



BAHIANA
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

**ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E SAÚDE HUMANA**

MARA RENATA RISSATTO LAGO

**DISTÚRBIOS DA FUNÇÃO AUDITIVA E SUA ASSOCIAÇÃO COM DISFUNÇÃO
ENDOTELIAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

TESE DE DOUTORADO

**Salvador
2019**

MARA RENATA RISSATTO LAGO

**DISTÚRBIOS DA FUNÇÃO AUDITIVA E SUA ASSOCIAÇÃO COM DISFUNÇÃO
ENDOTELIAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina e Saúde Humana da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Medicina e Saúde Humana

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Marice
Teixeira Ladeia

Coorientadora: Prof.^a Dra. Iza Cristina
Salles de Castro

Salvador
2019

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas

L177 Lago, Mara Renata Rissatto

Distúrbios da função auditiva e sua associação com disfunção endotelial em crianças e adolescentes com anemia falciforme. / Mara Renata Rissatto Lago. – 2018.

134f.: il. Color; 30cm.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Ana Marice Teixeira Ladeira

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Iza Cristina Salles de Castro

Doutora em Medicina e Saúde Humana.

Inclui bibliografia

1. Audição. 2. Anemia falciforme. 3. Endotélio vascular. 4. Vasodilatação.
5. Adolescente.

I. Título.

CDU: 615.155.194

MARA RENATA RISSATTO LAGO

**“AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO AUDITIVA E SUA ASSOCIAÇÃO COM
DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM ANEMIA
FALCIFORME”**

Tese apresentada à Escola
Bahiana de Medicina e Saúde
Pública, como requisito parcial para
a obtenção do Título de Doutora em
Medicina e Saúde Humana.

Salvador, 23 de novembro de 2018.

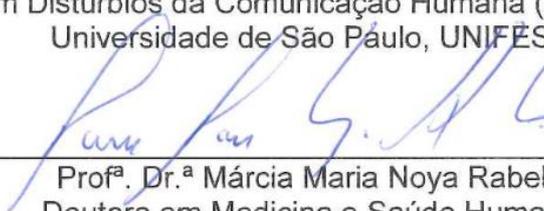
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Marinho Marques da Silva Neto
Doutor em Patologia Humana
Universidade do Estado da Bahia, UNEB



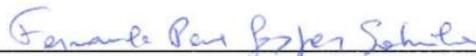
Prof.ª Dr.ª Renata Mota Mamede Carvalho
Doutora em Distúrbios da Comunicação Humana (Fonoaudiologia)
Universidade de São Paulo, UNIFESP



Prof.ª Dr.ª Márcia Maria Noya Rabelo
Doutora em Medicina e Saúde Humana
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP



Prof.ª Dr.ª Luciene da Cruz Fernandes
Doutora em Medicina e Saúde
Universidade Federal da Bahia, UFBA



Prof. Dr. Fernando Pena Gaspar Sobrinho
Doutor em Medicina e Saúde
Universidade do Estado da Bahia, UNEB

INSTITUIÇÕES ENVOLVIDAS

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP)

Universidade do Estado da Bahia (UNEB)

Universidade Federal da Bahia (UFBA)

FONTE DE FINANCIAMENTO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)

Dedico este trabalho ao meu esposo Roberto e aos frutos do meu ventre Antônio e Bernardo, que compõem o patrimônio mais valioso e sagrado da minha vida.

Fatura da minha colheita...

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A minha orientadora, Prof.^a Dra Ana Marice Ladeia, meu agradecimento pela oportunidade de compartilhar de seus conhecimentos, pela paciência, carinho, atenção, acessibilidade, compromisso e palavras de coragem com que sempre me orientou. Foi uma honra ser sua orientanda e poder conviver com uma pessoa que consegue reunir tantas atribuições com perfeição. Seu entusiasmo com a ciência me comoveu e serei eternamente grata!

A minha coorientadora, Prof.^a Dra Cristina Salles, pelas preciosas orientações, ensinamentos que vão além deste trabalho, seus sábios conselhos e pelo suporte em toda esta trajetória. Grata pela sua amizade!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por traçar planos surpreendentes e cuidar de todos os detalhes.

A meus pais, Dorival e Ivone e meus irmãos Gisele e Leandro... minha família, minha estrutura, meu alicerce... grata por estarem sempre presentes, pelas preciosas orações e torcida para a conclusão deste caminho.

Ao meu grupo *Happy Audio* (Cecília Pereira, Glória Canto, Luciene Fernandes e Nadja Braite - amigas de vida e de trabalho), sou grata pelo apoio, companheirismo e cumplicidade tornando este processo mais leve e divertido. Em especial a Luciene que me impulsionou a seguir este caminho e compartilhou seus conhecimentos.

Aos meus colegas de caminhada no doutorado, pelos momentos divertidos que vivemos juntos. Em especial a Ariane Sampaio, Minna Schleu e Márcio Costa pela amizade construída.

À equipe da pesquisa Dra. Regina Terse, Dra. Rozana Teixeira, Dra. Isa Lyra, aos acadêmicos da medicina Fernando Gesteira e Vinícius Machado e às minhas queridas alunas e orientandas da pesquisa e extensão Ana Carolina Oliveira e Agda

Costa, pela parceria e empenho na realização deste estudo. Sem a participação de todos vocês este trabalho não seria possível.

Ao amigo e colega de trabalho Caio Leônidas, pelos momentos de aprendizagem e apoio.

À banca de qualificação, composta por Prof. Dr. Marinho Marques e Prof.^a Dra. Renata Mamede, pelos elogios, sugestões e críticas para o aprimoramento deste produto final.

Às famílias e crianças pacientes deste estudo, pela disponibilidade e confiança.

*“Porque eu sou do tamanho do que vejo
E não do tamanho da minha altura...”*

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Introdução: a anemia falciforme (AF) é uma doença hematológica caracterizada pelo processo inflamatório crônico vascular e disfunção endotelial (DE). Há uma lacuna na literatura quanto a prevalência de prejuízos auditivos na população pediátrica com AF, além de inquietações acerca da patogênese de possíveis alterações no sistema auditivo decorrente do estado pró-inflamatório da AF.

Objetivos: o objetivo primário foi descrever a prevalência da perda auditiva sensorioneural (PASN) e testar a associação com disfunção endotelial. Os secundários foram: descrever a presença de sintomas otoneurológicos e sua associação com disfunção endotelial em crianças e adolescentes com anemia falciforme; e investigar o sistema auditivo periférico e central nessa população, com intuito identificar a presença de “perda auditiva oculta” e testar associação com disfunção endotelial.

Método: estudo transversal, analítico envolvendo 52 crianças e adolescentes com AF e 44 aparentemente saudáveis – grupo comparação (GC); por amostra de conveniência, ambos os grupos com idades de 6 a 18 anos. Nenhum dos participantes tinha comorbidades associadas (síndromes genéticas, obesidade, diabetes, hipercolesterolemia, acidentes vascular cerebral), e todos apresentavam ausência de problemas otológicos crônicos, histórico de drogas ototóxicas. Foi realizada a coleta de dados do prontuário sobre dados clínicos referentes à AF; entrevista audiológica, avaliação da função endotelial com uso de ultrassonografia para avaliação da vasodilatação mediada por fluxo (VMF); análise do perfil lipídico e marcadores inflamatórios séricos; avaliação auditiva utilizando audiometria tonal liminar, imitanciometria (timpanometria e pesquisa dos limiares do reflexo acústico contralateral, emissões otoacústicas produto de distorção (EOAPD), potenciais evocados auditivos de tronco encefálico (PEATE), potenciais evocados auditivos de longa latência (P300).

Resultados: quinze (28,8%) dos participantes com AF apresentaram PASN e nenhum participante do GC. Análise de regressão logística mostrou associação entre DE e PASN independentemente do perfil lipídico e das características da AF [95% intervalo de confiança] = 0,614 [0,440–0,858]; $p = 0,004$). Sintomas otoneurológicos (zumbido e vertigem) foram predominantes no grupo AF em comparação ao GC (46,4 versus 15,4%; $p = 0,006$), com correlação negativa entre o valor da VMF e o tempo de evolução da vertigem ($r = -0,432$; $p = 0,022$); o grupo AF apresentou maior taxa de limiares do reflexo acústico elevados em comparação ao GC para todas as frequências e em ambas as orelhas ($p < 0,05$). Houve diferença nas latências do PEATE com aumento da latência das ondas III e V ($p = 0,006$ e $0,004$ respectivamente) e intervalos interpicos I-III e I-V ($p = 0,015$ e $0,018$ respectivamente).

Conclusões: a PASN é uma complicação presente em crianças e adolescentes com AF e está associada com DE. A associação entre DE, sintomas otoneurológicos e manifestações clínicas dos fenômenos vaso-oclusivos em crianças e adolescentes com AF sugerem que a agressão endotelial pode ser considerada como gatilho para o envolvimento vascular nas manifestações auditivas nessa população. Danos ao sistema auditivo de crianças e adolescentes com AF podem estar presentes envolvendo estruturas retrococleares, causando déficits funcionais, sem deterioração da sensibilidade auditiva.

Palavras-chaves: Anemia falciforme. Endotélio vascular. Vasodilatação. Audição. Perda auditiva. Criança. Adolescente.

ABSTRACT

Introduction: sickle cell anemia (SCA) is a hematological disease characterized by a chronic inflammatory vascular process and endothelial dysfunction (ED). There is a gap in the literature regarding the prevalence of hearing loss in the pediatric population with SCA, as well as concerns about the pathogenesis of possible changes in the auditory system due to the proinflammatory state of SCA. **Objectives:** the primary objective was to describe the prevalence of sensorineural hearing loss (SNHL) and to test the association with endothelial dysfunction. The secondary ones were: to describe the presence of otoneurological symptoms and its association with endothelial dysfunction in children and adolescents with sickle cell anemia; and to investigate the peripheral and central auditory system in this population, in order to identify the presence of “hidden hearing loss” and test the association with endothelial dysfunction. **Method:** this cross-sectional, analytical study involved 52 children and adolescents who had SCA (SCA group) and 44 who were apparently healthy (comparison group [CG]); per convenience sample and, in both groups, the age range was 6 to 18 years. None of the participants had associated comorbidities (genetic syndromes, obesity, diabetes, hypercholesterolemia, stroke), and all had no chronic otologic problems, a history of ototoxic drugs. The collection of data from the medical records included clinical data regarding SCA; audiological interview; evaluation of endothelial function by ultrasonography for evaluation of flow-mediated vasodilation (FMD); analysis of lipid profile and serum inflammatory markers; pure tone audiometry; tympanometry; contralateral acoustic reflex; distortion product otoacoustic emission; brainstem auditory evoked potentials (BAEP) and long latency auditory evoked potentials; and cognitive potential (P300). **Results:** fifteen (28.8%) of the participants with SCA presented with SNHL and zero participant of the CG. The logistic regression analysis showed an association between FMD and SNHL, which was independent of the lipid profile and characteristics of SCA (95% confidence interval = 0.614 [0.440-0.858]; $p = 0.004$). Otoneurological symptoms (tinnitus and vertigo) were predominant in the SCA group compared to the CG (46.4 versus 15.4%, $p = 0.006$), with a negative correlation between the FMD value and the time of evolution of vertigo ($r = -0.432$, $p = 0.022$); additionally, the SCA group presented with a higher rate of increased contralateral acoustic reflex thresholds, compared to those in the HC group at all frequencies and in both ears ($p < 0.05$). There were differences in BAEP latencies with increased latencies of waves III and V ($p = 0.006$ and 0.004 , respectively) and interpeak intervals I-III and IV ($p = 0.015$ and 0.018 , respectively). **Conclusions:** SNHL is a common complication in children and adolescents with SCA and is associated with ED. The association between ED and otoneurological symptoms and, clinical manifestations of vaso-occlusive phenomena in children and adolescents with SCA suggest that endothelial aggression can be considered a trigger for vascular involvement in auditory manifestations in this population. Damage to the auditory system of children and adolescents with SCA may be present and involve retrocochlear structures, causing functional deficits without deterioration of auditory sensitivity.

Keywords: Sickle cell anemia. Endothelium. Vascular. Vasodilation. Child. Adolescent. Hearing. Hearing loss.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Etiologia do processo de vasoconstrição na anemia falciforme	21
Figura 2 - Esquema da anatomia do sistema auditivo periférico.	27
Figura 3 - Esquema das estruturas sensoriais da audição no órgão de Corti.	28
Figura 4 - Esquema das vias auditivas aferentes e eferentes.	30
Figura 5 - Esquema da vascularização da orelha interna.....	31
Figura 6 - Tipos de curvas timpanométricas dispostas no timpanograma.	33
Figura 7 - Estruturas do sistema auditivo envolvidas no arco reflexo.....	34
Figura 8 - Esquema da via auditiva aferente, sítios geradores dos potenciais evocados auditivos de curta e longa latência.	38
Figura 9 - Etiologia do processo inflamatório e conseqüente redução da vasodilatação	39
Figura 10 - Fluxograma dos procedimentos realizados	73
Figura 11 - Registro da avaliação da vasodilatação mediada por fluxo, estado basal e hiperemia reativa de um paciente com anemia falciforme.....	75
Figura 12 - Registro dos limiares auditivos pesquisados na audiometria tonal liminar para a orelha direita e para a orelha esquerda em um paciente com anemia falciforme.....	77
Figura 13 - Equipamento com o registro das emissões otoacústicas evocadas produto de distorção de uma orelha de um paciente com anemia falciforme	78
Figura 14 - Registro dos potenciais evocados auditivos de tronco encefálico, das orelhas direita e esquerda, respectivamente, em paciente com anemia falciforme. .	80
Figura 15 - Registro dos potenciais evocados auditivos de tronco encefálico, das orelhas direita e esquerda, respectivamente, em paciente com anemia falciforme. .	81
Quadro 1 - Critérios de inclusão para uso de hidroxiureia descritos no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas. Doença Falciforme. Portaria SAS/MS nº 55, de 29 de janeiro de 2010. Doença Falciforme.....	24

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANSI	<i>American National Standards Institute</i>
ATL	Audiometria tonal laminar
ASHA	<i>American Speech- Language-Hearing Association</i>
AVC	Acidente vascular cerebral
BA	Bahia
CCE	Células ciliadas externas
CCI	Células ciliadas internas
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
COS	Complexo Olivar Superior
CT	Colesterol total
DaPa	DecaPascal
dB	Decibel
DE	Disfunção endotelial
DF	Doença falciforme
EBMSP	Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
EIVE	Efeito inibitório da via eferente
EOA	Emissões otoacústicas
ET-1	Endotelina 1
EOAPD	Emissões otoacústicas produto de distorção
EOAT	Emissões otoacústicas transientes
HDL- C	Colesterol - lipoproteína de alta densidade
Hb	Hemoglobina
HU	Hidroxiureia
HUPES	Hospital Universitário Professor Edgar Santos
Hz	<i>Hertz</i>
ICAM	Molécula de adesão intercelular
Il-6	Interleucina 6
ISO	<i>International Standards Organization</i>
K ⁺	Potássio
LDL- C	Colesterol - lipoproteína de baixa densidade
MAE	Meato acústico externo

MS	Ministério da Saúde
Ms	Milissegundos
NA	Nível de audição
Na ⁺	Sódio
NO	Oxido nítrico
PASN	Perda auditiva sensorineural
PAO	Perda auditiva oculta
PCR	Proteína C- reativa
PEATE	Potenciais evocados auditivos de tronco encefálico
PEAML	Potencias evocados auditivos de média latência
PEALL	Potenciais evocados auditivos de longa latência
VCAM-1	Molécula de adesão celular – vascular 1
VMF	Vasodilatação mediada por fluxo
RA	Reflexo acústico
SAC	Sistema auditivo central
TG	Triglicerídeos
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UNEB	Universidade do Estado da Bahia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo primário	18
2.2	Objetivos secundários	18
3	REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1	Considerações sobre fisiopatologia da anemia falciforme, manifestações clínicas e tratamento	19
3.2	Considerações sobre o sistema auditivo e avaliação audiológica	25
3.2.1	Anatomia do sistema auditivo periférico.....	25
3.2.2	Fisiologia da audição – Processo da cóclea ativa.....	27
3.2.3	Vias auditivas aferentes e eferentes	28
3.2.4	Vascularização da orelha interna.....	30
3.2.5	Avaliação auditiva	31
3.3	Considerações sobre função endotelial, inflamação e avaliação da vasodilatação mediada por fluxo	38
3.3.1	Função endotelial e inflamação	38
3.3.2	Avaliação da vasodilatação mediada por fluxo	40
3.3.2.1	<i>Avaliação da vasodilatação mediada por fluxo na anemia falciforme</i>	42
3.3.2.2	<i>Avaliação da vasodilatação mediada por fluxo na presença de disfunções do sistema auditivo</i>	43
3.4	Artigo 1: Disfunção do sistema auditivo na anemia falciforme: uma revisão sistemática	45
4	MÉTODO	70
4.1	Desenho	70
4.2	Características da população-alvo	70
4.3	População de referência	70
4.4	Amostra	70
4.4.1	Critérios de inclusão e exclusão	71
4.4.1.1	<i>Critérios de inclusão</i>	71
4.4.1.1.1	Grupo estudo.....	71
4.4.1.1.2	Grupo comparação.....	71
4.4.1.2	<i>Critérios de exclusão para ambos os grupos</i>	71
4.5	Protocolo da coleta de dados	72
4.5.1	Entrevista e registro de dados clínicos e sintomas auditivos	73
4.5.2	Avaliação da função endotelial	74
4.5.3	Exames laboratoriais	75
4.5.4	Avaliação da função auditiva	75
4.5.4.1	<i>Meatoscopia</i>	76
4.5.4.2	<i>Imitanciometria</i>	76
4.5.4.3	<i>Audiometria tonal liminar</i>	76
4.5.4.4	<i>Emissões otoacústicas produto de distorção</i>	77

4.5.4.5	<i>Avaliação do efeito inibitório da via eferente olivococlear medial</i>	78
4.5.4.6	<i>Potenciais evocados auditivos</i>	79
4.6	Aspectos éticos	82
5	RESULTADOS	83
5.1	Artigo 2 - Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia and its association with endothelial dysfunction	83
5.2	Artigo 3 - Association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms in children with sickle cell disease	91
5.3	Artigo 4 - Hidden hearing loss in children and adolescents with sickle cell anemia	97
6	DISCUSSÃO	103
6.1	Limitações e perspectivas	108
7	CONCLUSÕES	110
7.1	Artigo de revisão	110
7.2	Artigos originais	110
8	RELATO DA EXPERIÊNCIA CIENTÍFICA	111
9	PERSPECTIVAS FUTURAS	113
	REFERÊNCIAS	114
	APÊNDICES	125
	ANEXOS	131

1 INTRODUÇÃO

A doença falciforme (DF) é um grupo de hemoglobinopatias, geneticamente herdadas, devido à mutação do ácido glutâmico na sexta posição da cadeia beta da hemoglobina (Hb) normal a Hb A. Ocorre uma substituição desse aminoácido por valina, um aminoácido hidrofóbico, resultando numa Hb alterada, a Hb S, que, quando submetida a situações de baixa oxigenação polimeriza-se e deforma-se, tornando a hemácia rígida e com aparência de foice ⁽¹⁾. Além da Hb S, existem outras hemoglobinas mutantes, a exemplo a C – nesse caso, substituição do aminoácido por lisina, gerando Hb C, entre outras D e E. Assim, o grupo DF inclui a anemia falciforme (AF), que representa o estado homozigoto para a Hb S (SS) e as hemoglobinopatias decorrentes da interação da Hb S com outras hemoglobinas mutantes como a β - talassemia (S/ β tal), a hemoglobinopatia SC e a hemoglobinopatia SD. Quando ocorre a presença de apenas um gene para Hb S, combinado com outro para Hb A, o padrão genético da pessoa é AS e neles não são produzidas manifestações da DF ⁽²⁾.

Segundo o Ministério da Saúde (MS), estima-se no Brasil um número de 25.000 a 30.000 casos de DF, com incidência de 3.500 novos casos por ano, sendo 1:1000. Dados dos programas estaduais de triagem neonatal mostram que, no estado da Bahia, a incidência da doença acomete 1:650 nascidos vivos enquanto o traço para a DF 1:17 nascidos vivos ⁽³⁾. A AF é uma das doenças hereditárias monogênicas mais prevalentes em todo o mundo e a mais comum no Brasil, predominantemente, entre afrodescendente que se manifesta com lesões em vários órgãos, causando elevada morbidade e mortalidade.

O mecanismo da fisiopatologia da AF, resultante em eventos vaso-oclusivos, envolve o endotélio vascular ⁽⁴⁾ no qual inicialmente ocorre adesão de eritrócitos ⁽⁵⁾ e adesão de leucócitos com formação de conglomerados heterocelulares resultando em hipóxia e, conseqüentemente com aumento da formação de polímeros de Hb S e propagação da oclusão na vascularização adjacente. Estudos têm demonstrado que existe disfunção do tônus vasomotor favorecendo vasoconstrição, decorrente da diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) e endotelina-1 (ET-1) ^(6,7). O endotélio está sob constante carga de estímulos resultando em um estado crônico

de ativação que promove disfunção, padrão no qual ocorre oclusão da microcirculação e vasculopatia em grandes vasos⁽⁴⁾.

A capacidade dos vasos sanguíneos para responder a estímulos físicos e químicos no lúmen confere a sua habilidade de regular seu tônus e ajustar a distribuição do fluxo sanguíneo em resposta às mudanças momentâneas. Muitos vasos sanguíneos respondem a estímulo, mais precisamente ao estresse na parede do vaso, por meio da dilatação. Esse fenômeno denomina-se vasodilatação mediada por fluxo (VMF), e o principal mediador é o NO derivado do endotélio vascular⁽⁸⁾.

A avaliação da VMF por meio da ultrassonografia trata-se de uma técnica não invasiva e ferramenta diagnóstica útil para a medida da função endotelial e, apesar de seu uso ser restrito somente na pesquisa, tem sido amplamente utilizada enfatizando sua aplicabilidade clínica promissora⁽⁸⁻¹⁰⁾. A desregulação do tônus vasomotor gerando disfunção endotelial (DE) decorrente da diminuição da VMF após situação de estresse na parede do vaso decorrente da oclusão arterial tem sido demonstrada em estudos envolvendo adultos^(6,11) e crianças com AF⁽¹²⁾.

As manifestações clínicas dos processos vaso-oclusivos na AF podem ocorrer em vasos multissistêmicos, incluindo o sistema auditivo⁽¹³⁻¹⁵⁾. Prejuízos auditivos como a perda auditiva sensorineural (PASN) está documentada na literatura como decorrência da baixa oxigenação da cóclea resultante de vaso-oclusões relacionados a DF na microcirculação da orelha interna levando a hipóxia do órgão espiral e morte das células ciliadas externas (CCE)⁽¹⁶⁾. Além disso, uma contribuição neural com ausência de suprimento sanguíneo para os neurônios responsáveis pela transmissão do impulso elétrico pela via auditiva central não pode ser excluída⁽¹⁷⁻¹⁹⁾.

No entanto, há uma disparidade quanto à prevalência da PASN, variando de 3,8%⁽²⁰⁾ a 66%⁽²¹⁾. Essa diferença pode estar ligada a diversos fatores como faixa etária, região geográfica, aspectos socioeconômicos, nível das sequelas relacionadas à doença, tratamentos utilizados e ponto de corte adotado na avaliação para identificação da perda auditiva. Adicionalmente, a maior parte dos estudos incluíram crianças e adultos em sua amostra e poucos estudos restringiram sua amostra com crianças. Alguns estudos indicaram agravamento dos prejuízos auditivos com

aumento da idade^(22,23), contudo, a PASN pode ter início precoce^(20,24,25). Na infância, podem ocorrer alterações auditivas subclínicas, a exemplo da “perda auditiva oculta” (PAO), e disfunções na via auditiva central.

A falta de rigidez metodológica nos estudos acerca da prevalência de PASN na AF e os raros estudos abordando alterações no sistema auditivo central têm trazido um conhecimento parcial acerca dos prejuízos auditivos decorrentes da doença, bem como dificultando a compreensão de sua patogênese. As alterações no sistema auditivo merecem maior investigação para esclarecer a associação ou não de fatores periféricos pré-neurais e fatores neurais a partir do VIII par de nervos cranianos (nervo vestibulococlear) até o córtex auditivo.

Considerando a discrepância de prevalência da PASN na AF apontada na literatura, inconsistências acerca da patogênese de possíveis alterações no sistema auditivo periférico e central e, adicionalmente, a caracterização do estado pró-inflamatório da AF, associado a alterações da VMF decorrente da diminuição da biodisponibilidade do NO, levanta-se a hipótese de possível diminuição do fluxo sanguíneo no sistema auditivo, resultante da diminuição da VMF gerada pela vasculopatia, levando a prejuízos auditivos. Assim, uma população de crianças e adolescentes com AF, clinicamente estáveis, sem sequelas tardias da doença, oriundas do Estado da Bahia, foi foco deste estudo, no intuito de avaliar a função do sistema auditivo periférico e central, em sua fase mais precoce, estimar a prevalência da PASN e investigar a patogênese de prejuízos do sistema auditivo relacionados à presença de DE.

Portanto, uma abrangente avaliação do sistema auditivo em crianças e jovens com AF, bem como a análise da patogênese dessas alterações auditivas podem proporcionar a identificação adequada de indivíduos com prejuízos da função auditiva e direcionar a conduta dos profissionais que trabalham com essa população, trazendo, conseqüentemente, benefícios com intervenções precoces.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

Descrever a prevalência da perda auditiva sensorineural em crianças e adolescentes com anemia falciforme e testar a associação com disfunção endotelial.

2.2 Objetivos secundários

- Descrever a presença de sintomas otoneurológicos e sua associação com disfunção endotelial em crianças e adolescentes com anemia falciforme;
- Investigar o sistema auditivo periférico e central de crianças e adolescentes com anemia falciforme com o intuito de analisar a integridade e identificar a presença de “perda auditiva oculta” e sua associação com disfunção endotelial.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Considerações sobre fisiopatologia da anemia falciforme, manifestações clínicas e tratamento

A AF tem origem desconhecida, mas, provavelmente, se desenvolveu na África, há milhões de anos e foi registrada, inicialmente, por J. Henrick que observou, num esfregaço de sangue, em uma lâmina, a presença de eritrócitos alongados, de um paciente com 20 anos de idade, da região da Índia Ocidental, que apresentava anemia crônica, icterícia e ulcerações nas pernas ⁽²⁶⁾.

O termo AF denota geralmente quaisquer uns dos vários defeitos de mutação genética da Hb dentro dos glóbulos vermelhos transportadores de oxigênio. A distorção destrutiva desses eritrócitos de sua forma habitual de “rosquinha” em várias cadeias em forma de “foice” é a característica mais distintiva da doença. A AF é definida como a presença de genes de Hb S em um estado homozigoto (SS), sem exceção, resultando em anemia hemolítica ⁽²⁷⁾.

Sabe-se que a mutação de genes provocada está associada com a resposta do organismo a uma agressão do *Plasmodium falciparum*, o agente causador de malária. Essa hipótese é apoiada no argumento de que a prevalência da malária na África tem sido alta por milênios, e pelo fato dos portadores de Hb S adquirirem imunidade, havendo uma relação entre o efeito protetivo da Hb S e o desenvolvimento da malária, uma vez que essa alteração da Hb é resistente a esse tipo de infecção ⁽²⁸⁾.

No Brasil, a introdução das hemoglobinopatias ocorreu com a entrada dos escravos negros africanos e da subsequente mistura racial, a qual teve grande influência na dispersão dos genes anormais. Subsequentemente, ao longo da história da sua colonização e seu desenvolvimento econômico do Brasil, outros fluxos migratórios trouxeram imigrantes europeus, judeus, japoneses etc. Novamente, a mistura racial entre esses diferentes grupos populacionais contribuiu com o fluxo de genes anormais das globinas, inerentes a cada um dos grupos étnicos, contribuindo com o quadro geral das hemoglobinopatias que compõem o grupo DF presentes no país ⁽²⁹⁾.

As primeiras investigações sobre AF no Brasil foram realizadas a partir da década de 1930. Na década de 1960, com o uso das técnicas de eletroforese, outros tipos de hemoglobinopatias passaram a ser estudadas. A DF é considerada um problema de saúde pública com relevante importância epidemiológica. Com o intuito de se identificar precocemente, criou-se Portaria 822 do MS de 06 de junho de 2001, que instituiu o Programa Nacional de Triagem Neonatal para a DF. No Programa Nacional de Triagem Neonatal a triagem neonatal da DF é feita com a coleta de punção plantar em papel de filtro, após 48 horas de vida (30). O MS incluiu no Sistema Único de Saúde, a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme em 2005 (31).

Quanto à distribuição geográfica do gene da Hb S, no país, observa-se uma concentração maior de indivíduos em regiões onde houve maior tráfico de escravos africanos. A Bahia é o estado com a maior ocorrência de nascidos vivos diagnosticados com DF (1:650 nascidos vivos) (3).

Com relação à fisiopatologia, a cadeia de alterações que ligam o defeito molecular (Hb S) às manifestações clínicas da AF pode ser considerada em três níveis: moleculares e celulares, nos órgãos e tecidos e no doente como um todo. A Hb S em baixa concentração de oxigênio polimeriza-se determinando deformidade celular gerando a falcização da hemácia. O processo de polimerização da Hb tem consequências múltiplas que se refletem na membrana celular, sendo uma delas o enrijecimento da membrana e de toda a hemácia que diminui a sua sobrevivência em circulação culminando em hemólise e, conseqüentemente, anemia hemolítica crônica, já que uma hemácia normal vive em torno de 120 dias e, a falcizada, de 10 a 20. Outra consequência trata-se do aumento da adesão das hemácias ao endotélio vascular. Esses fatores desencadeiam fenômenos inflamatórios que influenciam maior adesão dos leucócitos e agregação de plaquetas. Além disso, ocorre aumento da secreção de moléculas de adesão ET-1 e depleção de NO (32,33). A depleção de NO, por dímeros de Hb livre, no plasma, resultante da hemólise, estimula a ativação de plaquetas, a expressão das moléculas de adesão, a formação de trombina e a proliferação da íntima do endotélio que aumenta o tônus vascular, gera alteração na vasodilatação e culmina em estenose, contribuindo para a

obstrução vascular, que é a base da vasculopatia crônica e, conseqüentemente, hipóxia e lesão em órgãos e sistemas ⁽³³⁻³⁵⁾.

