

Ototoxicidade dos antibióticos aminoglicosídeos e sistema eferente: comparação entre a administração aguda e crônica com gentamicina e os efeitos agudos de outros antibióticos¹

Deise M.L. da Costa²

OBJETIVOS: 1) Revisar a atividade de base global do nervo auditivo, sistema olivococlear eferente medial e efeito dos aminosídeos; 2) investigar o efeito bloqueador da gentamicina à supressão eferente contralateral da atividade coclear ipsilateral utilizando doses inferiores à 150 mg/kg; 3) verificar se este efeito poderia constituir um sinal antecipatório de ototoxicidade durante um tratamento crônico com gentamicina (60 mg/kg i.m. durante 10 dias); e 4) determinar se outros aminosídeos teriam os mesmos efeitos agudos que a gentamicina e se haveria uma correlação entre suas especificidades e graus de ototoxicidade e suas potências de bloqueio do sistema eferente medial.

MATERIAIS E MÉTODOS: A função do sistema eferente olivococlear medial foi testada em cobaias pelo registro da atividade elétrica de base do nervo auditivo, antes e durante uma estimulação acústica contralateral de baixa intensidade (55 dB SPL).

RESULTADOS: Os resultados mostram um efeito dose-dependente da gentamicina na supressão contralateral, uma vez que uma dose de 120 mg/kg de gentamicina induziu um menor bloqueio do sistema eferente medial comparado a 150 mg/kg, e nenhum bloqueio foi observado com doses inferiores. Durante o tratamento crônico, nenhuma alteração da atividade de base do nervo auditivo sem estimulação acústica ou da supressão eferente contralateral foi verificada. As cobaias monitoradas durante várias semanas após o tratamento crônico apresentaram uma redução progressiva da atividade de base do nervo auditivo sem estimulação contralateral, além de uma redução dos coeficientes de supressão da atividade de base e elevação dos limiares auditivos, denotando uma função coclear injuriada.

CONCLUSÃO: O estudo demonstrou que um tratamento crônico com 60 mg/kg de gentamicina, apesar de ototóxico, não afeta a supressão eferente contralateral, pelo menos antes do desenvolvimento da ototoxicidade.

Unitermos: Ototoxicidade; sistema eferente; gentamicina; nervo auditivo.

Aminoglycoside ototoxicity and efferent system: Comparison between acute and chronic gentamycin administration and the acute effects of other antibiotics

OBJECTIVES: 1) To review the global base activity of the auditory nerve, the medial

¹ Este trabalho é uma compilação de dois artigos publicados em *Audiology* 1998;37(3):151-61 e 162-73 e que integraram a tese de Doutorado defendida pela autora, na Universidade de Bordeaux, França, em 1997.

² Médica. Correspondência: Rua Lucas de Oliveira 2786/402, CEP 90460-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

efferent olivocochlear system and the effect of aminosydes; 2) to investigate the blocking effect of gentamicin against the contralateral efferent supression of the ipsilateral cochlear activity using doses below 150 mg/kg; 3) to verify if this effect could constitute an early sign of ototoxicity during a chronic treatment with gentamicin (60 mg/kg i.m. for 10 days); and 4) to determine if others aminosydes would have the same acute effects of gentamicin and if there would be a correlation between its specificities and ototoxicity degree and its potential to block the medial efferent system.

MATERIALS AND METHODS: To test the function of the medial efferent olivocochlear system, the base electrical activity of the auditory nerve was tested in guinea pigs before and during a low contralateral acoustic stimulation intensity (55 dB SPL).

RESULTS: Results show a dose-dependent effect of gentamicin on contralateral supression. The 120 mg/kg dose of gentamicin induced a smaller block of the medial efferent system compared to the 150 mg/kg, and no block was observed in smaller doses. During chronic treatment, no alteration either in the base activity of the auditory nerve without acoustic stimulation or in contralateral efferent supression was verified. The guinea pigs, monitored for several weeks after chronic treatment, presented a progressive reduction of the base activity of the auditory nerve without contralateral stimulation, in addition to a reduction in the coefficient of base activity supression and an increase in auditory limits, suggesting impairment of the cochlear function.

CONCLUSION: Our results suggest that chronic gentamicin treatment (60 mg/kg), although ototoxic, does not affect contralateral efferent supression, at least before the development of ototoxicity.

Key-words: Ototoxicity; efferent system; gentamicin; auditory nerve.

Revista HCPA 1999;19(2):186-99

Introdução

A cóclea e o sistema eferente medial: anatomofisiologia da audição

As vibrações sonoras provocam um movimento da membrana timpânica e da cadeia ossicular e são, assim, transmitidas amplificadas à janela oval. Os movimentos do estribo conduzem a variações de pressão dentro da rampa vestibular da cóclea (figura 1). A diferença de pressão dos dois lados da membrana basilar leva a um deslocamento da mesma e do Órgão de Corti que ela sustenta. As frequências baixas mobilizam o conjunto da cóclea, enquanto que as frequências altas mobilizam apenas a base da cóclea, o que permite a discriminação da frequência dos sons. As variações de intensidade, por sua vez, traduzem-se por diferenças de amplitude ou de movimentação da membrana basilar.

Os mecanismos pelos quais as vibrações estimulam as células sensoriais são ainda hipotéticos. Os movimentos das ondas no interior do canal coclear seriam transmitidos às células ciliadas por intermédio da membrana basilar. Esta levaria a um movimento radial através de toda a cóclea e produziria flexões dos estereocílios das células ciliadas externas (CCEs), entre a cutícula e a membrana tectorial, provocando a penetração dos íons K⁺ e Na⁺ e a aparição de um potencial de membrana: a deflexão do tufo ciliar em direção ao corpúsculo basal produz uma despolarização excitatória da célula, enquanto que o deslocamento dos cílios no sentido contrário produz uma hiperpolarização inibitória (1). O deslocamento de um único estereocílio desencadeia a abertura de canais iônicos graças à ligação dos estereocílios através de filamentos extracelulares laterais. As CCEs excitadas podem então alongar-se e encolher-

