

Fisiologia da Audição

Mauricio Kurc • Mônica Gondim AmatuZZi

Introdução

O papel do órgão sensorial da audição é converter a energia mecânica do som em impulsos elétricos no nervo auditivo. Para exercer tal tarefa, é composto do seguinte: uma unidade que capta o som, a orelha externa; um sistema de condução da energia mecânica do som, a orelha média; e um sistema ultraspecializado de amplificação e codificação da energia mecânica, a cóclea.

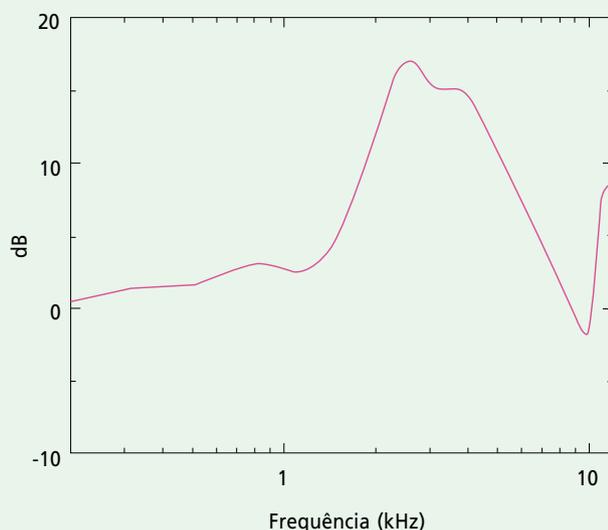


Figura 15.1 – Diferença entre a pressão sonora medida próximo à membrana timpânica e a pressão sonora medida num campo livre, obtido num modelo de cabeça humana¹.

Enquanto o olho é um fotorreceptor, por transformar a energia eletromagnética da luz em impulsos elétricos, e os órgãos olfatórios e gustatórios são quimiorreceptores, o órgão sensorial da audição é classificado como mecanorreceptor.

Orelha Externa (Captação Sonora)

Os sons medidos no meato acústico externo são consideravelmente diferentes dos sons medidos num campo sonoro em razão da influência das propriedades acústicas da orelha externa, da cabeça e até dos ombros.

O meato acústico externo é simplesmente um tubo aberto de um lado e fechado do outro, funcionando como uma cavidade de ressonância. A frequência de ressonância é determinada pelo comprimento do tubo; assim, para um tubo de 2,5cm, a frequência de ressonância é de aproximadamente 3,5kHz. Nessa frequência, os sons chegam a ter um ganho de 15 decibéis (dB) na membrana timpânica em relação à entrada do canal¹. Acima e abaixo de 3,5kHz, o ganho é progressivamente menor, como mostra a Figura 15.1.

Esse pico de ressonância, por volta de 3,5kHz, desencadeia um ganho na intensidade do som nessa frequência, sendo uma das razões por que a perda auditiva induzida por ruído ocorre inicialmente na região de 4kHz.

A cabeça também interfere na propagação do som. Esse efeito é relacionado ao seu tamanho, ao

comprimento da onda sonora e à sua posição em relação à fonte sonora. Dessa forma, ela pode funcionar ora como escudo, ora como concha, reduzindo ou amplificando os sons que chegam ao meato acústico externo.

Audição Direcional

A interferência acústica da orelha externa, da cabeça e dos ombros também contribui para a percepção da origem da fonte sonora. A capacidade de audição direcional no plano horizontal é explicada por dois fatores: as diferenças do tempo de chegada e da intensidade do som na entrada do meato acústico externo. A cabeça age como um obstáculo para a orelha oposta à fonte sonora, diminuindo a intensidade do som que chega nessa orelha (efeito escudo). Por outro lado, o efeito concha aumenta a intensidade do som que chega à orelha próxima. No sistema nervoso central, essas diferenças são processadas e o cérebro determina a real origem da fonte sonora.

A intensidade do som que chega às orelhas depende tanto da direção da fonte sonora no plano horizontal (azimute) como também da frequência do som, enquanto a diferença do tempo de chegada do som é independente da frequência. A cabeça age como atenuador somente se o comprimento de onda do som for menor que a largura da cabeça. Assim,

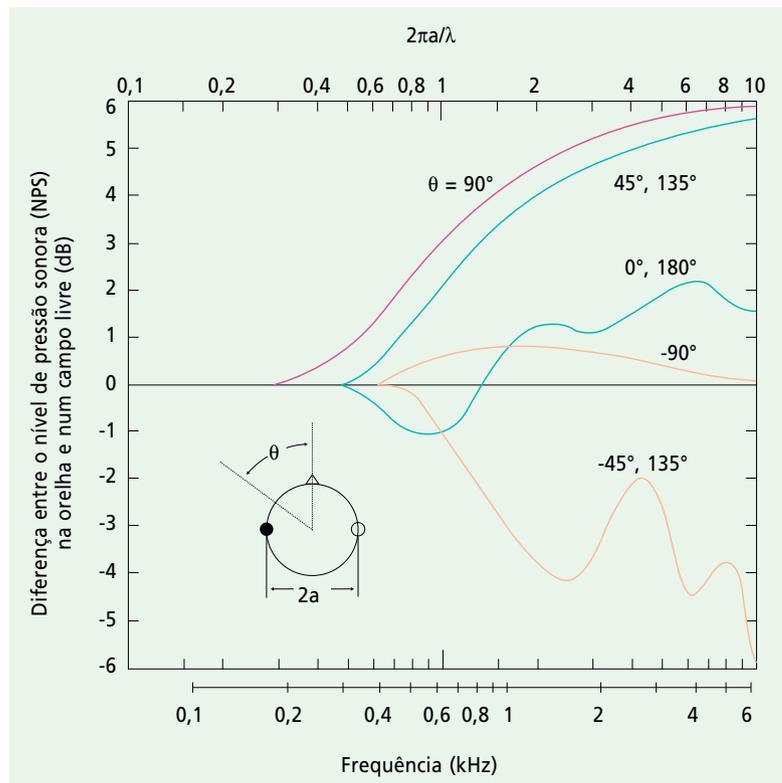
em frequências maiores que 2kHz, o efeito escudo chega a causar uma diferença interaural de até 15dB. Em frequências menores, nas quais o comprimento de onda é maior que o comprimento da cabeça, o efeito escudo não é significativo.

A Figura 15.2 esquematiza as diferenças de pressão sonora entre o som num campo livre e na entrada do meato acústico externo. A diferença é exibida em função da frequência em diferentes azimutes. O maior ganho de intensidade é observado obviamente quando a fonte sonora está posicionada a 90° do azimute, ou seja, diretamente ao lado da orelha. Conforme a fonte sonora se distancia desse azimute, observam-se ganhos variáveis na intensidade do som. Os maiores ganhos ocorrem nas frequências mais altas, pela maior intensidade do efeito escudo da cabeça².

No plano vertical, o mecanismo de discriminação da origem da fonte sonora não é bem-compreendido, mas provavelmente está relacionado às propriedades acústicas do pavilhão e do meato acústico externo.

Orelha Média (Condução Sonora)

A função da membrana timpânica é fechar totalmente o fundo do meato acústico externo, protegendo a orelha média da entrada de líquidos ou partículas, e



978-85-7241-923-9

Figura 15.2 – Diferenças de pressão sonora medidas em um campo livre e na entrada do meato acústico externo em função das frequências em diferentes azimutes num modelo de cabeça².

transmitir a energia mecânica do som para os ossículos da orelha média.

Quando o estímulo acústico alcança a membrana timpânica, pode chegar à orelha interna de três formas:

- Por condução óssea, alcançando diretamente a cóclea sem passar pelos ossículos.
- Por difusão, pelo ar da cavidade timpânica.
- Por meio da cadeia ossicular, que é o meio mais efetivo de transmissão do som à cóclea, como será visto a seguir.

A orelha média ~~transmite a energia mecânica do som do ar para o interior líquido da cóclea.~~ Funciona como um transformador de impedâncias, porque transmite a energia mecânica do som do meio aéreo, de baixa impedância (baixo atrito), para o interior líquido da cóclea, que é um meio de alta impedância (alto atrito). Se não houvesse esse efeito transformador da orelha média e o som fosse conduzido diretamente do ar para a janela oval, somente 0,1% da energia mecânica chegaria ao interior da cóclea, enquanto 99,9% seriam refletidos.

Esse processo de compensação da energia é realizado pela orelha média por três mecanismos. O principal é a diferença entre a área da membrana timpânica e a área da janela oval ou, mais precisamente, a razão entre essas áreas (na Figura 15.3, a razão A_{mt}/A_e). A área da membrana timpânica é de 55mm^2 e a área da janela oval, de $3,2\text{mm}^2$. Assim, a força do som que age sobre a membrana timpânica

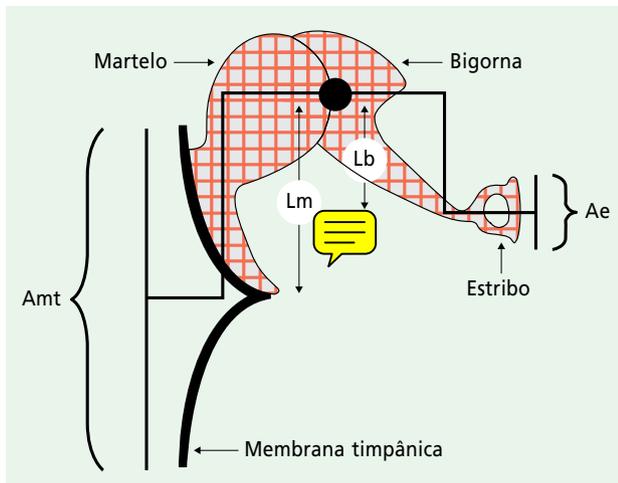


Figura 15.3 – Esquema do sistema tímpano-ossicular mostrando as diferenças na área e no padrão de vibração dos ossículos. Ae = área do estribo; Amt = área da membrana timpânica; Lb = comprimento da bigorna; Lm = comprimento do martelo.