Os eritrócitos falcizados expressam um maior número de moléculas de adesão, a exemplo do Fator *Von Willebrand* e *Basal Cell Adhesion Molecule - Lutheran*. Essas moléculas favorecem a interação com o endotélio e com outras células, recrutam plaquetas e outros neutrófilos para o sítio da inflamação, além de secretarem peróxido de hidrogênio gerando lesão ao endotélio e, contribuindo para o processo de vaso-oclusão ^(36,37). Além disso, as células endoteliais ativadas expressam moléculas de adesão celular-vascular 1 (VCAM-1) e moléculas de adesão intercelular 1 (ICAM-1) ^(38,39).

O processo de vasoconstrição resultante da polimerização da Hb S com aderência de hemácias ao endotélio vascular, inflamação crônica com conseqüente lesão isquêmica de reperfusão é ilustrado na Figura 1.

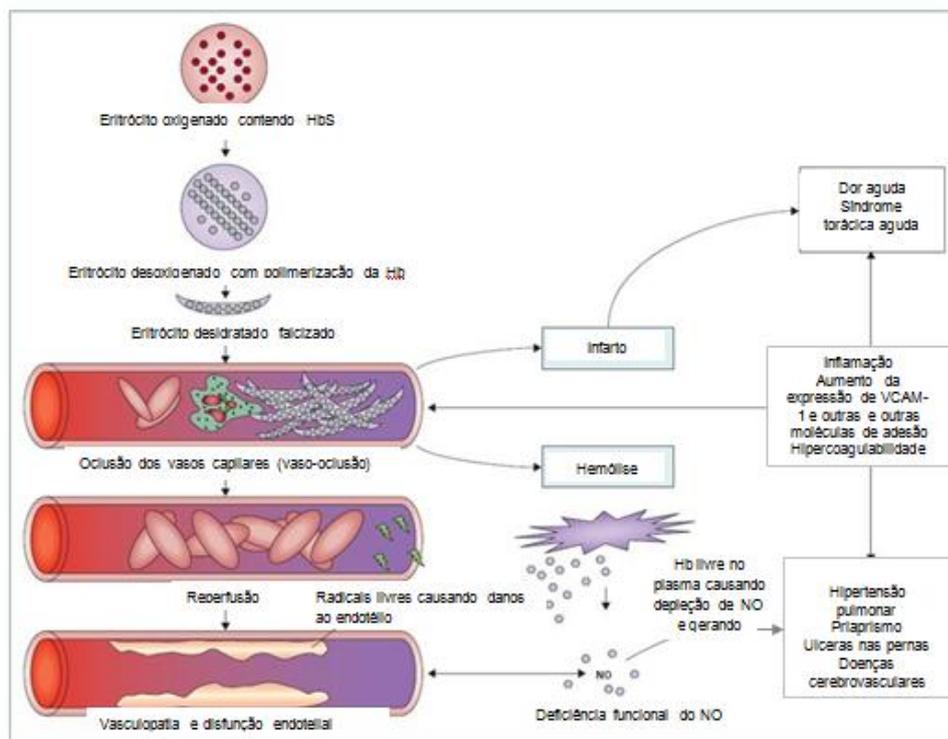


Figura 1 - Etiologia do processo de vasoconstrição na anemia falciforme
Fonte: adaptada de Rees, Williams and Gladwin, 2010 ⁽⁴⁾

As complicações decorrentes da AF são diversas e podem afetar todos os órgãos e sistemas. Entre as manifestações clínicas, encontram-se:

- a) Anemia, muito comum e com severidade diversificada podendo ser acentuada em decorrência de outras manifestações clínicas.
- b) Crises de sequestro esplênico caracterizadas pela diminuição da concentração de Hb igual ou maior que 2g/dl, comparada ao valor basal do paciente, aumento da eritropoiese e das dimensões do baço ⁽⁴⁾. Manifestam-se clinicamente com choque hipovolêmico e podem estar associadas a infecções virais ou bacterianas, sendo a causa de grande morbidade e mortalidade ⁽⁴⁰⁾.
- c) Síndrome torácica aguda caracterizada por redução do nível de Hb, e novos infiltrados na radiografia de tórax ⁽⁴¹⁾, sendo causada por uma combinação de infecção, embolia gordurosa e vaso-oclusão, e as manifestações clínicas podem incluir dor no peito, taquipneia, febre, hipóxia, dispneia, tosse, leucocitose com gravidade variada ⁽⁴²⁾.
- d) Infecções bacterianas frequentes, sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em crianças com AF. É provável que a suscetibilidade aumentada de crianças afetadas resulte de várias causas, incluindo função esplênica prejudicada, defeitos na ativação do complemento, deficiências de micronutrientes e isquemia tecidual ⁽⁴⁾.
- e) Doenças cardíacas manifestadas em 13% dos pacientes adultos, com aumento acentuado de ocorrência durante a dor vaso-oclusiva e ainda mais durante a síndrome torácica aguda com necessidade de uso de ventilação mecânica ⁽⁴³⁾.
- f) Alteração renal caracterizada pela polimerização da Hb S na medula renal devido à baixa pressão parcial de oxigênio, ao baixo pH e à alta osmolaridade, causando desidratação dos eritrócitos e a consequente vaso-oclusão levando a infarto renal com necrose papilar e fibrose medular com glomérulo esclerose segmentar e focal ⁽⁴⁾.

Complicações neurológicas representam a causa mais comum de acidente vascular cerebral (AVC) em crianças, com alta incidência de primeiro AVC na faixa etária de dois a cinco de idade e acometendo em torno de 11% dos pacientes com AF até 20 anos de idade ⁽⁴⁴⁾. Essas complicações são decorrentes da vasculopatia que afeta as artérias carótida interna e artéria média cerebral distal ⁽⁴⁵⁾, além de fatores contribuintes, incluindo: anemia, leucocitose, hipoxemia, reologia anormal causando dano endotelial, deficiência funcional de NO e regulação prejudicada do fluxo sanguíneo com hiperemia ⁽⁴⁶⁾. O infarto cerebral silencioso sem manifestações

clínicas de deficiência neurológica afeta em torno de 22% dos adolescentes com AF⁽⁴⁷⁾ e leva a problemas neurocognitivos e riscos de futuros infartos cerebrais⁽⁴⁸⁾. Essas vasculopatias podem ser detectadas precocemente pelo uso de assistência neurorradiológica - *Doppler* transcraniano⁽⁴⁹⁾.

Dor aguda é a causa mais comum de hospitalização em pacientes com AF independentemente da idade, embora atinja com mais frequência adultos jovens e crianças⁽⁵⁰⁾. Em crianças pequenas até dois anos de idade, ela se manifesta com mais frequência como dactilite (síndrome mão-pé)⁽⁵¹⁾. A dor aguda da crise vaso-oclusiva envolve limitações pessoais, porém não resulta em danos permanentes. Contudo, o aumento da frequência dessas crises está associado à morte precoce na AF em torno de 20 anos de idade⁽⁵⁰⁾.

Quanto ao tratamento, não há uma medicação específica para o tratamento da AF e sim um gerenciamento ambulatorial, incluindo: educação para pacientes, pais e cuidadores; monitoramento do crescimento, desenvolvimento e nutrição; prescrição de penicilina e monitoramento da adesão; administração ou organização de vacinas específicas para a DF, abrangendo aquelas contra pneumococos e influenza; monitoramento do atendimento escolar ou do trabalho; registro de resultados sanguíneos no estado estacionário e medições fisiológicas (saturação de oxigênio, pressão arterial); monitoramento da frequência de complicações agudas; prescrição e monitoramento de hidroxycarbamida, conforme apropriado; detecção precoce e prevenção de complicações crônicas, englobando doença cerebrovascular (rastreamento por *doppler* transcraniano), hipertensão pulmonar e doença renal e provisão de apoio psicológico⁽⁵²⁾.

A hidroxycarbamida (HU), a hidroxycarbamida, é uma droga citotóxica que aumenta a concentração de Hb fetal, potencialmente benéfica para pacientes com AF e foi escolhida entre demais drogas citotóxicas considerando-se sua eficácia oral e seu baixo efeito tóxico⁽⁵³⁾. Possui outros efeitos como: aumento da concentração de Hb, decréscimo de plaquetas e células brancas, além de mudanças da taxa de moléculas de adesão, aumento da produção de NO, contribuindo para diminuição do processo inflamatório crônico da AF⁽⁵⁴⁻⁵⁶⁾. Um estudo demonstrou que o uso de HU diminuiu a frequência das crises de dor, a ocorrência de síndrome torácica aguda,

assim como diminuiu a necessidade de episódios de transfusão sanguínea e o número de internamentos ⁽⁵⁷⁾. Há também evidências, na literatura, de outros benefícios incluindo aumento da expectativa de vida ⁽⁵⁸⁾, diminuição de eventos cerebrovasculares e redução da hipoxemia ⁽⁵⁹⁾.

Devido ao receio de efeitos tóxicos, o seu uso é geralmente limitado a pacientes após um curso clínico grave (pelo menos três crises vaso-oclusivas dolorosas em um ano, crises prévias ou recorrentes de síndrome torácica aguda). No Brasil, o protocolo clínico e as diretrizes terapêuticas da doença falciforme determinam que crianças maiores de três anos possam ser incluídas no protocolo conforme critérios de inclusão do Quadro 1 abaixo ⁽⁶⁰⁾.

Quadro 1 - Critérios de inclusão para uso de hidroxiureia descritos no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas.

<p>Serão incluídos neste protocolo de tratamento os pacientes que preencherem todos os critérios abaixo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • idade > 3 anos; • possibilidade de comparecimento às consultas e de realização de exames laboratoriais periódicos; • teste de gravidez (beta-hCG sérico) negativo para mulheres em idade reprodutiva; • comprometimento de mulheres em idade reprodutiva em usar método anticoncepcional com eficácia confirmada durante a terapia com HU. <p>Serão também incluídos os que preencherem pelo menos um dos seguintes critérios nos últimos 12 meses:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 3 ou mais episódios álgicos agudos com necessidade de atendimento médico hospitalar ou comprovada incapacidade produtiva (escola/trabalho); • mais de um episódio de síndrome torácica aguda (STA), definida como presença de infiltrado pulmonar recente, não atelectásico, envolvendo pelo menos um segmento pulmonar completo, acompanhado de dor torácica, temperatura superior a 38,5 °C, taquipneia, sibilos ou tosse em paciente com DF3; ou 1 episódio de STA com necessidade de O2 ou transfusão sanguínea ou 1 episódio de STA com necessidade de internação em unidade de tratamento intensivo; • hipoxemia crônica – saturação de oxigênio persistentemente < 94%, medida em 2 visitas clínicas consecutivas fora de evento agudo e afastada a possibilidade de obstrução adenoide/amigdaliana em crianças; • outras situações em que haja comprovação de lesão crônica de órgão (priapismo, necrose óssea, retinopatia proliferativa, entre outras); • concentração de Hb < 7g/dl (média de 3 valores fora de evento agudo); • concentração de HbF < 8% após 2 anos de idade; • leucocitose > 20.000/mm³ (média de 3 valores fora de evento agudo); • desidrogenase láctica (DHL) 2 vezes acima do valor de referência para a idade; • alterações ao eco-Doppler transcraniano (> 200 cm/s com impossibilidade de regime transfusional crônico).

Fonte: Brasil, 2014 ⁽⁶⁰⁾.

A terapia com transfusão de eritrócitos ou a exsanguíneo transfusão tem um papel estabelecido no tratamento de complicações agudas e crônicas na AF. A transfusão

corrige a anemia, diminui a porcentagem de Hb S, suprime a síntese de Hb S e reduz a hemólise. As transfusões agudas são indicadas para casos de anemia aguda exacerbada, síndrome torácica aguda, AVC ou déficit neurológico agudo, múltiplas falhas em órgãos, e gerenciamento pré-operatório. Já as transfusões recorrentes são indicadas para casos de prevenção de AVCs primário e secundário, síndrome torácica aguda recorrente sem resposta com uso de HU, falhas progressivas em órgãos ⁽⁴⁾.

A quelação de ferro é importante em pacientes cronicamente transfundidos com AF, visto que a transfusão crônica de ferro é associada com sobrecarga de ferro no fígado e em outros órgãos ⁽⁶¹⁾. O quelante de ferro desferoxamina, administrado via parental, ou o deferasirox via oral são medicamentos ototóxicos que podem ocasionar déficits auditivos permanentes ou transitórios dependendo da dosagem e tempo de exposição à medicação ⁽⁶²⁾.

O transplante de células hematopoéticas (células-tronco) é o único tratamento curativo, porém, apesar de seu sucesso tem uma aplicação restrita. Em crianças, é limitado ao pré-requisito de irmão compatível e, devido à toxicidade, é indicado somente àqueles com a forma grave da doença, contudo sem disfunção final em órgãos. Em adultos, regimes de redução de toxicidade permitiram transplantes bem sucedidos, usando irmão ou outros familiares doadores resultando em sobrevida com percentual de 87% livres de eventos. Considerando a sua aplicação restrita, apenas 10-20% dos pacientes apresentam doadores compatíveis e há grande preocupação com a toxicidade em longo prazo, particularmente sobre a infertilidade ⁽⁶³⁾.

3.2 Considerações sobre o sistema auditivo e avaliação audiológica

3.2.1 Anatomia do sistema auditivo periférico

A audição do ser humano permite a discriminação de cerca de 400.000 sons, com faixa de percepção de frequências de 20 a 20.000 Hertz (Hz), e o sentido da audição está envolvido em todo o processo de aquisição e desenvolvimento da linguagem ⁽⁶⁴⁾.

Para que isso ocorra, é necessário integridade do sistema auditivo periférico e das vias auditivas centrais.

O sistema auditivo periférico é constituído pela orelha externa, orelha média, orelha interna e pelo sistema nervoso periférico - nervo vestibulo-coclear. Na orelha externa - pavilhão auricular e meato acústico externo (MAE), ocorre a captação do som do meio atmosférico e a transmissão sonora para a orelha média que, por meio da cadeia ossicular e juntamente com os músculos intratimpânicos, é responsável pela transdução do som para a orelha interna (ou seja, transmissão do som do meio aéreo para o meio líquido). O músculo estapédio é o primeiro músculo sensível ao som da orelha média. A função da via dos reflexos acústicos dos músculos da orelha média parece ser de proteção: a contração dos músculos da orelha média resulta em atenuação do som dependente de frequência na presença de intenso estímulo acústico, um efeito que é mais pronunciado para frequências de sons baixos, que sustenta a hipótese de que essa via preserva a informação de frequência de fala de ser mascarada pelo ruído de fundo que é tipicamente de baixa frequência ⁽⁶⁵⁾.

A orelha interna corresponde a um conjunto de cavidades dentro da porção petrosa do osso temporal, denominado labirinto ósseo, preenchido por um líquido com alta concentração de sódio (Na^+), a perilinfa. Contido no labirinto ósseo, encontra-se um conjunto de membranas, que constitui o labirinto membranáceo, preenchido por líquido com maior concentração de potássio (K^+) e menor de Na^+ , a endolinfa. A porção anterior do labirinto é denominada cóclea e é responsável pela captação das vibrações sonoras advindas das orelhas externa e média e pela conversão das mesmas em impulsos nervosos. A cóclea, onde se encontra o órgão espiral, é constituída por um sistema de três canais denominados escalas ou rampas – vestibular, média (ducto coclear) e timpânica. Duas membranas separam essas escalas: a membrana de *Reissner* ou vestibular separa as escalas média e vestibular; a membrana basilar separa as escalas média e timpânica. A porção posterior constitui o vestíbulo, que atua na captação de informações sobre o posicionamento da cabeça e do corpo no espaço, auxiliando na manutenção do equilíbrio ⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾. Estruturas do sistema auditivo periférico responsáveis pela audição e equilíbrio corporal estão representadas na Figura 2.

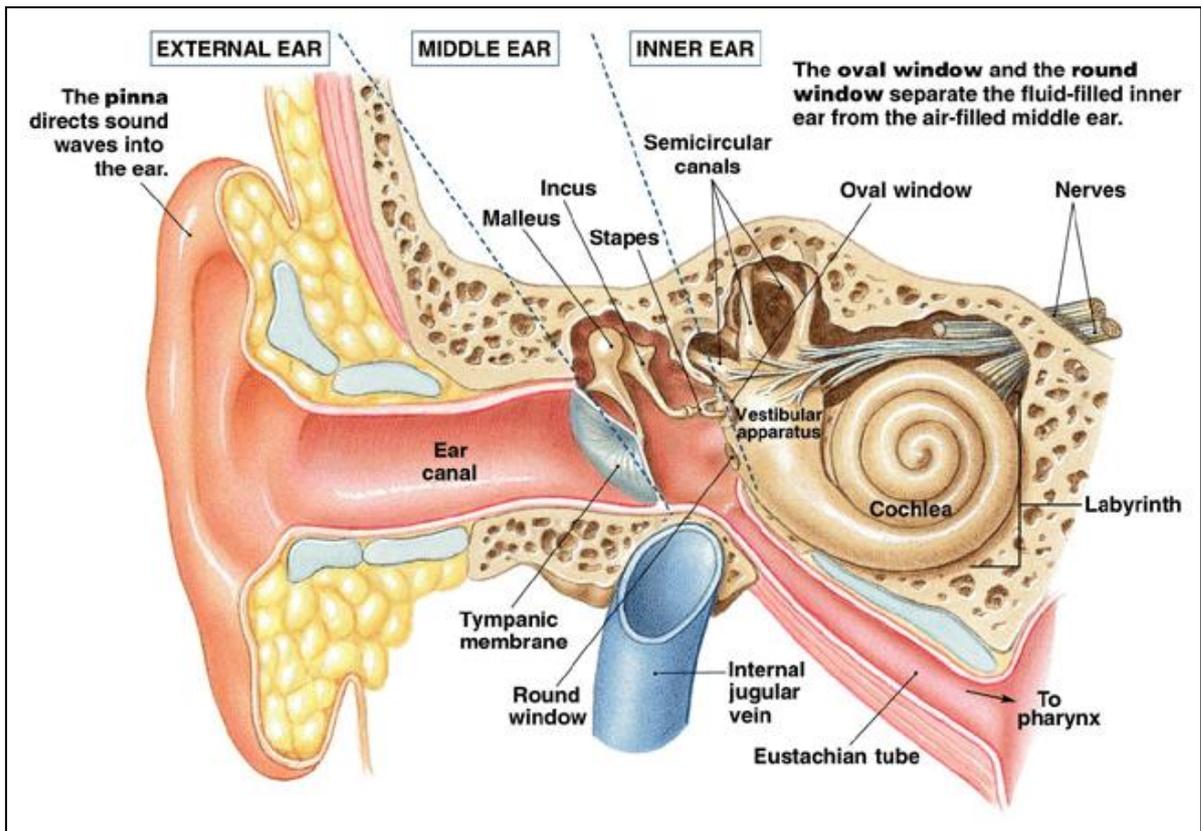


Figura 2 - Esquema da anatomia do sistema auditivo periférico.

Fonte: Anatomy library: Gross anatomy of the external ear [internet]. 2018. [Acesso em: 20 ago. 2018]. Disponível em: <https://anatomy-library.com/img/gross-anatomy-of-the-external-ear-17.html> ⁽⁶⁷⁾.

3.2.2 Fisiologia da audição – Processo da cóclea ativa

O órgão espiral contém milhares de células sensitivas – CCE e células ciliadas internas (CCI), responsáveis pela transmissão do estímulo sonoro. O mecanismo responsável pelo complexo funcionamento da cóclea é denominado de Teoria da Cóclea Ativa. A força mecânica transmitida pelos ossículos à orelha interna é transformada em pressão hidráulica gerando vibração da perilinfa e conseqüentemente oscilações da membrana basilar e do órgão espiral com o deslocamento dos estereocílios das CCE, situado abaixo da membrana tectória. A estria vascular, porção dentro do órgão espiral, é a estrutura responsável pelas trocas iônicas que promovem ativação e desativação das células ciliadas. O deslocamento dos estereocílios promove a abertura de canais de K^+ na membrana, gerando potenciais elétricos receptores ou potenciais microfônicos cocleares. Esses

potenciais provocam contrações rápidas nas CCE em fase com a frequência do som estimulante⁽⁶⁸⁾. Esse mecanismo de contrações rápidas é a base processo de amplificação ativa da cóclea.

A vibração amplificada das membranas basilar e tectória provoca o deslocamento dos cílios mais longos do grupo de CCI existente na região da frequência estimulada provocando o contato deles com a membrana tectória, fazendo-os inclinar. Esse deslocamento provoca a abertura das CCI e despolarização dos canais de potássio, produzindo potenciais receptores que levam à liberação de neurotransmissores, originando mensagens sonoras eletricamente codificadas, enviadas pelo nervo vestibulococlear (seu ramo coclear) ao sistema nervoso central ⁽⁶⁹⁾. As estruturas do órgão de Corti envolvidas no processo sensorial da audição estão representadas na Figura 3.

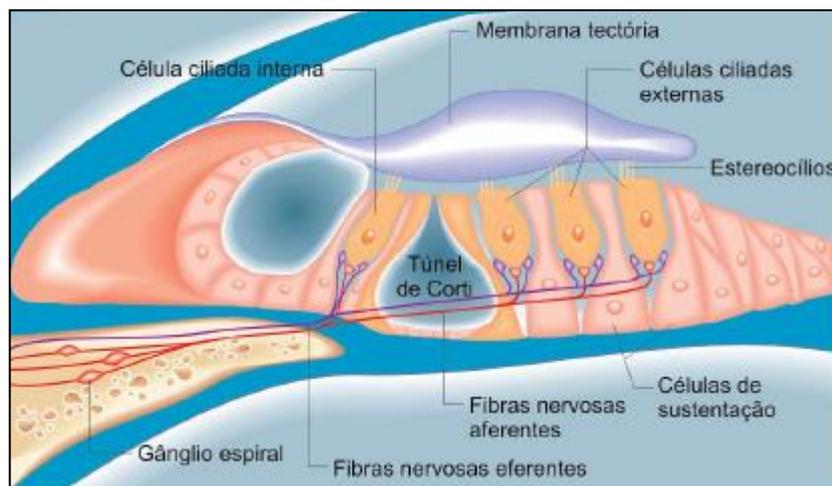


Figura 3 - Esquema das estruturas sensoriais da audição no órgão de Corti.

Fonte: Magalhães. Bio Portu(ga)!: Audição e equilíbrio [internet]. [Acesso em: 20 ago. 2018]. Disponível em: <http://bioug.blogspot.com/2012/12/audicao-e-equilibrio-nos-vertebrados.html> ⁽⁷⁰⁾.

3.2.3 Vias auditivas aferentes e eferentes

Os impulsos nervosos são transmitidos pelas fibras do nervo vestibulo-coclear, primeira estação do sistema nervoso auditivo central, que inicia seu trajeto nas células ciliadas em direção aos núcleos cocleares, no tronco encefálico. O nervo vestibulo-coclear é formado por fibras aferentes e eferentes ^(65,71).

Resumidamente, as fibras aferentes originam-se na cóclea no processo da cóclea ativa, partem para os núcleos cocleares (no tronco encefálico) e, após sinapses, para o complexo olivar superior (COS), passando pelo lemnisco lateral e, seguidamente, para o colículo inferior, e mesencéfalo. A partir do mesencéfalo, as vias auditivas dissipam-se pelo tálamo e atingem o córtex auditivo, localizado no giro superior do lobo temporal e áreas de associação. As áreas auditivas têm um importante papel no que se refere à localização sonora no espaço, na identificação da ordem cronológica e da memorização em curto prazo de sequências sonoras ⁽⁶⁵⁾.

O sistema de vias eferentes é um conjunto de fibras que tem origem no COS, denominado feixe olivococlear, o qual possui dois tratos principais: o lateral e o medial. O trato lateral origina-se em células próximas ao núcleo olivar superior e é composto, principalmente, por fibras não mielinizadas que descem em trajeto ipsilateral e terminam nos dendritos abaixo das CCI. O trato medial, por sua vez, é composto por fibras mielinizadas que partem da área próxima à oliva medial superior e grande parte dessas fibras percorre o trajeto descendente de forma contralateral atingindo diretamente a CCE ⁽⁷¹⁾, que influencia na modulação da atividade coclear, tanto de forma excitatória como inibitória, bem como na função do reflexo acústico, ressaltando o controle de áreas altas na atividade periférica ⁽⁷²⁾.

A inervação eferente ainda não está bem esclarecida, há algumas hipóteses sobre a influência no desempenho na captação do sinal auditivo em presença de ruído elevado, ou seja, na percepção de fala ⁽⁷³⁾ no controle do estado mecânico da cóclea, a exemplo para proteção da cóclea de danos acústicos ⁽⁷⁴⁾. A integridade desse sistema permite a diminuição da amplitude das emissões otoacústicas (EOA), diminuição do potencial de ação do nervo vestibulococlear ⁽⁷⁵⁾. O esquema das vias auditivas aferentes e eferentes está ilustrado na Figura 4.

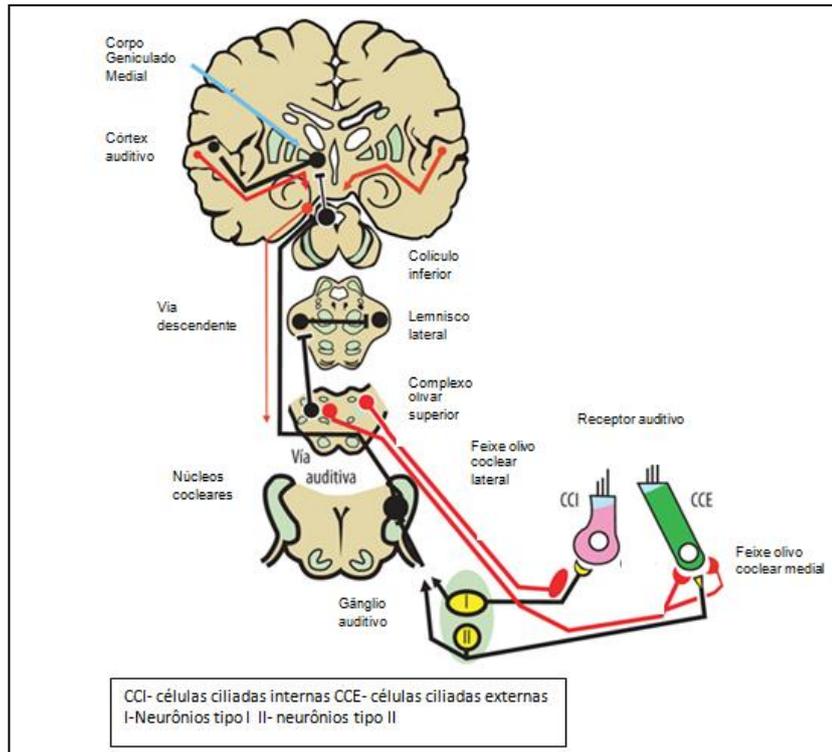


Figura 4 - Esquema das vias auditivas aferentes e eferentes.
Fonte: adaptada de Gil-Lozaga e Pujol, 2005 ⁽⁷⁶⁾.

3.2.4 Vascularização da orelha interna

A vascularização da orelha interna é suprida unicamente pela artéria labiríntica, que tem origem no sistema vértebro-basilar (ramifica-se da artéria cerebelar anterior inferior ou diretamente da artéria basilar). A artéria labiríntica divide-se em artéria coclear comum e artéria vestibular anterior que se ramificam vascularizando estruturas da cóclea – parte sensorial da audição e as estruturas de mácula, utrículo e canais semicirculares – estruturas que ajudam no equilíbrio corporal ^(65,77). A artéria labiríntica é uma artéria terminal, portanto, não se comunica com nenhum outro vaso no osso temporal. Em função do suprimento singular de sangue da orelha interna, tanto a estrutura vestibular quanto a auditiva são especialmente vulneráveis a eventos isquêmicos ⁽⁷⁷⁾. A vascularização da orelha interna é ilustrada na Figura 5.

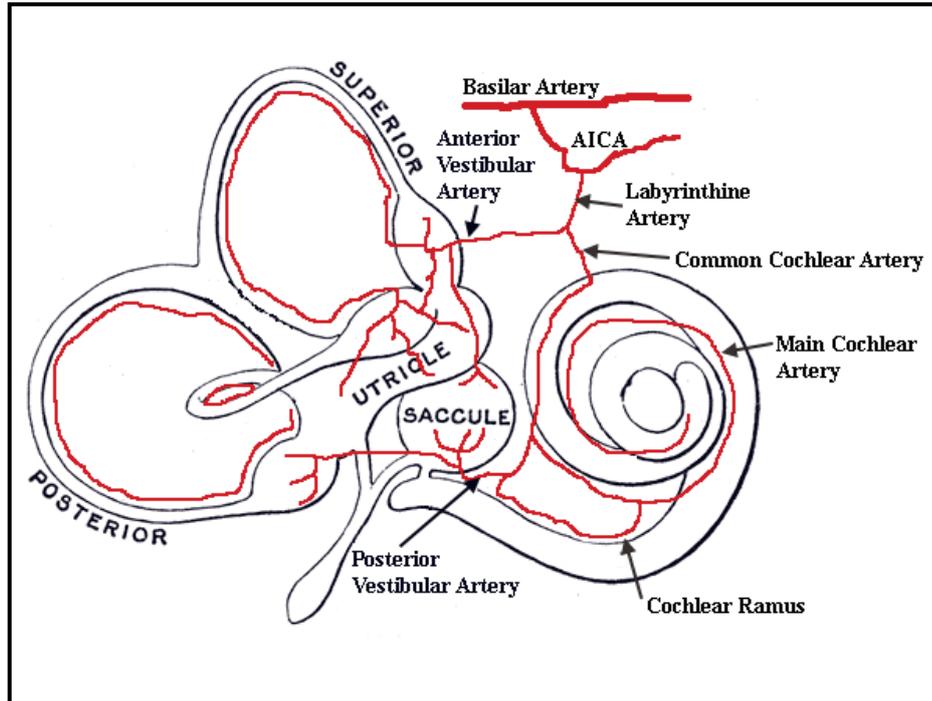


Figura 5 - Esquema da vascularização da orelha interna.