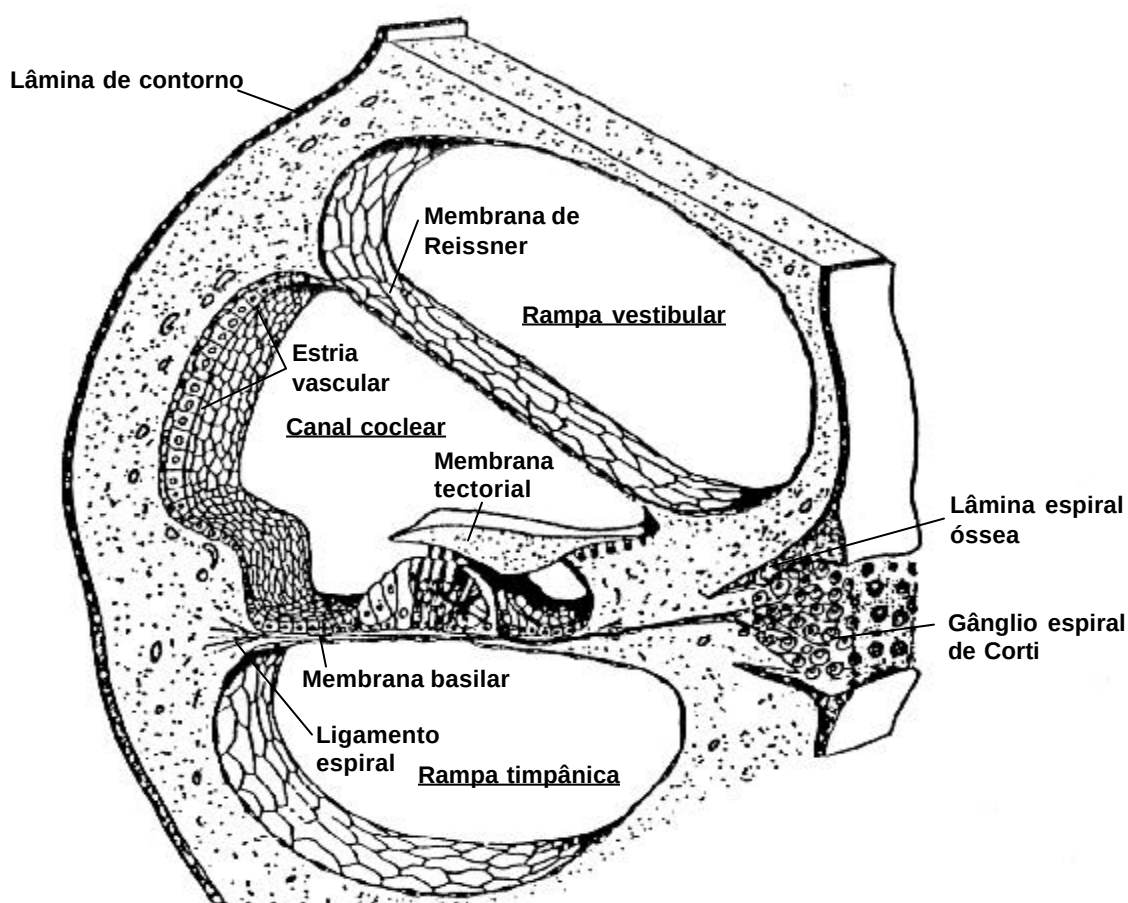


Figura 1. Corte transversal da cóclea (67).

se de acordo com a frequência de estimulação, em resposta a alterações do potencial de membrana plasmática (2,3). Este mecanismo, dependente de voltagem, seria conduzido por alterações conformacionais de proteínas transmembranares situadas em nível da membrana plasmática lateral. Estas proteínas associam-se ao citoesqueleto por intermédio de proteínas pilares, permitindo assim às forças produzidas modificar o comprimento da célula (4). Este mecanismo intrínseco da CCE não consome ATP e independe da inervação eferente. Estas contrações *rápidas* parecem ser o suporte das otoemissões acústicas. Um outro tipo de movimento, as contrações *lentas* (fenômeno equivalente a uma contração muscular), poderia ser atribuído à presença de proteínas contráteis no interior das CCEs. Estas contrações são da ordem do milissegundo, podendo ser induzidas pela presença de K^+ ou pelo aumento da

permeabilidade celular ao cálcio em presença de ATP (5,6). O sistema nervoso eferente medial estaria relacionado com a contração *lenta*; seu papel seria o de modular os mecanismos ativos (7-11).

Uma vez que as células ciliadas internas (CCIs) não estão ligadas à membrana tectorial, os deslocamentos de seus estereocílios dependem das vibrações dos líquidos transmitidas pela membrana basilar. Os cílios das CCIs, por sua vez, são mecanicamente deslocados e a abertura dos canais iônicos, situados provavelmente na extremidade apical, um por estereocílio (12), despolariza a CCI; estes canais são pouco específicos, mas devido a sua forte concentração na endolinfa, o K^+ é considerado como o transportador fisiológico de cargas e responsável pela despolarização das células ciliadas. A regulação iônica que segue à despolarização envolve esquemática e sucessivamente os canais de

Ca^{2+} dependentes de voltagem e os canais de K^+ ativados pelo cálcio (permitindo a saída de K^+): estes canais situam-se sobre a membrana basolateral das células ciliadas (13,14).

As CCIs constituem, no senso estrito do termo, as verdadeiras células sensoriais da cóclea, uma vez que elas asseguram a transdução da excitação mecânica em códigos nervosos interpretáveis nos centros auditivos cerebrais. As CCEs asseguram, assim, a amplificação seletiva das vibrações, que permite estimular mecanicamente as CCIs.

Ineruações da Cóclea

Ineruação aferente

Os neurônios do gânglio espiral contatam as células ciliadas da cóclea através de seus prolongamentos periféricos (dendritos) e enviam seus axônios ao tronco cerebral. O conjunto destes axônios (cerca de 40 mil na cobaia) (15) constituem o nervo auditivo. Existem dois tipos de fibras nervosas: as fibras de tipo I constituem 85-90% da população aferente, estabelecendo conexões diretas de tipo radial com as CCIs (cada CCI é conectada a 10-20 fibras radiais – caráter divergente) (16,17); as fibras de tipo II constituem 10-15% da população aferente (15), ramificando-se na cóclea para inervar, cada fibra, 10 a 20 CCEs (caráter convergente) (18).

Na ausência de qualquer estimulação acústica, as fibras do tipo I são espontaneamente ativas (19,20), com resultado da liberação aleatória do neurotransmissor pelas CCIs. A taxa de descarga espontânea em uma determinada fibra é relativamente estável, ainda que seu ritmo seja irregular. Na cobaia, o ritmo médio de descargas espontâneas é de 50 impulsões/segundo (21,22).

Vários estudos demonstraram que a atividade elétrica registrada a partir de um eletrodo implantado em nível do canal auditivo interno, da janela redonda, ou diretamente sobre a membrana timpânica, reflete a atividade espontânea das fibras do nervo auditivo, na ausência de qualquer estimulação sonora (23-26).

Guinan & Guiford (27) sugeriram que a atividade espontânea era formada em parte

pela verdadeira descarga espontânea e em parte pela atividade evocada pelo ruído de interno do animal (*background sound*).

Segundo Dolan (24), os sinais elétricos registrados a partir de uma cóclea sem nenhuma estimulação acústica representam uma soma de todos os geradores biológicos. A Transformação de Fourier do sinal elétrico registrado em nível da janela redonda mostra um espectro de atividade dentro da banda de frequências 500-2000 Hz, com um pico ao redor de 0,8-1 KHz (que corresponderia à soma dos espectros de ondas elementares de uma população de fibras nervosas espontaneamente ativas). A análise dos sinais elétricos evocados por uma estimulação sonora em vários níveis de intensidade (ruído de banda estreita a frequências elevadas), mostrou uma elevação dos componentes do espectro entre 0,6 e 1,2 kHz. Um aumento do número de fibras auditivas excitadas ou do número de descargas por fibra unitária seria a origem desta resposta. Os autores sugeriram que, se a atividade registrada em nível da janela redonda era produzida por um som, a fonte deste som estaria no interior do animal.

Assim, após uma filtragem de frequências na banda 500-2500 Hz, o sinal elétrico, registrado a partir de um eletrodo implantado na janela redonda de uma cobaia, na ausência de qualquer estimulação acústica, pareceria traduzir a atividade de base global do nervo auditivo (28), proveniente da atividade espontânea das fibras auditivas e da atividade evocada pelo ruído interno do animal.

Ineruação eferente

As fibras eferentes – uma componente cruzada e uma direta – são originárias do feixe olivococlear de Rassmussen (29,30). Atualmente, o sistema eferente é classificado como sistema eferente lateral (SEL) e sistema eferente medial (SEM).