é concentrada na área muito menor da janela oval, gerando amplificação da pressão sonora, pois pressão (p) é igual a força (F) dividida pela área (A) ($p = F/A$). Como a pressão exercida na janela oval é obtida pela razão das duas áreas ($55\text{mm}^2/3,2\text{mm}^2$), a pressão resultante na platina do estribo é 17 vezes maior que na membrana timpânica (correspondendo a, aproximadamente, 25dB de ganho).

O segundo mecanismo é o de alavanca, que ocorre entre os ossículos da orelha média. A extensão entre o pescoço e o manúbrio do martelo é 1,3 maior que a extensão do processo longo da bigorna (na Fig. 15.3, l_m/l_b)³.

O terceiro mecanismo deve-se à forma côncava da membrana timpânica que se estica quando se movimenta, fazendo com que o martelo mova-se com aproximadamente o dobro da força.

Teoricamente, se as estruturas da orelha média funcionassem idealmente, o resultado de todos esses mecanismos combinados seria $17 \times 1,3 \times 2 = 44,2$, ou seja, aumento de 44 vezes na pressão que chega ao interior da cóclea, correspondendo a um ganho de 33dB. Entretanto, o poder de transformação da orelha média humana não é perfeito e alguma energia sonora é refletida pela membrana timpânica e não chega à cóclea, como revelam resultados experimentais obtidos por diferentes investigadores. Por exemplo, Merchant *et al.*⁴ chegaram a valores de ganho de aproximadamente 20dB entre 250Hz e 500Hz e ganho máximo de 25dB em 1.000Hz.

Até 200Hz, a eficiência da orelha média humana fica, aproximadamente, 10dB abaixo do ideal. Sua maior eficiência ocorre ao redor de 1kHz, em que fica aproximadamente 3dB abaixo de um transformador de impedância ideal. Isso significa que a orelha média transmite somente aproximadamente um terço da energia do som à cóclea nessa faixa de frequências e, menos ainda, acima e abaixo dessa faixa.

Os resultados dos estudos variam bastante, pois a maioria deles foi realizada em cadáveres ou animais, e também o ganho não é uniforme, já que varia com a frequência do estímulo sonoro. Expressar a ação transformadora da orelha média num único número é muita simplificação, uma vez que essa ação é frequência-dependente. A massa e a tensão das estruturas da orelha média, assim como regiões específicas da membrana timpânica, transmitem melhor certas frequências. A tensão diminui o movimento nas frequências baixas, e a massa diminui o movimento nas frequências altas. Portanto, a ação da orelha média é mais bem descrita pela função de transferência.

Ao amplificar seletivamente a energia do som para a janela oval, a orelha média cria uma diferença de força nas duas janelas, permitindo a transferência da energia mecânica da vibração dos ossículos em ondas hidromecânicas no fluido coclear.

A vibração dos ossículos movimenta a platina do estribo, assim como os fluidos cocleares, as estruturas da cóclea e a janela redonda. É justamente a presença da janela redonda e de sua membrana complacente que permite o movimento da platina do estribo. Quando o estribo move-se para dentro, a janela redonda move-se para fora. Esse acoplamento permite a criação de uma onda hidromecânica no interior da cóclea, que ocorre somente se houver diferença de pressão nas duas janelas.

Função de Transferência

É a razão entre a amplitude de vibração dos ossículos (martelo e estribo) e a pressão sonora próximo à membrana timpânica. Os primeiros estudos de função de transferência da orelha média foram realizados em cadáveres por Vékésy em 1941⁵, mostrando resultados semelhantes aos obtidos em estudos recentes⁶. A amplitude de vibração dos ossículos é quase constante em frequências baixas, até a frequência de ressonância da orelha média (aproximadamente 900Hz).

A função de transferência apresenta variação considerável entre os diferentes indivíduos, principalmente por causa de diferenças na função da membrana timpânica, mas essas irregularidades só reforçam o fato de que a função da orelha média é muito mais complexa do que a simples combinação de elementos como massa e tensão.

Linearidade da Orelha Média

Estudos experimentais em gatos revelam que a orelha média funciona como um sistema linear, pois o estribo se move proporcionalmente à pressão sonora até 130dB_{NPS} para frequências abaixo de 2kHz e ainda maiores, até 150dB, para frequências mais altas⁷. Isso significa que a membrana timpânica e a cadeia ossicular são extremamente eficientes em transferir a energia para a orelha interna e exercem essa função sem distorções até esses níveis de intensidade sonora.

Impedância Acústica

A impedância acústica da orelha é uma medida da resistência apresentada pela membrana timpânica

ao ser colocada em movimento pelo som. Pode fornecer informações importantes sobre o funcionamento da orelha média na transmissão das ondas sonoras para a cóclea e na investigação de diversas afecções que a acometem.

A timpanometria é uma forma de determinar a impedância, e a variação da impedância acústica é utilizada para identificar contrações dos músculos da orelha média, com o intuito de estudar os reflexos acústicos.

A medida da impedância acústica tem um alto grau de reprodutibilidade no mesmo indivíduo, mas pode variar muito entre indivíduos diferentes por diferenças da membrana timpânica, principalmente das propriedades da sua porção flácida.

Se a membrana timpânica funcionasse como um pistão ideal, a força mecânica no manúbrio do martelo seria proporcional à pressão sonora na membrana timpânica. Estudos com gatos mostram que a impedância acústica é inversamente proporcional à velocidade de vibração do martelo para frequências até 2kHz, ou seja, a área efetiva da membrana timpânica muda para frequências acima de 2kHz. Em cadáveres humanos, a área efetiva da membrana timpânica é menor para frequências altas.

A membrana timpânica, os ossículos, os músculos, o ar da cavidade timpânica e a cóclea contribuem para a impedância da orelha média. Contudo, experimentos em gatos e coelhos, em que a articulação incudoestapediana é desarticulada, mostraram que a impedância acústica da orelha é diminuída para valores bem baixos, sugerindo que o principal componente da impedância acústica da orelha é a cóclea⁸.

Músculos da Orelha Média

Existem dois músculos estriados dentro da orelha média: o músculo tensor do tímpano e o estapédio. O tensor do tímpano está ligado ao martelo e é inervado pelo nervo trigêmeo. O estapédio conecta-se ao estribo e é inervado por um ramo do nervo facial, o nervo estapediano.

São os dois menores músculos do corpo. Embora sua contração inegavelmente altere a transmissão do som através da orelha média para a cóclea, sua exata função e a magnitude da sua ação ainda não são completamente entendidas.

Certamente uma das funções dos músculos da orelha média é proteger a cóclea de sons muito intensos. Quando são apresentados sons a partir de 80 decibéis em nível de pressão sonora (dB_{NPS}), ocorre o reflexo de contração do músculo estapediano em ambas as orelhas (bilateral). O músculo estape-

diano puxa o estribo perpendicularmente ao eixo do movimento de pistão que o estribo faz com o estímulo do som, causando um movimento de deslizamento da articulação incudoestapediana.

Aparentemente, o músculo tensor do tímpano não responde ao estímulo com sons intensos. Sua contração puxa o manúbrio do martelo, causando um movimento da membrana timpânica para dentro. **Ele se**

contra durante a deglutição, quando a tuba auditiva é aberta, auxiliando a troca de ar na cavidade timpânica.

Ambas as ações levam ao aumento na rigidez do sistema tímpano-ossicular e, portanto, da sua impedância, atenuando a passagem de sons para a cóclea, principalmente abaixo dos 2kHz.

Como a latência para o início do reflexo é de 10ms, provavelmente a cóclea não está protegida contra sons de curtíssima duração.

Outras funções têm sido atribuídas aos músculos da orelha média, como redução do ruído causado pela vocalização e mastigação e melhora da razão sinal-ruído para sinais de alta frequência, especialmente fonemas fricativos, ao atenuar ruídos de baixa frequência do ambiente.

Cóclea (Sistema de Codificação)

O papel da cóclea é converter a energia mecânica do som em impulsos elétricos, um processo denomina-

do transdução mecanoelétrica. Adicionalmente, a cóclea separa os sons de acordo com o seu espectro de frequências.

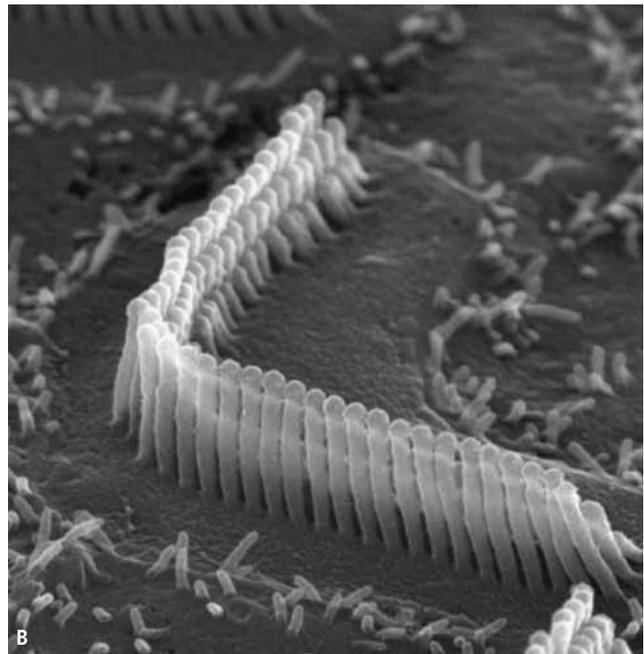
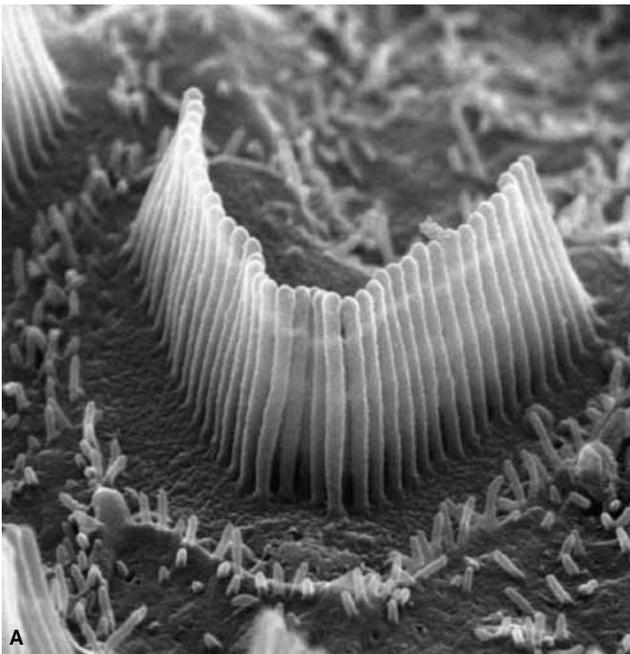
Transdução Mecanoelétrica

A organela mecanossensível das células ciliadas é o feixe de estereocílios, um aglomerado de, em média, 100 prolongamentos celulares, organizados em alturas decrescentes e preenchidos por filamentos de actina.

