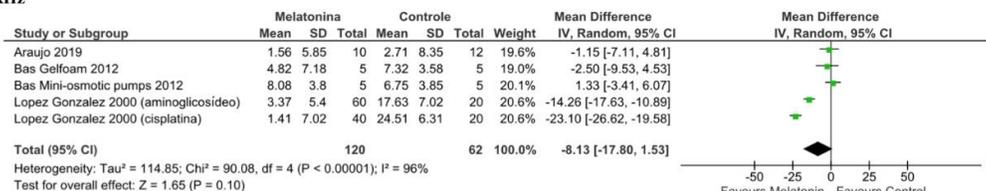
2kHz



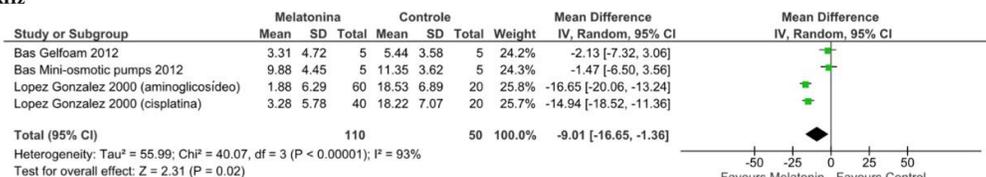
3kHz



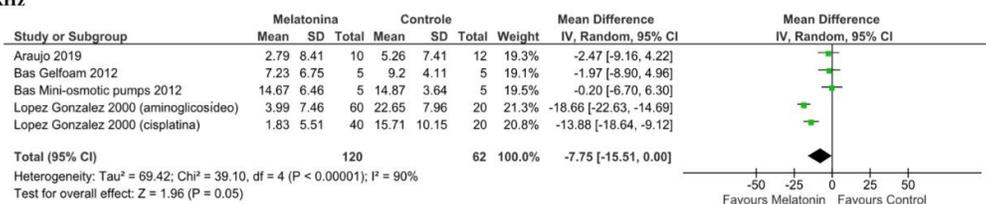
4kHz



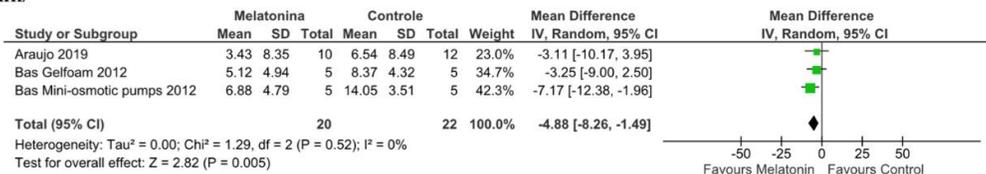
5kHz



6kHz



8kHz



Fonte: Review Manager 5.4.1

Figura 8 - Forest Plot da análise das frequências de 1500 a 8000 Hz.

6 DISCUSSÃO

Esta é a primeira revisão sistemática com metanálise investigando o possível papel otoprotetor da melatonina em estudos animais com interesse de fundamentar futuras intervenções translacionais em seres humanos. Nas frequências de 5000Hz, 6000Hz e 8000Hz, observou-se menor redução nos valores de amplitude das EOAPD após administração de drogas ototóxicas nos grupos que utilizaram a melatonina, embora nas frequências de 5000Hz e 6000Hz a heterogeneidade tenha sido alta. Nas frequências mais graves – 1500Hz, 2000Hz, 3000Hz e 4000Hz – não foi evidenciado efeito protetor da melatonina associada à droga ototóxica.