O SEL, numericamente mais importante (50-65% do contingente total na cobaia), é originário da oliva lateral superior e articula-se essencialmente com as terminações dendríticas das fibras aferentes em nível das CCIs (31,32). Vários neurotransmissores foram localizados nas sinapses axodendríticas do SEL: acetilcolina, dopamina e GABA, assim

como neuropeptídeos como a dinorfina, a encefalina e o CGRP (*calcitonin generated peptide*) (33). Todas estas substâncias podem ser sintetizadas no interior dos neurônios do SEL e descarregadas de acordo com as diferentes condições fisiológicas ou patológicas. Assim, poderia haver uma ação excitatória sobre as fibras aferentes do tipo I, por vezes colinérgica (34) ou, por outro lado, uma ação dopaminérgica inibitória que exerceria uma proteção da fibra aferente contra certos eventos traumáticos tais como a superestimulação sonora ou isquêmica (35-37).

O SEM é originário de núcleos mediais em relação à oliva medial superior. As fibras olivococleares mediais seguem pelo trato vestibular, nervo coclear e terminam na base das CCEs. Elas fazem sinapses preferencialmente com as CCEs contralaterais (60-65%) na cobaia (38-42). As fibras eferentes apresentam um duplo gradiente: seguindo o eixo longitudinal da cóclea (contatam sobretudo as CCEs do primeiro giro e da metade basal do segundo giro da cóclea) e seu eixo transversal (contatam principalmente as CCEs da primeira fileira) (43-45).

O SEM é conhecido por ter uma ação inibitória sobre as respostas cocleares. A acetilcolina é considerada como o neurotransmissor do SEM (46). O tipo de receptor presente nestas sinapses é motivo de controvérsia, ainda que receptores nicotínicos (47,48) e muscarínicos (49-51) tenham sido demonstrados em várias experiências.

Devido ao fato de as fibras do feixe olivococlear serem pouco numerosas – 1.650 na cobaia, segundo Warr (52), problemas técnicos tornam difícil o estudo destas fibras. Entretanto, sabe-se que elas apresentam uma atividade espontânea fraca (0 a 2/s). Elas respondem preferencialmente a uma estimulação acústica ipsilateral (49,4%) ou contralateral (43,3%), enquanto que um pequeno número (7,5%) responde às duas estimulações (53).

Liberman (54) mostrou uma supressão da diminuição da amplitude dos potenciais de ação compostos induzidos por uma estimulação sonora contralateral quando o feixe olivococlear medial é seccionado. A diminuição do potencial de ação composto, sob

influência de uma estimulação sonora contralateral constitui, assim, um método de estudo do sistema eferente olivococlear (54-56).

Pesquisadores do laboratório de audiologia experimental de Bordeaux (28) recentemente demonstraram que a atividade de base global do nervo auditivo poderia ser parcialmente suprimida por um ruído branco apresentado ao ouvido contralateral, efeito que supostamente é atribuído ao SEM.

Wiederhold & Kiang (57) haviam demonstrado que o tempo necessário para que o efeito supressor (obtido por estimulação elétrica) do feixe olivococlear cruzado se instale era de cerca de 60 ms (efeito *rápido*). Recentemente, efeitos *lentos* (constante de tempo de 25 a 50 ms) do sistema eferente foram descritos: durante uma superestimulação acústica, a proteção coclear associada à ativação do sistema eferente seria devida a estes efeitos lentos (58-60). Estes efeitos *lentos* são, nos demais aspectos, semelhantes aos efeitos *rápidos* clássicos: 1) ambos comportam uma supressão do potencial de ação composto, 2) a magnitude da supressão diminui em função do aumento de intensidade da estimulação acústica ipsilateral, 3) os dois efeitos dividem a mesma dependência à intensidade da estimulação elétrica, 4) os dois efeitos são eliminados após a secção do feixe olivococlear, e 5) ambos são bloqueados por concentrações similares de vários antagonistas colinérgicos, como a estricnina e a bicuculina. Aparentemente ambos efeitos estariam ligados ao mesmo receptor.

Quanto ao papel do SEM, a hipótese mais aceita é a de que ele inicie ou regule a contração lenta das CCEs, por intermédio de receptores colinérgicos e de segundos mensageiros como os fosfoinositídeos (61). Esta contração lenta e sustentada das CCEs determinaria o aumento de rigidez das estruturas mecânicas cocleares e diminuiria o papel de amplificador das CCEs sobre a excitação das CCl's. Embora várias hipóteses permaneçam em discussão, o SEM teria um papel na proteção do ouvido interno contra os traumatismos sonoros (62,63), na discriminação dos sinais (64) e na atenção

seletiva periférica (65,66).

A maior parte das informações disponíveis sobre o papel do sistema eferente provém de estudos realizados em condições pouco fisiológicas, com animais anestesiados, traqueostomizados, ventilados artificialmente e curarizados, o que torna difícil a interpretação dos resultados.

Há vários anos sugere-se que o sistema olivococlear poderia desempenhar um papel na ototoxicidade dos antibióticos aminoglicosídeos (AAs). Isto deve-se a uma estreita semelhança entre o gradiente de lesões das células ciliadas externas (CCEs) após uma intoxicação por aminosídeos (mais evidente na base da cóclea e na primeira fileira de CCEs) (67) e à distribuição das fibras do SEM sob as CCEs (68). Quando CCEs normais são expostas, *in vitro*, a AAs, o antibiótico não penetra imediatamente nas CCEs, onde ele bloqueia os canais cálcicos (69). Neste estudo *in vitro*, os AAs acumularam-se essencialmente no nível sináptico das CCEs (onde há fundamentalmente terminações eferentes) e, num grau menos importante, ao redor da porção ciliada. Esta última localização poderia corresponder ao bloqueio dos canais de transdução (70,71) situados em nível dos cílios das células sensoriais. Mais tarde foi demonstrado por imunohistoquímica (72,73) e por radioautografia (74) que, após um tratamento *in vivo*, em diferentes condições, a gentamicina (GM) penetrava no interior das células ciliadas e das células de sustentação. Sua presença era mais importante em nível das CCEs, seguindo o mesmo padrão que a distribuição das fibras eferentes sob as CCEs e as lesões celulares que se desenvolvem mais tarde (principalmente na base da cóclea e nas primeira fileira de CCEs).

A fim de aprofundar o estudo do presumido elo entre os AAs e o sistema eferente medial, vários estudos foram recentemente realizados no laboratório de audiolgia experimental da Universidade de Bordeaux. Foi demonstrado que uma injeção intramuscular de GM (150 mg/kg), em cobaias, reduzia reversivelmente a supressão induzida por um ruído contralateral sobre os potenciais de ação compostos evocados ipsilateralmente (75). Foi sugerido que tal efeito poderia ser

atribuído ao bloqueio de canais cálcicos pré-sinápticos, no nível das sinapses eferentes. Uma vez que esta dose de GM não provoca alterações em nível dos limiares auditivos, este revelou-se um modelo reversível e não invasivo para o estudo do sistema eferente medial. Este bloqueio também foi verificado com as otoemissões acústicas (76). Após uma injeção de GM, foram observadas alterações reversíveis na redução das otoemissões acústicas ocasionadas pela ativação do sistema eferente, mas sem alteração do seu nível de base. Isto indica um bloqueio transitório, não da função das CCEs, mas do seu controle pelo sistema eferente medial.

Um outro estudo realizado com cobaias acordadas (77) mostrou que a atividade de base global (ABG) do nervo auditivo reduzia-se durante a estimulação do ouvido contralateral por um ruído branco (55 dB SPL). Esta redução também foi reversivelmente bloqueada por uma injeção de GM, sem modificar a atividade de base global do nervo auditivo durante o silêncio.