No modelo atual de transdução mecanoelétrica, a deflexão do feixe de estereocílios, desencadeada pelo movimento da endolinfa, leva à abertura de canais iônicos de transdução. O feixe de estereocílios deflete-se como um todo, em razão de conexões existentes entre cada estereocílio, e pivota na sua base, junto à sua inserção na superfície apical da célula ciliada, pois as porções basais dos estereocílios são mais afiladas em relação ao seu corpo (Figs. 15.4 e 15.5).

Além das conexões laterais, cada estereocílio possui também uma delgada conexão denominada *tip-link*⁹, que une a extremidade de um estereocílio ao estereocílio vizinho (Figs. 15.5 e 15.6). Acredita-se que o canal de transdução esteja localizado próximo ao *tip-link* (conexão de ponta).

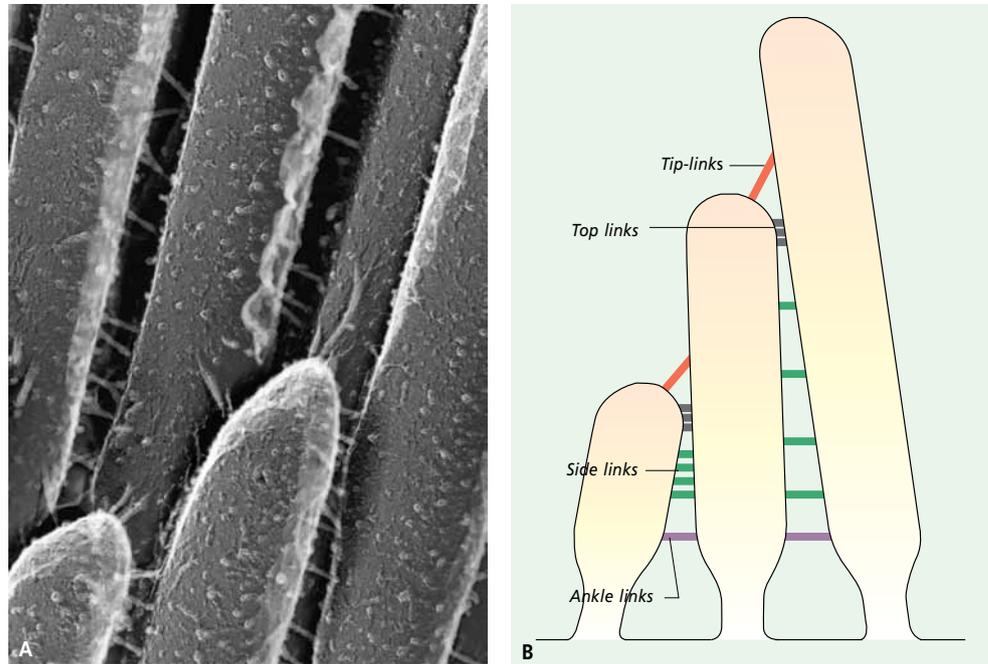
Kachar *et al.*¹⁰ examinaram a estrutura dos *tip links* em altíssima resolução e observaram que se trata de um duplo filamento retorcido, que geralmente se



978-85-7241-923-9

Figura 15.4 – (A e B) Eletromicrografias de varredura da região apical de células ciliadas externas de cobaia, nas quais se observa os feixes de estereocílios em forma de W.

Figura 15.5 – (A) Eletromicrografia de transmissão de uma réplica de platina e carbono de um feixe de estereocílios de células ciliadas da ampola de cobaia, preparada pela técnica de congelamento rápido e *freeze-etching*, em que se visualizam as conexões laterais entre os estereocílios. (B) Esquema representativo das diversas conexões entre os estereocílios das células ciliadas.



bifurca em dois pequenos ramos antes de contatar o estereocílio maior adjacente. Na outra extremidade, vários filamentos pequenos estendem-se do *tip-link* ao estereocílio menor, indicando que filamentos adicionais devem ancorar o *tip-link* à base do estereocílio (Fig. 15.6). Dois membros distantes da família das caderinas, a caderina 23 e a protocaderina 15, foram recentemente identificados como os constituintes dos *tip-links*¹¹.

Na posição de repouso, o canal de transdução oscila entre aberto e fechado aproximadamente mil vezes por segundo. Entretanto, está fechado a maior parte do tempo. Dois modelos de abertura dos canais foram propostos atualmente; ambos assumem que o canal de transdução está direta ou indiretamente conectado aos *tip-links*.

Quando o feixe estereociliar é defletido, cada estereocílio desliza sobre o estereocílio vizinho, fazendo com que o *tip-link* aumente a tensão em alguma estrutura elástica conectada ao canal iônico, e essa tração abre mecanicamente o canal de transdução (Fig. 15.7). No modelo da corda, o canal está conectado ao citoesqueleto e ao *tip-link*, de tal forma que a tensão exercida no *tip-link* propaga-se via interações entre proteínas ao canal (Fig. 15.7, A e B). No modelo de tensão lateral, o canal responde ao estiramento da membrana na ponta do estereocílio. O aumento na tensão do *tip-link* aumentaria a tensão na membrana e abriria o canal¹² (Fig. 15.7, C e D).

Como as células ciliadas têm potencial de repouso em média de -60mV , a abertura do canal induz um influxo maciço de cargas positivas na forma de cálcio e, principalmente, potássio, abundantemente presente na endolinfa, e a célula despolariza até aproximadamente 0mV . É, nesse momento, que ocorre a conversão da energia mecânica do som em energia elétrica, ou seja, a transdução mecanoelétrica. A despolarização ativa a liberação de neurotransmissores na base da célula ciliada, levando o estímulo da célula ciliada para o sistema nervoso central.

Vários mecanismos também foram propostos para a adaptação do canal de transdução, necessária para a interrupção do estímulo. A terminação do *tip-link* é reposicionada alguns milissegundos após a abertura do canal de transdução, provavelmente por meio de moléculas de miosina que deslizam pelo citoesqueleto de actina do estereocílio, reduzindo a tensão do *tip-link* e determinando o fechamento do canal¹².

Tanto a localização quanto a estrutura do canal de transdução são objetos de intenso estudo atualmente. Inicialmente acreditava-se que o canal estivesse localizado na face apical da célula ciliada, próximo à base dos estereocílios. Estudos posteriores mostraram queda da corrente próxima à ponta dos estereocílios, quando os canais são abertos, indicando, portanto, que os canais de transdução estão localizados nas pontas dos estereocílios¹³. Depois, outros estudos sugeriram que os canais pudessem se localizar tanto no estereocílio menor quanto no estereocílio maior (em ambas as extremidades dos estereocílios). Mais

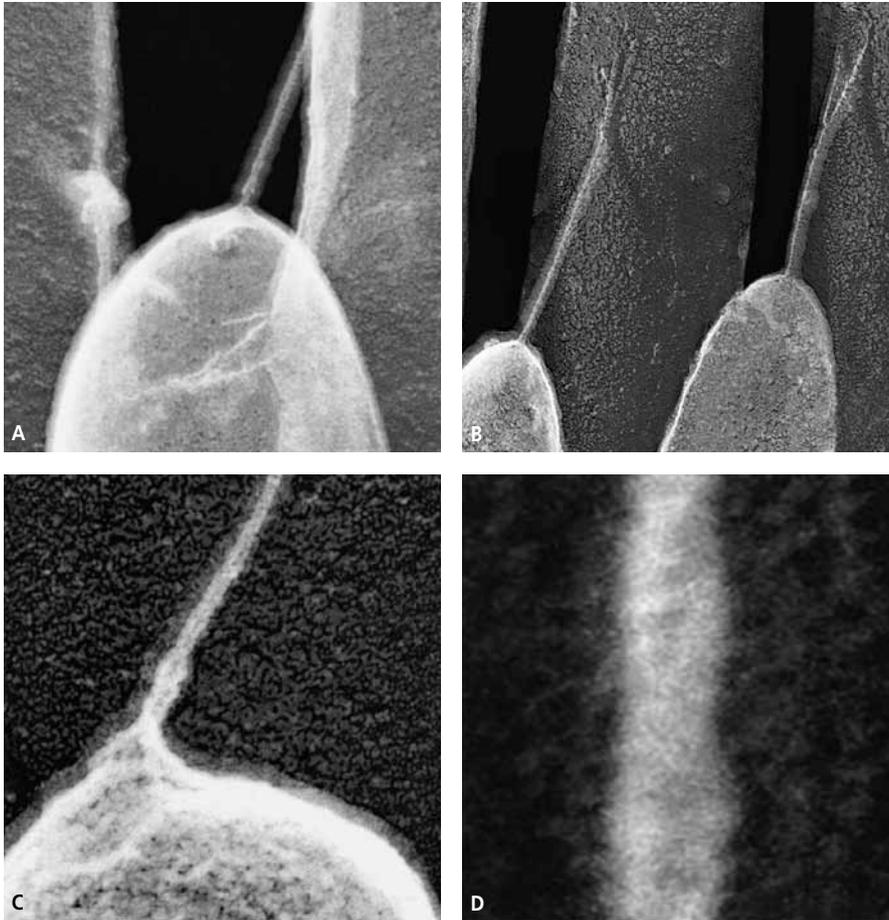


Figura 15.6 – (A a D) Eletromicrografia de transmissão por *freeze-etching* de células ciliadas de cobaias. (A) Duplo filamento entrelaçado, denominado *tip-link*, que une a ponta de um estereocílio ao seu vizinho mais alto. Acredita-se que um canal de transdução esteja conectado ao *tip-link*. (B) O *tip-link* bifurca-se em dois pequenos ramos antes de conectar um estereocílio mais alto. (C) Na outra extremidade, vários pequenos filamentos estendem-se do *tip-link* ao estereocílio menor. (D) *Tip-link* em maior resolução, visualizando-se claramente os dois filamentos entrelaçados, formados por caderina 23, na porção superior, e protocaderina 15, na porção inferior.