Os estudos de Lopez Gonzalez et al. (2000a)[66], Yet et al. (2009)[68], Bas et al. (2012)[70] utilizaram a gentamicina e a tobramicina como agentes ototóxicos. Lopez Gonzalez et al. (2000a)[66] testaram a eficácia da melatonina administrada por três vias: intramuscular (250µg), subcutânea (250µg) e oral (10mg/l) associada a dois aminoglicosídeos distintos: a gentamicina (160mg/kg por peso) e a tobramicina (200mg/kg por peso) por cinco dias. As administrações da melatonina iniciaram-se uma semana antes da aplicação dos aminoglicosídeos e finalizaram no último dia do experimento. Os desfechos deste estudo apontaram a otoproteção nos grupos que utilizaram a gentamicina associada à melatonina, independentemente da via de administração utilizada. A avaliação da melatonina como agente protetor otológico, quando avaliada em associação à tobramicina não demonstrou otoproteção.

Ye et al. (2009)[68] utilizaram a gentamicina (120mg/kg/dia) associada à melatonina (0,3ml/kg/dia). Os desfechos foram favoráveis à otoproteção nos grupos que utilizaram melatonina, demonstrando também redução da perda auditiva nos resultados da avaliação de EOADP e histopatologia da cóclea.

Bas et al. (2012)[70] utilizaram gentamicina, em dose única (10mg) administrada por vias locais (bomba microsmótica e geoespuma) com concentrações de: 500µg/200µl de solução salina na primeira e 500µg/40µl de solução salina na segunda. A melatonina também foi administrada em dose única, na dose de 50µm. Os resultados obtidos foram semelhantes aos do estudo de Lopez e Gonzalez et al. (2000a)[66], constatando a eficácia otoprotetora da melatonina contra o efeito ototóxico da gentamicina vistos tanto nos resultados de EOADP quanto PEATE, independente do protocolo de administração.

Dentre os estudos que avaliaram o efeito da melatonina na ototoxicidade de antibióticos, o estudo de Erdem et al. (2005)[16] foi o único que utilizou a amicacina (600mg/kg; via intramuscular). O objetivo foi testar qual dose de melatonina seria eficaz na otoproteção: baixa (0,4mg/kg) ou alta (4,0mg/kg), administradas por via intraperitoneal diariamente. Por meio da avaliação da EOADP, concluiu-se que enquanto a melatonina em baixa dose protegeu a orelha interna da ototoxicidade, a oferta em alta dose potencializou os efeitos da ototoxicidade induzida pela amicacina, possivelmente pelo seu efeito vasodilatador, causando o acúmulo da droga na orelha interna. Não há dados no estudo que permitam inferir a dose ideal de melatonina, sendo necessários novos estudos para essa definição.

Araújo et al. (2019)[14], Demir et al. (2015)[69] e Lopez Gonzalez et al. (2000b)[67] utilizaram a cisplatina como agente ototóxico. Em Araújo et al. (2019)[71], 10mg/kg da cisplatina, em dose única, foram aplicados intraperitonealmente nos grupos controle e experimental. A dose de melatonina utilizada no grupo experimental foi de 1mg/kg/dia também por via intraperitoneal.

Demir et al. (2015)[69], utilizou 12mg/kg de cisplatina em dose única nos grupos controle e experimental durante cinco dias. A melatonina foi administrada por via intratimpânica (0,1mg/ml) sempre 30 minutos antes da aplicação da cisplatina no grupo experimental.

Lopez Gonzalez et al. (2000b)[67] administraram cisplatina (10mg/kg; intraperitoneal; dose única) em dois grupos: 1) melatonina por via oral na dose de 1µmg/mL dissolvida em água e 2) melatonina 250µm por via subcutânea. A administração da melatonina foi iniciada sete dias antes da administração da cisplatina e finalizada com o fim do experimento. Os desfechos dos três estudos foram favoráveis ao efeito otoprotetor da melatonina reduzindo a queda da amplitude das emissões otoacústicas nos grupos de acordo com exames de EOADP realizado nos três estudos e análise histológica realizada no estudo de Demir et al. (2015)[69].