Assim, medidas sobre o potencial de ação composto, otoemissões acústicas ou atividade de base global do nervo auditivo buscam resultados semelhantes no que diz respeito à quantidade de supressão induzida por um mesmo ruído branco contralateral e a cinética de alterações após uma injeção de GM.

Em nossa experiência, a análise da atividade de base global do nervo auditivo mostrou ser a técnica mais fácil a ser realizada com cobaias acordadas. Estimamos que a atividade de base global antes e durante uma estimulação acústica contralateral forneça informações importantes sobre uma eventual toxicidade das drogas testadas sobre a atividade ipsilateral e sobre o sistema eferente medial. A atividade de base global apresenta, além disto, outras vantagens: primeiro, esta abordagem é mais fisiológica, uma vez que pode ser medida em cobaias acordadas ou sob ligeira sedação com controle da temperatura corporal (78) ; e, segundo, uma estimulação ipsilateral não é necessária e, assim, não ativa o sistema eferente medial nem o lateral, ipsilateralmente.

Na primeira parte deste estudo quisemos verificar se um tal efeito sobre o sistema

eferente medial poderia desenvolver-se durante um tratamento crônico com doses inferiores de GM e sobretudo antes do aparecimento da ototoxicidade, como foi verificado quanto à penetração das moléculas de GM no interior das células (72). Este fato poderia constituir um sinal preliminar de ototoxicidade. Numa primeira experiência, examinamos os efeitos agudos de várias doses únicas de GM (de 60 a 150 mg/kg). Numa segunda experiência, monitoramos a função do sistema eferente medial durante e após um tratamento crônico com GM (60 mg/kg/dia, durante 10 dias). Com tal protocolo, a GM mostra-se presente dentro das CCEs desde a segunda injeção, sem alteração dos limiares auditivos até o 10º ou 14º dia de tratamento (79,80). Desta forma, um tal tratamento durante 10 dias é limítrofe para a alteração da função auditiva.

Outros AAs da mesma família apresentam graus diferentes de ototoxicidade coclear e vestibular. Por exemplo, a estreptomina e a netilmicina são principalmente vestibulotóxicas, ainda que a netilmicina seja muito pouco tóxica. Por outro lado, a amicacina e a neomicina são forte e exclusivamente cocleotóxicas. A GM e a tobramicina são vestibulo e cocleotóxicas, embora a última seja menos tóxica (81-83). Foi demonstrado *in vivo* que a neomicina, a GM e a estreptomina (nesta ordem) bloqueavam reversivelmente a corrente induzida pela acetilcolina no interior das CCEs, talvez bloqueando a entrada de cálcio necessária para disparar a resposta colinérgica. Isto reforça a hipótese da natureza ionotrópica dos receptores de acetilcolina ao nível das CCEs (84). Entretanto, foi sugerido que os efeitos agudos dos AAs podem ter mecanismos diferentes em relação a sua toxicidade crônica (85).

Assim, o objetivo da segunda parte deste estudo foi verificar se outros AAs apresentavam os mesmos efeitos agudos sobre o SEM que a GM apresentava, e se haveria uma correlação entre o seu grau de ototoxicidade, sua especificidade coclear e vestibular e sua capacidade de bloquear as sinapses eferentes. Antibióticos da mesma família, mas com diferentes graus e especificidades ototóxicas

(amicacina, neomicina, netilmicina, estreptomina e tobramicina) foram comparados com a GM. A fim de realizarmos outras comparações, algumas cobaias foram tratadas com estriquina, um antagonista conhecido da acetilcolina em nível coclear (86). Por fim, outras cobaias receberam uma injeção de cisplatina, um agente antineoplásico com propriedades ototóxicas que provocam alterações morfológicas e fisiológicas similares aos AAs (preferencialmente cocleotóxico) (87), além de bloquear reversivelmente os canais de cálcio (88) e os canais de transdução (69,71), como a GM.

Materiais e métodos

Resumidamente, os animais experimentais eram cobaias (porcos-da-índia) do sexo feminino. Elas eram anestesiadas e equipadas com um eletrodo de platina colocado sobre a membrana da janela redonda e

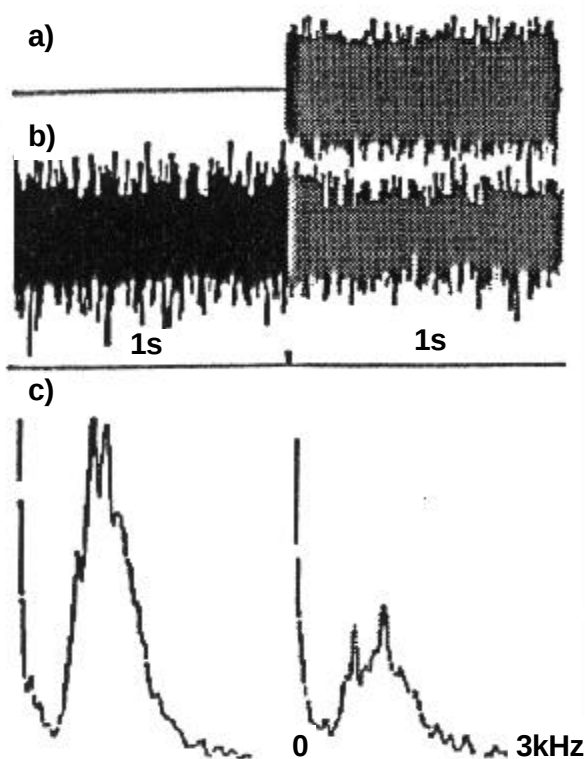


Figura 2. a) Registro da estimulação acústica com ruído branco (55 dB SPL) com um segundo de duração; b) sinal registrado em nível da janela redonda; c) espectro de energia correspondente, durante o silêncio (1º segundo) e durante a estimulação acústica contralateral.