recentemente, imagens com maior resolução das células ciliadas cocleares demonstraram convincentemente que correntes de Ca^{2+} entram somente no estereocílio menor, sugerindo que os canais de transdução localizam-se na base dos *tip-links*¹².

A composição molecular do canal de transdução permanece um mistério, entretanto, como a condutância varia ao longo da cóclea, aumentando a sensibilidade com o aumento da frequência, admite-se que provavelmente o canal consista em múltiplas subunidades que permitem o aumento sistemático no tamanho do poro. É muito provável que o canal de transdução da cóclea pertença a uma família de canais ainda não conhecida.

Os sistemas sensoriais como audição, visão e olfato são bastante sensíveis e capazes de detectar sinais muito pequenos. Assim, enquanto bastonetes fotorreceptores detectam um único fóton e receptores olfatórios são sensíveis a moléculas individuais de odorantes, os mecanorreceptores da orelha, as células ciliadas, são capazes de detectar, no limiar auditivo, movimentos de dimensões atômicas (0,3nm) em seu feixe de estereocílios.

Entretanto, apesar de algumas similaridades, esses receptores utilizam estratégias diferentes para a recepção, a transmissão e a amplificação dos estímulos. Enquanto os receptores visuais, gustativos e olfatórios utilizam cascatas bioquímicas intracelulares que resultam na abertura de canais iônicos, as células sensoriais auditivas realizam esse processo mediante a abertura mecânica e direta dos canais de transdução, como descrito anteriormente. Há vantagens na utilização de cascatas bioquímicas intracelulares: possibilita tanto a amplificação, por intermédio do recrutamento de efetores pelo aparato enzimático, gerando mensageiros secundários, como mecanismos de retroalimentação dentro da via metabólica, que permitem o controle de ganho da operação, como adaptação e dessensibilização.

Por outro lado, a utilização de um mecanismo de transdução direto, sem intervenção de mensageiros secundários, tem como vantagem a velocidade da resposta. As células ciliadas operam muito mais rapidamente do que qualquer outro receptor sensorial, mais rápido até que os próprios neurônios. Essa velocidade é necessária, por exemplo, na audição direcional, em que a orelha humana, para identificar a

978-85-7241-923-9

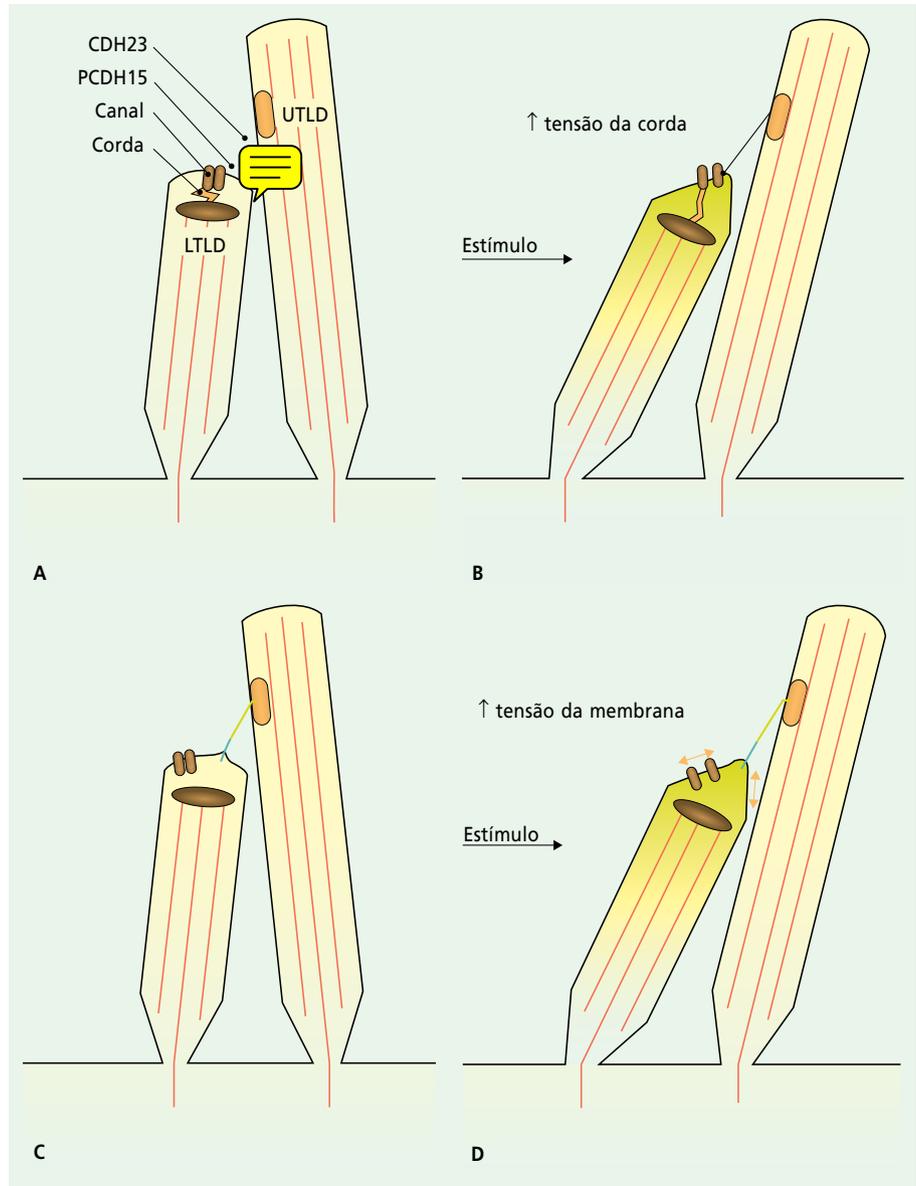


Figura 15.7 – (A a D) Duas hipóteses para o mecanismo de abertura dos canais de transdução¹⁵. (A e B) Modelo da corda. Aqui o canal de transdução liga-se diretamente à protocaderina 15 (PCDH15) e à corda, por ligações fortes. O preenchimento verde indica o fluxo de íons, conforme o canal se abre. (C e D) Modelo de tensão da membrana. Aqui o canal de transdução não está conectado à PCDH15, mas é sensível à tensão lateral da membrana, elevada pela deflexão do feixe de estereocílios¹⁶. CDH23 = caderina 23; LTLD = *lower tip-link density*; UTLD = *upper tip-link density*.

fonte sonora, precisa distinguir diferenças inferiores a 20µs na chegada do som em cada orelha. A velocidade de resposta também é importante para lidar com as frequências auditivas, na ordem de 20.000Hz, ou seja, o canal de transdução deve funcionar 20.000 vezes por segundo. Imaginem a rapidez de funcionamento do órgão auditivo dos animais ecolocalizadores, como baleias, golfinhos e morcegos, que trabalham com frequências na ordem de 100.000 a 150.000Hz.

Seletividade de Frequências na Cóclea

O entendimento de como a cóclea separa a informação auditiva num espectro de frequências (discri-

minação de frequências) passou por três fases históricas distintas até chegarmos ao momento atual de compreensão.

Primeira Fase (Elementos Ressonantes de Von Helmholtz)

Em meados do século XIX, o cientista alemão Hermann Ludwig Ferdinand von Helmholtz foi o primeiro a apontar a necessidade de uma boa discriminação de frequências pela orelha interna. Apesar de não comprovar cientificamente seus argumentos nem ter observado diretamente os movimentos dos fluidos cocleares, Helmholtz, influenciado pelas recentes descrições da época da anatomia do órgão

espiral por Alfonso Corti, sugeriu que haveria, dentro da cóclea, elementos ressonantes espacialmente ordenados e independentes para cada frequência. Em analogia a instrumentos musicais, argumentou que, se gritássemos próximo às cordas de um piano, algumas cordas ressonariam em correspondência às frequências da voz. A lâmina basilar responderia similarmente, fazendo, dessa forma, uma análise espectral do som.

Segunda Fase (Onda Viajante)

A primeira metade do século XX foi dominada pelos experimentos do fisiologista húngaro-americano **Von Békésy**, que, diferentemente da visão de Helmholtz, observou experimentalmente que a vibração do estribo não resulta em uma simples ressonância de componentes mecânicos independentes. Na verdade, as diferentes regiões da cóclea estão mecanicamente associadas⁵.