Fonte: Moore, 2013 ⁽⁷⁷⁾.

3.2.5 Avaliação auditiva

A integridade do sistema auditivo é avaliada por procedimentos subjetivos e objetivos – medidas eletrofisiológicas.

A audiometria tonal liminar (ATL) é a base para a avaliação audiológica e é considerada o procedimento padrão-ouro, apesar dos avanços tecnológicos atualmente disponíveis. Essa técnica define a presença da perda auditiva por meio da determinação dos limiares auditivos e comparação com um padrão de normalidade, usando-se como referência o tom puro. Por meio desse teste, é possível detectar problemas sensoriais e de sincronia neural e, desse modo, caracterizar a perda auditiva quanto ao grau e tipo de perda. Limiar auditivo refere-se ao nível mínimo de pressão sonora necessária para provocar uma sensação auditiva, em um ambiente silencioso.

O procedimento é realizado em uma sala tratada acusticamente ou em cabina acústica. O equipamento utilizado é chamado audiômetro e a saída do audiômetro é em decibel nível de audição (dB NA). A apresentação dos estímulos ocorre

individualmente em cada orelha, por meio de fone supra-aural posicionado sobre o pavilhão auricular, ou fone de inserção, posicionado no MAE para a pesquisa da condução pela via aérea, e por meio do vibrador ósseo, posicionado sobre a mastoide, para condução óssea e pesquisa da estimulação direta da cóclea. Os tons puros são apresentados por via aérea nas frequências 250, 500, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 6.000, 8.000 Hz e, por via óssea em 500, 1.000, 2.000, 3.000 e 4.000 Hz ⁽⁷⁸⁾. Realiza-se o registro da avaliação em um gráfico denominado audiograma. A técnica de apresentação do estímulo é manual e o sujeito é orientado a responder na percepção do estímulo acústico, podendo a técnica ser ascendente – do silêncio para o som ou descendente – do som para o silêncio ⁽⁷⁹⁾.

Apesar de não se ter certeza de quanto a resposta do sujeito difere de seu limiar real, a audiometria possui grande reprodutibilidade e garante para o clínico referências sobre sua perda auditiva. É um procedimento recomendado pela *American Speech- Language-Hearing Association (ASHA)* ⁽⁸⁰⁾, tendo a *American National Standards Institute (ANSI)* e a *Internacional Standards Organization (ISO)* publicados normas para os procedimentos da audiometria tonal ⁽⁸¹⁾.

As medidas eletrofisiológicas da audição são utilizadas para avaliação da função auditiva desde o sistema auditivo periférico até as vias auditivas centrais: medidas imitanciométricas - timpanometria - avaliação da funcionalidade da orelha média e medida dos limiares do reflexo acústico (RA) – avaliação das vias auditivas aferentes e eferentes; EOA - avaliação da função motora da cóclea especificamente das CCE e análise do efeito inibitório da via eferente (EIVE) - avaliação do feixe olivococlear medial; potenciais evocados auditivos de tronco encefálico (PEATE) - avaliação das vias auditivas aferentes do nervo vestibulo-coclear até o tronco encefálico (colículo inferior); potenciais evocados auditivos de média latência (PEAML) – avaliação das vias auditivas de projeção talâmica até o córtex auditivo primário; potenciais evocados auditivos de longa latência (PEALL) - avaliação do córtex auditivo secundário.

A imitanciometria permite a avaliação da integridade e funcionalidade da orelha média e avaliação das vias auditivas aferentes e eferentes. Ela se divide em dois procedimentos: timpanometria e pesquisa dos limiares do RA. A timpanometria

mede a variação da admitância acústica do sistema tímpano-ossicular, frente a diferentes níveis de pressão de ar, introduzida por meio de uma sonda no meato acústico externo, o qual deve estar hermeticamente vedado por uma oliva de látex encaixada na ponta da sonda. Uma curva representativa da mobilidade do sistema tímpano-ossicular é, então, traçada e apresenta-se o resultado em um gráfico de volume equivalente *versus* pressão. Os timpanogramas são classificados de acordo com a altura e a localização do pico timpanométrico. Segundo Jerger ⁽⁸²⁾, uma curva timpanométrica classificada como tipo “A” apresenta um pico máximo de mobilidade do sistema por volta de 0 decaPascal (daPa); o tipo “B” é horizontal e o “C” tem pico deslocado para pressão negativa. As curvas timpanométricas estão dispostas na Figura 6.

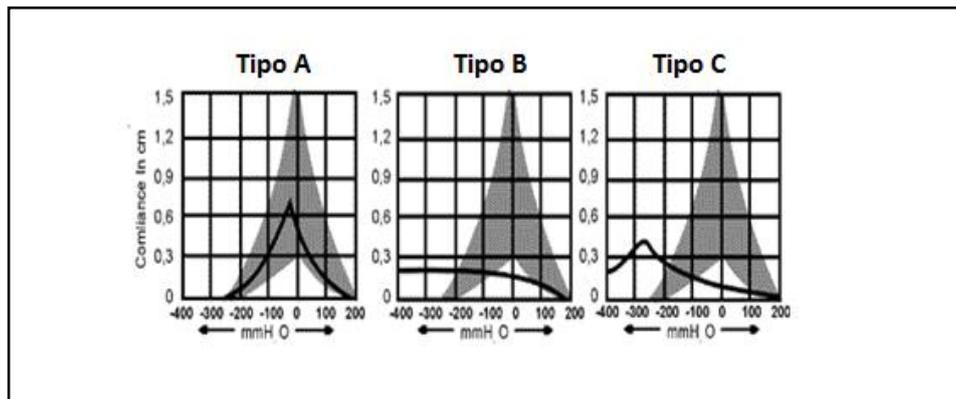


Figura 6 - Tipos de curvas timpanométricas dispostas no timpanograma.
Fonte: Silva et al, 2002 ⁽⁸³⁾.

A obtenção dos limiares do RA permite avaliar o papel da via auditiva eferente ⁽⁸⁴⁾. O RA é uma contração bilateral do músculo estapédio na presença de sons intensos com o intuito de proteção do sistema auditivo, promovendo redução da admitância do sistema tímpano-ossicular, minimizando a estimulação sonora na orelha interna. É constituído por um arco reflexo que envolve estruturas da via auditiva aferente: orelha interna, tronco encefálico (núcleos cocleares e COS) e da via eferente por meio do nervo facial ⁽⁷¹⁾. Na apresentação de um som forte, fibras aferentes enviam o sinal elétrico para o sistema auditivo central (SAC), para as estruturas que controlam o sistema auditivo periférico e um conjunto de fibras do nervo facial envia informações motoras, no sentido eferente, até os músculos da orelha média. Ao se contraírem, esses músculos promovem redução da admitância do sistema tímpano-ossicular, minimizando a estimulação sonora na orelha interna ⁽⁸⁴⁾. A medida mais

comumente adotada é a pesquisa dos limiars dos RA de forma contralateral à entrada do estímulo acústico utilizando tom puro elevado nas frequências de 500, 1.000, 2.000 e 4.000 Hz. O limiar do RA situa-se entre 70 a 100dB acima do limiar em ouvintes normais ⁽⁸⁵⁾. As estruturas do arco reflexo estão ilustradas na Figura 7.

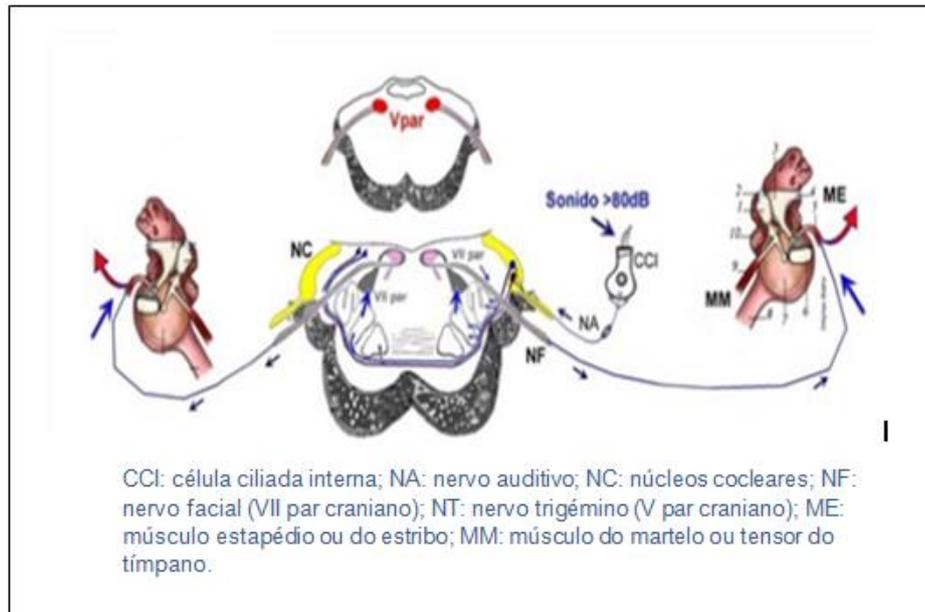


Figura 7 - Estruturas do sistema auditivo envolvidas no arco reflexo.
Fonte: Boechat et al, 2015 ⁽⁸⁶⁾.

O registro das EOA é um teste útil para identificar alterações subclínicas na micromecânica coclear, mais especificamente na função das células ciliadas externas – alterações sensoriais. Consiste em método objetivo, relativamente simples, rápido e não invasivo ⁽⁸⁷⁾.

As EOA podem ser do tipo espontâneas e evocadas. As evocadas são denominadas EOA transientes (EOAT) e EOA produto de distorção (EOAPD). As EOAT são eliciadas por um estímulo robusto como o clique, que avalia a cóclea como um todo, e são facilmente captadas na faixa de frequência de 1.000 a 5.000 Hz, estando presentes em sujeitos com limiars auditivos dentro dos padrões de normalidade. As EOAPD são eliciadas por meio da intermodulação não linear entre dois tons puros simultâneos que produzem como resposta um produto de distorção que avalia partes específicas da cóclea, e oferece observação de uma banda maior de frequências. As EOAPD estão presentes em sujeitos com audição normal e podem

estar presentes em sujeitos com perda auditiva leve. Para a avaliação das EOA evocadas é necessária a integridade e uma boa funcionalidade de orelha média, para que não haja distorções e perda da energia do estímulo-teste e do som produzido na cóclea, a ser captado no conduto auditivo externo ⁽⁸⁷⁾. A forma de avaliação é através da presença/ausência da resposta e monitoramento de sua amplitude.

A captação da EOA associada a um ruído supressor contralateral, ipsilateral ou bilateral com o objetivo de diminuir a amplitude das EOA, tem sido utilizada como teste para avaliação do sistema auditivo eferente ⁽⁸⁸⁾. A atenuação das respostas das EOA ocorre devido à ação das fibras do trato olivococlear medial. Tem sido denominado EIVE do sistema olivococlear medial. Esse teste configura-se como um método objetivo e não invasivo que permite a avaliação do sistema auditivo eferente e das propriedades micromecânicas ativas e não lineares das CCE da cóclea e, de uma forma mais geral da integridade do tronco encefálico ^(88,89).

Na avaliação do SAC, pode ser utilizado o teste de potenciais auditivos evocados, que permitem obter informações sobre o funcionamento das vias aferentes, desde os primeiros neurônios do nervo vestibulo-coclear até sua porção mais central no córtex auditivo ^(90,91). Os potenciais são gerados a partir de um estímulo acústico que ativa de forma sequencial as estruturas da via auditiva os quais podem ser captados por meio de eletrodos de superfície posicionados na frente ou no vértex da cabeça e nos lóbulos ou mastoides do sujeito ⁽⁹²⁾.

O teste de PEATE, avalia a integridade da via auditiva aferente desde o VIII par craniano até o tronco encefálico, sendo captado durante os primeiros 10 milissegundos (ms) a partir do início da estimulação acústica ⁽⁹³⁾. O PEATE é composto por sete ondas, sendo as ondas I, III e V as mais visíveis e de maiores valores clínicos. Os sítios geradores dessas ondas são a onda I- porção distal do nervo auditivo ao tronco encefálico e onda II - porção proximal do nervo auditivo ao tronco encefálico. As subsequentes têm múltiplos geradores e, embora não haja uma contribuição precisa de cada sítio gerador é possível evidenciar que a onda III - núcleos cocleares até o complexo olivar superior; onda IV – lemnisco lateral; onda V – sendo o grande potencial negativo que segue a onda V (*slow negative* 10) na

despolarização do colículo inferior; e ondas VI e VII - tálamo (corpo geniculado medial)⁽⁹⁰⁾. Considerando que as vias auditivas aferentes formam inúmeras conexões com os núcleos do sistema nervoso central, e que intersecções e comunicações internucleares fazem com que as vias auditivas ocupem todo o tronco encefálico e, desse modo, quaisquer afecções, sejam elas degenerativas, inflamatórias ou vasculares que acometam o tronco encefálico prejudicam a sincronia do PEATE⁽⁹⁴⁾.

Nesse teste, basicamente são avaliadas as latências absolutas das ondas, que representam o tempo que o estímulo levou para desencadear o potencial auditivo em determinada estrutura, e a latência dos intervalos interpícos que demonstram o tempo que o potencial elétrico levou para transcorrer de uma estrutura a outra. Com relação às latências absolutas, quando estas estão aumentadas significa que provavelmente exista alteração periférica envolvida, pois a obtenção da latência absoluta leva em consideração o tempo que o estímulo demora em percorrer toda a via auditiva desde a fonte sonora até a despolarização da estrutura em análise. Já os intervalos interpícos, quando aumentados, indicam que existe alteração central, pois, para a análise do intervalo, leva-se em consideração o tempo que o estímulo percorre desde a despolarização de uma até a outra estrutura do tronco encefálico, ou seja, não há participação das estruturas periféricas para essa análise⁽⁹⁰⁾.

Para realizar o exame, é utilizado um equipamento eletrônico composto por um computador mediador, gerador de sinal acústico, amplificador e registrador. As respostas acontecem após uma estimulação sonora, apresentada por meio de fones de ouvido ou vibrador ósseo, e são captadas por meio de eletrodos de superfície da pele. Para a pesquisa da condução neural ou integridade de via auditiva, utiliza-se a apresentação monoaural do estímulo clique, que garante a participação de grande número de neurônios e apresenta amplo espectro de frequências, em intensidade elevada em torno de 80dB⁽⁹⁰⁾. O exame é simples, rápido, objetivo, não invasivo, e não é alterado com hipotermia moderada nem com altas doses de barbitúricos e outros depressores do sistema nervoso central⁽⁹⁵⁾.

O teste de potenciais evocados auditivos de longa latência (PEALL) é uma técnica neurofisiológica muito utilizada na avaliação cognitiva. Nele, são analisados os

potenciais compostos por estruturas com projeções talâmicas e do córtex auditivo primário e secundário.

Há potenciais auditivos gerados como resposta do sistema nervoso auditivo, que não dependem da atenção do paciente, denominados potenciais exógenos – P1, N1, P2, N2 – que surgem a partir de 80 ms, após estimulação sonora e potenciais evocados auditivos corticais relacionados a eventos, como o P300. A denominação P300 deve-se à onda - pico positivo que ocorre com latência ao redor de 300ms após o início da apresentação do estímulo auditivo. Para que ele ocorra, é necessário, além da apresentação de um estímulo acústico contínuo, a presença e processamento em nível cognitivo de um estímulo “inesperado”. Desse modo o P300 trata-se da manifestação eletrofisiológica da estratégia do sistema nervoso central para executar uma tarefa que requer atenção ⁽⁹¹⁾.

O P300 é um potencial de longa latência, gerado por uma rede neural, envolvendo vias aferentes e eferentes entre tálamo e o córtex temporoparietal e pré-frontal e entre tálamo, hipocampo e sistema límbico. Há a participação ainda do tronco encefálico e da formação reticular, responsáveis pela detecção, discriminação de eventos acústicos, assim como pela manutenção do estado de alerta e atenção, importante para a boa captação desse potencial ⁽⁹⁶⁾.

O processo de maturação desse potencial dura até a adolescência, sendo que de 6 anos até, aproximadamente 17 anos, a latência diminui, a amplitude aumenta e a morfologia melhora, atingindo sua menor latência de 18 a 24 anos ⁽⁹⁶⁾. A anatomia das estruturas/sítios geradores dos potenciais está demonstrada na Figura 8.

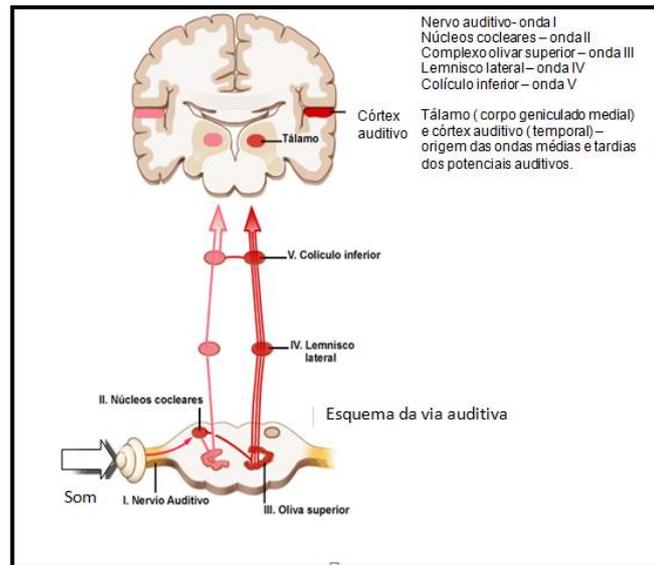


Figura 8 - Esquema da via auditiva aferente, sítios geradores dos potenciais evocados auditivos de curta e longa latência.

Fonte: Adaptada de Puel e Gil- Lozaga. Voyage au centre de L'audition: Vias auditivas y centros [internet]. [Acesso em: 20 ago. 2018]. Disponível em <http://www.cochlea.eu/es/exploracion-funcional/metodos-objetivos/vias-auditivas-y-centros> ⁽⁹⁷⁾.

3.3 Considerações sobre função endotelial, inflamação e avaliação da vasodilatação mediada por fluxo

3.3.1 Função endotelial e inflamação

O endotélio tem sido reconhecido não apenas como uma barreira física entre o sangue e a parede vascular, mas também como um órgão estrategicamente localizado e com múltiplas funções endócrinas, autócrinas e parácrinas ⁽⁹⁸⁾. Ele é um tecido altamente especializado, que regula a homeostase vascular e desempenha um papel protetor do vaso sanguíneo. Suas funções básicas consistem na regulação do tônus vascular, da adesão de leucócitos, do crescimento das células musculares lisas e da agregação plaquetária. Essa ação acontece através de estímulos fisiológicos, como o estresse de cisalhamento (*shear stress*) exercido pelo fluxo sanguíneo sobre as células endoteliais, que resulta na formação de NO, cuja função é manter o vaso sanguíneo em um estado constante de vasodilatação ⁽⁹⁹⁾. Por outro lado, a ET-1 age em sentido oposto ao NO, com efeito vasoconstritor ⁽¹⁰⁰⁾.

A DE refere-se a um desequilíbrio na produção endotelial de mediadores que regulam o tônus vascular, a agregação plaquetária, a coagulação e a fibrinólise. O

tônus vascular é o aspecto mais estudado, sendo um desbalanço entre a vasodilatação e vasoconstrição. A DE é frequentemente também referida como piora no relaxamento dependente do endotélio, causada, entre outros aspectos, pela perda da biodisponibilidade do NO ⁽¹⁰¹⁾.

Estudos indicam que o aumento de marcadores inflamatórios está relacionado com a DE. O aumento de alguns desses marcadores, como Interleucina-6 (Il-6), que estimula o aumento de proteína C reativa (PCR), está associado à diminuição da concentração de NO. Essa diminuição pode ocasionar uma menor vasodilatação dependente do endotélio, o que pode aumentar os riscos de DE, favorecendo a formação de trombos e, conseqüentemente, o risco de eventos cardiovasculares ^(102,103). As inflamações crônicas de baixo grau podem ser causadas por diversos fatores, tais como lesões crônicas, diabetes e obesidade, entre outras doenças ⁽¹⁰⁴⁾. A etiologia do processo inflamatório com conseqüentemente diminuição da vasodilatação é ilustrado na Figura 9.

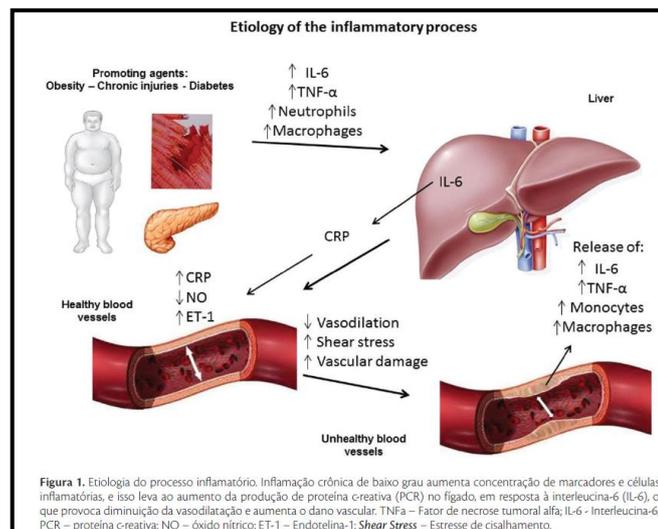


Figura 9 - Etiologia do processo inflamatório e conseqüente redução da vasodilatação

Fonte: Teixeira et al, 2014 ⁽¹⁰²⁾.

A DE desenvolve-se a partir da primeira década de vida em resposta a fatores de risco genéticos e ambientais, e isso apoia a riqueza de dados experimentais demonstrando que ela DE pode estar no caminho causal para o início e progressão da aterosclerose ⁽¹⁰⁵⁾. O desenvolvimento de medidas não invasivas para o estudo

da função endotelial tem sido um grande avanço na avaliação de grandes coortes durante o longo estágio pré-clínico da aterosclerose.

3.3.2 Avaliação da vasodilatação mediada por fluxo

Em 1992, foi descrito um teste não invasivo para medir a VMF utilizando ultrassom de alta resolução para mensurar o diâmetro das artérias braquial e femoral durante hiperemia reativa com aumento do fluxo causando vasodilatação dependente do endotélio, e posteriormente com uso sublingual de trinitrato de *glycerol* (para causar dilatação independente do endotélio). Esse estudo foi realizado em 100 participantes, sendo 50 controles sem risco cardiovascular, 20 fumantes, 10 crianças com hipercolesterolemia de causa hereditária; e 20 pacientes com doença coronariana estabilizada. Foi concluído que a VMF estava prejudicada em jovens livres de sintomas com fatores de risco para doença vascular, bem como em crianças na faixa de oito anos com hipercolesterolemia e adultos jovens fumantes, sugerindo que, fisiologicamente, importantes mudanças podem iniciar tão precocemente quanto a primeira década de vida ⁽¹⁰⁾.

A VMF da artéria braquial tem sido amplamente usada para avaliar a função endotelial e utilizada em adultos e crianças com base em diretrizes, o que reduz significativamente o erro de medida na avaliação da VMF ^(8,9). Segundo as diretrizes, alguns fatores podem afetar a VMF, tais como, temperatura, alimentos e drogas e estímulos simpáticos, entre outros, e alguns cuidados devem ser seguidos para a preparação do paciente submetido à sua avaliação. Os pacientes devem estar em jejum de pelo menos, 8 a 12 horas antes do estudo e devem ser estudados em uma sala silenciosa, com temperatura controlada. Todos os medicamentos vasoativos devem ser suspensos por, pelo menos, quatro meias-vidas, se possível. Além disso, os indivíduos não devem exercitar-se, nem ingerir substâncias que possam afetar a VMF, como cafeína, alimentos ricos em gordura e vitamina C, ou usar tabaco, por pelo menos, quatro a seis horas antes do estudo.

Para a acuidade do teste, o aparelho de ultrassom deve ser equipado com um *software* com imagens bidimensionais para vasos, com *doppler* colorido, monitor interno com eletrocardiograma e um transdutor vascular de alta frequência (mínimo

de sete mega-hertz. O paciente expõe o braço de maneira confortável para que sejam obtidas as imagens da artéria braquial. A artéria é localizada, então, acima da fossa antecubital. Para que seja estimulada a resposta vasodilatadora, um manguito de esfigmomanômetro é posicionado e insuflado acima da fossa antecubital ou na região do antebraço. A compressão no antebraço normalmente leva a uma porcentagem menor de dilatação da artéria. Ainda não há consenso na literatura sobre o melhor local de compressão. A pressão aplicada através do manguito deve ser de, pelo menos, 50 milímetros de mercúrio acima da pressão arterial sistólica, durante cinco minutos, para que ocorra a oclusão do fluxo arterial. Isso causa isquemia com consequente vasodilatação através de mecanismos autorregulatórios, desde que a função endotelial esteja mantida ⁽⁸⁾.

A variação do diâmetro da artéria braquial é calculada. As medidas são sempre feitas em três pontos diferentes da artéria braquial visualizada, calculando-se uma média. Em pessoas saudáveis, a VMF é de 7 a 10% do diâmetro da linha de base ⁽¹⁰⁶⁾. Em crianças e adolescentes não existem valores estabelecidos. Um estudo com uma amostra de 105 crianças saudáveis com média de idade de 10 anos (variação de 9 a 16 anos), sugere utilizar como limite inferior da normalidade valores da VMF abaixo do percentil 10 ⁽¹⁰⁷⁾.

Uma revisão sistemática, com o objetivo de relatar sobre a reprodutibilidade da VMF a fim de determinar a relação entre a adesão às diretrizes atuais para a mensuração da VMF e sua reprodutibilidade, envolveu 27 estudos com 48 grupos de estudo totalizando 1537 indivíduos incluídos nas análises, concluiu que a adesão às diretrizes atuais de consenso de especialistas reduzem significativamente o erro de medição ao avaliar a VMF da artéria braquial em humanos ⁽⁹⁾.

Além das inúmeras publicações do uso da VMF em doenças cardiovasculares, esse teste já foi utilizado para avaliar a função endotelial em doenças reumáticas ⁽¹⁰⁸⁾, diabetes ⁽¹⁰⁹⁾, área ginecológica ⁽¹¹⁰⁾ entre outras.

3.3.2.1 Avaliação da vasodilatação mediada por fluxo na anemia falciforme

O uso da VMF para avaliação do endotélio na AF foi utilizado em poucos estudos. Belhassen et al. ⁽⁶⁾ analisaram 16 pacientes com AF e 15 controles com idades de 18 a 40 anos, média de idade $28,5 \pm 1,1$ anos e $29,2 \pm 1,7$ anos, respectivamente. Os participantes com AF em estado estável, sem uso de tratamento transfusional crônico e sem transfusão aguda, há pelo menos, três meses, sem risco cardiovascular e uso de HU, vasodilatadores e drogas anti-inflamatórias. Os participantes com AF mostraram prejuízos na VMF em comparação aos controles ($1.73\% \pm 0,44\%$ versus $3.97\% \pm 0,24\%$; $p < 0,001$) e foi concluído que a falha dos vasos em ajustar seu diâmetro às mudanças geradas pelo estresse de cisalhamento, provavelmente reflete um comprometimento na liberação basal ou estimulada de NO, e esse comprometimento pode ser papel fundamental para a patogênese da crise vaso-oclusiva na AF.

Zawar et al. ⁽¹¹⁾ investigaram 37 casos de DF clinicamente estáveis, dos quais 19 eram Hb SS ($23,15 \pm 5,27$ anos) e 18 Hb AS ($22,05 \pm 5,17$ anos). Idade, sexo e Hb pareados com 33 controles. A VMF foi significativamente prejudicada nos casos de AF em comparação aos controles ($6,22\% \pm 0,91\%$ versus $16,85\% \pm 1,06\%$, $p < 0,05$; respectivamente), e em comparação aos casos Hb AS ($6,22\% \pm 0,91\%$ versus $12,56\% \pm 0,90\%$, $p < 0,05$). Um declínio na função endotelial foi observado com o aumento da duração dos sintomas, e número de crises vaso-oclusivas por ano e concluído que pode ser importante uma avaliação mais aprofundada com o intuito de investigar se modulações da DE por meio de medidas terapêuticas conhecidas podem mudar o curso e a gravidade da AF.

Montalembert et al. ⁽¹²⁾ avaliaram 21 crianças AF sendo oito Hb SS e três talassêmicos (Hb S- β 0) com média de idade de $10,4 \pm 3,3$ anos, clinicamente estáveis, sem uso de transfusão de sangue nos últimos três meses ou uso de HU e 23 afro-caribenhas controles. A VMF foi significativamente diminuída em crianças AF ($5,6 \pm 0,2\%$ versus $8,0 \pm 0,2\%$, $p = 0,008$) e foi constatado que a VMF prejudicada da artéria braquial, provavelmente relacionada à DE é observada em crianças com AF e sugerido que as terapias destinadas a aumentar o NO, como a administração de arginina devem ser consideradas em crianças com AF.

Hadeed et al.⁽¹¹¹⁾ avaliaram a VMF na artéria braquial e da artéria carótida de 30 crianças com DF, idade mínima de sete anos e média de 12,3±4,5 anos e 30 crianças controles saudáveis. Todos os pacientes estavam livres de sintomas, e sem crise dolorosa, hemolítica ou infecção nas oito semanas anteriores ao estudo e sem transfusão de sangue, nos três meses anteriores ao estudo. Os participantes com fatores de risco, como hipertensão, diabetes, obesidade, hipercolesterolemia e retardo de crescimento intrauterino também foram excluídos. Não houve diferença significativa na VMF entre os dois grupos (8,2±5,0% versus 9,3±4,2%, p=0,15; respectivamente). Conclui-se que crianças com DF não têm DE ou alteração na rigidez arterial e que essas manifestações podem estar relacionadas à gravidade e à duração da doença. As mudanças podem tornar-se evidentes mais tarde, na vida, à medida que a doença progride.