Apesar dos desfechos positivos descritos nos estudos selecionados, ao realizar a metanálise, apenas nas frequências de 5000Hz, 6000Hz e 8000Hz foi observado efeito positivo na utilização da melatonina contra a ototoxicidade. Em contrapartida, nas frequências mais graves – 1500Hz, 2000Hz, 3000Hz e 4000Hz – o efeito protetor da melatonina não foi demonstrado. Embora haja uma tendência em direção ao efeito benéfico da melatonina nestas frequências, o intervalo de confiança de 95% englobou o valor zero, não permitindo a verificação do efeito protetor da melatonina.

Sabe-se que as alterações celulares envolvidas na ototoxicidade dos aminoglicosídeos e da cisplatina iniciam na camada de células ciliadas externas do giro basal da cóclea, que é considerada a mais susceptível aos efeitos ototóxicos[72]. Com a continuidade da exposição, o dano se estende para o ápice da cóclea, além de comprometer também as células ciliadas internas. Com a progressão, outras células podem ser acometidas, como células de sustentação, células da estria vascular e mesmo células nervosas do gânglio espiral[72] [49].

Assim, como o dano celular se inicia pelo giro basal da cóclea, as alterações audiológicas são primeiramente identificadas nas frequências mais altas. Este fato pode justificar que, ao analisar as frequências mais altas, a magnitude do efeito da utilização da melatonina seja mais importante e assim mais facilmente identificada nos estudos. Desta forma recomenda-se que, em futuros estudos, ocorra a análise de frequências agudas com a finalidade de se estabelecer o real papel da melatonina na proteção contra agentes ototóxicos.

O dano inicial às regiões basais da cóclea também é observado nos casos de perda auditiva pelo processo de envelhecimento. O estudo de Serra et al. [17] demonstrou que, em modelo animal de roedores com perda auditiva pelo envelhecimento, o efeito da melatonina é mais importante nas regiões cocleares de frequências altas. Levando-se em consideração que o processo da morte celular é semelhante ao verificado nos casos de ototoxicidade, é esperado que os resultados sejam mais evidentes nas frequências agudas e melhor visualizado nesta região da cóclea.

Analisando-se metodologicamente os estudos listados acima um ponto merece destaque: apenas as avaliações de Araújo et al. (2019)[71] e Ye et al. (2009)[68] foram realizadas em estudos cujos animais foram distribuídos de forma randomizada e que os desfechos foram avaliados de forma cega pelos autores, inclusive a análise estatística associada. Este dado torna-se relevante para os desfechos analisados pelas EOAs, uma vez que a variabilidade dos resultados depende da execução do exame.

Pode-se afirmar que apesar dos estudos serem consistentes e inovadores, existem lacunas metodológicas que impedem sua replicabilidade e avaliação comparativa fidedigna. Alguns aspetos fragilizam a comparação entre as investigações realizadas o que limita a possibilidade de conclusões consistentes.

A principal limitação deste estudo de metanálise, foi a heterogeneidade

observada na avaliação de algumas frequências. Tal fato pode ser explicado pela existência de poucos trabalhos sobre o tema, a maioria avaliando um pequeno número de animais, pouco conhecimento sobre a curva “dose x efeito da melatonina”, uso de várias vias de administração, diferentes drogas ototóxicas, sem a sinalização de um protocolo considerado “padrão-ouro” em modelos animais para estes testes.

Além disso considera-se uma importante limitação dos estudos realizados a não avaliação das frequências mais altas (acima de 8000Hz). É nessa faixa de frequências em que reconhecidamente ocorre a ototoxicidade. Assim, é possível supor que dados de avaliação de frequências mais altas talvez possam apresentar resultados com menor heterogeneidade tornando a metanálise ainda mais robusta e conclusiva.