Há mais de 60 anos, ao estudar, principalmente, ossos temporais de cadáveres humanos, Békésy descreveu a teoria da onda viajante, que forma a base da compreensão da seletividade de frequências na cóclea. Utilizando ossos temporais isolados, **Von Békésy** fez aberturas na cápsula ótica, espalhou micropartículas reflexivas na membrana vestibular intacta, selou as aberturas com cimento e vidro e

observou os movimentos dessa membrana em resposta a estímulos sonoros aplicados no meato acústico externo. **Von Békésy** assumiu que o padrão de vibração da membrana vestibular **assemelha-se** ao padrão de vibração da lâmina basilar. Para poder observar esses movimentos ao microscópio, usou iluminação estroboscópica, à **semelhança** do que hoje se faz para examinar as vibrações das pregas vocais, mas necessitou de sons acima de 120dBNPS.

Segundo suas conclusões, a onda hidrodinâmica, em resposta à vibração do estribo, propaga-se desde a base até a cúpula da cóclea, produzindo movimentos oscilatórios da lâmina basilar. Durante sua propagação, a onda viajante cresce **progressivamente** em amplitude, atinge um pico e abruptamente decai (Fig. 15.8). O local de vibração máxima varia com a frequência do estímulo, de tal forma que um tom puro de alta frequência produz um pico de vibração próximo à base, enquanto tons de frequência baixa produzem picos mais próximos à cúpula da cóclea.

Essas características vibratórias da lâmina basilar seriam determinadas, principalmente, por suas propriedades físicas, incluindo massa e rigidez, que variam gradualmente ao longo da cóclea. Na região basal, a lâmina basilar é mais fina e rígida, propiciando melhor vibração com estímulos de alta frequência, enquanto a cúpula ela é mais espessa e flácida, facilitando a vibração com frequências mais baixas.

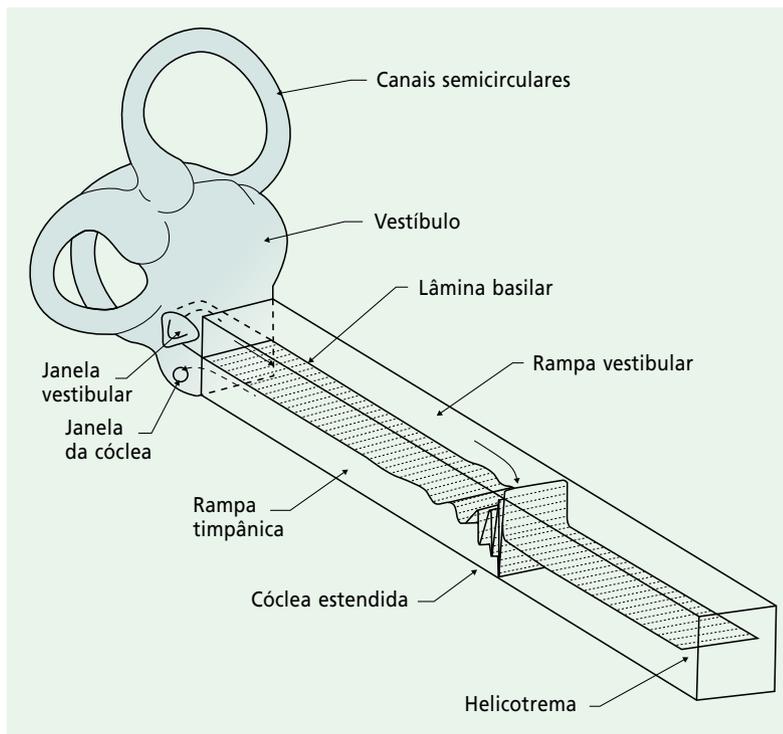


Figura 15.8 – A onda viajante de **Von Békésy**. A cóclea, que tem a forma de caracol, foi esticada para que uma de suas divisões internas, a lâmina basilar, sendo mostrada como uma fita. Um instante da onda viajante é ilustrado (seta), assumindo-se que o estímulo sonoro seja um tom puro. A amplitude da onda viajante está grossieramente exagerada.

O conceito revolucionário da onda viajante é certamente válido ainda hoje e rendeu a **Von Békésy** o Prêmio Nobel de Medicina de 1961. Entretanto, várias críticas foram feitas a esses experimentos. Primeiro, para que os movimentos da lâmina basilar fossem visíveis, eram necessários estímulos sonoros de, pelo menos, 120 decibéis em nível de audição (dBNA), o que é bem acima do limiar auditivo. Estímulos próximos ao limiar auditivo não proporcionavam respostas vibratórias da lâmina basilar. Além disso, os picos de vibração ocorriam numa região muito extensa da cóclea, o que não explicava o alto grau de discriminação de frequências já observado em experimentos psicofísicos realizados pelo próprio **Békésy**. Por exemplo, em condições experimentais, adultos jovens conseguem diferenciar sons cujas frequências são apenas 0,2 a 0,5% diferentes. Críticas também foram feitas quanto aos experimentos terem sido realizados em cadáveres e, portanto, não refletiriam o funcionamento coclear *in vivo*.

Békésy aceitou, sem questionamento, que a fraca resolução do processo de discriminação de frequências observada em seus experimentos na cóclea *post-mortem* seria uma consequência do alto grau de atrito resultante da viscosidade do fluido presente no órgão espiral. Pareceu a ele, e à maioria dos fisiologistas auditivos até antes de 1980, que a audição dependeria de algum outro mecanismo “superior” para a discriminação fina de frequências. Aparentemente, as alterações patológicas, e mesmo a morte, não teriam efeito sobre a onda viajante.

Um processo adicional de seleção de frequências, possivelmente uma análise neural dentro da cóclea ou no sistema nervoso central, seria, então, necessário para explicar essa discrepância entre a extraordinária sensibilidade e discriminação de frequências observadas em experimentos psicofísicos e os movimentos oscilatórios pouco sintonizados da lâmina basilar observados em cadáveres.

Ao se demonstrar que as respostas das fibras do nervo coclear tinham uma seletividade de frequências muito similar àquela observada psicoacusticamente¹⁴, ficou claro que a análise deveria ocorrer periféricamente, ou seja, no interior da cóclea. **Evans**¹⁵ cunhou, então, o termo “segundo filtro”, que seria algum outro mecanismo que explicasse as diferenças na capacidade de discriminação dos movimentos mecânicos observados na lâmina basilar e as respostas altamente sintonizadas do nervo auditivo.

Uma gama de esquemas foi criada para explicar o segundo filtro, incluindo redes neurais comple-

xas, mecanismos bioquímicos e diversos modelos matemáticos de processamentos elétrico e mecânico, porém a existência desse segundo filtro nunca foi demonstrada.

Terceira Fase (Cóclea Ativa – Amplificador Coclear)

O relato de que os potenciais intracelulares medidos nas células ciliadas internas após um estímulo auditivo têm a mesma seletividade de frequências que as fibras do nervo coclear praticamente encerrou a discussão sobre o segundo filtro¹⁶. Os resultados mostraram que uma análise completa das frequências auditivas já existe nas células ciliadas internas e, portanto, “antes” do nervo auditivo.

Finalmente, **Sellick et al.**¹⁷ e **Khanna e Leonard**¹⁸, ao utilizarem, respectivamente, a técnica de **Mössbauer** e a interferometria por *laser*, metodologias mais sensíveis do que as empregadas por **Von Békésy**, foram capazes de observar que os movimentos da lâmina basilar, em um animal vivo, diferem tanto quantitativamente quanto qualitativamente dos movimentos anteriormente observados *post-mortem*. Para uma frequência específica, a vibração no pico da onda viajante é muito mais localizada e apresenta uma amplitude consideravelmente maior. Além disso, a onda tem um comportamento não linear, ou seja, a resposta não tem um crescimento linear em relação à intensidade do estímulo, mas apresenta características de compressibilidade. Com o aumento do estímulo, a resposta é cada vez menor, sugerindo que o processo funciona melhor com estímulos menores, mais próximos do limiar auditivo.

Esses autores observaram também que, com sons de amplitude cada vez maior, a capacidade de discriminação de frequências se deteriora, assemelhando-se aos resultados de **Von Békésy**. Portanto, na cóclea viva, os movimentos da lâmina basilar são, de alguma forma, amplificados, especialmente com baixos níveis de estimulação sonora, e são extremamente afinados e sensíveis às frequências do estímulo. Esse ganho obtido na cóclea viva é atualmente chamado de processo de amplificação coclear, ou também de cóclea ativa. Por exemplo, no limiar auditivo, o movimento do pico amplificado da lâmina basilar é aproximadamente 0,3nm¹⁷, chegando à excursão máxima de aproximadamente 50nm. Sem esse amplificador coclear, o movimento máximo seria aproximadamente 100 vezes menor, ou seja, por volta de 0,003nm (Fig. 15.9).