Teixeira et al.⁽¹¹²⁾ avaliaram a VMF da artéria braquial de 40 crianças e adolescentes com AF estável e 25 crianças saudáveis; com idade de 6 a 18 anos. A VMF foi, significativamente, reduzida no grupo AF e não houve diferença no valor da VMF na comparação entre grupos em uso e não uso de HU. Na estratificação do grupo AF, usando um ponto de corte de VMF, foi observado um aumento substancial na chance de ocorrência de síndrome torácica aguda com VMF abaixo de 6,65%.

3.3.2.2 *Avaliação da vasodilatação mediada por fluxo na presença de disfunções do sistema auditivo*

A literatura demonstra estudos utilizando a VMF para avaliação do endotélio buscando identificar prejuízos auditivos nos quais, fisiopatologicamente, um distúrbio microcirculatório da orelha interna, provavelmente causado por função endotelial alterada, é discutido como uma via comum final de uma variedade de etiologias, a exemplo da PASN súbita⁽¹¹³⁾.

Ballestshofer et al.⁽¹¹³⁾ utilizaram a VMF para avaliação da função endotelial em seis pacientes com média de idade de 56 ± 11 anos, com PASN súbita, antes e após o tratamento com reforescência. Também analisaram se a eliminação das proteínas de alto peso molecular, a exemplo de fibrinogênio, *low density lipoproteins- cholesterol* (LDL-C), α 2-macroglobulina, fibronectina e fator de *von-Willebrand*, que em parte,

são fatores de risco para PASN súbita, poderiam melhorar a função endotelial nesses pacientes. Como resultado, inicialmente, cinco dos seis pacientes apresentaram DE, evidenciada pela diminuição da VMF (VMF <5%). Após um único tratamento de reforesse, a VMF melhorou sensivelmente de $3,9 \pm 3,6\%$ para $7,2 \pm 2,4\%$ ($p= 0,05$) e o limiar auditivo médio na orelha afetada melhorou de 42 dB NA por 13 dB NA a 29 dB NA. Com base nessa série de casos, ficou concluído que o tratamento único com reforesse pode ter um efeito benéfico agudo sobre a disfunção endotelial em pacientes que sofrem de PASN súbita.

Cicccone et al. ⁽¹¹⁴⁾ avaliaram fatores de risco e função endotelial através da VMF em indivíduos com PASN súbita. Vinte e nove pacientes com PASN e vinte e nove controles foram submetidos à avaliação auditiva e do equilíbrio corporal (vestibular), avaliação clínica e medição da VMF da artéria braquial. Os resultados mostraram que a VMF foi significativamente menor nos pacientes com PASN súbita do que nos controles ($p<0,01$). Além disso, o colesterol total (CT) e LDL -C foram expressivamente maiores nos pacientes com PASN na comparação com os controles ($p<0,05$). O envolvimento vestibular mostrou-se associado a valores menores de VMF ($p<0,05$).

Berjis, Moeinimehr e Safoura ⁽¹¹⁵⁾ analisaram 30 pacientes com PASN súbita e 30 controles ($47,9 \pm 9,3$ versus $48,1 \pm 9,6$ anos; $p = 0,946$). A função endotelial foi avaliada medindo-se a VMF da artéria braquial. A VMF foi menor nos pacientes do que nos controles ($6,21 \pm 3,0$ versus $11,52 \pm 2,30\%$, $P <0,001$). A análise de regressão logística binária mostrou que a VMF foi associada com PASN súbita independente do nível glicêmico e perfil lipídico (*odds ratio* [intervalo de confiança de 95%] = $0,439 [0,260-0,740]$, $P = 0,002$).

3.4 Artigo 1: Disfunção do sistema auditivo na anemia falciforme: uma revisão sistemática

trackcloud.net/karger/xpresstrack/submissions/home.cfm




[author guidelines](#) | [logout](#)

[submit a new manuscript](#)

Welcome Dr. Mara Lago

Dr. Mara Lago
Universidade do Estado da Bahia
Salvador
Brazil

Email 1: mararenata@uol.com.br
 Email 2: mararissattolago@gmail.com
 Your ORCID iD:  <http://orcid.org/0000-0001-5807-2718>

edit contact information

Click on  and  to view and hide list(s) below:

MANUSCRIPTS AS CORRESPONDING AUTHOR

 **Manuscripts Currently Under Consideration** (1 manuscript)

201806016 Revision 0 *Dysfunction of the auditory system in si...*
 Submitted: 20/06/2018 Current Status: Under Review

Title

Dysfunction of the auditory system in sickle cell anemia: a systematic review

Short title

Auditory disorders in sickle cell anemia

Author names and affiliations

Mara Renata Rissatto Lago^{1,2}, Luciene da Cruz Fernandes³, Agda Araujo Gomes Alves², Ana Carolina Guimarães de Oliveira², Caio Leônidas Oliveira de Andrade⁴, Cristina Salles^{1,5}, Ana Marice Teixeira Ladeia¹.

1. Postgraduate Course in Medicine and Human Health, Bahiana School of Medicine and Public Health. Avenida Dom João VI – Brotas. 40285 000, Salvador, Bahia, Brazil

2. College of Speech Therapy, Department of the Life Science, State University of Bahia. Rua Silveira Martins 2555. Cabula, 41195-001, Salvador, Bahia, Brazil

3. Department of Speech Therapy, Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia. Avenida Reitor Miguel Calmon, s/n – Vale do Canela. 40.110-910, Salvador, Bahia, Brazil.

4. Post-graduation Program of Interactive Processes between Organs and Systems (PPgPIOS), Institute of Health & Sciences, Universidade Federal da Bahia (UFBA).

5. Department of Otolaryngology, University Hospital Professor Edgar Santos, Federal University of Bahia. Rua: Augusto Viana, s/n –Vale do Canela. 40.110-910, Salvador, Bahia, Brazil.

Institute where the work was conducted

Bahiana School of Medicine and Public Health

Authors' contributions: MRRL, LCF, CS, and AMTL conceived the idea and drafted the manuscript; MRRL, LCF, AAGA, and ACGO worked on data collection and writing the manuscript; LCF, CLOA, CS, and AMTL performed a critical review of the manuscript.

Compliance with ethical standards

Funding sources

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflict of interest: The authors declare there are no conflicts of interests

Ethical approval: This article does not contain any studies with human participants or animals conducted by any of the authors.

Manuscript type: Literature review

Contact information of the corresponding author

Mara Renata Rissatto Lago

State University of Bahia, Department of Life Science. Rua Silveira Martins 2555.

Cabula, 41195-001, Salvador, Bahia, Brazil.

Telephones: +55(71) 99163-5073/+55(71) 31172295 (Fax number)

Email address: mararenata@uol.com.br

Abstract

Background: Sickle cell anemia (SCA) is a monozygotic hereditary disorder resulting from hemoglobin abnormalities in red blood cells. Damage to the auditory system as a result of the vaso-occlusive processes of SCA has been referenced in the literature. However, there is insufficient information regarding the characteristics and prevalence of this damage. **Objectives:** The aim of this systematic review was to describe the occurrence of both peripheral and central auditory system dysfunction in SCA patients and discuss the different mechanisms hypothesized to be responsible for these alterations. **Methods:** An electronic search was conducted using MEDLINE/PubMed Central®, LILACS® and Scopus® databases. Original observational studies that utilized audiological tests for auditory system evaluations in SCA were included. **Results:** Pure tone audiometry indicated sensorineural hearing loss with a prevalence of 3.8%–66%. Auditory brainstem response assessments indicated injury of the central auditory system. In addition, the increase in otoacoustic emissions amplitudes in SCA patients indicates changes in cochlear micromechanics and precedes the expression of a detectable cochlear pathology. **Conclusion:** Dysfunction of the auditory system may be present in SCA patients, with the most probable mechanism being the presence of circulatory disturbances resulting from the chronic inflammatory state of the disease.

Keywords: Anemia, Sickle Cell; Evoked Potentials, Auditory; Hearing Loss; Otoacoustic Emissions, Spontaneous; Review.

Introduction

The clinical manifestations of sickle cell disease (SCD) may be attributed to three mechanisms: vaso-occlusion, chronic anemia, and infections, with vaso-occlusion being the earliest and most common of these manifestations. The process of vaso-occlusion leads to ischemia, pain, tissue infarction, perivascular inflammation, and eventually, chronic damage to various organs and systems[1–3].

Concerning the effects of SCD on the auditory system, evidence documented since the past century has revealed the presence of SCD-related symptoms and auditory pathway dysfunction[4–8]. The physiopathological mechanism underlying these symptoms appears to be linked to circulatory changes in the auditory system as a result of the abnormally shaped blood cells, which cause hypoxia in the structures of the inner ear and the central auditory system (CAS)[3,6–8].

There is a consensus among various studies that SCD subjects show a higher occurrence of sensorineural hearing loss (SNHL) in comparison with healthy participants[9–14]. However, these studies differed with respect to their objectives and methodologies, and they used population samples meeting different criteria for age and disease severity. In addition, they included different genotypes of SCD (homozygotes or sickle cell anemia [SCA], which are more prevalent and present with more complications[15], and heterozygotes or hemoglobinopathies with fewer complications [16]); hence, the prevalence, pattern of characteristics, and physiopathology of SNHL in specific genotypes, especially in SCA (with increased disease severity), were not elucidated.

Therefore, a synthesis of the published information regarding auditory system injury in SCA could help increase the knowledge regarding this clinical situation and improve the performance of professionals who work with this population. Thus, the aim of this systematic review was to describe the occurrence of dysfunctions in both peripheral and CAS, such as SNHL, in SCA patients and to discuss the different hypotheses regarding the etiopathogenesis of these alterations.

Methods

Search strategy

The search was performed in the databases of MEDLINE/PubMed Central® (PMC), Latin American and Caribbean Health Sciences Literature (LILACS), and Scopus® for all literature published between January 1996 and the first week of November 2016. Hand searches of the bibliographies of review articles were also performed. The search strategy used a controlled vocabulary supplemented with keywords describing the following concepts: “sickle cell AND hearing loss,” “sickle cell AND acoustic impedance tests,” “sickle cell AND audiometry,” “sickle cell AND otoacoustic emission,” “sickle cell AND “brainstem auditory evoked response potential.”

Study selection

Studies that met the following criteria were included: a) articles published in English; b) observational cross-sectional, case-control, or cohort studies; c) studies focused on peripheral or CAS dysfunction in patients with SNHL; d) studies assessing the prevalence of SNHL in patients with SCA; and e) studies conducted using pure-tone audiometry (PTA), otoacoustic emission (OAE) assessments, or auditory evoked response tests. Review articles, case reports, studies with samples including other

genotypes of SCD without differentiation between homozygotes (SCA) and heterozygotes in the methods and/or the results, and studies including participants with SCA and other associated disorders were excluded.

Study characteristics

Screening and eligibility assessments were performed by two independent investigators who read the titles and abstracts of all articles in order to identify those that met the inclusion criteria and those that could not be clearly excluded. Disagreements were solved by consensus in staff meetings. Three authors then proceeded to read the selected articles in full to ensure that they met the criteria for the systematic review. The selected studies were critically appraised and data were recorded. A standardized record form was designed and pretested; the characteristics of the study, such as the year, setting, population and sampling, study design, and hearing test used to identify the hearing impairment were recorded; and the quality of the study was assessed by the modified Newcastle-Ottawa scale (NOS), which has been adapted for cross-sectional studies[17]. The scores on this scale are categorized as follows: 0–3 points, low quality; 4–6 points, appropriate quality; and 7–9 points, high quality. The data were reported according to the PRISMA statement checklist, and a four-phase flow diagram was produced[18]. In studies that included heterozygotes in the sample, the results analyzed were restricted to the homozygote group (SCA).

Results

A total of 173 records were found in the databases searched. Of these, 21 were eligible for reading, analysis, and discussion among the reviewers on the basis of the inclusion criteria. Of these 21 studies, 6 were excluded because they did not differentiate between homozygotes (SCA) and heterozygotes in the methods and/or in

the results. Thus, 15 articles were included in this systematic review [10–12,19–30] (Figure 1).

All the studies were observational cross-sectional studies. Among the 15 articles included in this systematic review, nine [10–12,19–24] primarily aimed to determine the prevalence of SNHL in SCA using PTA. Five studies [25–29] used the OAE test for identifying dysfunction of the peripheral auditory system. The CAS was evaluated using the auditory evoked response tests specifically the auditory brainstem evoked response (ABR) test in three studies in this systematic review [19,22,30]; however, two of these three studies [19,22] used audiometry and ABR.

In total, 709 participants comprised the sample of the studies analyzed in this review. In the analysis of the quality of the studies, no study presented the minimum score or non-response rate or reached the maximum score. All studies had appropriate quality with scores of 4–6 points on the NOS. The scores of the studies are presented in Tables 1 and 3, except for one study[30] that analyzed CAS with ABR and had a score of 4.

Pure tone audiometry – prevalence of sensorineural hearing loss

The studies[10–12,19–24] that analyzed the prevalence of SNHL using PTA assessed a total of 585 participants with SCA. The samples ranged from 23 to 167 participants of both sexes; the age range was 4–56 years. However, the majority of studies included a broad age range. Only two studies[11,23] restricted the age range to children and adolescents. The country-wise distribution included Mediterranean and tropical countries. The data are summarized in Table 1.

All the studies analyzed showed the presence of SNHL. The prevalence ranged from 3.8%[23] to 66%[10]. The characteristics of SNHL in SCA are described in Table 2.

Otoacoustic emissions

Five studies with a total of 110 participants with SCA used the OAE test for identifying dysfunction of the peripheral auditory system: three studies used the distortion product (DPOAE)-type assessments[25–27], and the other two studies used transient OAE (TOAE)-type assessments[28,29]. The samples ranged from 12 to 35 participants of both sexes; the age range was 6 months to 17 years, with three studies[25–27] showing an age range of 6–14 years. Four studies[25–28] used individuals with average pure tone thresholds ≤ 20 dB, and one study[29] did not use pure tone thresholds in the sample selection criteria. The country-wise distribution showed that four studies were from the United States (USA)[25–28] and one was from Ghana[29]. These studies' characteristics are described in Table 3.

Differences in the OAE amplitudes were noted in four of the five studies, with an increase in amplitude being identified in the group with SCA. Of these four studies, three used DPOAE-type assessments[25–27] and one used the TOAE type[28]. One study[29] analyzed the presence of OAEs, and one (3%) of 35 children with SCA and 13 (11%) of the 115 healthy control children failed the OAE test; however, there was no difference in the amplitude of OAEs between the groups. The data with reference to the main characteristics of the OAEs found in the studies are shown in Table 4

Auditory brainstem evoked response

The CAS was evaluated in three studies[19,22,30] of this systematic review using the ABR test. A total of 63 participants of both sexes (age, 15–50 years) were evaluated. Of these, one study[19] analyzed 10 participants with unilateral hearing loss without changes in ABR, excluding retrocochlear pathology. Another study[22] assessing 39 participants with SCA (17 [44%] with SNHL) aged 16–50 years demonstrated changes in the ABR with prolongation of the interpeak latency I-V as a

result of prolongation of the interpeak latency III-V. These results were similar to those in the third study[30], which assessed 14 participants with SCA and SNHL (age, 15–25 years) and indicated retrocochlear involvement in eight participants with moderate SNHL severity (45–70 dB).

Discussion

The present systematic review aimed to analyze dysfunctions of both the peripheral and CAS in SCA disease in order to identify the mechanisms involved in this clinical condition, which is observed very frequently worldwide. Despite an extensive literature search to identify studies, only a few met the eligibility criteria. Several studies that included SCD patients with different genotypes were excluded. The selected studies used diverse methods for measurement of auditory impairment in patients with SCA, including PTA, OAE, and ABR. The studies had appropriate quality scores, as assessed by the modified NOS.

The reference test used to identify auditory impairments in most of the studies analyzed in this review was PTA. The main finding was the presence of SNHL, with the incidence ranging from 3.8%[23] to 66%[10], indicating a significantly higher prevalence in SCA patients in comparison with that in the healthy population, which has been reported to be 0%[12,19,20,23], 3.6%[21], 6.2%[11], and 7.5%[22,24]. In the comparisons performed in studies that included SCD patients with different genotypes, the prevalence and characteristics of SNHL in the SCA group were similar to those in patients with HbSC or other hemoglobinopathies in SCD[4]

The analyzed studies showed great variability in the reported characteristics of SNHL in SCA patients. With respect to the severity of hearing loss, we observed a predominance in the mild range[9,12,20,22–24], although different degrees were noted

in five studies[19,20]. Apparently, the initial effect was observed at the higher frequencies (4–8 kHz)[9,10,12,22–24] followed by the low frequencies (0.25– 0.5 kHz)[10–12,24]. In contrast, one study[11] reported initial involvement of the lower frequencies. SNHL can occur in one or both ears and presents in patients of both sexes[9,11,19,20,22], with no consensus regarding the difference between the sexes, a fact that has not yet been explained in the literature[12,20]. There was no biological plausibility described with respect to the higher frequency of SNHL in female patients with SCA. One study[12] hypothesized that the loss of blood during menstrual periods may lead to an additional hemodynamic stress and may probably predispose the patient to cochlear damage during vaso-occlusive crises.

With respect to age, the studies demonstrated that SNHL in SCA patients could occur in different age groups, including children, adolescents, and young adults. However, most of the studies included samples with a wide age range, which led to inaccurate results regarding prevalence by age group. Furthermore, studies with a broad age range showed a greater SCA prevalence in patients aged ≥ 30 years[10,20,22]. It might be expected that as patients with SCA grow older, they will experience repeated crises and show an increased incidence of SNHL. In addition, two other studies[12,21] described a trend towards worsening of the hearing thresholds with increasing age, suggesting that SNHL is progressive in SCA patients; this data can also be related to higher frequencies (4–8 kHz). Only two studies restricted the age range to children and adolescents and demonstrated divergent prevalence [11,23]. Nevertheless one study[20] that analyzed SNHL by age group demonstrated a considerable prevalence in children.

Discrepancies in the identified characteristics of SNHL may be attributable to the peculiarities of the studies, such as the sample size and the wide age range, haplotypes of the β -globin gene region, and factors related to disease severity that were

not analyzed in detail. Thus, there is a need for studies with a considerable number of samples in specific age groups. In the studies included in this review, the cutoff point to identify the presence of SNHL was measured in four different ways, which probably contributed to the variability of the observed results.

The most accepted etiopathogenesis of SNHL in SCA that has been described refers to the sickle-shaped red blood cells, the reduction in blood flow in the cochlear venal system, and the consequent chronic deficiency in the oxygen balance, leads to hypoxia in the Organ of Corti and death of the outer hair cells (OHC)[31]. These hypotheses were confirmed through histopathological studies of the temporal bone of a child with SCA and SNHL that demonstrated the following findings: conglomeration of sickle-shaped red blood cells in the vascular stria circulation, degenerative changes in the Organ of Corti, and reduction in the OHC compatible with hypoxia[32]. On the basis of the hypothesis of circulatory changes in the auditory system in SCA, the variations in the characteristics of SNHL in SCA could be explained by the duration, distribution, and size of the ischemic process in the inner ear circulation[21]. The sensitivity of the basal part of the cochlea to anoxia, due to the high oxygen consumption of the stria vascular[11], may explain why SNHL initially affected the high frequencies, as described in the studies.

The negative impact of the disease on hearing associated with the vascular involvement was described in one study[24]. Patients with SNHL showed a severe form of the disease, with frequent vaso-occlusive crises (7–8 crises per year) requiring frequent hospitalization and lower levels of fetal hemoglobin.

Considering the physiopathology and sensitivity of the inner ear, there may be damage that has not yet been detected in PTA[33]. Of the five studies included in review, the majority of studies identified that OAE amplitudes were significantly larger

for participants with SCA in comparison with those in healthy participants (hearing thresholds ≤ 20 dB)[25–28] in both DPOAE and TOAE among adolescents and young adults of both sexes. One study[29] showed no difference between the amplitude in the SCA and control groups. However, the authors of that study did not discuss audiometric data in their methodology, and their sample was composed of babies and children ≤ 10 years of age, who show a lower frequency of complications resulting from the disease[2] and are consequently free of complications in the auditory system. In this extensive bibliographical research, it is important to emphasize that four of the five papers belong to one author group, and they may have included overlapping subjects.

The increase in amplitude of the OAE in SCA suggests early changes in the cochlear micromechanics that may progress to the appearance of detectable SNHL in PTA. The increase in amplitude may not be attributed to the functional differences in the outer ear and mean values evaluated in tympanometry[26]; A hypothesis for the increase in amplitude of the OAEs in SCA would be due to the beginning of auditory dysfunction in the CAS because of aberrant medial olivocochlear (MOC) neural function; however this hypothesis was contradicted in one study in the literature [28], which did not find differences in the mean of the TOAE suppression between the groups with SCA and healthy participants indicating normal function of the MOC

The association between the increase in the amplitude of OAEs in participants with SCA who did not receive treatment with HDU in comparison with that in the HDU-treated participants[27] is evidence for the possibility that premature changes in the cochlear micromechanics result from the inflammatory process of SCA. Since HDU is a drug that diminishes the inflammatory process in SCA by reducing the adhesion of erythrocytes and leukocytes to the vascular endothelium and reduces myelosuppression and vasodilatation by means of nitric oxide release[34], it is possible that the return of

the amplitudes of the OAEs to a normal level reflects a reduction in the mechanism of the undetermined cause of the increase in the amplitude of OAEs.

However, the hypoxia resulting from abnormally shaped blood cells in the circulation may lead to the absence of blood supply to the neurons responsible for the transmission of the electrical impulses via the CAP[4,5]. This may lead to changes in the MOC efferent and emergence of reflexive processes of synaptic growth and hyperactivity of the ventral cochlear nucleus, which is responsible for control of the OHCs; thus, the electromotility of the OHCs is elevated with the purpose of improving cochlear sensitivity and increasing the gain of the signal in the cochlea. Nevertheless, only one study in the literature[28] researched this topic in SCA, and this study had limitations related to the small sample size and the type of OAE used, excluding dysfunction of the MOC in SCA.

Abnormalities in the ABR test were found in two studies[22,30] analyzed in this systematic review. Prolongation of the interpeak latency of I–V as a result of prolongation of the interpeak latency of III–V was found in both studies, indicating the presence of a lesion in the superior portion of the brainstem. The pathogenesis of these changes is not yet clear, suggesting damage resulting from the absence of blood supply to the neurons responsible for transmission of the electrical impulse via the CAS[4,5]. In another study[19] with 10 participants with unilateral hearing loss, CAS pathology was excluded without alterations in ABR.

By analyzing the studies included in this systematic review, it is possible to formulate the hypothesis that the chronic inflammatory process of SCA causes changes in the circulation of the auditory system, which leads to hearing loss. The increase in OAE amplitudes refers to changes in cochlear micromechanics and precedes the expression of detectable cochlear pathology. With progression of the disease and

increase in the vaso-occlusive processes, ischemic processes may occur in the spiral ganglion in the basal part of the cochlea, and the reduced blood flow may cause SNHL. In addition, ischemia in CAS can lead to alterations in the CAP. The progression of these changes may result from both the increase in age and the clinical characteristics of the SCA patient, and the treatment performed for the stabilizing SCA.

Arguments for a common causal etiology related to the circulatory changes in SCA were mentioned in a large number of studies in this literature review. However, further studies are still necessary to determine the mechanism by which these physiopathological changes contributing to dysfunction of the peripheral and CAS occur. Furthermore, studies with standardized outcome measures and methodologies, including the use of specific age ranges and homogeneous samples, are imperative to elucidate the correlation between dysfunction of the auditory system in SCA, considering the association of these changes with the clinical characteristics of SCA and the treatment used.

Evaluation of hearing among all the patients with a diagnosis of SCA appears to be an accepted approach, and must include PTA, OAE, and ABR. Subsequent early diagnosis of auditory alterations resulting from SCA is very important, because these alterations can result in difficulty in sound comprehension and further compromise the acquisition of auditory abilities, which are responsible for success of verbal communication. However, other studies with a specific objective are necessary.

Conclusions

The findings of this review demonstrate that patients with SCA may have auditory alterations stemming from a cochlear or central origin. SNHL seems to be more prevalent among SCA in comparison with healthy people. Furthermore, it can

occur in different age groups, including children, adolescents, and young adults and although it seems to evolve with increasing age, there is no consensus regarding the prevalence in children, necessitating further studies addressing more restricted age groups. In addition, the larger OAE amplitudes in SCA indicate that the mechanism most likely responsible for hearing loss is the presence of circulatory disorders resulting from the chronic inflammatory state of the disease.

Acknowledgements: This article is part of Mara Renata Rissato Lago's PhD thesis in the Bahiana School of Medicine and Public Health Postgraduate Course.

References

- 1 Donegan JO, Lobel JS, Gluckman JL: Otolaryngologic manifestations of sickle cell disease. *Am J Otolaryngol* 1982;3:141–144.
- 2 Powars DR, Chan LS, Hiti A, Ramicone E, Johnson C: Outcome of Sickle Cell Anemia: A 4-Decade Observational Study of 1056 Patients. *Medicine (Baltimore)* 2005;84:363–376.
- 3 Saito N, Nadgir RN, Flower EN, Sakai O: Clinical and radiologic manifestations of sickle cell disease in the head and neck. *Radiographics* 2010;30:1021–34.
- 4 Jabr I Al: Hearing loss among adults with sickle cell disease in an endemic region: a prospective case-control study. *Ann Saudi Med* 2016;36:135–138.
- 5 Silva LP, Nova C V, Lucena R: Sickle cell anemia and hearing loss among children and youngsters: literature review. *Braz J Otorhinolaryngol* 2012;78:126–131.
- 6 Saito N, Watanabe M, Liao J, Flower EN, Nadgir RN, Steinberg MH, et al.: Clinical and Radiologic Findings of Inner Ear Involvement in Sickle Cell Disease. *Am J Neuroradiol* 2011;32:2160–2164.
- 7 Whitehead RE, MacDonald CB, Melhem ER, McMahon L: Spontaneous labyrinthine hemorrhage in sickle cell disease. *Am J Neuroradiol* 1998;19:1437–1440.
- 8 Rissatto-Lago MR, Salles C, de Pinho FGC, Menezes Lyra I, Terse-Ramos R, Teixeira R, et al.: Association between endothelial dysfunction and

- otoneurological symptoms in children with sickle cell disease. *Hematology* 2017;22:299–303.
- 9 MacDonald CB, Bauer PW, Cox LC, McMahon L: Otologic findings in a pediatric cohort with sickle cell disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 1999;47:23–28.
 - 10 Onakoya PA, Nwaorgu OGB, Shokunbi WA: Sensorineural hearing loss in adults with sickle cell anaemia. *Afr J Med Med Sci* 2002;31:21–24.
 - 11 Mgbor N, Emodi I: Sensorineural hearing loss in Nigerian children with sickle cell disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2004;68:1413–1416.
 - 12 Aderibigbe A, Ologe FE, Oyejola BA: Hearing thresholds in sickle cell anemia patients: emerging new trends? *J Natl Med Assoc* 2005;97:1135–1142.
 - 13 Taipale A, Pelkonen T, Bernardino L, Peltola H, Pitkaranta A: Hearing loss in Angolan children with sickle-cell disease. *Pediatr Int* 2012;54:854–857.
 - 14 Odetoyinbo O, Adekile A: Sensorineural Hearing Loss in Children with Sickle Cell Anemia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1987;96:258–260.
 - 15 Lionnet F, Hammoudi N, Stojanovic KS, Avellino V, Grateau G, Girot R, et al.: Hemoglobin sickle cell disease complications: A clinical study of 179 cases. *Haematologica* 2012;97:1136–1141.
 - 16 Weatherall DJ, Dc W, Weatherall J: The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden 2012;115:4331–4336.
 - 17 Wells G, Shea B, O’Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, et al.: The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses 2011; Available from: http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp.
 - 18 Wolff FH: Physical Activity : Do Patients Infected with HIV Practice ? How Much ? A Systematic Review Physical Activity : Do Patients Infected with HIV Practice ? How Much ? A 2014; DOI: 10.2174/157016212802429794
 - 19 Al-Dabbous I, Jam’a AH, Obeja SK, Murugan ANR, Hammad HA: Sensorineural Hearing Loss in Homozygous Sickle Cell Disease in Qatif, Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* 1996;16:641–644.
 - 20 Al-muhaimed H, Thomas G, Sedran A, Nasher H: Pattern of hearing loss in sickle cell disease. *Aust J Oto-Laryngology* 2000;3:472–475.
 - 21 Piltcher O, Cigana L, Friedrich J, Andrade F De, Ribeiro Q, Selaimen S:

- Sensorineural hearing loss among sickle cell disease patients from southern Brazil. *Am J Otolaryngol* 2000;21:75–79.
- 22 Jovanovic-Bateman L, Hedreville R: Sensorineural hearing loss with brainstem auditory evoked responses changes in homozygote and heterozygote sickle cell patients in Guadeloupe (France). *J Laryngol Otol* 2006;120:627–630.
- 23 Alabi S, Ernest K, Eletta P, Owolabi A, Afolabi A, Suleiman O: Otological findings among Nigerian children with sickle cell anaemia. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2008;72:659–663.
- 24 Samperi P, Bertuna G, Rossi G, Poli G, Serra A: Sensorineural hearing loss in sickle cell disease patients in Sicily. *Minerva Pediatr* 2005;57:285–288.
- 25 Downs CR, Stuart A, Holbert D: Distortion product otoacoustic emissions in normal-hearing children with homozygous sickle cell disease. *J Commun Disord* 2000;33:111–119.
- 26 Walker LJ, Stuart A, Green WB: Outer and middle ear status and distortion product otoacoustic emissions in children with sickle cell disease. *Am J Audiol* 2004;13:164–172.
- 27 Stuart A, Jones SM, Walker LJ: Insights into elevated distortion product otoacoustic emissions in sickle cell disease: comparisons of hydroxyurea-treated and non-treated young children. *Hear Res* 2006;212:83–89.
- 28 Stuart A, Preast JL: Contralateral suppression of transient-evoked otoacoustic emissions in children with sickle cell disease. *Ear Hear* 2012;33:421–429.
- 29 Kegele J, Hurth H, Lackner P, Enimil A, Sylverkin J, Ansong D, et al.: Otoacoustic emission testing in Ghanaian children with sickle-cell disease. *Trop Med Int Health* 2015;20:1209–1212.
- 30 Husain A, Habib SS, Al Drees A, Omar SA, Mujeed AS: Short-latency brainstem auditory-evoked responses associated with homozygous sickle cell disease. *J Appl Hematol* 2011;2:197–199.
- 31 Serjeant GR, Norman W, Todd GB: The internal auditory canal and sensorineural hearing loss in homozygous sickle cell disease. *J Laryngol Otol* 1975;89:453–455.
- 32 Morgenstein KM, Manace ED: Temporal bone histopathology in sickle cell disease. *Laryngoscope* 1969;79:2172–2180.
- 33 Friedman EM, Herer GR, Luban NL, Williams I: Sickle cell anemia and hearing. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1980;89:342–347.