7 CONCLUSÃO

O resultado desta revisão sistemática e metanálise permitem concluir, por meio de evidências pré clínicas, que a melatonina é um agente promissor na proteção contra os efeitos ototóxicos da cisplatina e dos aminoglicosídeos nas frequências 5000Hz, 6000Hz e 8000Hz, minimizando a redução da amplitude das EOADP. O mesmo efeito não foi observado nas frequências mais graves. Apesar do pequeno número de estudos avaliados, os resultados foram consistentes nas frequências mais altas. Esta é a primeira avaliação conhecida do efeito otoprotetor da melatonina em uma série de estudos experimentais e que mostra um potencial efeito contra a ação tóxica de antibióticos e quimioterápicos nas células ciliadas da cóclea. Novos estudos experimentais que busquem estabelecer uma curva dose-efeito da melatonina, a via padrão ouro para sua administração e preparo devem ser estimulados para definir o seu real papel na otoproteção para futura translação dos resultados para prevenção da ototoxicidade humana.

REFERÊNCIAS

1. ONU O das NU (2021) Realtório Mundial sobre Audição. In: MARÇO. <https://news.un.org/pt/tags/relatorio-mundial-sobre-audicao-2021>.
2. EBC -Empresa Brasil de Comunicação - Sayonara Moreno (2022) Brasil tem mais de 10 milhoes de pessoas surdas, segundo o IBGE. In: 07/07. <https://agenciabrasil.ebc.com.br/radioagencia-nacional/direitos-humanos/audio/2022-07/brasil-tem-mais-de-10-milhoes-de-pessoas-surdas-segundo-o-ibge>.
3. UBM (2020) População brasileira é composta por mais de 10 milhoes de pessoas surdas. In: 12/02. <https://g1.globo.com/rj/sul-do-rio-costa-verde/especial-publicitario/ubm/conhecimento-transforma/noticia/2020/02/12/populacao-brasileira-e-composta-por-mais-de-10-milhoes-de-pessoas-surdas.ghtml>.
4. José Anchieta de Oliveira Bentes; Maria Cristina PiumBato Innocentini Hayash (2006) Normalidade, diversidade e alteridade na história do Instituto Nacioanl dos Surdos. 6–1999:1 منشورات جامعة دمشق
5. Gary L. Albrecht, Bury Michael, Katherine SD (2001) Handbook of Desability Studies, 1st ed. SAGE Publications
6. Audiology Infos (2014) Museu dos Aparelhos Auditivos. 26
7. Deputados C dos (2002) Lei 10.436. D Of da Uniao 23
8. www.libras.com (2017) Libras. In: O que é Libr. <https://www.libras.com.br/o-que-e-libras>.
9. Punch JL, Hitt R, Smith SW (2019) Hearing loss and quality of life. J Commun Disord 78:33–45
10. Bernabei R, Bonuccelli U, Maggi S, et al (2014) Hearing loss and cognitive decline in older adults: Questions and answers. Aging Clin Exp Res 26:567–573
11. Lin FR, Albert M (2014) Editorial : HHearing loss and dementia - Who is listening? Aging Ment Heal 18:671–673