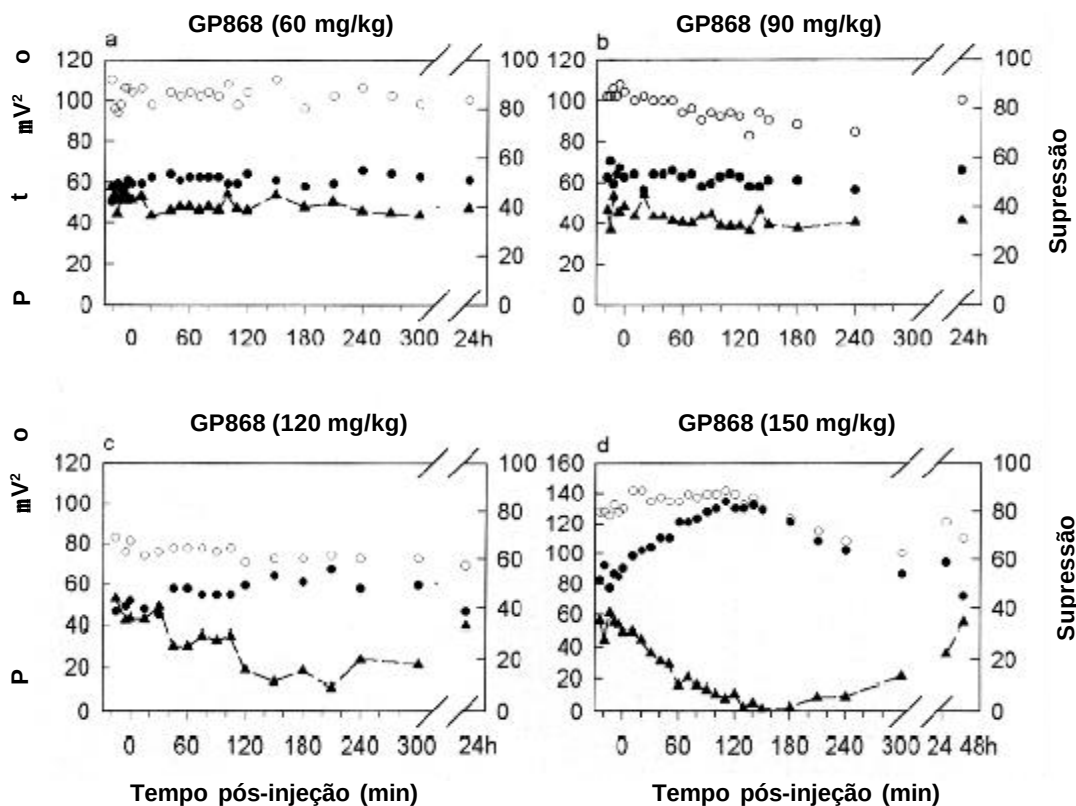


Figura 3. Evolução da supressão contralateral da atividade de base global (ABG) do nervo auditivo, analisada entre 500 e 2500 Hz, após uma única injeção de gentamicina (tempo 0) a diferentes doses, em quatro cobaias representativas. Os círculos abertos representam a ABG sem estimulação acústica. Os círculos pretos representam a ABG durante a apresentação da estimulação acústica contralateral (ruído branco, 55 dB SPL). Os triângulos representam a porcentagem da supressão obtida com a estimulação contralateral. a, b) Após injeções de 60 e 90 mg/kg, respectivamente (nenhum efeito); c) Após 120 mg/kg: efeito parcial; d) Após uma injeção de 150 mg/kg: a magnitude da supressão contralateral começa a declinar progressivamente, sendo inteiramente abolida cerca de 2 h após a injeção, e retorna ao normal 48 h após.

eletrodos de referência no crânio. Uma semana mais tarde, uma eletrococleografia era realizada a fim de comprovar a audição normal dos animais.

O registro da atividade de base do nervo auditivo era obtido através da amplificação do sinal entre os eletrodos da janela redonda e do crânio. Eram feitos registros sucessivos com duração de 2s: 1s em silêncio (os animais, acordados, eram colocados num recipiente que impedia os movimentos corporais na sua quase totalidade, dentro de uma cabine à prova de som) e 1s em estimulação contralateral (ruído branco, 55 dB SPL) (figura 2).

Os animais foram divididos nos diversos grupos de tratamento: GM efeito agudo (150/120/90/60 mg/kg, injeções únicas) e crônico (60mg/lg/dia); outros aminosídeos (amicacina,

neomicina, netilmicina, estreptomicina, tobramicina - efeitos agudos), além de cisplatina e estricnina; e, grupo controle (NaCl).

Resultados e conclusões

Administração aguda e crônica com gentamicina

Os resultados indicam que existe um efeito dose-dependente da GM sobre a supressão contralateral, uma vez que uma dose de 120 mg/kg produziu um bloqueio menos importante do sistema eferente medial (figura 3), comparado a uma dose de 150 mg/kg. Por outro lado, nenhum bloqueio foi constatado com doses inferiores (90 e 60 mg/

Tabela 1. Média e desvio-padrão (DP) da atividade de base global (ABG) do nervo auditivo durante o silêncio (μV^2) e sua supressão (%) durante a estimulação contralateral com um ruído branco (55 dB SPL), em função do tempo após a injeção (número de cobaias dentro dos parênteses)

Tratamento	Antes		1 h		~ 2 h		24/48 h	
	ABG silêncio (μV^2)	Supressão (%)	ABG silêncio (μV^2)	Supressão (%)	ABG silêncio (μV^2)	Supressão (%)	ABG silêncio (μV^2)	Supressão (%)
NaCl (n=6)	60.1 $\pm$ 16.1	37.9 $\pm$ 5.4	70.7 $\pm$ 15.9 ^a	37.3 $\pm$ 4.3	71.4 $\pm$ 17.4 ^a	38.2 $\pm$ 6.8	-	-
Gentamicina(n=60)	50.4 $\pm$ 38.6	38.5 $\pm$ 14.4	54.8 $\pm$ 41.0 ^a	23.2 $\pm$ 15.0 ^a	52.1 $\pm$ 38.8	3.0 $\pm$ 10.3 ^a	48.7 $\pm$ 31.2	35.2 $\pm$ 10.1
Amicacina (n=3)	53.5 $\pm$ 28.9	42.9 $\pm$ 4.2	50.3 $\pm$ 25.2	35.4 $\pm$ 2.9	53.0 $\pm$ 28.5	38.7 $\pm$ 0.2	53.3 $\pm$ 27.0	39.9 $\pm$ 4.0
Neomicina (n=5)	56.2 $\pm$ 29.0	35.3 $\pm$ 11.0	66.9 $\pm$ 35.9	35.3 $\pm$ 10.1	70.3 $\pm$ 37.6	35.7 $\pm$ 7.7	69.1 $\pm$ 45.8	43.8 $\pm$ 20.1
Netilmicina (n=6)	53.5 $\pm$ 22.7	32.9 $\pm$ 7.5	41.7 $\pm$ 16.7	14.9 $\pm$ 7.2 ^a	41.2 $\pm$ 18.5	7.2 $\pm$ 7.5 ^a	53.6 $\pm$ 16.2	28.0 $\pm$ 7.2
Estreptomicina (n=5)	82.9 $\pm$ 22.6	42.1 $\pm$ 4.7	73.8 $\pm$ 22.1	29.1 $\pm$ 7.3 ^a	63.8 $\pm$ 31.3	21.2 $\pm$ 5.2 ^a	84.7 $\pm$ 21.9	25.7 $\pm$ 4.4 ^a
Tobramicina (n=5)	72.4 $\pm$ 25.1	30.4 $\pm$ 3.4	78.1 $\pm$ 20.0	25.6 $\pm$ 6.0	74.6 $\pm$ 19.4	23.8 $\pm$ 8.5	74.3 $\pm$ 23.9	32.8 $\pm$ 6.4
Cisplatina (n=3)	44.0 $\pm$ 11.0	29.4 $\pm$ 4.0	33.8 $\pm$ 17.0	30.1 $\pm$ 7.4	22.5 $\pm$ 3.1 ^a	31.1 $\pm$ 13.8	40.8 $\pm$ 17.3	37.3 $\pm$ 3.8

^aDiferença estatisticamente significativa quando comparado aos valores prévios ao tratamento ($P < 0.05$).

kg). Durante um tratamento crônico com 60 mg/kg/dia de GM (10 dias), nenhuma modificação significativa da atividade de base do nervo auditivo em ausência de estimulação acústica, nem de sua supressão contralateral por um ruído branco (55 dB SPL) foi observada. Cobaias monitoradas durante várias semanas após o término do tratamento apresentaram uma redução progressiva tanto da atividade de base do nervo auditivo durante o silêncio, quanto dos coeficientes de supressão contralateral. Entretanto, observou-se ao mesmo tempo uma elevação dos limiares auditivos, o que demonstra uma alteração da função auditiva (figura 4). Assim, esta primeira parte da experiência demonstrou que um tratamento crônico com 60 mg/kg/dia de GM, ainda que ototóxico, não afeta a supressão eferente contralateral, pelo menos antes do estabelecimento da ototoxicidade.

Efeitos agudos de outros aminosídeos

A tabela 1 resume os resultados obtidos. Constatamos que a netilmicina bloqueia o SEM (figura 5), embora de maneira menos pronunciada que a GM. Por outro lado, a amicacina e a neomicina não apresentam nenhum efeito sobre o sistema eferente medial.