- 34 Manwani D, Frenette PS: Vaso-occlusion in sickle cell disease: pathophysiology and novel targeted therapies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013;2013:362–9.

Table 1. Studies that investigated sensorineural hearing loss using pure-tone audiometry in sickle cell anemia (n = 9).

Study (author, year, and country)	Score of the modified NOS	Number (n)/Sex of the participants HbSS	Age range (years)	Frequencies tested (kHz) and cutoff point for identifying hearing loss
AlDabbous et. al (1996); Saudi Arabia [19]	4	100 (42F/58M)	5–40	0.5–8 kHz HL:HT \geq 25 dB at one or more frequencies in one or both ears
Al-Muhaimeed H, et al. (2000); Saudi Arabia [20]	5	50 (22F/28M)	4–45	0.25–8 kHz HL:HT > 20 dB at two or more frequencies in one ear or one frequency in both ears
Piltcher et al. (2000); Brazil [21]	5	28 (15M/13F)	6–55	Did not describe frequencies evaluated HL: HT > 20 dB at two or more frequencies in one ear or one frequency in both ears
Onakoya et al (2003) Nigeria [10]	4	167 (96F/73M)	15–56	0.25–8kHz HL:HT > 25 dB at one or more frequencies in one or both ears
Mgbor & Emodi (2004); Nigeria[11]	4	52 (36M/16 F)	6–19	0.25–8 kHz HL:HT > 25 dB at one or more frequencies in one or both ears
Aderibigbe et al. (2005); Nigeria [12]	6	46 (21M/25F)	16–48	0.125–8 kHz HL:HT > 25 dB at the mean value of frequencies of 0.5, 1, 2 and 4 kHz in one or both ears.
Jovanovic-Batman & Hedreville (2006); Guadeloupe (France) [22]	6	39 (*did not discriminate sex in the HbSS Group)	16–50	0.25–8 kHz HL:HT > 20 dB at two or more frequencies in one or both ears
Alabi et al. (2008); Nigeria [23]	6	80 (45M/35F)	4–15	0.25–8 kHz HL:HT > 25 dB at one or more frequencies in one or both ears
Samperi et al. (2005); Italy [24]	5	23 (*did not discriminate sex in the HbSS Group)	7–33	0.25–8 kHz HL: HT > 25 dB at one or more frequencies in 1 or both ears

Legend: NOS: Newcastle-Ottawa scale; kHz: kilohertz; dB: decibel; HL: hearing loss; HT: hearing threshold; M: male; F: female; HbSS: hemoglobin SS.

Table 2. Characteristics of sensorineural hearing loss found in pure-tone audiometry in sickle cell anemia (n = 8)

Study	Prevalence (%) in all participants and prevalence (%) in age groups	Laterality	Sex	Level of hearing loss (severity) Decibel (dB)	Frequencies at hearing loss
Al-Dabbous et. al (1996)[19]	19 (19%) of all participants; Age groups: ≤12 years – 5 of the 41 participants (12.19%) ≥13 years – 14 of the 45 participants (31.11%). Difference not statistically significant (p > 0.05)	10 (52.6%) unilateral	Females 6 (14.28%) Males 13 (22.41%) Difference not statistically significant (p > 0.05)	2 (10.5%) mild range (25–40 dB), 12 (63.5%) moderate range (41–70 dB), and 5 (26.3%) severe range (71–90 dB)	NR
Al-Muhaimed H, et al. (2000)[20]	18 (36%) of the total participants; Age groups: ≤12 years – 9 of the 23 participants (39%) ≥13 years – 9 of the 27 participants (33%)	13 (72%) unilateral.	Females were affected more frequently than males, but the difference not statistically significant (p > 0.05)	Total of 23 ears: 17 (73.9%) mild range (26–40 dB), 4 (17.4%) moderate range (41–60 dB), and 2 (8.7%) severe range (>60 dB)	NR
Onakoya et al (2003) [10]	18 (36%) of the total participants; 110 (66%) of the total participants; NR age group; Worsening of the hearing threshold with advancing age	68 (62%) bilateral	Both sexes were equally affected	Total of ears: 103 (58%) mild range (26–40 dB)	Mainly affected at high frequencies (4-8 kHz). Low frequencies in 10 ears (9%)
	6 (21.4%) of the total participants. Did not describe the prevalence in each age group; mean age 10 years. Participants older than 25 years had poorer hearing than did the younger patients (**)The small number of patients with SNHL 6 does not permit any definitive conclusion as to the characteristics of those losses	Tendency for the hearing loss to be bilateral**	NR**	NR	No association with specific frequency ranges **

continuation of table 2

Study	Prevalence (%) in all participants and prevalence (%) in age groups	Laterality	Sex	Level of hearing loss (severity) Decibel (dB)	Frequencies at hearing loss
Mgbor and Emodi (2004) [11]	7 (13.4%) of the total participants; Age groups: 7-9 years – 4 (57.1%) 9-11 years – 2 (28.6%) 11-13 years – 1 (14.3%)	100% unilateral	Both sexes were equally affected	2 (28.6%) mild (35 dB), and 5 (71.4%) had a threshold > 35 dB	2 (28.6%) affected at high frequency (8 kHz) and 5 (71.4%) at 0.25–6 kHz; Tendency to initially affect the low (0.25–0.5 kHz) followed by the high frequencies (4–8 kHz)
Aderibigbe et al. (2005)[12]	4 (4.3%) of the total participants; NR age group; Worsening of the hearing threshold with advancing age	100% unilateral. Hearing threshold in the right ear tended to be worse than that in the left ear	Worse thresholds in female sex	100% mild range (20–40 dB)	Worse thresholds at low (0.25–0.5 kHz) and high (8 kHz) frequencies
Jovanovic-Batman e Hedreville (2006) [22]	17 (44%) of the total participants. Mean age – 31 years. NR age group	NR	Both sexes were equally affected	100% mild range (20–40 dB)	Affected at high frequencies (4–8 kHz)
Alabi et al.(2008) [23]	3 (3.8%) of the total participants. Age: 100% < 7 years	100% bilateral	NR	100% mild range (26–40 dB)	Affected at high frequencies (8 kHz)
Samperi et al. (2005)[24]	7 (31.8%) – one excluded due to hereditary hearing loss. Did not mention specifically age for participants HbSS with SNHL	5(71,42%) unilateral	NR	100% mild range (26–40 dB)	Mainly affected at high frequencies (4–8 kHz)

Legend: *kHz* kilohertz, *dB* decibel; NR not reported

3. Studies with sickle cell anemia using the tests of transient and distortion product otoacoustic emissions (n = 5).

Study (author, year and country)	Score of the modified NOS	Number (n) sex of participants HbSS	Age (years) mean/SD	OAE variables analyzed
Downs et al.(2000); United States [25]	6	20 (11M/9F)	6–13 years 8.4 (± 2.2) years	DPOAE 1–5 kHz; Signal 2F1–F2 Criteria: noise level < -6 dB; S/N ≥ 3 dB/or absolute noise level < -12 dB Comparison of amplitude between SCA group and healthy controls
Walker et al.24 (2004); United States [26]	6	12 (5M/7F)	6–14 years 9.5 (± 2.8) years.	DPOAE 1–5 kHz; Signal 2F1–F2 Criteria: noise level < -6 dB;S/N ≥ 3 dB/or absolute noise level < -12 dB Comparison of amplitude between Group SCA and healthy controls, and association of amplitude with outer ear condition and mean analyzed in tympanometry
Stuart et al. (2012); United States [27]	6	30 Group I: 15 HDU-treated (9M/6F) Group II: 15 HDU non-treated (6M/9F)	Group I: 6–14 years 10.5(±4,2) years Group II: 6–14years 9.1(±2,9) years	DPOAE 1–5 kHz; Signal 2F1–F2 Criteria: noise level < -6 dB;S/N ≥ 3 dB/or absolute noise level < -12 dB Comparison of amplitude between group I, group II and healthy controls
Stuart and Preast (2012); United States [28]	6	13 (5M/7F)	5–17 years 9.9 (± 4.2) years	TOAE 1–4 kHz; R 70%; S/N ≥ 3 dB Analysis of amplitude and presence of effect of suppression-reduction in amplitude of OAEs with white noise emission in contralateral ear. Analysis between SCA and healthy controls
Kegele et al (2015); Ghana [29]	4	35 (* did not discriminate between sexes)	6 months–10 years Did not inform mean age Subgroup I: 6 months–5 years Subgroup II: 6–10 years	TOAE 1–4 kHz Analysis of presence of OAE and correlation of amplitude between SCA and health controls

Legend: NOS: Newcastle-Ottawa scale; OAE: otoacoustic emissions; kHz: kilohertz; M: male sex; F: female sex, DPOAE: Distortion product otoacoustic emissions; F1: primary frequency; F2: secondary frequency; dB: decibel; S/N: signal-to-noise ratio; HDU: Hydroxyurea; TOAE: transient otoacoustic emissions; R: Reproducibility; SCA: sickle cell anemia.

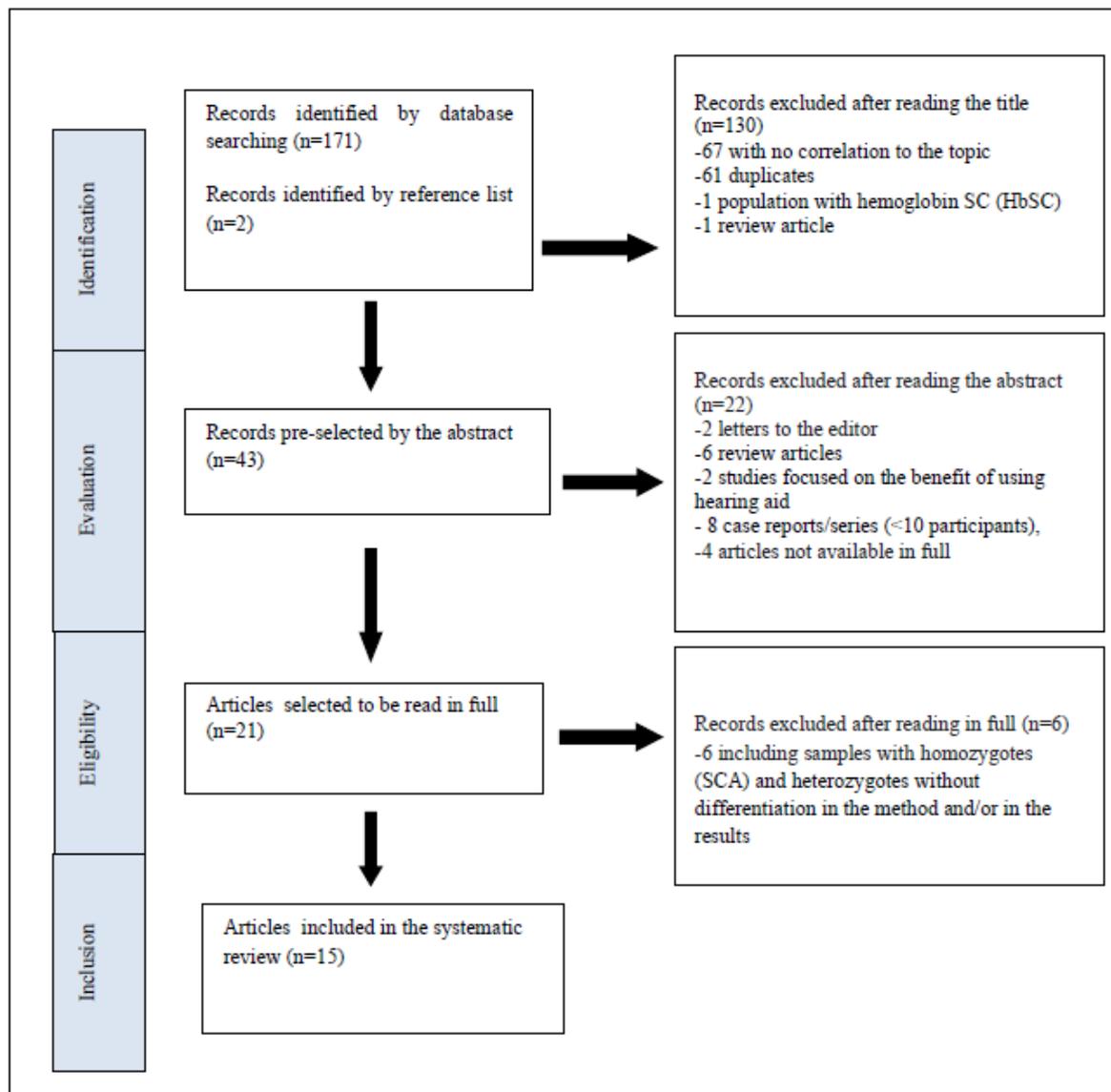
Table 4. Characteristics of otoacoustic emissions found in sickle cell anemia (n = 5).

Study	Characteristics of OAE
Downs et al. (2000)[25]	DPOAE amplitudes significantly larger for the SCA group; lower amplitude for the lower frequencies and higher level of stimulus F1/F2 (70/60dB)
Walker et al.24 (2004)[26]	DPOAE amplitudes were significantly larger for the SCA group; reduced amplitude for the lower frequencies (≤ 1 kHz). Increase in amplitude could not be attributed to the functional differences in the outer ear and mean values evaluated in tympanometry
Stuart et al. (2012) [27]	DPOAE amplitudes were significantly larger in the SCA group not treated with HDU in comparison with the SCA group treated with HDU and the healthy controls; lower amplitude for the lower frequencies with a higher level of stimulus F1/F2 (70/60 dB)
Stuart e Preast (2012) [28]	TOAE amplitudes were significantly larger for the SCA group. There was no difference in the mean effect of suppression between the groups with SCA and healthy controls
Kegele et al (2015) [29]	There was no difference relative to the presence and amplitude of TOAEs in the comparison between the SCA group and healthy controls No difference between the sexes No difference between the age subgroups: from 6 months to 5 years and 6 to 10 years.

Legend: *OAE*: otoacoustic emissions; *DPOAEs*: distortion product otoacoustic emissions; *TOAE*: transient otoacoustic emissions; *HDU*: Hydroxyurea, *M*: male sex; *F*: female sex; *kHz*: kilohertz; *F1*: primary frequency; *F2*: secondary frequency; *dB*: decibel; *S/N*: signal-to-noise ratio; *SCA*: sickle cell anemia.

Legend: n: number; HbSC: hemoglobin SC; SCA: sickle cell anemia; SCD: sickle cell disease.

Figure 1. Flowchart of article search and selection for systematic review



Legend: n: number; HbSC: hemoglobin SC; SCA: sickle cell anemia; SCD: sickle cell disease.

4 MÉTODO

4.1 Desenho

Estudo de corte transversal, analítico com grupo comparação.

4.2 Características da população-alvo

Para o grupo estudo, crianças e adolescentes com AF residentes no estado da Bahia (BA) e para o grupo comparação, crianças e adolescentes aparentemente saudáveis residentes em Salvador- BA.

4.3 População de referência

Para o grupo estudo, crianças e adolescentes com AF matriculados no Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos (HUPES), da Universidade Federal da Bahia (UFBA) em Salvador – BA e para o grupo comparação crianças e adolescentes aparentemente saudáveis matriculadas no Ambulatório de Pediatria e Hebiatria da Faculdade de Medicina da UFBA, em Salvador-BA.

4.4 Amostra

Compuseram o estudo 52 crianças e adolescentes com AF e 44 indivíduos da mesma faixa etária e aparentemente saudáveis que frequentaram os respectivos ambulatórios, citados acima, no período de janeiro de 2015 a julho de 2016.

4.4.1 Critérios de inclusão e exclusão

4.4.1.1 *Critérios de inclusão*

4.4.1.1.1 Grupo estudo

Hemoglobina Hb SS diagnosticada por eletroforese de Hb e/ou cromatografia líquida de alta performance;

Faixa etária de 6 a 18 anos completos;

Ausência de eventos agudos pelo menos há um mês que antecedeu a entrada no estudo;

Ausência de tratamento transfusional, há pelo menos, três meses que antecederam a entrada no estudo;

Ausência de histórico de meningite, trauma crânioencefálico, exposição a ruído laboral, problemas otológicos crônicos, uso de drogas ototóxicas e histórico familiar de perda auditiva;

4.4.1.1.2 Grupo comparação

Hemoglobina AA, obtida por eletroforese de Hb e/ou cromatografia líquida de alta performance;

Faixa etária de 6 a 18 anos;

Aparentemente saudáveis, sem diagnósticos de patologias agudas;

Ausência de histórico de meningite, trauma crânioencefálico, exposição a ruído laboral, problemas otológicos crônicos, uso de drogas ototóxicas e histórico familiar de perda auditiva.

4.4.1.2 *Critérios de exclusão para ambos os grupos*

Para ambos os grupos, foram selecionados os seguintes critérios abaixo relacionados.

Presença de comorbidades associadas tais como síndromes genéticas, obesidade, diabetes, acidente vascular cerebral, doenças neurológicas e cardíacas;

Hipercolesterolemia (CT > 170 mg/dL) ⁽¹¹⁶⁾;

PCR >10 ⁽¹¹⁷⁾;

Presença de alterações de orelha externa e média, definida com ausência de timpanometria tipo “A” ⁽⁸²⁾ e ausência de RA em todas as frequências analisadas.

4.5 Protocolo da coleta de dados

Foram selecionados, por conveniência e de forma consecutiva, os participantes que atenderam os critérios de inclusão da presente pesquisa, em dias de atendimento nos referidos ambulatórios. Pacientes e familiares foram convidados a participar voluntariamente do estudo após liberação da consulta médica. Os participantes foram distribuídos, conforme conveniência, para a etapa 1 – avaliação auditiva ou etapa 1- avaliação da função endotelial e, após a realização dessa primeira etapa foram encaminhados para etapa 2 avaliação da função endotelial ou etapa 2 avaliação auditiva, respectivamente. Os participantes foram submetidos aos procedimentos de acordo com a sequência e as avaliações constantes no fluxograma da Figura 10.

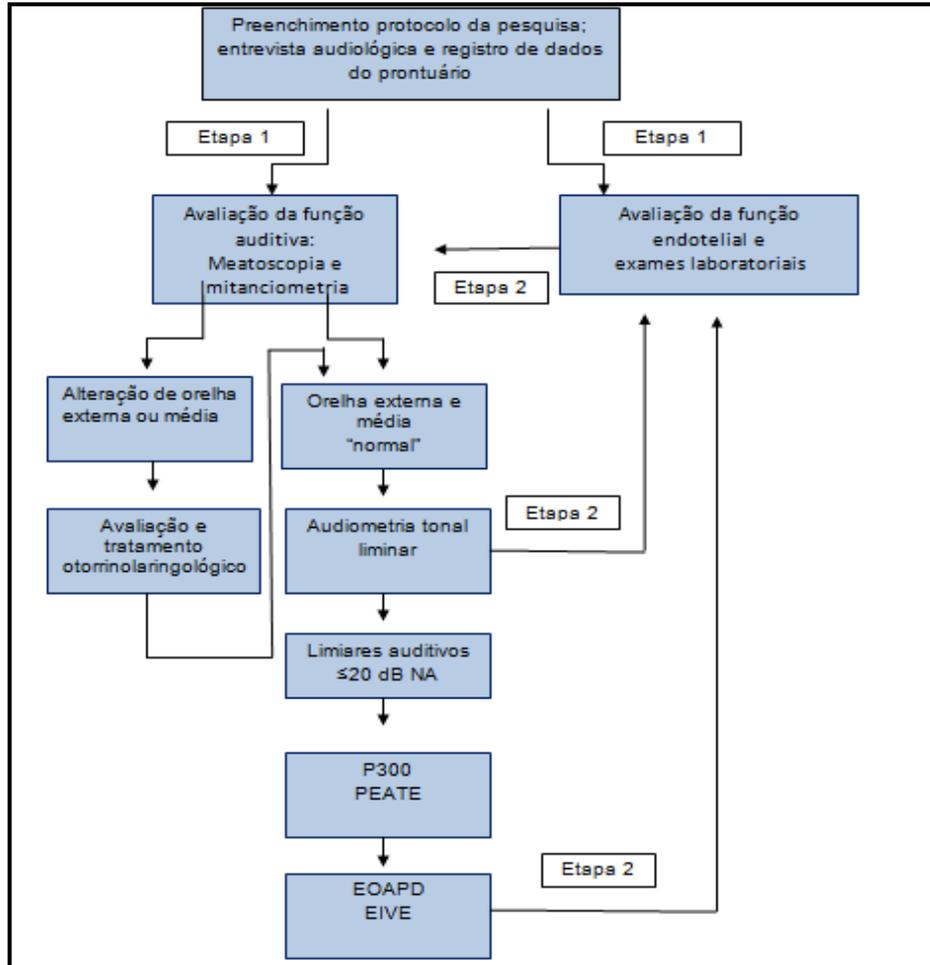


Figura 10 - Fluxograma dos procedimentos realizados

Legenda: P300 – potencial evocado auditivo cortical relacionado a eventos; PEATE- Potenciais evocados auditivos de tronco encefálico; EOAPD – Emissões otoacústicas produto de distorção, EIVE- Efeito inibitório da via eferente.

Fonte: autoria própria

4.5.1 Entrevista e registro de dados clínicos e sintomas auditivos

Uma breve entrevista audiológica adaptada, pelos autores, baseada no questionário utilizado por Silva et al.⁽¹¹⁸⁾ foi utilizada para obtenção de dados referentes a saúde auditiva e presença de sintomas otoneurológicos, e para obtenção de dados clínicos e sociodemográficos complementados com informações do prontuário (APÊNDICE A). A presença de sintomas auditivos foi confirmada em nova aplicação da entrevista audiológica, no dia da avaliação auditiva (vide Artigo 2).

4.5.2 Avaliação da função endotelial

Avaliação da função endotelial por meio da avaliação ultrassonográfica da artéria braquial, sendo avaliada a função vasomotora dependente do endotélio por meio da VMF com hiperemia reativa. A técnica para mensuração utilizada tem sido validada e padronizada ao longo das últimas décadas, com recomendações bem estabelecidas para sua aferição⁽⁸⁻¹⁰⁾ (vide Artigos números 2 e 3).

Os pacientes foram examinados em decúbito dorsal, com o braço posicionado ergonomicamente; eletrocardiograma sincronizado; verificação da frequência cardíaca e pressão arterial antes, durante e após o exame. A braçadeira do esfigmomanômetro de coluna de mercúrio, exercendo a função de um torniquete pneumático envolvendo o braço acima da prega do cotovelo; a artéria braquial identificada em secção longitudinal e posteriormente identificados a luz, o centro e a interface lúmen-íntima da parede anterior e posterior do vaso; a amostra de Doppler posicionada em ângulo de 60°; adequação de controles da escala de cinza, profundidade, filtro e escala do Doppler. O aumento do fluxo foi induzido pela insuflação do torniquete ao redor do braço até 250 mmHg, por quatro minutos, com monitorização contínua da imagem da artéria seguida de desinsuflação do torniquete, levando à hiperemia reativa; monitorização dos primeiros cinco fluxos (mensuração da velocidade máxima Doppler) e do diâmetro da artéria, durante 120 segundos (para medida do diâmetro ao final de 60 segundos).

Todos os participantes realizaram essa avaliação em um único período do dia (período da manhã) para evitar variações circadianas. Vale ressaltar que o exame foi muito bem tolerado pelos participantes, não havendo referência de qualquer desconforto que tenha necessitado da interrupção do teste. Os testes foram realizados por médico com treinamento específico para realização do exame e com comprovada experiência na técnica. A Figura 11 registra as principais etapas da VMF de um paciente com anemia falciforme.

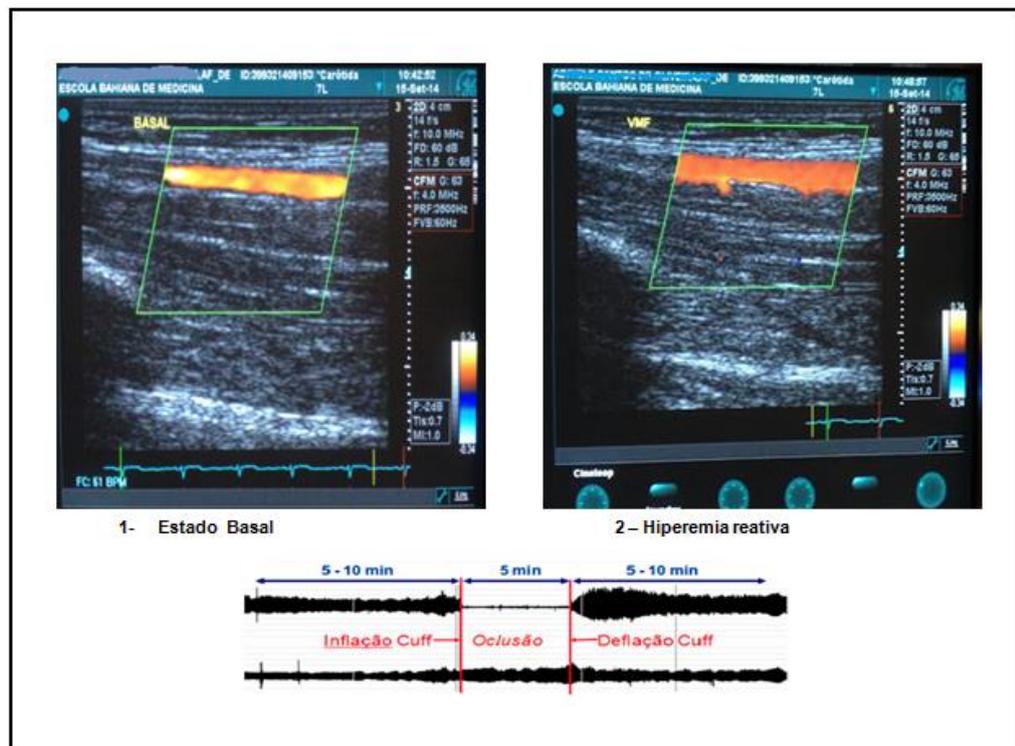


Figura 11 - Registro da avaliação da vasodilatação mediada por fluxo, estado basal e hiperemia reativa de um paciente com anemia falciforme
Fonte: autoria própria

4.5.3 Exames laboratoriais

Realizada a coleta de sangue por técnico habilitado e com experiência comprovada para análise bioquímica, após dieta de oito horas para análise dos níveis de CT e frações colesterol: *high density lipoprotein* – cholesterol (HDL-C) lipoproteína de alta densidade; LDL-C; triglicerídeos (TG) e proteína C reactiva de alta sensibilidade (PCR-as) (vide Artigo 2).

4.5.4 Avaliação da função auditiva

A avaliação do sistema auditivo foi composta por uma bateria de exames incluindo: meatoscopia; imitanciometria, ATL, EOAPD, pesquisa do EIVE, PEATE e P300. Inicialmente, os participantes com impedimento do MAE ou alteração da orelha média foram encaminhados para atendimento otorrinolaringológico e tratamento. Posteriormente foram inseridos no estudo e as avaliações auditivas foram realizadas

4.5.4.1 *Meatoscopia*

Meatoscopia - Inspeção do meato acústico externo (MAE) com o intuito de análise do tamanho e da estrutura anatômica, bem como a identificação de impedimento para realização dos demais procedimentos, a exemplo: cerúmen ocluindo o MAE, corpo estranho, secreção no MAE, perfuração da membrana timpânica. Foi utilizado o otoscópio modelo Mini 3000 (*Heine®*, Munique, Alemanha).

4.5.4.2 *Imitanciometria*

Foi realizada imitanciometria para análise da integridade da orelha média por meio do teste para pesquisa da curva timpanométrica com tom sonda de 226Hz e pesquisa dos limiares do RA contralaterais nas frequências de 500, 1000, 2000 e 4000Hz com a finalidade de adquirir informações sobre o funcionamento das vias auditivas aferentes e eferentes. Para este estudo, foi utilizada a pesquisa do reflexo acústico contralateral. Foi utilizado o equipamento *MADSEN® Otoflex 100* (*Otometrics*, Taastrup, Dinamarca) com tom da sonda de 226Hz, a curva timpanométrica classificada de acordo com Jerger ⁽⁸²⁾ e utilizado o valor limite de 2 cm³ para classificação da curva tipo "A", segundo Margolis e Heller ⁽¹¹⁹⁾. Limiares do RA ≤100 dB NA foram considerados normais e >100 dB NA foram considerados elevados (120) (vide Artigo 4).

4.5.4.3 *Audiometria tonal liminar*

Foi realizada a ATL para pesquisa dos limiares auditivos psicoacústicos sendo avaliadas as frequências de 250, 500, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 6.000 e 8.000 Hz utilizando fone de ouvido supra-aural modelo *TDH-39®* (*Thelephonics®*, Nova Iorque, EUA) e estímulo tom puro. Os limiares foram medidos usando um transdutor vibrador ósseo nas frequências de 500, 1.000, 2.000, 3.000 e 4.000Hz, quando os limiares aéreos apresentavam-se ≥20 dB. Os limiares foram pesquisados por meio do método psicoacústico dos limites, utilizando-se a técnica descendente, com intervalos de 10 dB, e a técnica ascendente com intervalos de 5 dB, para confirmação das respostas. A cabine acústica seguiu as recomendações da ANSI S3.1 199 ⁽⁸¹⁾. O exame foi realizado com o participante sentado em uma cadeira no

interior da cabine acústica. A primeira orelha a ser avaliada foi selecionada aleatoriamente. Foi utilizado audiômetro clínico AD 229 (*Interacoustic*®, Middlefart, Dinamarca) e cabina acústica. Limiares auditivos >20 dB em duas ou mais frequências em uma ou ambas as orelhas, foi o critério utilizado como ponto de corte para determinar a presença de perda auditiva, conforme descrito em estudos prévios (17,19,23). O exame foi realizado em todos os participantes por um único avaliador experiente (vide Artigo 2). O registro dos limiares auditivos encontrados na ATL em um paciente com AF está demonstrado na Figura 12.