12. Andrade KCL De (2017) O impacto da tecnologia dos aparelhos auditivos nas situações de vida diária: a perspectiva do paciente. *Distúrbios da Comun* 29:385–387
13. Henry E Heffner and ricky Heffner (2007) Hearing Ranges of Laboratory Animals. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 46:26,27
14. de Araujo JG, Serra LSM, Lauand L, Kückelhaus SAS, Sampaio ALL (2019) Protective effect of melatonin on cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Anticancer Res* 39:2453–2458
15. Parlakpınar H, Ozer MK, Sahna E, Vardi N, Cigremis Y, Acet A (2003) Amikacin-induced acute renal injury in rats: Protective role of melatonin. *J Pineal Res* 35:85–90
16. Erdem T, Ozturan O, Iraz M, Miman MC, Olmez E (2005) Dose-dependent dual effect of melatonin on ototoxicity induced by amikacin in adult rats. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology* 262:314–321
17. Serra LSM, de Araújo JG, Vieira ALS, da Silva EM, de Andrade RR, Kückelhaus SAS, Sampaio ALL (2020) Role of melatonin in prevention of age-related hearing loss. *PLoS One* 15:1–9
18. Costa SS da, Cruz OML OJ de (2006) *Otorrinolaringologia - Princípios e Práticas*, Segunda Ed. Sao Paulo
19. Cipolla-Neto J, Do Amaral FG (2018) Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocr Rev.*
<https://doi.org/10.1210/er.2018-00084>
20. Carpentieri A, Díaz De Barboza G, Areco V, Peralta López M, Tolosa De Talamoni N (2012) New perspectives in melatonin uses. *Pharmacol Res* 65:437–444
21. Reiter RJ, Tan DX, Rosales-Corral S, Galano A, Zhou XJ, Xu B (2018) Mitochondria: Central organelles for melatonins antioxidant and anti-Aging actions. *Molecules* 23:1–25
22. Tosini G, Owino S, Guillaume JL, Jockers R (2014) Understanding melatonin receptor pharmacology: Latest insights from mouse models, and their relevance to human disease. *BioEssays* 36:778–787

23. Ferreira RFD (2014) Efeitos da reposição terapêutica central de melatonina em animais pinealectomizados – implicações no comportamento alimentar e peso corporal. 50
24. Claustrat B, Leston J (2015) Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie* 61:77–84
25. Solís Herruzo JA, Solís Muñoz P (2009) Melatonin and oxidative stress. *Rev Esp Enfermedades Dig* 101:453–459
26. Morte Celular por Apoptose.pdf.
27. Morril S, David ZZ HE (2017) Apoptosis in inner ear sensory hair cells. *J Otol* 1999:151–163
28. Kamogashira T, Fujimoto C, Yamasoba T (2015) Reactive oxygen species, apoptosis, and mitochondrial dysfunction in hearing loss. *Biomed Res Int*. <https://doi.org/10.1155/2015/617207>
29. Mechanisms of sensorineural cell.pdf.
30. De Oliveira JAA, Canedo DM, Rossato M (2002) Otoprotection of auditory hair cells against amikacin ototoxicity. *Rev Bras Otorrinolaringol* 68:7–13
31. Haynes DS. (2004) Topical antibiotics: strategies for avoiding ototoxicity. *Ear, Nose Throat J* 12–4
32. Strupp M, Arbusow V. (2001) Acute vestibulopathy. *Curr Opin Neurol*.
33. Segal JA SP (1998) [5] Polyamine-like actions of aminoglycosides and aminoglycoside derivatives at NMDA receptors. *EUR J PHAR - MACOL* 311–7
34. Guimaraes S et. all. (2006) *Terapeutica Medicamentosa e suas bases farmacológicas*.
35. Coffin A Aminoglycoside-Induced Ototoxicity.
36. Ps. R (2004) New developments in our understanding of ototoxicity. *Ear Nose Throat J* 2004; 83: 15-6. [18]. *Ear, Nose Throat J* 83:15–16
37. Schacht J. (1999) Antioxidant therapy attenuates aminoglycoside-induced hearing loss. *Ann N Y Acad Sci* 125–33
38. Lesniak w, Pecpraro VL SJ (2005) Ternary complexes of gentamicin with iron and lipid catalyze formation of reactive oxygen species. *CHEN RES TOXICOL*