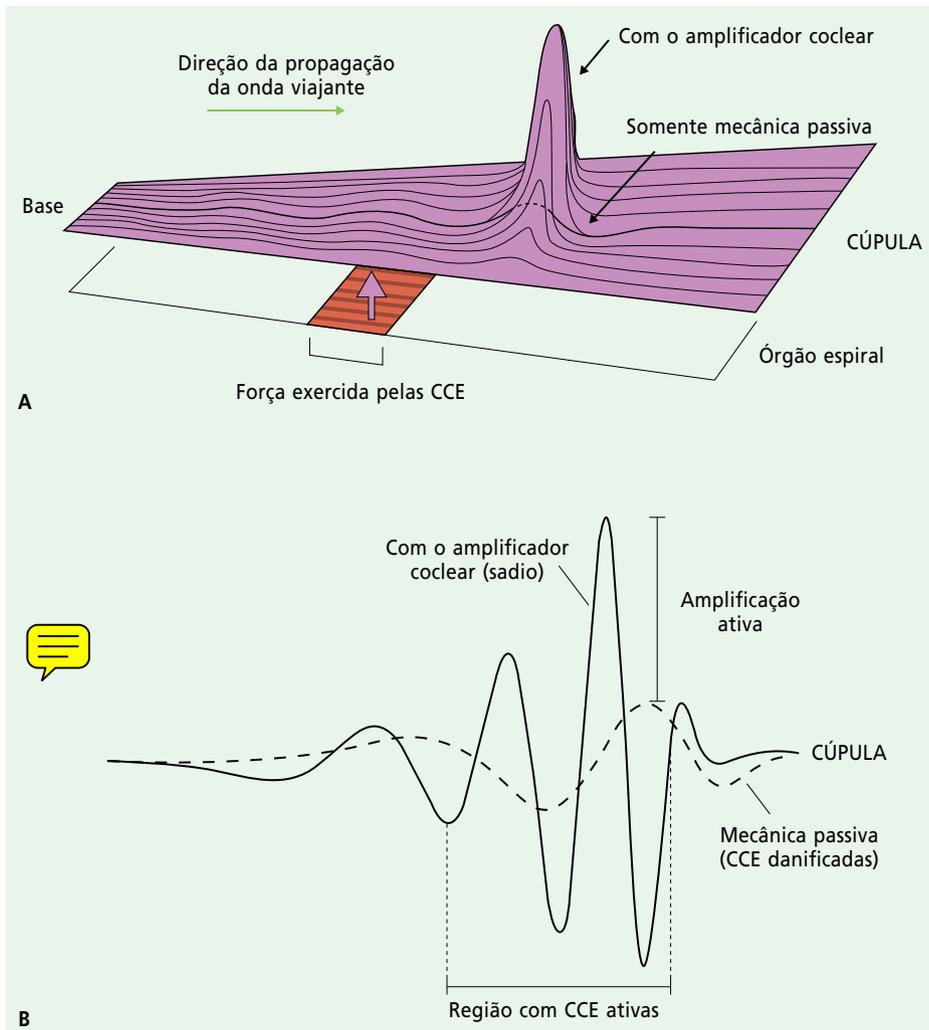


Figura 15.9 – (A) Movimento da onda hidrodinâmica na cóclea. O som desencadeia uma onda que se propaga ao longo da membrana basilar desde a janela da cóclea. O movimento, no seu pico, é aumentado até mil vezes pelo efeito do amplificador coclear. CCE = células ciliadas externas; LB = lâmina basilar. (B) Representação esquemática da amplificação da onda hidrodinâmica dentro da cóclea.

Hoje se sabe que **Von Békésy** descreveu o comportamento passivo e linear da lâmina basilar, explicado pelas características físicas dessa membrana e que ocorre na cóclea morta ou danificada. Entretanto, em um ser vivo, a alta capacidade de discriminação de frequências não pode resultar apenas das propriedades vibratórias da lâmina basilar.

Zwislocki¹⁹ demonstrou, em experimentos, animais nos quais as propriedades mecânicas da membrana tectória e os estereocílios das células ciliadas externas formam ressonadores ao longo da lâmina basilar, contribuindo para a seletividade de frequências. Esses ressonadores funcionariam para frequências diferentes, em locais diferentes da lâmina basilar, em razão da variação de massa da membrana tectória e do comprimento dos estereocílios ao longo da cóclea. Assim, os ressonadores, junto com o movimento da onda viajante, seriam a base para a seletividade de frequências da cóclea.

Cóclea Ativa: Papel das Células Ciliadas Externas no Movimento da Lâmina Basilar

Gold, já em 1948²⁰, havia sugerido que, em virtude do alto grau de atrito existente no interior líquido da cóclea, a vibração da partição coclear (lâmina basilar mais o órgão espiral) deveria requerer assistência mecânica dependente de energia metabólica, a fim de manter a alta sensibilidade e a discriminação subjetiva de frequências. Também conjecturou que, se tal processo mecanicamente ativo ocorresse dentro da cóclea, sons deveriam ser produzidos como efeito colateral e, caso a tecnologia permitisse, poderiam ser captados no meato acústico externo. Essa foi a primeira ideia de que a orelha poderia emitir sons.

Gold tentou, inclusive, captar esses sons, colocando microfones próximos às orelhas, mas não obteve

sucesso, principalmente pelas limitações tecnológicas da época. Suas conclusões, arrojadas demais para aquele momento, foram recebidas com descrédito e amplamente ignoradas, pois não havia nenhuma evidência experimental para a existência de qualquer mecanismo ativo. Esse desentendimento atrasou em aproximadamente 40 anos a descoberta das emissões otoacústicas e, conseqüentemente, da triagem auditiva neonatal, que, no seu início, nos anos 1990, baseou-se, principalmente, no seu estudo.

O papel das células ciliadas externas começou a ser esclarecido quando vários grupos perceberam que há deterioração do processo de amplificação coclear quando da lesão dessas células. Assim, o que faz a diferença entre a cóclea ativa ou a passiva é justamente a presença das células ciliadas externas (Fig. 15.9). O período atual no conhecimento do funcionamento da cóclea é caracterizado pelo conceito do amplificador coclear ou cóclea ativa, no qual a onda viajante de ~~Von~~ Békésy é localmente amplificada por um processo eletromecânico, em que as células ciliadas externas têm um papel fundamental, exercendo as funções tanto de sensores como de elementos mecânicos de retroalimentação.

Esses conceitos fundamentaram-se na descoberta de David Kemp²¹ de que a orelha interna emite sons espontaneamente e na observação de que as células ciliadas externas apresentam motilidade quando eletricamente estimuladas *in vitro*^{22,23}.

Eletromotilidade das Células Ciliadas Externas

As células ciliadas externas foram apontadas como os efetores do mecanismo ativo coclear após a demonstração de que essas células apresentam alterações do seu comprimento em frequências correspondentes às frequências auditivas, quando eletricamente estimuladas *in vitro*²³. Esses estudos demonstraram que, quando uma célula ciliada externa, isolada em meio de cultura, é despolarizada, ela encurta-se e alarga-se. Quando é hiperpolarizada, alonga-se e fica mais fina.

Essas alterações de comprimento podem chegar a 5% do comprimento da célula, o que representa uma enorme alteração em termos biológicos. Acredita-se que o movimento conjugado de várias células ciliadas externas acrescente energia mecânica aos movimentos da lâmina basilar desencadeados pelo som, contribuindo para o estímulo das células ciliadas internas. O processo ativo da cóclea é responsável pela sensibilidade auditiva e pela alta capacidade

de discriminação de frequências apresentada pela orelha. A perda total da função das células ciliadas externas leva a uma perda auditiva de 50 a 60dB.

Dados prévios demonstrando a presença de proteínas contráteis, de um complexo citoesqueleto e de um arranjo de cisternas endoplasmáticas dentro dessas células²⁴ induziram à ideia de que esse fenômeno fosse uma contração do tipo muscular, dependente de cálcio e de energia metabólica, envolvendo a interação de moléculas de actina e miosina.

Entretanto, dois experimentos demonstraram que a motilidade das células ciliadas externas ~~é um tipo distinto~~ da contração muscular, que ainda não havia sido observado em nenhum outro sistema biológico. Primeiro, Kachar *et al.*²³ demonstraram que bloqueadores metabólicos como o dinitrofenol e o ácido iodoacético não interferem na eletromotilidade das células ciliadas externas, sendo esse fenômeno, portanto, independente de trifosfato de adenosina (ATP, *adenosine triphosphate*) e cálcio. Depois, os mesmos autores mostraram que a digestão intracelular com tripsina injetada por meio de uma micropipeta, de modo a destruir todo o conteúdo citoplasmático, incluindo o citoesqueleto e as cisternas endoplasmáticas, não abole a motilidade. Nesse trabalho, os autores também mostraram que a distribuição da atividade motora das células ciliadas externas coincide com um denso arranjo de proteínas que se distribui ao longo da membrana plasmática basolateral (Fig. 15.10).

A forma mais aceita para a ação do motor é que essas proteínas integrais de membrana, que decoram extensamente a parede lateral das células ciliadas externas, sejam sensíveis às variações da voltagem da membrana plasmática. Ainda não está claro de que forma essas proteínas produzem o movimento da membrana celular, se a alteração de voltagem **as leva a mover-se** para dentro e para fora da membrana ou se as proteínas se contraem e se expandem, alterando sua conformação espacial e, conseqüentemente, a área da membrana. Em todas as possibilidades, o resultado é traduzido em força ao longo da célula com alteração do comprimento celular.

Esse motor biológico é capaz de respostas extremamente rápidas, mais que qualquer outro motor biológico conhecido, e não funciona somente quando se muda artificialmente a voltagem por intermédio da membrana celular²³, mas, também, quando se estimula mecanicamente o feixe estereociliar com um jato de água²⁵ ou com sons²⁶. Esses resultados fornecem evidências de que o motor realmente funciona *in vivo* e seja o substrato para o processo de amplificação na cóclea.

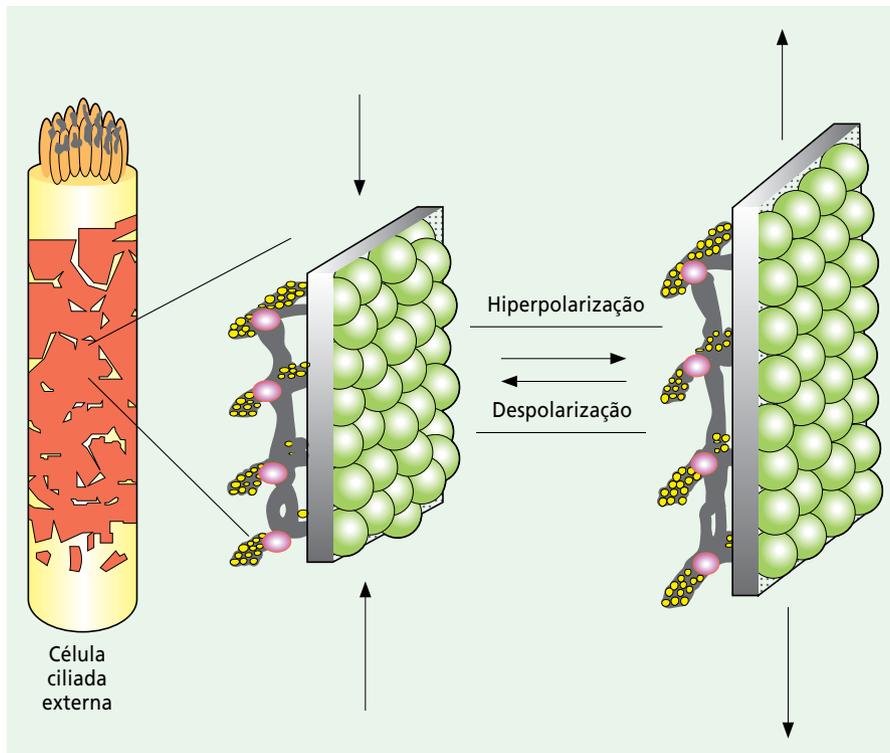


Figura 15.10 – O “motor” da célula ciliada externa é exibido esquematicamente como um arranjo de partículas distribuídas ao longo da membrana plasmática lateral. Uma alteração no comprimento longitudinal da célula seria produzida se a área da membrana aumentasse com a hiperpolarização e diminuísse com a despolarização.