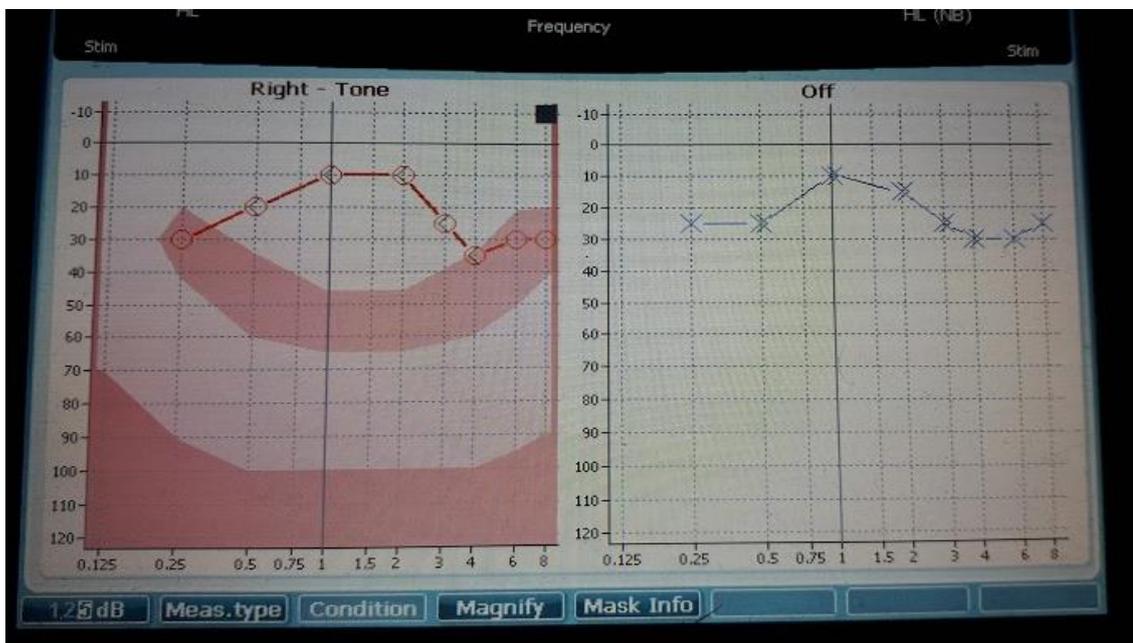


Figura 12 - Registro dos limiares auditivos pesquisados na audiometria tonal liminar para a orelha direita e para a orelha esquerda em um paciente com anemia falciforme.

Fonte: autoria própria

4.5.4.4 Emissões otoacústicas produto de distorção

As EOAPD foram analisadas com o objetivo de avaliar a integridade da sensibilidade coclear e analisar a presença de alterações subclínicas por meio da pesquisa da amplitude do sinal evocada por estímulo⁽⁸⁷⁾. As EOAPD foram analisadas nas frequências de 2.000, 4.000, 6.000 e 8.000 Hz. Foi utilizado o equipamento *OtoRead - Standard & Clinical* (*Interacoustics*®, Drejervaenget, Dinamarca) e estímulo com frequências primárias $f_1=65$ dB NPS e $f_2=55$ dB NPS com relação de frequência de, aproximadamente, $F_2/F_1= 1,22$, e a resposta foi analisada pela amplitude absoluta

e da relação sinal/ruído de acordo com a frequência do produto da distorção de (2F1-F2).

Os parâmetros utilizados foram: reprodutibilidade da resposta igual ou maior que 50%; nível da resposta maior que o ruído [relação sinal (S) / ruído (R) (S/R)] ≥ 3 dBNPS (vide Artigo 4). A Figura 13 demonstra o equipamento e o registro da captação das EOAPD de uma orelha de um sujeito com AF.



Figura 13 – Equipamento com o registro das emissões otoacústicas evocadas produto de distorção de uma orelha de um paciente com anemia falciforme
Fonte: autoria própria

4.5.4.5 *Avaliação do efeito inibitório da via eferente olivococlear medial*

A avaliação da presença do EIVE do feixe olivococlear medial foi realizada por meio da captação das EOAPD (amplitudes) realizada de acordo com o descrito acima (item 4.5.4.4) e, seguidamente, na mesma condição, adicionando a presença de um ruído na orelha contralateral, sendo analisada a diferença de amplitudes entre essas duas condições.

O ruído contralateral, denominado ruído branco, foi gerado na intensidade de 60dB. Foi utilizado equipamento imitancímetro, modelo AZ 7 (*Interacoustics*®, *Drejervaenget*, Dinamarca) e fone supra-aural, modelo TDH-39®.

A diferença de amplitude entre as duas condições (EOAPD sem ruído – EOAPD com ruído) maior que zero demonstra presença do EIVE^(121,122) (vide Artigo 4).

4.5.4.6 *Potenciais evocados auditivos*

Os potenciais evocados auditivos foram realizados para análise da integridade do SCA. O PEATE foi utilizado neste estudo com o intuito de analisar a via auditiva aferente até o tronco encefálico e o P300 foi realizado com o propósito de analisar a integridade cortical.

Para esse exame, foi usado o equipamento *Masbe ATC Plus* (Contronic®, Pelotas, Brasil) acoplado a um computador e utilizado fones de inserção *Eartone 3A* (3M®).

Para o PEATE, os eletrodos foram posicionados da seguinte forma: o eletrodo ativo (Fz) na testa, o eletrodo terra (Fpz) na frente, e os de referência nas mastoídes esquerda (M1) e direita (M2). Para o PEATE, o estímulo aplicado foi o do tipo clique (espectro de frequência em torno de 2.000 a 4.000 Hz), intensidade de 80dB NA, polaridade alternada, 17,2 cliques por segundo, 2.000 varreduras com configuração de filtro de alta frequência a 100 Hz e filtro de baixa passagem a 3.000 Hz e janela de 10 ms. Foram analisadas as latências absolutas das ondas I, III e V e as latências dos intervalos interpicos I-III, III-V e I-V (vide Artigo 4). A morfologia das ondas I, III e V obtidas na avaliação do PEATE de um sujeito com AF encontra-se demonstrada na figura 14.

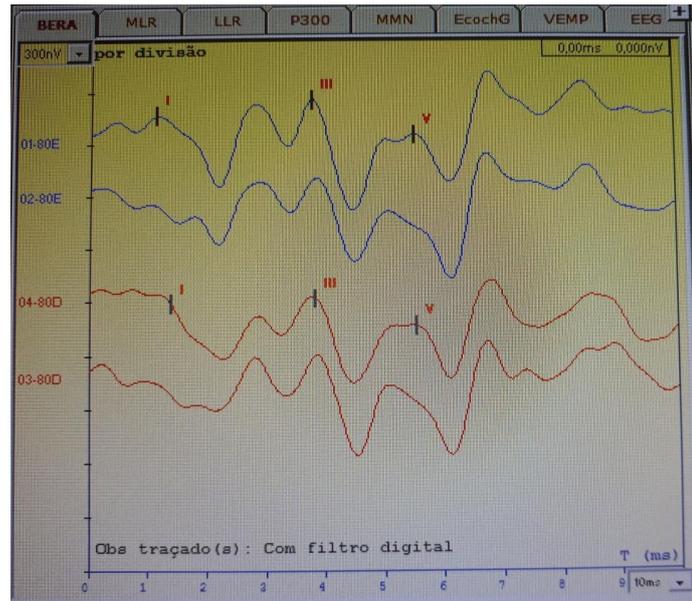


Figura 14 - Registro dos potenciais evocados auditivos de tronco encefálico, das orelhas direita e esquerda, respectivamente, em paciente com anemia falciforme.
Fonte: autoria própria

Para a avaliação do P300, os eletrodos foram posicionados da seguinte forma: o eletrodo ativo (Cz) no vértice craniano, o eletrodo terra (Fpz) na fronte e os de referência nas mastoides esquerda (M1) e direita (M2). Nesse procedimento, realizou-se o condicionamento do indivíduo com a tarefa de contagem mental dos estímulos raros. Durante a contagem, os participantes foram orientados a fixar o olhar em um ponto específico destacado no teto. Os estímulos auditivos utilizados foram binaurais com tom *tone burst* e platô de 20 ms e *rise-fall* de 5 ms, com frequências de 1.000 Hz para o estímulo frequente e 2.000 Hz para o estímulo raro, com intensidades de 80 dB NA para ambos. Foram apresentados, em cada exame, 300 estímulos – 240 para o estímulo frequente e 60 para o raro, ou seja, 80% para o frequente e 20% para o raro. Para marcar uma onda P300, o pico mais alto de polaridade positiva após o complexo N1-P2-N2 foi considerado e exibido como a soma do estímulo raro⁽¹²³⁾ (vide Artigo 4). A morfologia das ondas obtidas na avaliação do P300 de um sujeito com AF está ilustrada na Figura 15.

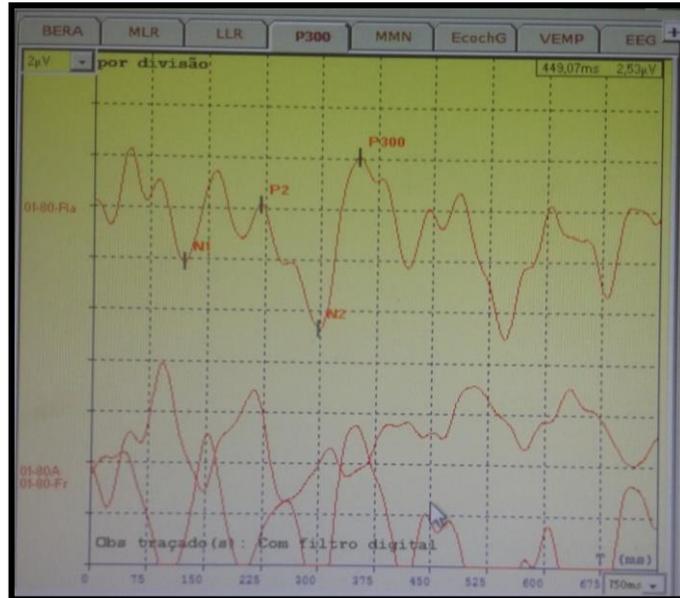


Figura 15 - Registro dos potenciais evocados auditivos de tronco encefálico, das orelhas direita e esquerda, respectivamente, em paciente com anemia falciforme.
Fonte: autoria própria

Todas essas avaliações auditivas, exceto a ATL, foram realizadas com a colaboração de outros dois avaliadores treinados. Os procedimentos de PEATE e P300 foram gravados e, posteriormente, analisados por dois avaliadores cegos quanto aos grupos estudados e aplicados testes estatísticos de concordância (vide Artigo 4).

O tempo total estimado para a realização de todos os procedimentos auditivos foi de 90 a 120 minutos, com cada indivíduo. Para melhor desempenho dos participantes iniciou-se a bateria de exames subsequentes à ATL pela avaliação do P300, por depender de sua atenção.

Para certificação da qualidade dos estímulos apresentados nas avaliações, todos os equipamentos e as salas de avaliação são anualmente aferidos conforme Resolução CFFa nº 365/2009. Os procedimentos auditivos foram realizados na clínica escola de fonoaudiologia da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), em Salvador, Bahia.

A avaliação da função endotelial e os exames laboratoriais foram realizados no laboratório de pesquisa cardiovascular da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP), em Salvador – BA.

Cada artigo científico que compõe esta tese possui, naturalmente, sua própria sessão metodológica detalhada, sua apresentação de resultados e uma discussão dos méritos científicos encontrados.

O Artigo 2 refere-se aos dados coletados na avaliação da função endotelial, avaliação laboratorial e resultados da ATL referente à pesquisa da PASN.

O Artigo 3 consta de um estudo exploratório com dados iniciais do estudo referente à avaliação da função endotelial e aos dados da entrevista relativa a sintomas otoneurológicos (vertigem e zumbido).

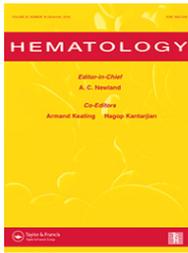
O Artigo 4 versa sobre os dados da avaliação “vertical” da audição em relação aos resultados dos procedimentos objetivos da avaliação do sistema auditivo periférico e SAC, focando a presença de alterações subclínicas, a exemplo da PAO, sendo, neste estudo, analisados os participantes com anemia falciforme com limiares auditivos psicoacústicos $\geq 20\text{dB NA}$.

4.6 Aspectos éticos

Esta pesquisa faz parte de um estudo maior intitulado “Associação entre fatores cardiorespiratórios e otoneurológicos com desenvolvimento acadêmico em crianças e adolescentes com anemia falciforme” que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da EBMSP e obtendo o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética nº 780.731 (ANEXO A). Os participantes foram inseridos no estudo posteriormente ao processo de consentimento livre e esclarecido, após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE B) e do termo de assentimento livre e esclarecido (TALE) (APÊNDICE C).

5 RESULTADOS

5.1 Artigo 2 - Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia and its association with endothelial dysfunction, *Hematology*. 2018; 23(10):849-855. DOI: 10.1080/10245332.2018.1478494.



Hematology



ISSN: 1024-5332 (Print) 1607-8454 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/yhem20>

Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia and its association with endothelial dysfunction

Mara Renata Rissatto Lago, Luciene da Cruz Fernandes, Isa Menezes Lyra, Regina Terse Ramos, Rozana Teixeira, Cristina Salles & Ana Marice Teixeira Ladeia

To cite this article: Mara Renata Rissatto Lago, Luciene da Cruz Fernandes, Isa Menezes Lyra, Regina Terse Ramos, Rozana Teixeira, Cristina Salles & Ana Marice Teixeira Ladeia (2018) Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia and its association with endothelial dysfunction, *Hematology*, 23:10, 849-855, DOI: [10.1080/10245332.2018.1478494](https://doi.org/10.1080/10245332.2018.1478494)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/10245332.2018.1478494>



Published online: 28 May 2018.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 49



View Crossmark data [↗](#)



Citing articles: 1 View citing articles [↗](#)



Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia and its association with endothelial dysfunction

Mara Renata Rissatto Lago^{a,b}, Luciene da Cruz Fernandes^c, Isa Menezes Lyra^d, Regina Terse Ramos^{b,e}, Rozana Teixeira^{b,a}, Cristina Salles^{a,d} and Ana Marice Teixeira Ladeia^{b,a}

^aBahiana School of Medicine and Public Health, Salvador, Brazil; ^bDepartment of Life Science, State University of Bahia, Salvador, Brazil; ^cDepartment of Speech Therapy, Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ^dUniversity Hospital Professor Edgar Santos of Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ^eDepartment of Pediatrics, School of Medicine of Bahia, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

ABSTRACT

Objectives: To investigate the prevalence of sensorineural hearing loss (SNHL) in children and adolescents with sickle cell anemia (SCA) and its association with endothelial dysfunction (ED).

Methods: Fifty-two participants with stable SCA and 44 apparently healthy (AA genotype) participants aged 6–18 years were evaluated for pure tone audiometry and endothelial function using ultrasonographic imaging of the brachial artery to assess flow-mediated dilation (FMD). Laboratory analysis of the lipid profile and C-reactive protein levels was performed.

Results: In the SCA group, 15 (28.8%) patients presented with SNHL. The FMD values were reduced in the SCA with SNHL group compared with the SCA without SNHL and healthy groups. Logistic regression analysis showed that FMD was associated with SNHL independent of the lipid profile and SCA characteristics (odds ratio [95% confidence interval] = 0.614 [0.440–0.858]; $p = 0.004$).

Discussion: SNHL is a common complication in SCA; furthermore, this study identified a significant association between ED and SNHL. Damage to the vascular endothelium because of inflammation in SCA reduced blood flow in the inner ear. Thus, this circulatory disorder culminates in vaso-occlusive process and induces auditory disorders, such as SNHL.

KEYWORDS

Anemia; sickle cell; endothelium; vascular; hearing loss; children; adolescent; audiometry; pure tone; hearing

Introduction

Sickle cell anemia (SCA) is the most common hemoglobinopathy, resulting from the homozygous presence of altered hemoglobin (HbS) [1]. Among the clinical manifestations of SCA, vasoconstriction is the most frequent, occurring in multisystemic vessels including the auditory system [2–5]. The hearing loss typically found in SCA is sensorineural, with great variability in the characteristics and prevalence described in the literature [6–13].

The most accepted etiopathogenesis of sensorineural hearing loss (SNHL) involves sickle-shaped blood cells that lead to decreased blood flow in the cochlear venous system with a consequent chronic deficiency in oxygen balance leading to Corti's Organ hypoxia and death of the outer hair cell (OHC) [14].

Studies have reported the influence of the vascular endothelium in the formation of cell clusters that interact with the vessel wall, culminating in vaso-occlusive processes [15,16]. Reduced flow-mediated vasodilatation (FMD) is considered an early marker of vascular alterations in sickle cell disease (SCD) patients [17]. The relationship between endothelial dysfunction (ED) and SNHL is documented in sudden SNHL and

idiopathic SNHL, supporting the presence of vascular damage [18–20]. Our exploratory study in children and adolescents with SCA showed an association between otoneurological symptoms (vertigo) and decreased FMD of the brachial artery, indicating the presence of ED [21].

Taking into account the chronic inflammatory state of SCA and the presence of ED in SCA, the objective of this study was to investigate the prevalence of SNHL in children and adolescents with SCA and its association with ED.

Methods

Selection and description of participants

This cross-sectional study assessed children and adolescents ≥ 6 and ≤ 18 years of age, of both sexes. The sample included 52 participants with SS hemoglobinopathy (SCA group) diagnosed using hemoglobin electrophoresis, and 44 apparently healthy participants with standard AA hemoglobin (healthy control (HC) group). There were no differences in age and sex between the groups. Patients in the SCA group were from the University Hospital Complex Professor Edgar

Santos of the Federal University of Bahia (UFBA), and HC group participants were from the outpatient clinic of the School of Medicine of Bahia of the UFBA. Part of this sample had participated in our earlier study [21].

None of the participants had associated comorbidities, such as genetic syndromes, obesity, diabetes, hypercholesterolemia, stroke, neurological disease, heart disease, or lung disease. Participants with a history of meningitis, traumatic brain injury, exposure to noise, chronic otologic problems, otologic surgery, ototoxic drug intake, or family history of hearing loss were also excluded. In addition, the criteria for non-inclusion in the SCA group included blood transfusion during the previous 90 days and history of an acute event in the previous 30 days.

All participants had normal otoscopy and middle ear findings, defined as the presence of tympanometric curve type 'A' [22] and a contralateral acoustic reflex threshold in at least one of the analyzed frequencies.

Written informed consent was obtained from the legal guardian and from each participant old enough to understand the study goals. This study was approved by the Research Ethics Committee of the Bahiana School of Medicine and Public Health (No.33705714.3.0000.5544).

The sample size was calculated to compare the proportions the SNHL prevalence between SCA group (27.32%) and controls (3.6%) [7,8,11–13]. Study power of 80% and an alpha error of 0.05. Sample size for each group was 34 participants. (WinPep®, statistical software. Abramson, licensee BioMed Central, London, UK).

Technical information

Demographic and clinical data were entered into a questionnaire conducted by the researchers. Clinical data were obtained from patient records, including hemoglobin and fetal hemoglobin levels, the presence and number of painful vaso-occlusive crises (VOC) in the last 12 months, the use and number of transfusions in the last 12 months, and the use and duration of hydroxyurea (HU) therapy. The physical examination included measurement of weight and height to calculate body mass index (BMI) (kg/m^2).

The biochemical analyses and evaluation of endothelial function were performed at the cardiovascular research laboratory at the Bahiana School of Medicine and Public Health in Salvador, Brazil.

Endothelial function was evaluated using a protocol established under the guideline for the ultrasonographic evaluation of FMD with reactive hyperemia of the brachial artery [23–25] and already used in previous studies carried out by our research group [21,26]. Briefly, the moving images were scanned, beginning 30 seconds before the cuff was deflated until 2 minutes later, allowing for subsequent analysis. The FMD was calculated using the following formula: $(\text{maximal arterial diameters} - \text{basal arterial diameters}) \times$

100]. An experienced vascular ultrasonographer, blinded to the patients' diagnoses, obtained, and analyzed all images using a high-quality computer. ED was determined to be present if the FMD value was below the 10th percentile cutoff of the HC group [27,28].

Following a fast of at least 8 hours, blood samples were collected for biochemical analysis and complete blood count in untreated tubes and in ethylenediaminetetraacetic acid, respectively. The levels of total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and triglycerides (TG) were analyzed using enzymatic methods. High-sensitive C-reactive protein (hs-CRP) levels were analyzed using turbidimetry. Participants with TC > 170 mg/dL [29] and/or hs-CRP > 10 mg/L [30] were excluded from the analysis.

The tympanometry and analysis of the contralateral reflex threshold at 0.5, 1, 2, and 4 kHz were performed using a MADSEN® Otoflex 100 (Otometrics®, Taastrup, Denmark) to investigate the normal middle ear.

Pure-tone audiometry test (PTA) was performed using an AD 229 Clinical audiometer (Interacoustic®, Middlefart, Denmark). The hearing thresholds (HT) were evaluated at frequencies of 250 Hz; 500 Hz; and 1, 2, 3, 4, 6, and 8 kHz, using a TDH-39 supra-aural earphone (Thelephonics®, New York, EUA). Bone thresholds were measured using a bone vibrator transducer at frequencies of 500 Hz and 1, 2, and 4 kHz when the air thresholds were ≥ 20 dB.

The criteria used to determine hearing loss were HT >20 dB in two or more frequencies in one or both ears, as described in previous studies [10,11,31]. The audiological tests were performed at the Speech Therapy Clinic of the State University of Bahia, Salvador, Brazil.

Statistical analysis

Quantitative variables were represented as means and standard deviations (SD) or as medians and interquartile ranges (IQR). Categorical variables were described using frequencies and proportions. Bivariate analysis was performed using Student's *t*-test or Mann-Whitney *U*-test. Differences between proportions were calculated using Fisher's exact or chi-square tests. Kruskal–Wallis correction for ranking comparison was used to compare variables with more than two categorized groups. Logistic regression analysis was conducted to evaluate the relationship between endothelial function and SNHL after adjusting for potential confounding factors. Data analyses were conducted using IBM SPSS Statistics for Windows, version 21.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

Results

Data from 96 children and adolescents (age range, 6–18 years) were analyzed. Of these, 52 had SCA and 44 were

apparently healthy (12.3 ± 3.27 vs. 11.1 ± 3.17 years; $p = 0.065$; male sex 27 [51.9%] vs. 17 [38.6%]; $p = 0.193$, respectively). There was a predominance of participants of non-white ethnicity in both groups (100% in the SCA group vs. 81.8% in the HC group) and white ethnicity was observed only in the HC group (8 participants [18.2%], $p = 0.001$). The BMI values were similar between groups (16.9 ± 3.27 vs. 18.0 ± 3.07 kg/m² in SCA and HC, respectively; $p = 0.055$).

The SCA group had lower mean hemoglobin, TC, HDL-C, and LDL-C levels and higher TG levels, TG/HDL-C fraction, and hs-PCR. The FMD value was significantly decreased in the SCA group compared with the HC group. The cutoff point for ED classification was 9.05% (see Methods section). The SCA group had a higher occurrence of ED (Table 1).

The PTA tests showed that 15 (28.8%) participants in the SCA group presented with SNHL, compared with none of the HC group (0%, $p < 0.001$). Of these 15 participants, 7 (46.66%) were 6–11 years of age and 8 (53.33%) were 12–17 years. SNHL occurred in both sexes, and affected 9 (52.9%) female participants. Regarding the severity of SNHL, 100% presented with a mild degree of SNHL (≤ 40 dB). Unilateral SNHL occurred in 13 (86.66%) participants and these total 9 (69.23%) in the right ear.

Among the 17 ears affected, high frequencies (4–8 kHz) were more often affected (7 ears, 41.7%), followed by both low and high frequencies (250–500 Hz and 4–8 kHz; 5 ears, 29.4%), low frequencies (250–500 Hz, 4 ears, 23.5%), and all frequencies (1 ear, 5.89%).

The median HT in PTA tests in the left ear was significantly higher in the SCA group than in the HC group in the following frequencies: 250 Hz (15, median IQR [10–18.7] vs. 10, median IQR [5–15]; $p = 0.008$), 500 Hz (15 [5–15] vs. 10 [5–10]; $p = 0.024$), 2 kHz (7.5 [5–15] vs. 5 [5–10]; $p = 0.015$), 3 kHz (5 [5–10] vs. 5 [0–5]; $p = 0.001$), and 4 kHz (5 [5–13.75] vs. 5 [5–10]; $p = 0.013$). There were no differences at 1 kHz (5 [5–13.7] vs. 5 [5–10]; $p = 0.561$), 6 kHz (10 [5–15] vs. 10 [5–10]; $p = 0.304$), and 8 kHz (10 [5–15] vs. 10 [5–13.7]; $p = 0.167$) (Figure 1(A)).

In the right ear, the HT exhibited differences at 250 Hz (15, median IQR [10–20] vs. 10, median IQR [5–15]; $p = 0.003$), 500 Hz (10 [10–15] vs. 10 [5–10]; $p = 0.013$), 2 kHz (7.5 [5–15] vs. 5 [5–10]; $p = 0.034$),

4 kHz (10 [5–15] vs. 5 [1.2–10]; $p = 0.004$), 6 kHz (10 [5–15] vs. 5 [5–10]; $p = 0.022$), and 8 kHz (10 [5–18.7] vs. 5 [0–10]; $p = 0.006$). There were no differences at 1 kHz (10 [5–15] vs. 10 [5–10]; $p = 0.229$) and 3 kHz (5 [5–13.7] vs. 5 [5–10]; $p = 0.131$) (Figure 1(B)).

In the comparison between the SCA with SNHL and SCA without SNHL groups, the SCA with SNHL group included a greater number of participants with painful VOC. In addition, the FMD was significantly lower in the SCA with SNHL group. Moreover, this group had a higher occurrence of ED (Table 2).

FMD values were different between the SCA with SNHL, SCA without SNHL, and HC groups. The SCA with SNHL group presented with the lowest FMD value (Figure 2).

The results of binary logistic regression analysis to evaluate the relationship between FMD and SNHL showed that FMD was associated with SNHL, even after adjustment for lipid profile (HDL-C and TG/HDL-C), number of episodes of painful VOC, and use of HU (odds ratio [OR] [95% CI] = 0.614 [0.440–0.858]; $p = 0.004$). This finding also demonstrated that each percentage increase in the FMD value decreases the chance that the SCA patient has SNHL by 39%. The use of HU was not associated with SNHL ([OR] [95% CI] = 0.153 [0.022–1.053]; $p = 0.056$).

Discussion

In the present study, 28.8% of the SCA group exhibited SNHL. This finding supports the hypothesis that this alteration is more prevalent in SCA than in the healthy population, which is similar to data reported in the literature showing that the incidence of SCA ranges from 3.8 to 66% [7,8,11–13,32]. Few studies have only considered the age group used in the present study. The SCA prevalence in the United States (US) (12%) [33] was lower than that of our study, and in Nigeria the prevalence ranges from 3.8 to 21% [9,12,34]. Furthermore, studies with a broad age range, including adults, showed a greater SCA prevalence, such as studies in Nigeria (66%) [32] and the US (36%) [35]. It might be expected that as patients with SCA grow older they will experience repeated crises and an increased incidence of SNHL would be found.

Table 1. Laboratory data and endothelial function parameters of the study groups.

	Sickle cell anemia (n = 52)	Healthy control (n = 44)	p-value
Hemoglobin (g/dL), mean (SD)	8.03 (0.82)	13.4 (0.96)	<0.001*
Total cholesterol (mg/dL), mean (SD)	122.2 (24.95)	157.1 (26.76)	<0.001*
High-density lipoprotein-cholesterol (mg/dL), mean (SD)	30.62 (7.17)	47.21 (11.04)	<0.001*
Low-density lipoprotein-cholesterol (mg/dL), mean (SD)	70.76 (22.15)	94.26 (23.37)	<0.001*
Triglycerides (mg/dL), mean(SD)	103.5 (40.19)	72.9 (26.35)	<0.001*
TG/HDL-C (mg/dL), median(IQR)	3.02 (2.41–4.71)	1.45 (1.05–2.11)	<0.001*
High-sensitive C-reactive protein (mg/dL), median(IQR)	2.81 (0.99–4.73)	0.55 (0.20–1.46)	<0.001*
Flow-mediated dilation – %, median (IQR)	10 (6.45–14.29)	15 (11.6–22.4)	<0.001*
Endothelial dysfunction, n (%)	20 (38.5%)	4 (9.1%)	<0.001*

Note: SD: standard deviation; IQR: interquartile range; TG/HDL-C: triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio. *Statistically significant values at the level of $p < 0.05$.