357–64

39. Soares F, Patatt A, Gonc LF, Paiva KM De (2022) Efeitos ototóxicos dos medicamentos antineoplásicos : uma revisão e Patrícia Haas.
<https://doi.org/10.1016/j.bjorlp.2021.11.003>
40. Silva AM, Latorre MRDO, Cristofani LM OF (2007) . A prevalência de perdas auditivas em crianças e adolescentes com câncer. Rev Bras Otorrinolaringol. 2007;73:608---14. Rev Bras Otorrinolaringol 608–14
41. Ding D, Allman BL, Salvi R (2012) Review: Ototoxic Characteristics of Platinum Antitumor Drugs. Anat Rec 295:1851–1867
42. Hur MW, Hahn SM, Moon IS, Lim JY, Lee SM, Lyu CJ, Han JW (2017) Adverse Factors and the Role of Cisplatin and Vinca Alkaloids for Hearing Impairment in Childhood Cancer Patients and Survivors. Clin Pediatr Hematol 24:121–129
43. Chaibakhsh S, Zayeri F, Baghestani AR, Bakhshandeh M, Aghamiri SMR, Safari AH (2018) The effect of radiation therapy on hearing loss in patients with head and neck cancer. Int J Cancer Manag. <https://doi.org/10.5812/ijcm.10421>
44. Nitz A, Kontopantelis E, Bielack S, Koscielniak E, Klingebiel T, Langer T, Paulides M (2012) Prospective evaluation of cisplatin- and carboplatin-mediated ototoxicity in paediatric and adult soft tissue and osteosarcoma patients. Oncol Lett 5:311–315
45. de Oliveira PF, Oliveira CS, Andrade JS, do Carmo Santos TF, de Oliveira-Barreto AC (2016) Cancer treatment in determination of hearing loss. Braz J Otorhinolaryngol 82:65–69
46. Qaddoumi I, Bass JK, Wu J, Billups CA, Wozniak AW, Merchant TE, Haik BG, Wilson MW, Rodriguez-Galindo C (2012) Carboplatin-associated ototoxicity in children with retinoblastoma. J Clin Oncol 30:1034–1041
47. Ototoxicity Associated with Oxaplatin a pacient with pancreatic cancer.pdf.
48. Cheng AG, Cunningham LL, Rubel EW (2005) Mechanisms of hair cell death and protection. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 13:343–348
49. Hyppolito MA, Oliveira JAA de, Rossato M, Holanda F (2003) Ototoxicidade da cisplatina e otoproteção pelo extrato de ginkgo biloba às células ciliadas

- externas: estudo anatômico e eletrofisiológico. *Rev Bras Otorrinolaringol* 69:504–511
50. Kemp DT (1978) Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J Acoust Soc Am* 64:1386–1391
 51. Bevilacqua, Maria Cecília; Martinez, Maria Angelina Nardini; Balen, Sheila Andreoli; Pupo, Altair Cadrobbi; Reis, Ana Cláudia Mirândola Barbosa; Frota S (2011) *Tratado de Audiologia*. São Paulo
 52. Gorgs MP, Neely ST, Bergman B, Beauchaine KL, Kaminski JR, Peters J, Jesteadt W (1993) Otoacoustic emissions from normal-hearing and hearing-impaired subjects: Distortion product responses. *J Acoust Soc Am* 93:2050–2060
 53. A. Durante (2014) *Tratado de Audiologia*, 1st ed.
 54. SOUZA LCA; Piza MTR; Alvarenga KF; Cóser P (2010) *Eletrofisiologia da Audição e Emissões Otoacústicas: princípios e aplicações clínicas.*, 2nd ed.
 55. Figueiredo MS *Emissões Otoacústicas e BERA*.
 56. Brazier M.A.B (1984) *Pioneers in the discovery of evoked potentials*, 59th ed.
 57. Naatanen R WI (1999) The concept of auditory stimulus representation in cognitive neuroscience. *Psychological Bulletin*, 125th ed.
 58. MCPHERSON D (1996) *Late potential of the Auditory System*, Singular.
 59. Carla Gentile Matas; Ivone Ferreira Neves (2010) *Potenciais Evocados Auditivos de curta latência*. In: *Tratado Fonoaudiol., SEGUNDA*. pp 85–99
 60. Rosa BC da S, Cesar CP, Cabral A, Santos M, Santos R (2018) *Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico com estímulos clique e Ichirp*. *Distúrbios da Comun* 30:52
 61. Ramos N, Lewis DR (2014) *Potencial evocado auditivo de tronco encefálico por frequência específica por via aérea e via óssea em neonatos ouvintes normais*. *Rev CEFAC* 16:757–767
 62. Chiappa KGKR (1979) *Brainstem auditory evoked responses. Studies of waveform variations in 50 normal human subject*, 36th ed.
 63. Tavares F da S, Azevedo YJ, Fernandes L da MM, Takeuti A, Pereira LV,