Esse mecanismo produtor de forças funciona em frequências compatíveis com as frequências acústicas^{23,27}, e existem evidências de que ele possa produzir força suficiente para ser o gerador mecânico da lâmina basilar²⁸.

Não foi possível, ainda, determinar a velocidade desse mecanismo. Nos experimentos iniciais, a motilidade era visualizada e mensurada em monitores de vídeo, cujo limite técnico era de 30Hz²³. Experimentos posteriores observaram motilidade de até 24.000Hz²⁷, porém esses resultados foram obtidos em condições experimentais, em que as influências do circuito elétrico podem ser eliminadas. *In vivo*, as propriedades elétricas da célula ciliada externa funcionam como um filtro, não permitindo variações de voltagem acima de 1.000Hz, o que gera um problema para a produção de motilidade em frequências acima desse valor.

A resposta para essa questão é desconhecida. Entretanto, acredita-se que as células ciliadas localizadas antes do pico da onda viajante estejam inativas e respondam melhor às alterações de voltagem²⁹. Essas células seriam, então, estimuladas inicialmente e começariam o ciclo de alongamento e encurtamento, adicionando energia para a onda viajante. Assim, o local mais efetivo para a amplificação coclear seria a porção basal da onda viajante, e não a região correspondente ao seu pico de vibração (ver Fig. 15.9).

Recentemente, Zheng *et al.*³⁰, por intermédio de um engenhoso trabalho de biologia molecular, conseguiram isolar o gene da proteína motora das células ciliadas externas, o qual foi denominado Prestina, em alusão ao movimento *Presto* da música clássica. A estratégia utilizada foi a subtração de genes altamente expressos nas células ciliadas externas de genes altamente expressos nas células ciliadas internas. O mais surpreendente é que, quando esse gene foi introduzido por meio de um vetor viral em culturas de células de rim humano, essas células passaram a exibir as mesmas alterações de comprimento induzidas por variações na voltagem da membrana plasmática, característica das células ciliadas externas.

Duas famílias com mutação no gene da Prestina já foram identificadas e apresentam perda auditiva; animais com ambos os alelos mutados (homozigotos) apresentam perda auditiva profunda, enquanto os heterozigotos apresentam perda moderada.

Emissões Otoacústicas

A descoberta de que sons provenientes da cóclea podiam ser realmente detectados no canal auditivo externo, tanto espontaneamente como em resposta a um estímulo sonoro, como previsto por Gold²⁰, inequivocadamente identificou uma atividade motora

dentro da cóclea²¹, pois tudo o que se move, e não está no vácuo, produz sons. Esse fenômeno, atualmente referido como emissões otoacústicas, é uma das mais interessantes descobertas que ocorreram nas últimas décadas e revolucionou a compreensão do funcionamento auditivo periférico.

Essa descoberta foi recebida inicialmente com ceticismo, pois se postulou que esses sons pudessem originar-se de estruturas da orelha média. As primeiras evidências da origem intracoclear das emissões otoacústicas surgiram de experimentos mostrando que agentes que danificam especificamente as células ciliadas externas reduzem ou eliminam as emissões otoacústicas. Exposição a ruído³¹ e ototóxicos, como furosemida³² e aminoglicosídeos³³, são alguns exemplos de agentes que alteram as emissões otoacústicas. Por outro lado, o antineoplásico carboplatina, que, em chinchilas, induz perda específica de células ciliadas internas, não causa diminuição nas emissões otoacústicas³⁴.

A demonstração definitiva da origem intracoclear das emissões otoacústicas veio com os experimentos nos quais as emissões puderam ser modificadas ou mesmo evocadas por meio do estímulo elétrico da cóclea ou sob estímulo eferente contralateral³⁵.

Motilidade dos Estereocílios

Recentemente, Martin e Hudspeth³⁶ propuseram a existência de um processo motor localizado nos canais de transdução que serviria para amplificar a transdução na frequência característica da célula ciliada. Essa ideia de um amplificador localizado no próprio estereocílio chegou justamente quando a maioria dos pesquisadores tinha acumulado uma quantidade confortável de evidências do amplificador localizado na membrana basolateral das células ciliadas externas dos mamíferos.

O amplificador estereociliar explicaria a presença de emissões otoacústicas em animais que não têm células ciliadas externas, como anfíbios, aves e répteis, e cujas células ciliadas não apresentam ciclos de alongamento e encurtamento.

Potenciais Cocleares

As interações entre as várias estruturas cocleares, durante o processo auditivo, geram potenciais elétricos que podem ser captados e estudados. Não se sabe ao certo se esses potenciais são sempre respostas fisiológicas ou simplesmente efeitos colaterais da atividade coclear.

Existem duas classes de potenciais: os que ocorrem após um estímulo acústico, ou dependentes do estímulo, e os de repouso, que são independentes do estímulo. Os potenciais cocleares podem ser medidos nas células do labirinto membranáceo e nos espaços cocleares.

Até recentemente, o entendimento do funcionamento coclear baseou-se, principalmente, no estudo da atividade elétrica dos compartimentos intra e extracelulares do labirinto membranáceo. Atualmente, outras técnicas diversas de fisiologia quase suplantaram os estudos dos potenciais cocleares, embora a eletrococleografia ainda seja utilizada na prática clínica.

Potenciais de Repouso

Existem dois potenciais de repouso de maior importância. O potencial endococlear ou endolinfático é medido no interior da rampa média, sendo positivo em relação à perilinfa das rampas do tímpano e do vestíbulo. Esse é um potencial de corrente contínua (constante) de aproximadamente +80mV na base e ligeiramente menor em direção à cúpula da cóclea.

Acredita-se que o potencial endolinfático seja produzido pela estria vascular³⁷, pelo transporte ativo de potássio para o interior do ducto coclear em troca de sódio. Essa troca seria realizada pelas células marginais, ricas em sódio-potássio adenosina trifosfatase (Na⁺/K⁺/ATPase), mantendo, dessa forma, a concentração de potássio no interior da rampa média em torno de 144mEq/L em comparação com 4mEq/L na rampa do vestíbulo. O potencial endolinfático é o mais positivo encontrado em todo o corpo humano, e não é encontrado na endolinfa do sistema vestibular, apesar de o fluxo de endolinfa ser comunicante em todo o labirinto. Esta seria uma das evidências de que o potencial endolinfático seja gerado pela estria vascular, que está presente somente nas paredes laterais do ducto coclear.

Outro potencial de repouso é o intracelular, que é o potencial negativo existente no interior das células do órgão espiral. O potencial das células ciliadas externas é, em média, -70mV, próximo ao das células de suporte, que varia de -70 a -100mV. Já as células ciliadas internas possuem potencial na ordem de -45mV.

Como mencionado anteriormente, a diferença de potencial entre o potencial intracelular de -70mV nas células ciliadas e o potencial de +80mV da endolinfa gera uma diferença de potencial de 150mV, que representa a maior diferença de potencial encontrada em qualquer sistema biológico.

Além do potencial endolinfático e do potencial de repouso intracelular, há ainda um terceiro potencial de repouso, de importância e origem desconhecidas. É uma pequena diferença de potencial de 2 a 5mV entre a rampa do vestíbulo e a rampa do tímpano.

Potenciais Dependentes do Estímulo Acústico

As respostas elétricas desencadeadas pelo estímulo acústico são geradas pelas células ciliadas do órgão espiral. Esses potenciais são medidos por meio de eletrodos posicionados na rampa média e representam a média das respostas de várias células ciliadas ao longo da lâmina basilar.

Os potenciais evocados por um tom puro possuem dois componentes: uma corrente fásica ou alternada, cuja frequência é a mesma do estímulo; e um componente de corrente contínua, que desloca o potencial de base, o potencial endolinfático, em direção negativa, durante o estímulo. A resposta fásica é o microfonia coclear e a resposta contínua, o potencial de somação. O microfonia coclear representa a corrente elétrica resultante da entrada de potássio nas células ciliadas pelos canais de transdução. A exata origem do potencial de somação não é conhecida.

Fisiologia do Sistema Eferente Coclear

Embora os resultados sobre a significância fisiológica do sistema eferente sejam conflitantes, várias ações desse sistema têm sido relatadas e indicam um efeito inibitório sobre as respostas cocleares. Seu efeito mais conhecido é obtido por meio da estimulação elétrica do feixe olivococlear no assoalho do quarto ventrículo, resultando em diminuição da amplitude e aumento na latência do potencial de ação composto do nervo auditivo, evocado por cliques de baixa intensidade³⁸.

Outros efeitos relatados são o aumento do microfonia coclear, a alteração na amplitude e a frequência dos produtos de distorção das emissões otoacústicas, além de diminuição na sensibilidade e na discriminação de frequências nas curvas de sintonia do nervo auditivo.