A tobramicina e a estreptomicina provocaram uma redução da supressão, embora freqüentemente associada a uma redução da atividade de base (sem estimulação acústica). Entretanto, com a cisplatina, a supressão manteve-se sempre presente, mesmo quando a atividade de base global do nervo auditivo sem estimulação contralateral encontrava-se severamente reduzida. Não observamos efeitos específicos da estircnina sobre a função eferente. Concluindo, nenhuma correlação entre a especificidade e o grau de ototoxicidade dos AAs e sua ação sobre o sistema eferente medial foi encontrada.

Referências

1. Russel IJ, Sellick PM. Intracellular studies of hair cells in the mammalian cochlea. *J Physiol* 1978;284:261-90.
2. Brownell WE, Bader CR, Bertrand D, de Ribaupierre Y. Evoked mechanical responses of isolated outer hair cells. *Science* 1985;227:194-6.
3. Kachar B, Brownell WE, Altschuler R, Fex J. Electrokinetic changes of cochlear hair cells. *Nature* 1986;322:365-7.
4. Kalinec F, Holley MC, Iwasa KH, Lim DJ, Kachar B. A membrane-based force generation mechanism in auditory sensory cells. *Proc Natl*

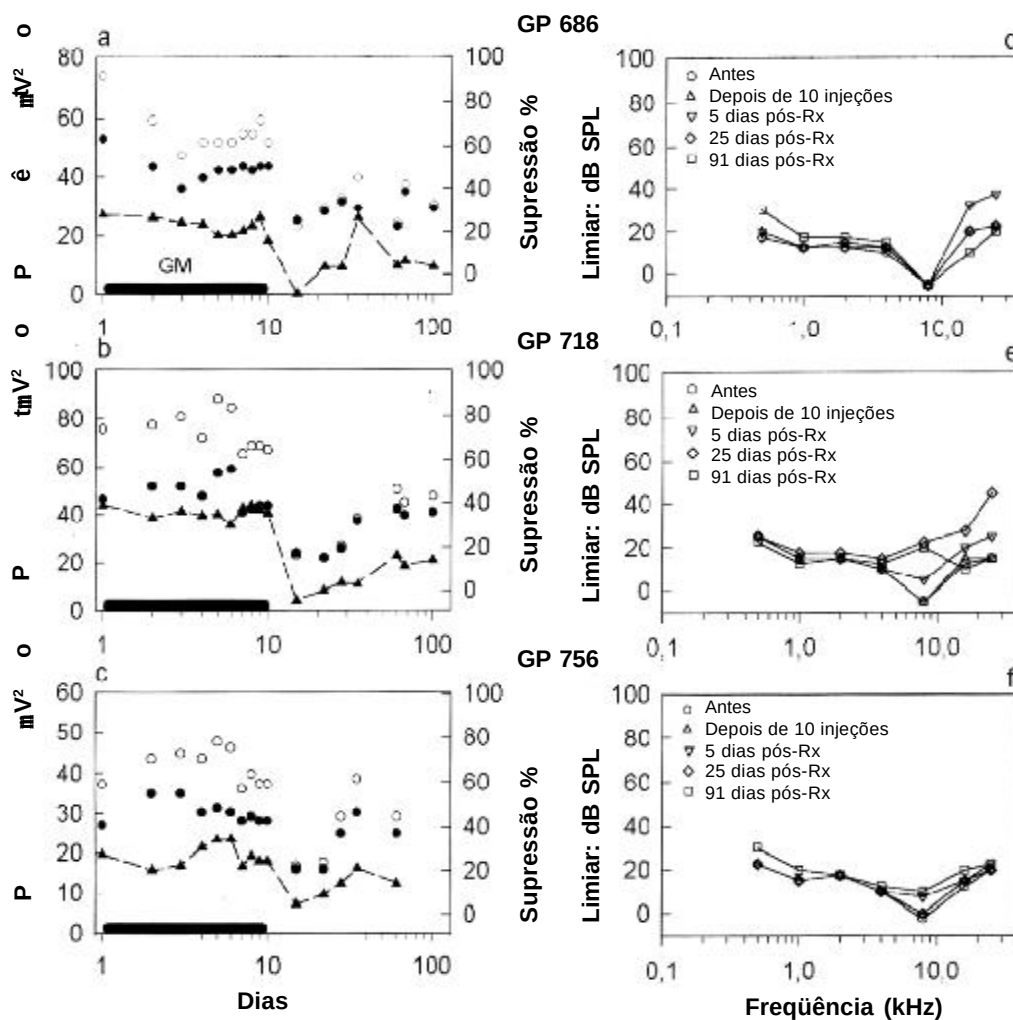


Figura 4. a, b, c) Alterações da atividade de base global do nervo auditivo sem (círculos abertos) e com (círculos pretos) estimulação acústica contralateral (os triângulos representam a porcentagem de supressão obtida pela estimulação acústica contralateral), durante e após um tratamento crônico com gentamicina (60mg/kg/dia, durante 10 dias); d, e, f) Audiogramas correspondentes de cobaias avaliadas durante semanas após o tratamento.

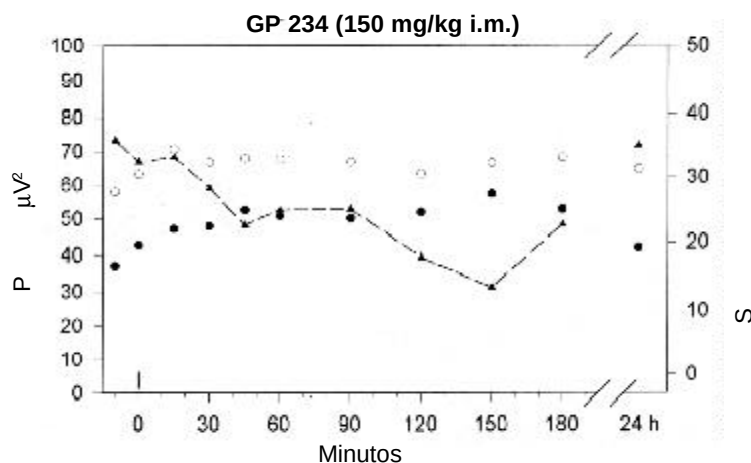


Figura 5. Efeitos da netilmicina (150 mg/kg) na atividade de base global do nervo auditivo sem (círculos abertos) e com (círculos pretos) estimulação acústica contralateral numa cobaia representativa. Os triângulos correspondem à porcentagem de supressão.