- Ledesma ALL, Bahmad F (2021) Cochlear implant in patients with autistic spectrum disorder—a systematic review. *Braz J Otorhinolaryngol* 87:601–619
64. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, et al (2021) The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. <https://doi.org/10.1136/bmj.n71>
65. Pereira MG, Galvão TF (2014) Heterogeneidade e viés de publicação em revisões sistemáticas. *Epidemiol e Serviços Saúde* 23:775–778
66. Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Torronteras R, Osuna C, Delgado F (2000) Ototoxicity caused by aminoglycosides is ameliorated by melatonin without interfering with the antibiotic capacity of the drugs. *J Pineal Res* 28:26–33
67. Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Rojas F, Delgado F (2000) Ototoxicity caused by cisplatin is ameliorated by melatonin and other antioxidants. *J Pineal Res* 28:73–80
68. Ye LF, Tao ZZ, Hua QQ, Xiao BK, Zhou XH, Li J, Yuan YL (2009) Protective effect of melatonin against gentamicin ototoxicity. *J Laryngol Otol* 123:598–602
69. Demir MG, Altıntoprak N, Aydın S, Kösemihal E, Başak K (2015) Effect of transtympanic injection of melatonin on cisplatin-induced ototoxicity. *J Int Adv Otol* 11:202–206
70. Bas E, Van De Water TR, Gupta C, Dinh J, Vu L, Martínez-Soriano F, Láinez JM, Marco Algarra J (2012) Efficacy of three drugs for protecting against gentamicin-induced hair cell and hearing losses. *Br J Pharmacol* 166:1888–1904
71. de Araujo JG, Serra LSM, Lauand L, Kückelhaus SAS, Sampaio ALL (2019) Protective effect of melatonin on cisplatin-induced ototoxicity in rats. *Anticancer Res* 39:2453–2458
72. Baggio CL, da Silveira AF, Hyppolito MA, Salata FF, Rossato M (2010) A functional study on gentamicin-related cochleotoxicity in its conventional dose in newborns. *Braz J Otorhinolaryngol* 76:91–95

APÊNDICE A- ESTRATÉGIA DE BUSCA UTILIZADA EM CADA BASE DE DADOS

Database	Descrição	Estratégia de Busca
LILACS	Latin-American and Caribbean Literature in Science Health, published since 1982.	("Rodentia" OR "Rodentias" OR "Rodents" OR "Rodent" OR "Castor Beaver" OR "Beavers" OR "Beaver") AND ("Ototoxicity" OR "Ototoxicities" OR "Drug-Induced Ototoxicity" OR "Drug Induced Ototoxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicity" OR "Drug Related Otological Toxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicities" OR "Drug-Induced Otological Toxicity" OR "Drug Induced Otological Toxicity" OR "Drug-Induced Otological Toxicities" OR "Drug-Related Ototoxicity" OR "Drug Related Ototoxicity" OR "Drug-Related Ototoxicities" OR "Drug-Induced Cochleotoxicity" OR "Drug Induced Cochleotoxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochlear Toxicity" OR "Drug Related Cochlear Toxicity" OR "Drug-Related Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochleotoxicity" OR "Drug Related Cochleotoxicity") AND ("Melatonin")
PubMed	Provided by the National Library of Medicine and National Institute of Health, it includes results of Medline and other periodicals in the area of "Life Science", compiled since 1948.	("Rodentia"[Mesh] OR "Rodentia" OR "Rodentias" OR "Rodents" OR "Rodent" OR "Castor Beaver" OR "Beavers" OR "Beaver") AND ("Ototoxicity"[Mesh] OR "Ototoxicity" OR "Ototoxicities" OR "Drug-Induced Ototoxicity" OR "Drug Induced Ototoxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicity" OR "Drug Related Otological Toxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicities" OR "Drug-Induced Otological Toxicity" OR "Drug Induced Otological Toxicity" OR "Drug-Induced Otological Toxicities" OR "Drug-Related Ototoxicity" OR "Drug Related Ototoxicity" OR "Drug-Related Ototoxicities" OR "Drug-Induced Cochleotoxicity" OR "Drug Induced Cochleotoxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochlear Toxicity" OR "Drug Related Cochlear Toxicity" OR "Drug-Related Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochleotoxicity" OR "Drug Related Cochleotoxicity") AND ("Melatonin"[Mesh] OR "Melatonin")