Como se acredita que as células ciliadas externas forneçam o elemento motor para o amplificador coclear, esses resultados sugerem que o sistema eferente interfira no processo ativo responsável pela alta sensibilidade e discriminação fina de frequências da cóclea.

Vários trabalhos sugerem ainda que os eferentes podem ser ativados pelo sistema nervoso central, podendo exercer um papel na atenção seletiva e na proteção contra o ruído.

Brown e Nuttal³⁹ estimularam os eferentes mediais em cobaias e monitoraram ao mesmo tempo as células ciliadas internas intracelularmente. A estimulação eferente reduziu os potenciais intracelulares das células ciliadas internas sem alterar sua condutância elétrica, indicando que a ação do sistema eferente nas células ciliadas externas altera a atividade das células ciliadas internas.

É interessante notar que a primeira coluna de células ciliadas externas contribui mais para as pontas das curvas de sintonia (para a discriminação fina de frequências) do que as segundas e terceiras fileiras, em vista das observações de que as células ciliadas da primeira fileira recebem consideravelmente mais contatos eferentes do que as células das duas outras fileiras⁴⁰. Deve-se lembrar que a estimulação dos eferentes para as células ciliadas externas eleva as pontas das curvas de sintonia das fibras do nervo auditivo, ou seja, reduz a sensibilidade auditiva.

Considerações Finais

As modernas técnicas de histoquímica e biologia molecular têm proporcionado, nos últimos anos, um imenso avanço no conhecimento da fisiologia da audição. A anatomia microscópica do órgão espiral, a importância das células ciliadas e, especialmente, o reconhecimento das células ciliadas internas como verdadeiros receptores do estímulo auditivo são conhecidos há bastante tempo.

Entretanto, a descoberta da motilidade das células ciliadas externas, o seu reconhecimento na potencialização do estímulo auditivo e as recentes pesquisas no conhecimento da sua ultraestrutura trouxeram uma verdadeira revolução no campo da otologia.

As emissões otoacústicas têm se mostrado de grande valor no diagnóstico precoce da perda auditiva, e o melhor conhecimento da ultraestrutura e da fisiologia da audição, em nível molecular, conduzirá a um melhor entendimento das diversas doenças que acometem a audição e, principalmente, à busca de novas formas de tratamento, especialmente a terapia genética.

REFERÊNCIAS

1. SHAW, E. A. C. The external ear. In: KEIDEL, W. D.; NEFF, W. D. *Handbook of Sensory Physiology*. New York: Springer-Verlag, 1974. p. 455-490.

2. SHAW, E. A. C. Transformation of sound pressure level from the free field to the eardrum in the horizontal plane. *J. Acoust. Soc. Am.*, v. 56, p. 1848-1861, 1974.
3. RELKIN, E. M. Introduction to the analysis of middle ear function. In: JAHN, A. F.; SANTOS-SACCHI, J. *Physiology of the Ear*. New York: Raven Press, 1988. p. 103.
4. MERCHANT, S. N.; RAVICZ, M. E.; PURIA, S. et al. Analysis of middle ear mechanics and application to diseased and reconstructed ears. *Amer. J. Otol.*, v. 18, p. 139-154, 1997.
5. BÉKÉSY, G. V. *Experiments in Hearing*. New York: McGraw Hill, 1960.
6. KUROKAWA, H.; GOODE, R. L. Sound pressure gain produced by the human middle ear. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, v. 113, p. 349-355, 1995.
7. GUINAN, J. J.; PEAKE, W. T. Middle-ear characteristics of anesthetized cats. *J. Acoust. Soc. Am.*, v. 41, p. 1237-1261, 1967.
8. MOLLER, A. R. An experimental study of the acoustic impedance of the middle ear and its transmission properties. *Acta Otolaryngol. (Stockh)*, v. 60, p. 129-149, 1965.
9. PICKLES, J. O.; COMIS, S. D.; OSBORNE, M. P. Cross-links between stereocilia in the guinea pig organ of Corti, and their possible relation to sensory transduction. *Hear Res.*, v. 15, p. 103-112, 1984.
10. KACHAR, B.; PARAKKAL, M.; KURC, M. et al. High-resolution structure of hair-cell tip links. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, v. 97, p. 13336-13341, 2000.
11. KAZMIERCZAK, P.; SAKAGUCHI, H. Cadherin 23 and protocadherin 15 interact to form tip-link components in sensory hair cells. *Nature*, v. 449, p. 87-91, 2007.
12. GILLESPIE, P. G.; ULRICH, M. Mechanotransduction by hair cells: models, molecules, and mechanisms. *Cell*, v. 132, p. 33-44, 2009.
13. HUDSPETH, A. J. How the ear's works work. *Nature*, v. 341, p. 397-404, 1989.
14. TASAKI, I. Nerve impulses in individual auditory nerve fibers of guinea pig. *J. Neurophysiol.*, v. 17, p. 97-122, 1954.
15. EVANS, E. F. The frequency response and other properties of single fibers in the guinea pig cochlear nerve. *J. Physiol. Lond.*, v. 226, p. 163-287, 1972.
16. RUSSELL, I. J.; SELICK, P. M. Intracellular studies of hair cells in the mammalian cochlea. *J. Physiol.*, v. 284, p. 261-290, 1978.
17. SELICK, P. M.; PATUZZI, R.; JOHNSTONE, B. M. Measurement of basilar membrane motion in the guinea pig using the Mössbauer technique. *J. Acoust. Soc. Am.*, v. 72, p. 131-141, 1982.
18. KHANNA, S. M.; LEONARD, D. G. B. Basilar membrane motion in the cat cochlea. *Science*, v. 215, p. 305-306, 1982.
19. ZWISLOCKI, J. J. Are nonlinearities observed in firing rates of auditory-nerve afferents reflections of a nonlinear coupling between the tectorial membrane and the organ of Corti? *Hear Res.*, v. 22, p. 217-222, 1986.
20. GOLD, T. Hearing II: The physical basis of the action of the cochlea. *Proc. R. Soc. Lond. Biol. Sci.*, v. 135, p. 492-498, 1948.
21. KEMP, D. T. The evoked cochlear mechanical response and the auditory microstructure – evidence for a new element in cochlear mechanics. *Scand. Audiol.*, suppl, p. 35-47, 1979.
22. BROWNELL, W. E.; BADER, C. R.; BERTRAND, D. et al. Evoked mechanical responses of isolated cochlear outer hair cells. *Science*, v. 227, p. 194-196, 1985.
23. KACHAR, B.; BROWNELL, W. E.; ALTSCHULER, R. et al. Electrokinetic shape changes of cochlear outer hair cells. *Nature*, v. 322, p. 365-367, 1986.
24. ZENNER, H. P. Cytoskeletal and muscle-like elements in cochlear hair cells. *Arch. Otorhinolaryngol.*, v. 230, p. 81-92, 1981.
25. EVANS, B. N.; DALLOS, P. Stereocilia displacement induced somatic motility of cochlear outer hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, v. 90, p. 8347-8351, 1993.
26. BRUNDIN, L.; FLOCK, A.; CANLON, B. Sound-induced motility of isolated cochlear outer hair cells is frequency-specific. *Nature*, v. 342, p. 814-816, 1989.
27. DALLOS, P.; EVANS, B. N. High-frequency motion of outer hair cells and the cochlear amplifier. *Science*, v. 267, p. 2006-2009, 1995.
28. MAMMANO, F.; ASHMORE, J. F. Reverse transduction measured in the isolated cochlea by laser Michelson interferometry. *Nature*, v. 365, p. 838-841, 1993.
29. DALLOS, P. Outer hair cells: the inside story. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, v. 106, p. 16-22, 1997.
30. ZHENG, J.; SHEN, W.; HE, D. Z. et al. Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature*, v. 405, n. 3, p. 130-131, 2000.
31. KEMP, D. T. Cochlear echoes: implications for noise-induced hearing-loss. In: HAMERNIK, R. P.; HENDERSON, D.; SALVI, R. *New perspectives on Noise-induced Hearing Loss*. New York: Raven Press, 1982. p. 189-207.
32. MILLS, D. M.; RUBEL, E. W. Variation of distortion product otoacoustic emissions with furosemide injection. *Hear Res.*, v. 77, p. 183-199, 1994.
33. BROWN, A. M.; MCDOWELL, B.; FORGE, A. Acoustic distortion products can be used to monitor the effects of chronic gentamicin treatment. *Hear Res.*, v. 42, p. 143-156, 1989.
34. TRAUTWEIN, P.; HOFSTETTER, P.; WANG, J. et al. Selective inner hair cell loss does not alter distortion product otoacoustic emissions. *Hear Res.*, v. 96, p. 71-82, 1996.
35. MOUNTAIN, D. C. Changes in endolymphatic potential and crossed olivocochlear bundle stimulation alter cochlear mechanics. *Science*, v. 210, p. 71-72, 1980.
36. MARTIN, P.; HUDSPETH, A. J. Compressive nonlinearity in the hair's bundle active response to mechanical stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, v. 98, p. 14386-14391, 2001.
37. TASAKI, I.; SPYROPOULOS, C. S. Stria vascularis as source of endocochlear potential. *J. Neurophysiol.*, v. 22, p. 149-155, 1959.
38. GALAMBOS, R. Suppression of auditory activity by stimulation of efferent fibers to the cochlea. *J. Neurophysiol.*, v. 19, p. 424-437, 1956.
39. BROWN, M.; NUTTAL, A.; MASTA, R. Intracellular recordings from cochlear inner hair cells: effects of stimulation of the crossed olivocochlear efferents. *Science*, v. 222, p. 69-72, 1983.
40. ISHII, D.; BALOGH, K. J. Distribution of efferent nerve endings in the organ of Corti: their graphic reconstruction in cochleae by localization of acetylcholinesterase activity. *Acta Otolaryngol. (Stockh)*, v. 62, p. 61-63, 1968.