- Acad Sci USA 1992;89:8671-5.
5. Zenner HP. Motile responses in outer hair cells. *Hear Res* 1986;22:83-90.
 6. Flock A, Flock B, Ulfendahl M. Mechanisms of movement in outer hair cells and a possible structural basis. *Arch Otorhinolaryngol* 1986;243:83-90.
 7. Brownell WE. Observations on a motile response in isolated outer hair cells. In: Webster WR, Aitken LM, editors. *Mechanics of Hearing*. Melbourne: Monash University Press;1983;5-10.
 8. Brownell WE. Microscopic observation of cochlear hair cell motility. *Scanning Electron Microscopy* 1984(III):1401-6.
 9. Brownell WE, Bader CR, Bertrand D, de Ribaupierre Y. Evoked mechanical responses of isolated outer hair cells. *Science* 1985;227:194-6.
 10. Slepecky N, Ulfendahl M, Flock A. Shortening and elongation of isolated hair cells in response to application of potassium gluconate, acetylcholine and cationized ferritin. *Hear Res* 1988;34:119-26.
 11. Plinkert PK, Gitter AH, Zenner HP. On the function of the acetylcholine receptor in outer hair cells. II. Vasalva 1989;54(Suppl 1):17-9.
 12. Howard J, Hudspeth AJ. Compliance of the hair bundle associated with gating of mechano-electrical transduction channels in the bullfrog's saccular hair cell. *Neuron* 1988;1:189-99.
 13. Hudspeth AJ. The ionic channels of a vertebrate hair cell. *Hear Res* 1986;22:21-7.
 14. Ashmore JF, Housley GD. Graded ionic properties of isolated outer hair cells from the guinea pig cochlea. *J Physiol* 1989;417:83.
 15. Morrison D, Schindler RA, Wersall J. Quantitative analysis of the afferent innervation of the organ of Corti in the guinea pig. *Acta Otolaryngol* 1975;79:11-23.
 16. Spoendlin H. Innervation patterns in the organ of Corti of the cat. *Acta Otolaryngol* 1969;67:239-47.
 17. Spoendlin H. Neural anatomy of the inner Ear. In: Jahn AF et Santos-Sacchi J, editors. *Physiology of the Ear*. New York: Raven Press; 1988. P.201-20.
 18. Brown MC. Morphology of labelled afferent fibers in the guinea pig cochlea. *J Comp Neurol* 1987;260:591-604.
 19. Tasaki I. Nerve impulses in individual and auditory nerve fibers of guinea pig. *J Neurophysiol* 1954;17:97-122.
 20. Kiang NYS, Watanabe T, Thomas EC, Clark LF. Discharge patterns of single fibres in the cat's auditory nerve. *Res Monogr* 35. Cambridge: MIT Press; 1965.
 21. Manley GA, Robertson D. Analysis of spontaneous activity of auditory neurones in the spiral ganglia of guinea pig. *J Physiol* 1976;218:323-37.
 22. Cooper NP. On the peripheral coding of complex auditory stimuli: temporal discharge patterns in the guinea pig cochlear nerve fibres [tese]. University of Keele; 1989.
 23. Schreiner CE, Snyder RL. A physiological animal model of peripheral tinnitus. *Proceedings of the III International Tinnitus Seminar*; 1987; Munster. p.100-6.
 24. Dolan DF, Nuttall AL, Avinash G. Asynchronous neural activity recorded from the round window. *J Acoust Soc Am* 1990;87(6):2621-7.
 25. Sininger YS, Eggermont JJ, King AJ. Spontaneous activity from the peripheral auditory system in tinnitus. In: Aran JM, Dauman R, editors. *Tinnitus*; 1991.
 26. Cazals Y, Huang Z. Average spectrum of spontaneous activity at the round window modified by sedation, anesthesia and salicylate. *J Physique IV* 1994;(Suppl C5):415-8.
 27. Guinan JJ Jr. Effect of efferent neural activity on cochlear mechanics. *Scand Audiol* 1986;(Suppl 25):53-62.
 28. Popelar J, Lima da Costa D, Erre JP, Avan P, Aran JM. Contralateral suppression of the ensemble background activity of the auditory nerve in awake guinea pigs: effects of gentamicin. *Auditory Neuroscience* 1996;3(4):425-33.
 29. Rasmussen GL. The olivary peduncle and other fiber projections of the superior olivary complex. *J Comp Neurol* 1946;84:141-219.
 30. Rasmussen GL. Efferent fibers of the cochlear nerve and cochlear nucleus. In: Rasmussen GL, Windle WF, editors. *Neural mechanisms of the auditory and vestibular systems*. Springfield: Charles C Thomas;1960. p.105-15.
 31. Brown MC. Peripheral projections of labelled efferent nerve fibres in the guinea pig cochlea: an anatomical study. In: *Abstract of the VIIth Midwinter ARO Meet*; 1985.p.9-10.
 32. Guinan JJ Jr, Warr WB, Norris BE. Differential olivocochlear projections from lateral versus medial zones of the superior olivary complex. *J*

- Comp Neurol 1983;221:358-73.
33. Pujol R, Puel J-L, Gervais d'Aldin C, Eybalin M. Pathophysiology of the glutamatergic synapses in the cochlea. *Acta Otolaryngol* 1993;113:330-4.
34. Felix D, Ambühl P, Ehrenberger K. The efferent modulation of inner hair cell afferents. *Proceedings of the 28th Workshop on Inner Ear Biology*; 1991; Tübingen. p.42.
35. Puel JL. Rôle des systèmes efférents olivocochléaires en conditions normales et physiopathologiques. *Le système efférent cochléaire. Brochure Janssen* 1994;26-30.
36. D'Aldin C, Eybalin M, Puel JL, Charachon G, Ladrech S, Renard N, Pujol R. Synaptic connections and putative functions of the dopaminergic innervation of the guinea pig cochlea. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1995;252:270-4.
37. D'Aldin C, Puel JL, Leducq R, Crambes O, Eybalin M, Pujol R. Effects of dopaminergic agonist in the guinea pig cochlea. *Hear Res* 1995;90:202-11.
38. Aschoff A, Ostwald J. Different origins of cochlear efferents in some bat species, rats and guinea pigs. *J Comp Neurol* 1987;264:56-72.
39. Aschoff A, Ostwald J. Distribution of efferents and olivo-cochlear neurons in the brainstem of rat and guinea pig. *Exp Brain Res* 1988;71:241-51.
40. Robertson D. Brainstem localization of efferent neurones projecting to the guinea pig cochlea. *Hear Res* 1985;20:79-84.
41. Robertson D, Anderson CJ, Cole KS. Segregation of efferent projections to different turns of guinea pig cochlea. *Hear Res* 1987;25:69-76.
42. Stopp PE. The problem of obtaining reproducible quantitative data of the olivocochlear pathway as exemplified in the guinea pig. *Eur Arch Oto-rhinolaryngol* 1990;247:29-32.
43. Engstrom H, Ades HW, Andersson A. Structural pattern of the organ of Corti. Stockholm: Almqvist and Wiksell: Sweden; 1966.
44. Ishii D, Balogh K. Distribution of efferent nerve endings in the organ of Corti. *Acta Otolaryngol* 1968;66:262-8.
45. Nakai Y, Igarashi M. Distribution of the crossed olivo-cochlear bundle terminals in the squirrel monkey cochlea. *Acta Otolaryngol* 1974;77:393-404.
46. Eybalin M. Neurotransmitters and neuromodulators of the mammalian cochlea. *Physiol Rev* 1993;73:309-73.
47. Housley GD, Ashmore JF. Direct measurement of the action of acetylcholine on isolated outer hair cells of the guinea pig cochlea. *Proc R Soc Lond Ser B Biol Sci* 1991;244:161-7.
48. Plinkert PK, Zenner HP, Heilbronn E. A nicotinic acetylcholine receptor-like alpha-bungarotoxin-binding site on outer hair cells. *Hear Res* 1991;53:123-30.
49. Takehata S, Nakagawa T, Akaike N. Cellular mechanism of acetylcholine-induced response in dissociated outer hair cells of guinea pig cochlea. *J Physiol Lond* 1993;463:227-34.
50. Bartolami S, Planche M, Pujol R. Characterization of muscarinic binding sites in the adult and developing rat cochlea. *Neurochem Int* 1993;23:419-25.
51. Bartolami S, Ripol C, Planche M, Pujol R. Localization of functional muscarinic receptors in the rat cochlea: evidence for efferent presynaptic autoreceptors. *Brain Res* 1993;626:200-9.
52. Warr WB. Efferent components of the auditory system. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1980;89(Suppl 74):114-20.
53. Robertson D, Gummer M. Physiological and morphological characterization of efferent neurones in the guinea pig cochlea. *Hear Res* 1985;20:63-77.
54. Liberman MC. Rapid assessment of sound-evoked olivocochlear feedback: suppression of compound action potentials by contralateral sound. *Hear Res* 1989;39:47-56.
55. Warren EH III, Liberman MC. Effects of contralateral sound on auditory-nerve response. I. Contributions of cochlear efferents. *Hear Res* 1989;37:89-104.
56. Warren EH III, Liberman MC. Effects of contralateral sound on auditory-nerve response. II. Dependence on stimulus variables. *Hear Res* 1989;37:105-22.
57. Wiederhold ML, Kiang NYS. Effects of electric stimulation of the crossed olivocochlear bundle on single auditory nerve fibers in the cat. *J Acoust Soc Am* 1970;48:950-65.
58. Sridhar TS, Brown MC, Liberman MC. A novel - slow effect - of olivocochlear stimulation on the compound action potential of the auditory nerve. 17th Proc Annu Meet Assoc Res Otolaryngol; 1994; St Petersburg Beach. Abstract 400. p. 100.
59. Sridhar TS, Liberman MC, Brown MC, Sewell WF. A novel cholinergic - slow effect - of efferent stimulation on cochlear potentials in the guinea