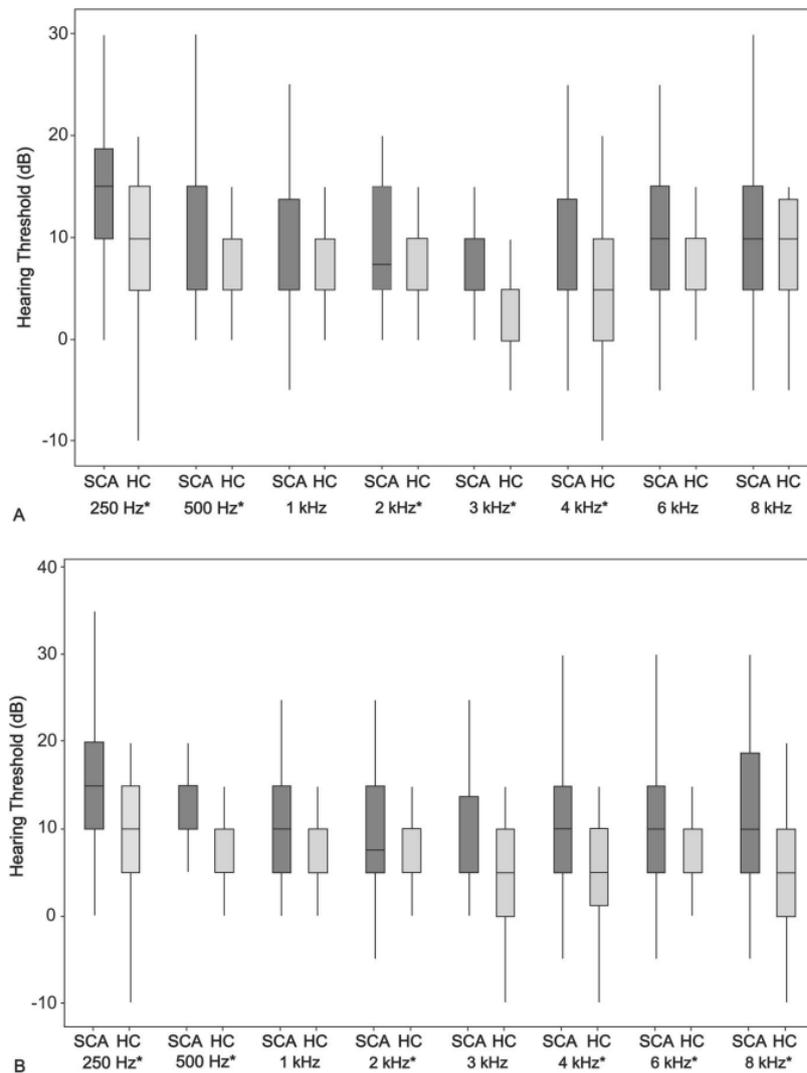


Figure 1. Comparison of hearing thresholds between the sickle cell anemia (SCA) and the healthy control (HC) groups. Box plots represent the medians and interquartile ranges for each frequency for the left ear (A) and right ear (B). *Statistically significant values for $p < 0.05$.

In addition, the haplotypes of the β -globin gene region, which play an important role in determining the severity of the disease [36], may influence SNHL; moreover, the prevalence of SNHL in SCA for each geographical region is variable beyond this factor. Besides the prevalence in the countries mentioned above, the SCA prevalence has also been reported in Guadeloupe (44%), (France) [11], Saudi Arabia (36%) [7], Italy (31.8%) [13], and the United Kingdom (13.5%) [31]. Several reasons, including socio-economic class, regular follow-up, and a balanced diet, have been proposed to explain the varying prevalence rates of SNHL in SCA [10,12]. Nevertheless, the lack of criteria used to define SNHL can contribute to this variability.

In Brazil, only one study was found in literature [8], showing a prevalence of 21.4% (range age, 6–55years). Farther standardized epidemiological studies are required to elucidate the prevalence in each region. It

is important to note that all SCA participants in our study were of Afro-descendants, as well as the majority of the HC group (>80%).

Unilateral SNHL of mild severity was found in both sexes. Although a number of audiograms exhibited both low- and high-frequency losses (250–500 Hz and 4–8 kHz), several of them demonstrated atypical configurations with isolated frequency regions at high or low frequencies, demonstrating impairment. These characteristics are comparable to those described in other studies [6,7,10,11,13].

In SCA, most investigators attribute SNHL to impaired blood flow in the cochlea or to the nerve pathways from the inner ear to the brain. The blood supply of the inner ear is provided by the labyrinthine artery, which is a functional end artery. Even occasional limited ischemia culminates in Corti's Organ hypoxia and lesion of the OHC in the stria vascularis [3–5]. The base of the cochlea

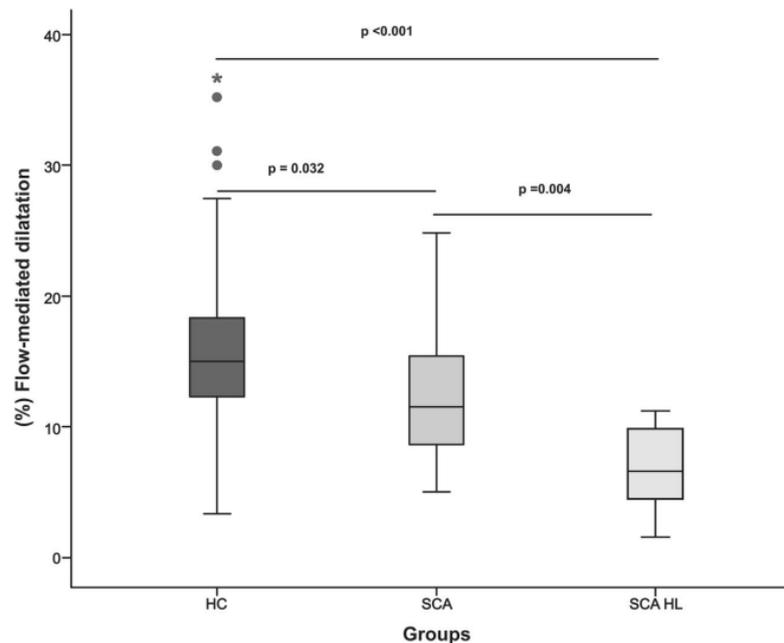


Figure 2. Comparisons of flow-mediated vasodilatation between the sickle cell anemia with hearing loss (SCA HL), sickle cell anemia (SCA) without hearing loss and healthy control (HC) groups. Box plots represent the medians and interquartile ranges. Data were compared using Kruskal–Wallis tests with Dunn’s multiple comparisons ad hoc tests. *Statistically significant values for $p < 0.05$.

is typically involved because of its tonotopic organization; the hair cells of the basal turn of the cochlea are more sensitive to anoxia pathogena than the apex. This may explain why SNHL initially affects isolated frequency regions, and usually high frequencies. Changes in the other frequencies suggest diffuse damage to the cochlea, rather than damage limited to the basal turn [34].

Corroborating with the pathophysiological mechanism of SNHL in SCA, our data showed a significant association between SNHL and ED. To the best of our knowledge, this is the first study that has demonstrated this association in SCA.

The lower FMD value in the SCA group than that in the HC group suggests a diminished vasodilatation capacity. FMD is simple, noninvasive, and useful diagnostic tool for the measure of endothelial function, and has been widely used [23–25]. Other studies demonstrated an abnormal response in FMD after wall shear stress (WSS) for transient arterial occlusion in SCA adults [17,37] and children [38]. Studies by our research group showed similar results with decreased FMD in SCA [21,26].

In SCA, hemolysis and ED are observed in addition to inflammation and vaso-occlusion. Moreover, increased

Table 2. Characteristics of the groups sickle cell anemia with sensorineural hearing loss (SNHL) and without SNHL.

	SCA		p-value
	SNHL (yes) (n = 15)	SNHL (No) (n = 37)	
Age (years), mean (SD)	12.3 (3.75)	12.3 (3.11)	0.986
Male sex, n (%)	7 (46.7)	20 (54.1)	0.629
Body mass index (kg/m ²), mean (SD)	16.8 (2.89)	16.9 (2.36)	0.916
Painful vaso-occlusive crisis (last 12 months), n (%)	15 (100)	23 (62.2)	0.005*
Number of painful vaso-occlusive crises (last 12 months) median (IQR)	1 (1–4)	2 (0–3)	0.117
Blood transfusions (last 12 months), n (%)	2 (13.3%)	9 (24.3%)	0.614
Number of blood transfusions (last 12 months) median (IQR)	0 (0–1.5)	0 (0–1)	0.823
Use of hydroxyurea therapy, n (%)	6 (40.0)	22 (59.5)	0.202
Duration of hydroxyurea therapy (>2 years), n (%)	3 (50%)	11 (50%)	0.184
Hemoglobin (g/dL), mean (SD)	7.84 (0.87)	8.10 (0.81)	0.297
Fetal hemoglobin (g/dL), median (IQR)	7.65 (2.7–11.8)	8.9 (3.8–12.1)	0.775
Total cholesterol (mg/dL), mean (SD)	127.78 (24.93)	119.96 (24.94)	0.310
High-density lipoprotein-cholesterol (mg/dL), mean (SD)	32.88 (6.87)	29.71 (7.18)	0.150
Low-density lipoprotein-cholesterol (mg/dL), mean (SD)	75.33 (22.69)	68.91 (21.97)	0.348
Triglycerides (mg/dL), mean (SD)	97.76 (27.38)	105.86 (49.60)	0.516
TG/HDL-C (mg/dL), median (IQR)	3.04 (2.62–5.34)	3.00 (2.02–3.89)	0.437
High-sensitive C-reactive protein, median (IQR)	2.74 (0.8–3.74)	4.53 (1.03–6.42)	0.258
Flow-mediated dilation – %, median (IQR)	6.60 (4.20–9.90)	11.50 (8.25–15.70)	<0.001*
Endothelial dysfunction, n (%)	10 (66.7)	10 (27)	0.008*

Note: SCA: sickle cell anemia; SNHL: sensorineural hearing loss; SD: standard deviation; IQR: interquartile range; TG/HDL-C: triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio. *Statistically significant values at the level of $p < 0.05$.

inflammation-driven reactive oxygen species and inflammatory mediator production occurs, as well as decreased bioavailability of nitric oxide (NO) [39]. NO plays a key role in the regulation of vasomotor tonus in response to WSS. Thus, reduced bioavailability of NO causes variation in vessel diameter adjustment, which potentially exacerbates the vaso-occlusive process [37].

Hadeed et al. [40] did not find ED in children with SCD, however, FMD value tended to be lower in SCD than in controls. The authors suggesting that these manifestations may be related to disease severity and duration. The difference in results may be explained by the fact that the population may have a less severe form of the disease, as only 16.6% presented with VOC.

In our study, all patients in the SCA with SNHL group (100%) presented with painful VOC in the last 12 months, and the median FMD value in the SCA group with SNHL was below the cutoff for ED (10th percentile of the FMD of the HC group). Furthermore, the SCA with SNHL group exhibited a higher frequency of ED in comparison with the SCA without SNHL group.

Considering the chronic inflammatory state of SCA, these findings lead us to hypothesize that damage to the vascular endothelial due to SSW in the labyrinthine artery reduces blood flow in the ear; this results in vaso-occlusive processes in the spiral ganglion in the basal part of the cochlea or to the auditory nerve, culminating in SNHL. Similar studies in other types of SNHL show the presence of ED in the auditory system, as evidenced by a lower FMD value [18–20]. In addition, there is evidence that high levels of adhesion molecules and unbalanced oxidative status are involved in idiopathic sudden SNHL, which supports the hypothesis that SNHL should be considered as a microcirculation disorder caused by ED [18].

An additional favorable effect on the microcirculation can be exerted by anti-inflammatory mediators, improving the vascularization of small ear vessels that usually cause inner ear injury. In SCA HU is considered an effective pharmacological therapy with several beneficial effects, such as increased HbF, improved red globule hydration, increased NO production, and decreased adhesion molecules, with consequent reduction of painful VOC [41,42]. It is possible that HU improved endothelial function. In our study, the implementation of HU no showed independent effect on SNHL. In the literature, we did not find studies on this approach. However, despite the similar use of HU in the SCA with SNHL and SCA without SNHL groups, the duration of HU therapy was variable, which may be a limitation of the study.

There are others methodological limitations that should be considered. PTA is a behavioral measure and may have variations in the HT. The endothelial function was assessed using an image-based methodology dependent on the ability of the person

performing the procedure. The small number of participants with SNHL may also represent a limitation. However, considering the consistency of our data, these minor limitations do not invalidate our results.

In conclusion, the present study demonstrated that SNHL is a common complication in children and adolescents with SCA and is associated with ED. This findings suggests that disruption of the vascular endothelium generates circulatory disorders, culminating in auditory disorders such as SNHL.

Acknowledgements

This article is part of Mara Renata Rissatto Lago's PhD thesis in the Bahiana School of Medicine and Public Health Postgraduate Course.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by the Foundation for Support of Research of the State of Bahia [Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)] under notice number 020/2013-Research Program: shared health management – (PPSUS) of the Bahia (BA) – FAPESB under the code: EFP_00006943.

ORCID

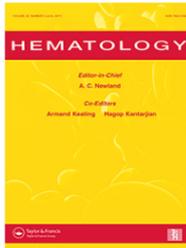
Regina Terse Ramos  <http://orcid.org/0000-0002-5277-3609>
 Rozana Teixeira  <http://orcid.org/0000-0001-7693-3817>
 Ana Marice Teixeira Ladeira  <http://orcid.org/0000-0002-2235-7401>

References

- [1] Lionnet F, Hammoudi N, Stojanovic KS, et al. Hemoglobin sickle cell disease complications: a clinical study of 179 cases. *Haematologica*. 2012;97:1136–1141.
- [2] Powars DR, Chan LS, Hiti A, et al. Outcome of sickle cell anemia: a 4-decade observational study of 1056 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2005;84:363–376.
- [3] Saito N, Nadgir RN, Flower EN, et al. Clinical and radiologic manifestations of sickle cell disease in the head and neck. *Radiographics*. 2010;30:1021–1034.
- [4] Morgenstein KM, Manace ED. Temporal bone histopathology in sickle cell disease. *Laryngoscope*. 1969;79:2172–2180.
- [5] Saito N, Watanabe M, Liao J, et al. Clinical and radiologic findings of inner ear involvement in sickle cell disease. *Am J Neuroradiol*. 2011;32:2160–2164.
- [6] MacDonald CB, Bauer PW, Cox LC, et al. Otologic findings in a pediatric cohort with sickle cell disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1999;47:23–28.
- [7] Al-muhaimeed H, Thomas G, Sedran A, et al. Pattern of hearing loss in sickle cell disease. *Aust J Otolaryngology*. 2000;3:472–475.
- [8] Piltcher O, Cigana L, Friedriech J, et al. Sensorineural hearing loss among sickle cell disease patients from southern Brazil. *Am. J. Otolaryngol*. 2000;21:75–79.

- [9] Mgbor N, Emodi I. Sensorineural hearing loss in Nigerian children with sickle cell disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2004;68:1413–1416.
- [10] Aderibigbe A, Ologe FE, Oyejola BA. Hearing thresholds in sickle cell anemia patients: emerging new trends? *J Natl Med Assoc.* 2005;97:1135–1142.
- [11] Jovanovic-Bateman L, Hedreville R. Sensorineural hearing loss with brainstem auditory evoked responses changes in homozygote and heterozygote sickle cell patients in Guadeloupe (France). *J Laryngol Otol.* 2006;120:627–630.
- [12] Alabi S, Ernest K, Eletta P, et al. Otolological findings among Nigerian children with sickle cell anaemia. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2008;72:659–663.
- [13] Samperi P, Bertuna G, Rossi G, et al. Sensorineural hearing loss in sickle cell disease patients in sicily. *Minerva Pediatr.* 2005;57:285–288.
- [14] Serjeant GR, Norman W, Todd GB. The internal auditory canal and sensori-neural hearing loss in homozygous sickle cell disease. *J Laryngol Otol.* 1975;89:453–455.
- [15] Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev.* 2007;21:37–47.
- [16] Rother RP, Bell L, Hillmen P. The clinical sequelae of intravascular hemolysis a novel mechanism of human disease. 2013;293:1653–1662.
- [17] Belhassen L, Pelle G, Sediame S, et al. Endothelial dysfunction in patients with sickle cell disease is related to selective impairment of shear stress-mediated vasodilation. *Blood.* 2001;97:1584–1589.
- [18] Quaranta N, De Ceglie V, D'Elia A. Endothelial dysfunction in idiopathic sudden sensorineural hearing loss: a review. *Audiol. Res.* 2016;6:17–21.
- [19] Berjis N, Moeinimehr M, Nasiri S. Endothelial dysfunction in patients with sudden sensorineural hearing loss. *Adv Biomed. Reserach.* 2016;5:1–4.
- [20] Heart IJC, Casale M, Mangiacapra F, et al. Idiopathic sensorineural hearing loss is associated with endothelial dysfunction. 2016;12:32–33.
- [21] Rissatto-Lago MR, Salles C, de Pinho FGC, et al. Association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms in children with sickle cell disease. *Hematology.* 2017;22:299–303.
- [22] Jerger J. Clinical experience with impedance audiometry. *Arch. Otolaryngol.* 1970;92:311–324.
- [23] Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:257–65.
- [24] Greyling A, van Mil ACCM, Zock PL, et al. Adherence to guidelines strongly improves reproducibility of brachial artery flow-mediated dilation. *Atherosclerosis.* 2016;248:196–202.
- [25] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK DJ. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992;340:1111–1115.
- [26] Teixeira RS, Terse-Ramos R, Ferreira TA, et al. Associations between endothelial dysfunction and clinical and laboratory parameters in children and adolescents with sickle cell anemia. *PLoS One.* 2017;12:e0184076.
- [27] Järvisalo MJ, Rönnemaa T, Volanen I, et al. Brachial artery dilatation responses in healthy children and adolescents. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002;282:H87–H92.
- [28] Andrade, ZM, Carvalhaes JTA, Taddei JAAC. Função endotelial de adolescentes normotensos sem fatores de risco para hipertensão arterial. *J Pediatr (Rio J).* 2005;395–399.
- [29] Xavier HT., Izar MC, Faria Neto JR, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz brasileira de dislipidemia e prevenção da aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101:1–22.
- [30] Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 2003;107:499–511.
- [31] Ajulo SO, Osiname AI, Myatt HM. Sensorineural hearing loss in sickle cell anaemia – a United Kingdom study. *J Laryngol Otol.* 1993;107:790–794.
- [32] Onakoya PA, Nwaorgu OGB, Shokunbi WA. Sensorineural hearing loss in adults with sickle cell anaemia. *Afr J Med Med Sci.* 2002;31:21–24.
- [33] Friedman EM, Luban NL, Boeckx RL, et al. Sickle cell anemia and SLE. *J Pediatr.* 1980;96:1120.
- [34] Odetoyinbo O, Adekile A. Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1987;96:258–260.
- [35] Crawford MR, Gould HJ, Smith WR, et al. Prevalence of hearing loss in adults with sickle cell disease. 1991;349–351.
- [36] Zago MA, Pinto ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2007;29:207–214.
- [37] Zawar SD, Vyawahare MA, Nerkar M, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in sickle cell disease by Doppler ultrasonography. *J Assoc Physicians India.* 2005;53:677–680.
- [38] De Montalembert M, Aggoun Y, Niakate A, et al. Endothelial-dependent vasodilation is impaired in children with sickle cell disease. *Haematologica.* 2007;92:1709–1710.
- [39] Gualandro SFM, Fonseca GHH, Gualandro DM. Complicações cardiopulmonares das doenças falciformes. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29:291–298.
- [40] Hadeed K, Hascoet S, Castex M-P, et al. Endothelial function and vascular properties in children with sickle cell disease. *Echocardiography.* 2015;32:1215–1331.
- [41] Platt OS. Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia. *N Engl J Med* 2008;358:1362–1369.
- [42] Vicari P, De Mello AB, Figueiredo MS. Effects of hydroxyurea in a population of Brazilian patients with sickle cell anemia. *Am J Hematol.* 2005;78:243–244.

5.2 Artigo 3 - Association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms in children with sickle cell disease, Hematology. 2017; 22(5):299-303. DOI: 10.1080/10245332.2016.1261982.



Hematology



ISSN: 1024-5332 (Print) 1607-8454 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/yhem20>

Association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms in children with sickle cell disease

Mara Renata Rissatto-Lago, Cristina Salles, Fernando Gesteira Campos de Pinho, Isa Menezes Lyra, Regina Terse-Ramos, Rozana Teixeira & Ana Marice Ladeia

To cite this article: Mara Renata Rissatto-Lago, Cristina Salles, Fernando Gesteira Campos de Pinho, Isa Menezes Lyra, Regina Terse-Ramos, Rozana Teixeira & Ana Marice Ladeia (2017) Association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms in children with sickle cell disease, Hematology, 22:5, 299-303, DOI: [10.1080/10245332.2016.1261982](https://doi.org/10.1080/10245332.2016.1261982)

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/10245332.2016.1261982>



Accepted author version posted online: 17 Nov 2016.
Published online: 09 Dec 2016.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 40



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=yhem20>

Download by: [179.215.252.196]

Date: 04 May 2017, At: 08:40



Association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms in children with sickle cell disease

Mara Renata Rissatto-Lago^{a,b}, Cristina Salles^a, Fernando Gesteira Campos de Pinho^a, Isa Menezes Lyra^c, Regina Terse-Ramos^d, Rozana Teixeira^{a,d} and Ana Marice Ladeia^a

^aBahiana School of Medicine and Public Health, Salvador, Brazil; ^bDepartment of Life Science, State University of Bahia, Salvador, Brazil; ^cFederal University of Bahia, University Hospital Professor Edgar Santos-Pediatric Hematology, Salvador, Brazil; ^dDepartment of Pediatrics, School of Medicine of Bahia, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

ABSTRACT

Objective: To evaluate the association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms and vaso-occlusive phenomena in children with sickle cell disease (SCD).

Methods: Cross-sectional study with 54 children, aged between 6 and 19 years of age, of whom 28 had genotype SS and 26 apparently healthy (AA genotype) whose parents or guardians, or the children themselves, filled out a questionnaire designed to assess their otoneurological symptoms. All the individuals were submitted assessment of endothelial function by flow-mediated dilation (FMD) percentage with reactive hyperemia of brachial artery Doppler.

Results: Otoneurological symptoms (tinnitus and/or vertigo) predominated in the SCD group (46.4 vs. 15.4%; $p = 0.006$). A negative correlation was observed between FMD percentage and time of evolution of vertigo SCD ($r = -0.432$; $p = 0.022$) and the linear regression analysis demonstrated that for every reduction in FMD percentage there was an increase in time of evolution of vertigo of 1.79 months ($\beta = -1.79$; $p = 0.022$). The positive correlation between episodes of painful crisis and time of evolution of vertigo ($r = 0.3$; $p = 0.04$).

Discussion: The presence of vascular endothelial damage in the labyrinthine artery in patients with SCD is capable of compromising the semicircular canals, shown by clinical expression of otoneurological symptoms, such as vertigo. In the present study, an association was observed between endothelial dysfunction with otoneurological symptoms and otoneurological symptoms and vaso-occlusive phenomena in SCD.

KEYWORDS

Sickle cell disease; vascular endothelium; vertigo; tinnitus

Introduction

The clinical presentation of sickle cell disease (SCD) is characterized by hemoglobin polymerization S and consequently vaso-occlusive phenomena [1], it is manifested clinically by episodes of painful crisis. Studies have demonstrated that these alterations are capable of generating otoneurological symptoms [2–6] such as sensorineural hearing loss (SNHL), tinnitus, and vertigo [5,7]. The literature has demonstrated that its clinical presentation can be related to endothelial dysfunction [8].

The reduction of flow-mediated dilatation (FMD), secondary to reduction of nitric oxide (NO) release, followed by the increase in wall shear stress has been considered an early marker of vascular alterations in SCD patients [9]. Endothelial function evaluation by ultrasonography is a non-invasive method for early detection of changes in the brachial artery wall functionality [10,11].

Therefore, the objective of the present study is to evaluate the association between otoneurological symptoms and endothelial dysfunction and vaso-occlusive phenomena in children with SCD.

Methods

Selection and description of participants

This was a cross-sectional, analytical study, with a non-probabilistic, sequential sample, in which 54 children and adolescents individuals in the age-range ≥ 6 and ≤ 18 years. Of these, 28 were diagnosed with SCD with hemoglobin SS (HbSS), composed the case group, and were patients originating from the University Hospital Professor Edgar Santos of the Federal University of Bahia (UFBA). The Control Group of 26 apparently healthy subjects whose hemoglobin genotype was AA, originated from the School of Medicine of Bahia, Terreiro de Jesus of the UFBA. These two groups were matched for age, during the period from January through July 2015.

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Bahiana School of Medicine and Public Health (No. 33705714.3.0000.5544) and informed consent was obtained from all the children's parents or guardians, and also from the children who were mature enough to understand the study goals.

The study was designed with 90% power to detect a meaningful magnitude of difference superior to two standard deviations of 0.25 in the outcome (reduction in FMD percentage) between the case and the control groups. Considering a type I error of 0.05, and a type II error of 0.10, 13 participants per group were required. However, in order to achieve the study objectives and to include the possibility of a 10% loss, the final sample size was increased to 26 in each group.

Inclusion criteria for SCD group were: age between 6 and 18 with a diagnosis confirmed by DNA sequence, hemoglobin electrophoresis and/or high performance of liquid chromatography. Inclusion criteria for the control group were: age between 6 and 18 and being apparently healthy.

Exclusion criteria for the SCD group were: the presence of other hemoglobinopathies; associated genetic syndromes; obesity; diabetes; hypercholesterolemia; blood transfusion in the last 90 days; acute events in fewer than 30 days previously; stroke. Exclusion criteria for the control group were: presence of infection in the last 30 days; neurologic disease; heart disease, diabetes, genetic syndromes, lung disease, obesity, or hypercholesterolemia.

Technical information

Age was measured by complete years from the date of birth. Race was self-reported according to the official terms used in the demographic census of the Brazilian population. Using skin color as a parameter, the reported categories were white, black, and mixed race, and clinical data were obtained from patient records as hemoglobin; fetal hemoglobin dosage, hydroxyurea use and time of use, presence of episode of painful crisis (vaso-occlusive phenomena) in the last 12 months and number of episodes of painful crisis) in the last 12 months to SCD group.

A questionnaire adapted from the study of Silva [12] was used for assessment of otoneurological symptoms. The answers were given by the parents or guardians, as well as by the patients with SCD and control group: "Does your child presented tinnitus?;" "For how many months has he or she presented tinnitus?" (time of evolution of tinnitus); "Does your child have vertigo (rotating dizziness)?;" "For how many months has he or she presented vertigo?" (time of evolution of vertigo); "Are the episodes of vertigo associated with nausea?" The otoneurological symptoms were determined by the presence of tinnitus and/or vertigo, thus as time of evolution of otoneurological symptoms as the larger time of evolution of tinnitus or time of evolution of vertigo.

The questions were applied by two calibrated examiners, who were blind to the answers obtained. They carried out this research step in distinct time intervals, with the goal of minimizing the possible failures related

to the vertigo and tinnitus symptoms. The answers were considered positive when there was agreement between the two examiners.

Information pertaining the weight and height were obtained by clinical assessment using a Welmy® model R-110 scale with a stadiometer and the body mass index (BMI) was obtained in accordance with the "Quetelet" index weight quotient for the height squared (kg/m^2). The classification according WHO (2007) [13].

A protocol established for ultrasonography evaluation of the brachial artery was used to assess endothelial function [14,15]. The exams were performed in the Cardiovascular Research Laboratory of the Bahiana School of Medicine and Public Health (EBMSP). The equipment used was a VIVID 3 ultrasound system (General Electric Company – Israel), with a multifrequency ultrasonic transducer ranging from 7 to 12 MHz.

Endothelial function was evaluated by means of FMD with reactive hyperemia. The exams were performed in patients who had fasted for 4 hours, after 30 minute rest, with room temperature between 20 and 25°C. All the exams were performed in the morning period to avoid circadian variations. The patients were examined in dorsal decubitus, with the arm positioned ergonomically; the electrocardiogram was synchronized and the heart rate was checked. The mercury column sphygmomanometer cuff functioned as a pneumatic tourniquet around the right arm above the elbow flexure. The diameter of the brachial artery was measured in a longitudinal section (2–15 cm above the elbow) with a high-resolution vascular ultrasound instrument, and then identified in light, at the anterior wall media-adventitial interface ("M line") and the posterior wall intima-lumen interface. The Doppler sample was positioned at a 60° angle; with gray scale control adequacy, depth, filter and Doppler scale. The flow increase was induced by cuff insufflation around the arm to 250 mmHg, for 4 minutes, with continuous monitoring of the artery image, followed by cuff disinflation, leading to reactive hyperemia. The first five flows (Doppler maximum velocity measurement) and artery diameter were monitored for 120 seconds (for measuring the diameter at the end 60 seconds). An experienced vascular ultrasonographer, blind to the patient's diagnosis, performed and analyzed all images recorded in a high-quality computer. The FMD was then calculated as the percent change in diameter compared with baseline resting diameters.

Statistics

All statistical evaluations and operations were performed using the computer software application Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 21 to

analyze the real agreement between the two examiners about the answers obtained from the questionnaire the statistical Kappa Test was applied.

Quantitative variables were reported as the means ± standard deviation or median and interquartile range and categorical variables were reported as simple and relative frequencies. In this cross-sectional study, the chi-square test was used to verify the association between qualitative variables; the Mann–Whitney or t-Student test for the association between qualitative and continuous variables; the Pearson and Spearman tests for correlation between two continuous variables and linear regression analysis.

Results

Fifty four children aged between 6 and 18 years of age were evaluated; 28 with SCD, while 26 were controls with hemoglobin genotype AA. Table 1 shows the sociodemographic and clinical profile of children and adolescents in SCD group and control group.

Participants with SCD presented low average fetal hemoglobin of 7.8 ± 5.8 g/dl, 28 (100%) presented episodes of painful crisis in the last 12 months and the median of episodes of painful crisis in the last 12 months was 2 (0.25–3.75), 14(50%) hydroxyurea use and the median of time of use of 3.32 ± 1.92 years.

FMD percentage was significantly decreased in SCD group compared with controls (11.6 ± 5.58 vs. 19.31 ± 9.34%, *p* = 0.008).

Agreement between the two examiners was considered satisfactory with the respective kappa values that were obtained with regard to the questions: “Does your child presented tinnitus” – kappa = 0.82; “For how many months has he or she presented tinnitus?” (time of evolution of tinnitus) – kappa = 0.68; “Does your child have vertigo (rotating dizziness)?” – kappa = 1; “For how many months has he or she presented vertigo?” (time of evolution of vertigo); – kappa = 0.79; “Are the episodes of vertigo associated with nausea?” – Kappa = 1;

Otoneurological symptoms (tinnitus and/or vertigo) predominated in the SCD when compared with the

Table 1. Sociodemographic and clinical profile of SCD group and control group individuals.