Web of science	It gives access to multiple databases in the areas of science, social science, art and humanities.	"Rodentia" OR "rodentia" OR "Rodents" OR "Rodent" OR "Castor Beaver" OR "Beavers" OR "Beaver" (Tópico) and "Ototoxicity" OR "ototoxicites" OR "Drug-Induced Ototoxicity" OR "Drug Induced Ototoxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicity" OR "Drug Related Otological Toxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicities" OR "Drug-Induced Otological Toxicity" OR "Drug Induced Otological Toxicity" OR "Drug-Induced Otological Toxicities" OR "Drug-Related Ototoxicity" OR "Drug Related Ototoxicity" OR "Drug-Related ototoxicites" OR "Drug-Induced Cochleotoxicity" OR "Drug Induced Cochleotoxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochlear Toxicity" OR "Drug Related Cochlear Toxicity" OR "Drug-Related Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochleotoxicity" OR "Drug Related Cochleotoxicity"
----------------	--	---

APÊNDICE B - ESTRATÉGIA DE BUSCA UTILIZADA EM CADA BASE DE DADOS

Database	Descrição	Estratégia de Busca
Scopus	Abstracts and citations of peer-reviewed scientific literature in the areas of Science, Technology, Medicine and Humanities.	("Rodentia" OR "Rodentias" OR "Rodents" OR "Rodent" OR "Castor Beaver" OR "Beavers" OR "Beaver") AND ("Ototoxicity" OR "Ototoxicities" OR "Drug-Induced Ototoxicity" OR "Drug Induced Ototoxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicity" OR "Drug Related Otological Toxicity" OR "Drug-Related Otological Toxicities" OR "Drug-Induced Otological Toxicity" OR "Drug Induced Otological Toxicity" OR "Drug-Induced Otological Toxicities" OR "Drug-Related Ototoxicity" OR "Drug Related Ototoxicity" OR "Drug-Related Ototoxicities" OR "Drug-Induced Cochleotoxicity" OR "Drug Induced Cochleotoxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug Induced Cochlear Toxicity" OR "Drug-Induced Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochlear Toxicity" OR "Drug Related Cochlear Toxicity" OR "Drug-Related Cochlear Toxicities" OR "Drug-Related Cochleotoxicity" OR "Drug Related Cochleotoxicity")
Embase	Emphasis in European literature in the areas of biological Science and health	('rodent'/exp OR 'rodent':ab,ti OR 'hamsters':ab,ti OR 'gerbils':ab,ti OR 'rodentia':ab,ti) AND ('ototoxicity'/exp OR 'ototoxicity':ab,ti OR 'ototoxic lesion':ab,ti OR 'ototoxicity prevention':ab,ti) AND ('melatonin'/exp OR 'melatonin':ab,ti OR 'melatonina':ab,ti)