- pig. *J Neurosci* 1995;15(5):3667-8.
60. Reiter ER, Liberman MC. Efferent mediated protection from acoustic overexposure: relation to - slow - effects of olivocochlear stimulation. *J Neurophysiol* 1995;73:506-14.
 61. Schacht J, Zenner HP. Evidence that phosphoinositides mediate motility in cochlear outer hair cells. *Hear Res* 1987;31:55.
 62. Rajan R, Johnstone BM. Binaural acoustic stimulation exercises protective effects at the cochlea that mimic the effects of electrical stimulation of an auditory efferent pathway. *Brain Res* 1988;459:241-55.
 63. Rajan R. Protective functions of the efferent pathways to the mammalian cochlea: a review. In: Dancer AL, Henderson D, Salvi RJ, Hamernik RP, editors. *Noise induced hearing loss*. St Louis: Mosby year book; 199. p.429-44.
 64. Kawase T, Delgutte B, Liberman MC. Antimasking effects of olivocochlear reflex. II: Enhancement of auditory nerve response to masked tones. *J Neurophysiol* 1993;70:2533-49.
 65. Puel JL, Bonfils P, Pujol R. Selective attention modifies the active micromechanical properties of the cochlea. *Brain Res* 1988;447:380-3.
 66. Giard MH, Collet L, Bouchet P, Pernier J. Auditory selective attention in the human cochlea. *Brain Res* 1994;633:353-6.
 67. Kohonen A. Effect of some ototoxic drugs upon the pattern and innervation of cochlear sensory cells in the guinea pig. *Acta Oto-Laryngol* 1965;(Suppl 208):1-70.
 68. Rasmussen GL. Efferent fibers of the cochlear nerve and cochlear nucleus. In: Rasmussen GL & Windle WF, editors. *Neural mechanisms of auditory and vestibular systems*. Springfield: Charles C Thomas;1960. p.105-15.
 69. Dulon D, Zajic G, Aran J-M, Schacht J. Aminoglycoside antibiotics impair calcium entry but not viability and motility in isolated cochlear outer hair cells. *J Neurosci Res* 1989;10:1388-97.
 70. Hudspeth AJ, Kroese ABA. Voltage-dependent interaction of dihydrostreptomycin with the transduction channels in bullfrog hair cells (Abstract). *J Physiol* 1983;345:66.
 71. Kroese ABA, Das A, Hudspeth AJ. Blockage of transduction channels of hair cells in bullfrog's sacculus by aminoglycoside antibiotics. *Hear Res* 1989;37:203-18.
 72. Hiel H, Bennani H, Erre J-P, Arousseau A, Aran J-M. Kinetics of gentamicin in cochlear hair cells after chronic treatment. *Acta Oto-Laryngol* 1992;112:272-7.
 73. Hiel H, Erre J-P, Arousseau C, Bouali R, Dulon D, Aran J-M. Gentamicin uptake by cochlear hair cells precedes hearing impairment during chronic treatment. *Audiology* 1993;32:78-87.
 74. Hiel H, Schamel A, Erre JP, Dulon D, Aran JM. Cellular and subcellular localization of triated gentamicin in the guinea pig cochlea following combined treatment with ethacrynic acid. *Hear Res* 1992;57:157-65.
 75. Smith DW, Erre J-P, Aran J-M. Rapid, reversible elimination of the medial olivocochlear function following single injection of gentamicin in the guinea pig. *Brain Res* 1994;652:243-8.
 76. Avan P, Erre J-P, Lima da Costa D, Aran J-M, Popelar J. The efferent-mediated suppression of otoacoustic emissions in awake guinea pigs and its reversible blockage by gentamicin. *Exp Brain Res* 1996;109:9-16.
 77. Popelar J, Lima da Costa D, Erre J-P, Avan P, Aran J-M. Contralateral suppression of the ensemble background activity of the auditory nerve in awake guinea pigs: effects of gentamicin. *Auditory Neuroscience* 1996;3(4):425-33.
 78. Lima da Costa D, Erre J-P, Charlet de Sauvage R, Popelar J, Aran J-M. Bioelectrical cochlear noise and its contralateral suppression: relation to background activity of the eighth nerve and effects of sedation and anesthesia. *Exp Brain Res* 1997;116:259-69.
 79. Hiel H. Distributions cellulaire et subcellulaire de la gentamicine dans l'oreille interne et développement de l'ototoxicité chez le cobaye [tese]. Bordeaux: Université de Bordeaux II; 1991.
 80. Hiel H, Erre J-P, Arousseau C, Bouali R, Dulon D, Aran J-M. Gentamicin uptake by cochlear hair cells precedes hearing impairment during chronic treatment. *Audiology* 1993;32:78-87.
 81. Aran JM. Cibles cochléaires et vestibulaires des aminoglycosides. In: Filastre, ed. *Néphrotoxicité, Ototoxicité médicamenteuses*. Paris: INSERM; 1982:377-86.
 82. Aran JM, Erre JP, Guilhaume A, Arousseau C. The comparative ototoxicities of gentamicin, tobramycin and dibekacin in the guinea pig. A functional and morphological cochlear and vestibular study. *Acta Otolaryngol* 1982;(suppl 390):1-30.
 83. Aran JM, Chappert C, Dulon D, Erre JP,

- Aurousseau C. Uptake of amikacin by hair cells of the guinea pig cochlea and vestibule and ototoxicity: Comparison with gentamicin. *Hear Res* 1995;82:179-83.
84. Eróstegui C, Sugasawa M, Dulon D. Aminoglycosides antibiotics reversibly block acetylcholine induced currents in guinea outer hair cells. In: Popelka G, editor. Abstracts of 18th ARO Midwinter Meeting; 1995. p.323-81.
85. Schacht J. Biochemical basis of aminoglycoside ototoxicity. *Otolaryngol Clin N Am* 1993;26(5):845-56.
86. Desmedt JE, Lagrutta V. Function of the uncrossed efferent olivo-cochlear fibres in the cat. *Nature Lond* 1963;200:472-3.
87. Laurell G. Ototoxicity of the anticancer drug cisplatin. *Scand Audiol* 1991;(Suppl 3):1-48.
88. Saito T, Moataz R, Dulon D. Cisplatin blocks depolarization induced calcium entry in isolated cochlear outer hair cells. *Hear Res* 1991;56:143-7.