	Sickle cell disease <i>n</i> = 28	Control <i>n</i> = 26	<i>p</i>
Age (years)	11.61 ± 3.02	10.65 ± 3.37	0.793
Ethnicity (black)	17 (59.3%)	15 (57.7%)	0.072
Sex (male)	19 (67.9%)	9 (34.6%)	0.015*
z score weight/age	−0.89 ± 1.27	−0.45 ± 1.33	<0.001*
z score height/age	−2.18 (−2.83 to −0.90)	−1.14 (−1.68 to 0.27)	0.005*
z score BMI/age	−1.04 ± 0.81	0.04 ± 1.08	<0.001*
BMI (kg/m ²)	16 (15–17.5)	18.6 (16.51–20.28)	0.022*
Hemoglobin (g/dl)	8.1 ± 0.93	13.1 ± 1.02	<0.001*

BMI: body mass index.

*Statistically significant values at the level of *p* < 0.05.

Table 2. Comparison of otoneurological profile between SCD group and control group individuals.

	Sickle cell disease <i>n</i> = 28	Control <i>n</i> = 26	<i>p</i>
Presence of tinnitus	12 (42.9%)	4 (15.4%)	0.027*
Presence of vertigo	13 (46.4%)	2 (7.7%)	0.001*
Presence of otoneurological symptoms	13 (46.4%)	4 (15.4%)	0.006*
Time of evolution of tinnitus (months)	12.07 ± 22.90	4.62 ± 12.27	0.045*
Time of evolution of vertigo (months)	13.25 ± 23.26	1.38 ± 7.06	0.001*
Time of evolution of otoneurological symptoms	16.50 ± 23.68	5.54 ± 13.67	0.003*
Presence of nausea associated with vertigo	9 (60%)	2 (100%)	0.515

*Statistically significant values at the level of *p* < 0.05.

control group (46.4 vs. 15.4%; *p* = 0.006). In the SCD group, 42.9% presented tinnitus and 46.4 presented vertigo. Table 2 shows the association between the presence of otoneurological symptoms in the SCD and control groups.

The Pearson correlation analysis demonstrated a significant inverse correlation between FMD percentage and time of evolution of vertigo in SCD (*r* = −0.4; *p* = 0.02).

The result of the linear regression analysis between FMD percentage and the time of evolution of vertigo (Figure. 1) demonstrated that variation in the FMD percentage influence the time of evolution of vertigo. The linear regression coefficient indicated that for each percentage reduction in FMD there was a rise in the time of evolution of vertigo by 1.79 months (*β* = 1.79; *p* = 0.02).

The Spearman correlation analysis showed a positive correlation between the number of episodes of painful crisis and time of evolution of vertigo (*r* = 0.3; *p* = 0.04).

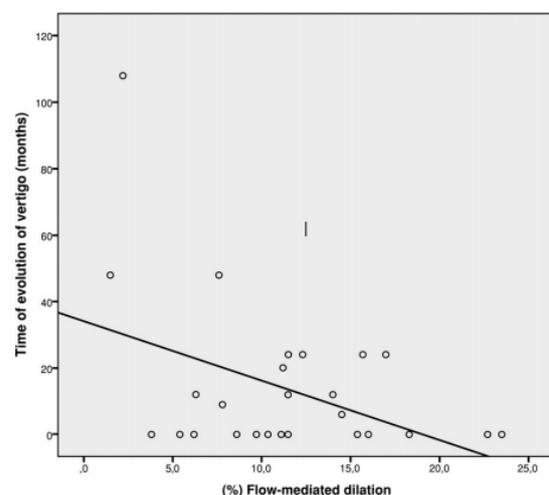


Figure 1. The linear regression analysis between flow-mediated dilation percentage and the time of evolution of vertigo expressed in months for 28 participants with SCD (*p* = −0.432; *p* = 0.022; *β* = −1.79).

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study that showed an association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms by means of the inverse correlation in which the lower flow-mediated dilation (FMD), the higher the time of evolution of vertigo in children and adolescents with SCD and the impact of the association demonstrated in the linear regression analysis

The presence of endothelial dysfunction in SCD occurs due to wall shear stress, sickle cell, and endothelial cell adherence and interaction, low O₂ tension, and high viscosity. This cascade of events leads to vessel occlusion and perfusion damage that induces inflammation and endothelial lesion, lower production of nitric oxide (NO) – the main vasodilator – and increase in expression of vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) by endothelial cells [11,16,17]. The literature points to reduction in NO, one of the markers of endothelial dysfunction in the internal ear structures (cochlea and semicircular canals) for otoneurological symptoms in patients with acute idiopathic tinnitus [18]. While VCAM-1 has been considered a marker of endothelial dysfunction in SNHL [19]. When endothelial dysfunction is present in the auditory system, it is capable of causing circulatory disturbances, as the labyrinthine artery is the only blood supply to this system. Impairment of perfusion by this artery is capable of generating sudden hearing loss, alterations in outer hair cells which are the sensory cells of audition, in the semicircular canals (SC) responsible for corporal balance, as well as in the VIII cranial nerve (vestibulocochlear nerve) with subsequent sensorineural hearing loss and tinnitus [8]. Thus, the present study suggests that the presence of vascular endothelial damage in the labyrinthine artery in patients with SCD is capable of compromising the semicircular canals, clinically expressed as otoneurological symptoms such as vertigo. In addition, it has been observed that longer periods of vertigo involvement were associated with a lower percentage of vasodilation, indicating worsening in endothelial function.

In this research, endothelial dysfunction was also observed by the lower FMD percentage in the SCD group when compared with the control group. The study of De Montalembert et al. [10] achieved similar results, when evaluating FMD in children with SCD (HbSS and Thalassemia), by the reduction in brachial artery FMD shown by means of the non-invasive ultrasound technique.

The presence of otoneurological symptoms was greater in SCD group than in the control group. Piltcher et al. [20] conducted a case-control study that demonstrated that the frequency of otoneurological symptoms (SNHL, tinnitus, and vertigo) was also greater in

SCD group when compared with the control group (50 vs. 10.7%; $p = 0.01$).

In the present study, we also observed an association between the number of painful crises in the last 12 months and the time of evolution of vertigo. When a vaso-occlusive crisis occurs in the inner ear, it can lead to otoneurological symptoms as a result of ischemic damage [2,5,6]. In SCD, the increase in blood viscosity may be related to hemoglobin crystallization, consequently leading to micro vascular ischemia in the cochlea and stria vascularis. These alterations lead to Organ of Corti hypoxia and reduction in blood flow to the neurons responsible for the electrical impulses along the central auditory pathway, resulting in otoneurological symptoms [2–6].

Another important aspect of this study was the assessment of endothelial function by a method easily performed by a trained professional, allowing early inferences about its association with otoneurological symptoms, especially sensorineural hearing loss related to learning problems of school-age children. In addition, the importance of valuing children's complaints is noteworthy, as well as the inclusion of routine hearing evaluation in pediatric and hematological follow-up examinations.

This study had some methodological limitations. It was a study conducted by means of interviews, which could be biased by the participants' memory as regards the presence and time of evolution of otoneurological symptoms. In addition, the children might have had difficulties with describing the symptoms. However, these limitations are inherent to questionnaires that involve the identification of symptoms and clinical manifestations of chronic diseases.

Therefore, this study allowed the authors to conclude that there was an association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms and the clinical manifestations of vaso-occlusive phenomena in children and adolescents with SCD. This suggested that the endothelial aggression may be considered a trigger for vascular involvement in auditory manifestations in this population.

Acknowledgements

This article is part of Mara Renata Rissatto Lago PhD thesis of Bahiana School of Medicine and Public Health PostGraduate Course.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

Funding

This work was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) under the notice number

020/2013 – Research Program: shared health management – (PPSUS) of the Bahia (BA) – FAPESB under the code: EFP_00006943.

Notes on contributors

Mara Renata Rissatto-Lago MD, Msc. PhD Student of the Postgraduate Course in Medicine and Human Health of the Bahiana School of Medicine and Public Health. Speech-language pathologist and Assistant Professor of the Department of the Life Science, State University of Bahia.

Cristina Salles MD, PhD. Postdoctoral Student of the Postgraduate Course in Medicine and Human Health of the Bahiana School of Medicine and Public Health (EBMSP). Adjunct professor of the EBMSP. Preceptor and Otorhinolaryngology of the Hospital Universitário Professor Edgar Santos of UFBA.

Fernando Gesteira Campos de Pinho Undergraduate Student of Medicine of the Bahiana School of Medicine and Public Health.

Isa Menezes Lyra MD, PhD. Full IV professor at University Salvador-Laureate International Universities and Hematologist at UFBA.

Regina Terse-Ramos MD, PhD. Adjunct Professor of the Department of Pediatrics of the School of Medicine of Bahia at UFBA. Collaborating Professor of the Postgraduate Course in Medicine and Health of Hospital Universitário Professor Edgar Santos of UFBA.

Rozana Teixeira MD, Msc. PhD Student of the Postgraduate Course in Medicine and Human Health of Bahiana School of Medicine and Public Health (EBMSP). Assistant Professor of the EBMSP and Auxiliary Professor of the Department of Pediatrics at UFBA.

Ana Marice Ladeia MD, PhD. Adjunct Professor of Bahiana School of Medicine and Public Health (EBMSP), Coordinator of the Postgraduate Course in Medicine and Human Health of EBMSP. Cardiologist of the Hospital Roberto Santos – Health Department of the State of Bahia. Coordinator of projects funded by national research agencies, studying the following topics: atherosclerosis, endothelial function and inflammation, dyslipidemia, sickle cell disease, diabetes, and obesity. Research Grant for Scientific Productivity of the National Council of Technological and Scientific Development-CNPQ. Reviewer of national and international journals.

ORCID

Regina Terse-Ramos  <http://orcid.org/0000-0002-5277-3609>

Rozana Teixeira  <http://orcid.org/0000-0001-7693-3817>

Ana Marice Ladeia  <http://orcid.org/0000-0002-2235-7401>

References

- [1] Thornton JB, Sams DR. Preanesthesia transfusion and sickle cell anemia patients: case report and controversies. *Spec Care Dentist*. 1993;13(6):254–257.
- [2] Burch-Sims GP, Matlock VR. Hearing loss and auditory function in sickle cell disease. *J Commun Disord*. 2005;38(4 Spec. iss.):321–329.
- [3] Mgbor N, Emodi I. Sensorineural hearing loss in Nigerian children with sickle cell disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2004;68(11):1413–1416.
- [4] Downs CR, Stuart A, Holbert D. Distortion product otoacoustic emissions in normal-hearing children with homozygous sickle cell disease. *J Commun Disord*. 2000;33(2):111–127; quiz 128–129.
- [5] Saito N, Watanabe M, Liao J, et al. Clinical and radiologic findings of inner ear involvement in sickle cell disease. *Am J Neuroradiol*. 2011;32(11):2160–2164.
- [6] Silva LP, Nova CV, Lucena R. Sickle cell anemia and hearing loss among children and youngsters: literature review. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2012;78(1):126–131.
- [7] Whitehead RE, MacDonald CB, Melhem ER, et al. Spontaneous labyrinthine hemorrhage in sickle cell disease. *Am J Neuroradiol*. 1998;19(8):1437–1440.
- [8] Otol A. Sensorineural hearing loss and endothelial dysfunction due to oxidative stress: is there a connection? *Andre Ciorba, Milvia Chicca, Chiara Bianchini, Claudia Aimoni, Antonio Pastore*. 2012;(1):16–20.
- [9] Belhassen L, Pelle G, Sediame S, et al. Endothelial dysfunction in patients with sickle cell disease is related to selective impairment of shear stress-mediated vasodilation. *Blood*. 2001;97(6):1584–1589.
- [10] De Montalembert M, Aggoun Y, Niakate A, et al. Endothelial-dependent vasodilation is impaired in children with sickle cell disease. *Haematologica*. 2007;92(12):1709–1710.
- [11] Zawar SD, Vyawahare MA, Nerkar M, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in sickle cell disease by Doppler ultrasonography. *J Assoc Physicians India*. 2005;53:677–680.
- [12] De Castro Silva IM. Avaliação eletrofisiológica da audição em portadores de doença falciforme. Brasília: Universidade de Brasília; 2009.
- [13] Brasil. Ministério da Saúde. Incorporação da curvas de crescimento da Organização Mundial da Saúde de 2006 e 2007 no SISVAN. 2007;1–38.
- [14] Moens AL. Flow-mediated vasodilation. *CHEST J [Internet]*. 2005;127(6):2254. Available from: <http://journal.publications.chestnet.org/article.aspx?doi=10.1378/chest.127.6.2254>
- [15] Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340:1111–1115.
- [16] Gualandro SFM, Fonseca GHH, Gualandro DM. Complicações cardiopulmonares das doenças falciformes. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007;29(3):291–298.
- [17] Reiter CD, Gladwin MT. An emerging role for nitric oxide in sickle cell disease vascular homeostasis and therapy. *Curr Opin Hematol*. 2003;10(2):99–107.
- [18] Neri S, Signorelli S, Pulvirenti D, et al. Oxidative stress, nitric oxide, endothelial dysfunction and tinnitus. *Free Radic Res*. 2006;40(6):615–618.
- [19] Quaranta N, Ramunni A, Brescia P, et al. Soluble intercellular adhesion molecule 1 and soluble vascular cell adhesion molecule 1 in sudden hearing loss. *Otol Neurotol*. 2008;29(4):470–474.
- [20] Piltcher O, Cigana L, Friedrich J, et al. Sensorineural hearing loss among sickle cell disease patients from southern Brazil. *Am J Otolaryngol*. 2000;21(2):75–79.

5.3 Artigo 4 - Hidden hearing loss in children and adolescents with sickle cell anemia. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2019; 116: 186-191

International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology 116 (2019) 186–191



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijporl



Hidden hearing loss in children and adolescents with sickle cell anemia

Mara Renata Rissatto - Lago^{a,b,*}, Luciene da Cruz Fernandes^c, Isa Menezes Lyra^d, Regina Terse – Ramos^e, Rozana Teixeira^{a,e}, Cristina Salles^{a,d}, Ana Marice Teixeira Ladeia^a

^a Bahiana School of Medicine and Public Health, Salvador, Bahia, Brazil

^b Department of Life Science, State University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

^c Department of Speech Therapy, Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

^d University Hospital Professor Edgar Santos of Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

^e Department of Pediatrics, School of Medicine of Bahia, Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil



ARTICLE INFO

Keywords:

Sickle cell anemia
Audiometry evoked potentials
Hearing loss
Otoacoustic emissions
Children

ABSTRACT

Objective: To evaluate the auditory system for hidden hearing loss (HHL) and its association with clinical variables and endothelial dysfunction (ED) in children and adolescents with sickle cell anemia (SCA).

Methods: Participants included 37 patients with stable SCA and 44 healthy controls (HC group) (aged 6–18 years) with hearing thresholds ≤ 20 dB (dB) were evaluated for pure tone audiometry, tympanometry, acoustic reflex, otoacoustic emission, and auditory evoked potentials. Laboratory analysis of the lipid profile, and C-reactive protein levels and endothelial function using ultrasonographic imaging of the brachial artery to assess flow-mediated dilation were performed.

Results: The SCA group presented with a higher rate of increased contralateral acoustic reflex thresholds, compared to those in the HC group at all frequencies and in both ears ($p < 0.05$). There were significant differences in the brainstem auditory evoked potentials between the SCA and HC groups. In the SCA group, the waves III and V latencies were increased ($p = 0.006$ and 0.004 respectively), and the I-III and I-V interpeak intervals were longer ($p = 0.015$ and 0.018 respectively) than those in the HC group. There was no association between the audiological measures and clinical and metabolic variables and sickle cell anemia complications including endothelial function and therapy.

Conclusion: In conclusion, our findings suggest that damage in the auditory system in SCA patients can be present involving retrocochlear structures, causing functional deficits without deterioration of auditory sensitivity.

1. Introduction

Sickle cell anemia (SCA) is a homozygotic, hereditary, and genetically determined hemolytic disorder with a complex pathophysiology culminating in a spectrum of clinical manifestations due to circulatory changes [1,2]. Several studies have reported hearing disorders associated with vascular diseases [3–5]. A previous study reported inner ear abnormalities including conglomerate of sickle-shaped red blood cells in the organ of Corti in children with SCA and hearing loss [6]. Additionally, sensorineural hearing loss (SNHL) is a common complication with a high prevalence in SCA patients [7–11].

Considering sensitivity of the cochlea to anoxia due to high consumption of oxygen, poor capacity of anaerobic metabolism, and delicate nature of cochlear vasculature [7,12], previous studies have found larger distortion product otoacoustic emission (DPOAE) amplitudes in

SCA patients compared to that in healthy controls (HC), and an associated early or subclinical cochlear damage in SCA patients [12–14]. However, the possible underlying mechanisms are still unknown. It is possible that increased DPOAE amplitude may be related to the inflammatory process in SCA, which can decrease vascular tone leading to a prothrombotic state with decreased blood flow in the auditory system causing hearing disorders.

Previous studies have reported hearing disorders with retrocochlear involvement in SCA [15,16]. However, there is a gap in the literature about injuries in the central auditory system (CAS). The investigation of the functional integrity of the CAS (brainstem and auditory cortex) may aid in diagnosing functional deficits in hearing system without deterioration of auditory sensitivity, subclinical damage or hidden hearing loss (HLL) due to SCA vasculopathy, with interest not only in their symptomatology, but in the possibility of early screening, diagnosis,

* Corresponding author. State University of Bahia, Department of Life Science, Rua Silveira Martins 2555, Cabula, 41195-001, Salvador, Bahia, Brazil.

E-mail addresses: mararenata@uol.com.br, mrissatto@uneb.br, mararissattolago@gmail.com (M.R. Rissatto - Lago).

<https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2018.10.042>

Received 11 August 2018; Received in revised form 25 October 2018; Accepted 28 October 2018

Available online 02 November 2018

0165-5876/ © 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

identification of their risk factors and their relationship if any. Thus, the objective of the present study was to evaluate the auditory system for HHL, and its association with clinical variables and endothelial dysfunction (ED) in children and adolescents with SCA.

2. Methods

2.1. Selection and description of participants

Thirty-seven subjects (20 males age: 6–18 years) with SCA, diagnosed by hemoglobin (Hb) electrophoresis, were examined in this study; 44 HC (27 males, age 6–18 years) were also evaluated. The above mentioned two groups were part of our previous study, which included 52 patients with SCA and 44 HC subjects [17]. Of the 52 SCA patients from the original study, 15 participants with SNHL were excluded for the present study. The participants' characteristics and inclusion and exclusion criteria have been described previously [17]. Briefly, none of the participants had associated comorbidities such as genetic syndromes, obesity, diabetes mellitus, hypercholesterolemia, stroke, neurological disease, heart disease, or any lung disease. Patients with otologic injuries, chronic otitis media, previous exposure to any ototoxic medications, and a family history of hearing loss were excluded.

All included individuals had hearing threshold levels (HTL) within normal limits (≤ 20 dB) for all frequencies from 250 to 8000 Hz, as indicated by pure tone audiometry (PTA), as well as normal otoscopy and middle ear findings, defined by a "type A" curve in the tympanogram [18] and contralateral acoustic reflex threshold in at least one of the analyzed frequencies.

2.2. Technical information

Clinical data were obtained from patients' records. Laboratory analyses, assessment of the endothelium-dependent vasomotor function using flow-mediated vasodilation (FMD), and pure tone audiometric thresholds were obtained from all participants as previously reported [17]. Participants with total cholesterol (TC) > 170 mg/dL [19] and/or high-sensitive C-reactive protein (hs-CRP) > 10 mg/L [20] were excluded from the analysis. Endothelial dysfunction was determined to be present if the FMD value was below the 10th percentile cut-off of the HC group [21,22].

2.3. Hearing assessment

PTA was performed to evaluate the hearing thresholds using an AD 229 clinical audiometer (Interacoustic[®], Middlefart, Denmark) in a soundproof cabin, including air conduction for octave frequencies, 250–8000 Hz and bone conduction for octave frequencies, 500–4000 Hz.

Tympanometry was performed using a 226 Hz probe tone of 85 dB SPL to ensure normal middle ear function. Peak compensated static acoustic admittance (Ymt), tympanometric peak pressure (TPP), and equivalent ear canal volume (Vea) were recorded. Pump speed was 50 daPa/s with a sweep pressure starting point of 200 daPa (daPa) and end point of -400 daPa. Contralateral acoustic reflex thresholds were evaluated at 500 Hz, 1000 Hz, 2000 Hz, and 4000 Hz separately for each ear. The evaluation was initiated at an intensity of 80 dB, and the intensity was gradually increased in steps of 5 dB to evoke and confirm the responses [23,24]. The acoustic reflex threshold was defined as the lowest stimulus intensity level of HL in dB, at which a reproducible acoustic reflex deflection (representing a minimum of 0.02-mm change in immittance) from a baseline recording could be detected in two consecutive trials. For evaluating acoustic reflex thresholds ≤ 100 dB HL were considered normal, whereas thresholds > 100 dB HL were considered increased [25]. An acoustic reflex threshold was considered absent if reflexes were observed at a level one step above the highest level tested (i.e. if the highest level tested was 110 dB HL and absent

reflex was detected at that level, a reflex was recorded at 115 dB HL).

Tympanometry and acoustic reflex thresholds were performed with a diagnostic impedance meter MADSEN[®] Otoflex 100 (Otometrics, Taastrup, Denmark). For collecting DPOAEs responses, a clinical DPOAE system OtoRead -Standard & Clinical (Interacoustics[®], Drejervaenget, Denmark) was used at two primary frequencies, $f_1 = 65$ dB SPL and $f_2 = 55$ dB SPL with a constant frequency ratio (f_2/f_1) of 1.2. Responses were measured at 2000 Hz, 4000 Hz, 6000 Hz, and 8000 Hz. A response was considered to be present if it could be measured with a signal to noise ratio ≥ 3 dB.

The participants underwent DPOAE tests to evaluate sensitivity of the cochlea - outer hair cells (OHC) and with contralateral noise to evaluate inhibition effects of the medial olivocochlear (MOC) system. The contralateral noise (white noise) at 60 dB SPL was generated using a middle ear analyzer AZ7 (Interacoustics[®], Drejervaenget, Denmark) with a supra-aural TDH-39[®] headphone (MedRx, Inc., RD, EUA). The positive difference in dB between the two conditions (DPOAE amplitude without noise - DPOAE amplitude with noise) denoted inhibitory effects of the MOC [26,27]. Therefore, the absolute values of the difference were used in the analysis. To analyze concordance, test sessions were performed for each ear with and without contralateral noise. We used the first sample for both with and without contralateral noise in the calculation of all DPOAE results as there was no statistically significant difference between the two samples.

The electrophysiological tests, brainstem auditory evoked potentials (BAEP) and long latency auditory evoked potentials, and cognitive potential (P300) tests were performed in non-sedated subjects in an electric and sound attenuated testing room. Electrophysiological evaluation was made using the Masbe ATC Plus equipment (Contronix[®], Pelotas, Brazil) coupled to a computer with insert earphones 3M E-ARTONE (3MCompany[®], Minneapolis, EUA[®]). For electrophysiological tests, surface electrodes were fixed to the skull using the electrolytic Ten20 paste (Weaver and Company[®], Aurora, Brazil), and skin-electrode impedance values were maintained below 5 k Ω . Electroencephalography was performed to capture spontaneous brain electrical activity, and verify artifacts that might interfere with the examination. The analysis of recording of electrophysiological tests was performed by the lead researcher and a second experienced researcher in the field of electrophysiology. The researchers were blinded to the participants' characteristics during the analysis of electrophysiological recordings.

For BAEP, electrodes were positioned as follows: the active electrode (Fz) on the forehead, the ground electrode (Fpz) on the forehead, and the reference ones on the left (M1) and right (M2) mastoids. For BAEP testing, the stimulus was click at 80 dB HL, monaural, 17.2 clicks per second, 2000 sweeps, alternating polarity. High pass filter setup at 100 Hz and a low pass filter at 3000 Hz, and 10 ms window BAEP is a non-invasive physiological technique used to examine the auditory nerve and auditory brainstem function. The absolute latencies of waves I, III and V, and interpeak intervals of I-III, III-V, I-V were analyzed. The BAEP measurements were duplicated to ensure fidelity. Participants remained in the supine position on a stretcher with their eyes closed during the recording.

For P300, the electrodes were placed as follows: the active electrode (Cz) on the cranial vertex, the ground electrode (Fpz) on the forehead, and the reference ones on the left (M1) and right (M2) mastoids. For all tests, electrode placement was based on the International Electrode System (IES). The P300 responses were presented in an oddball paradigm between a rare stimulus repeated randomly at 2000 Hz (20% of the time) and frequent stimulus at 1000 Hz (80% presentation of the time). Binaural auditory stimulus was presented at 80 dB HL with a plateau of 20 ms stimulus, rise-fall of 5 msec, alternate polarity, stimulus interval of 0.8 ms, 300 sweeps, a 1 Hz–20 Hz filter, and a 1000 ms window at 80 dB HL. For marking a P300 wave, the highest peak of positive polarity after N1-P2-N2 complex was considered and displayed as the sum of rare stimulus [28].

The participants remained in a comfortable position on a stretcher with their eyes open and fixed on an image, and were oriented and conditioned with the task of mentally counting the rare stimuli whenever they discriminated them. Before performing P300, the participants underwent training, which aimed to verify the detection and correct discrimination of the acoustic stimuli presented. At the end of P300 examination, the participants were asked about the number of rare stimuli they had listened to, and the response was compared to the number of rare stimuli recorded by the equipment. Latency is the time from stimulus onset to the point of maximum positive amplitude within a 250–500 msec time window [29], and measures the speed of processing incoming information incorporated into working memory. Impaired cognitive abilities manifest as increased latency [30].

2.4. Statistical analyses

Normality of data was checked using the Kolmogorov-Smirnov test. Data were represented as mean (SD) when normal and as median (interquartile range, IQR) when non-normal. Categorical variables were described as proportion (percentage). Comparisons between the SCA and HC groups were performed using the Fisher's exact test and Chi-square test, independent samples *t*-test, and Mann-Whitney *U* test as appropriate. The DPOAEs results were analyzed using multifactorial 4-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) with groups (SCA vs. HC), sex (male vs. female), ears (right vs. left), and frequencies (2000 Hz vs. 4000 Hz vs. 6000 Hz vs. 8000 Hz). The latter two factors were repeated measures. The Greenhouse-Geisser correction was applied, and for all significant effects, post-hoc analysis was performed using the Fisher's least significance difference test. Correlations between variables were analyzed by Pearson or Spearman correlation analysis as appropriate.

The DPOAE amplitudes and electrophysiological tests records (BAEP and P300) were compared between ears intra-groups for SCA and HC groups and there was no difference. Thus, the two ears were grouped for statistical analysis. The repeated measures of the DPOAE amplitudes without and with contralateral noise and two analysis of electrophysiological test records (BAEP and P300) measurements were assessed using the intraclass correlation coefficient (ICC). Measures with excellent reproducibility had similar results (ICC > 8).

All analyses were conducted using SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 21.0 for Windows® (SPSS Inc, Chicago, IL, USA), and statistical significance was accepted at $p < 0.05$ level for all tests.

2.5. Ethics

This study was approved by the research ethics committee of Bahiana School of Medicine and Public Health (No.33705714.3.0000.5544). Written, informed consent was obtained from a legal guardian and participants old enough to understand the study goals.

3. Results

3.1. Clinical and demographic features

Data from 37 children and adolescents with SCA and 44 apparently healthy subjects were analyzed. The mean patient age was 12.35 ± 3.11 years vs. 11.11 ± 3.17 , $p = 0.082$; 20 males (54.1%) vs. 27 males (61.4%), $p = 0.122$; BMI 16.97 ± 2.36 kg/m² vs. 18.06 ± 3.07 kg/m², $p = 0.084$, respectively. There were no differences in age, sex, and body mass index (BMI) between the two groups.

Compared to the HC group, the SCA group had a lower mean Hb, TC, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C); however, the median triglycerides (TG) and TG/HDL-C fraction, and hs-CRP was higher (Table 1). In the SCA group, FMD was significantly smaller than that in the HC group (11.5

Table 1
Study groups' characteristics.

Characteristics	SCA (n = 37)	HC (n = 44)	p-value
Hemoglobin (mg/dL)	8.10 (0.81)	13.43 (0.96)	< 0.001 ^a
Total cholesterol (mg/dL)	127.78 (24.93)	157.16 (26.76)	< 0.001 ^a
HDL-C(mg/dL)	32.88 (6.87)	47.21 (11.04)	< 0.001 ^a
LDL-C (mg/dL)	75.33 (22.69)	94.26 (23.37)	< 0.001 ^a
Triglycerides (mg/dL)	97.76 (27.38)	72.9 (26.35)	< 0.001 ^a
TG/HDL-C (mg/dL)	3.04 (2.62–5.34)	1.45 (1.05–2.11)	< 0.001 ^b
Hs -CRP (mg/L)	3.11(1.03–6.42)	0.55 (0.25–1.13)	< 0.001 ^b

Data are represented mean (SD) or median (IQR) for n subjects. SCA, sickle cell anemia; HC, healthy control group, HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; TG/HDL-C, triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio. $p < 0.05$ indicates statistical significance using the ^aindependent samples *t*-test and ^bMann-Whitney *U* test.

(8.25–15.7), vs. 15.0 (12.3–18.4), $p = 0.006$). The number of participants with ED was larger in the SCA group than in the HC group (10 (27%) vs. 4 (9.1%), $p = 0.03$) (ED cutoff = 9.05%, see previously reported methods [17]).

In the SCA group, 29 (78.4%) participants underwent neonatal screening. Thirty-four (73.3%) participants were diagnosed with SCA below 2 years of age. Twenty-three participants (62.2%) had painful vaso-occlusive crises (VOC), for last twelve months with 1.5 (1–3) episodes. Eleven participants (21%) had blood transfusion (for last twelve months) with 0 (0–1) episodes. Twenty-eight (53.8%) participants used hydroxyurea (HU) therapy, and in 14 of these participants (50%), the duration of HU therapy was > 2 years.

3.2. Hearing assessment

3.2.1. Pure tone audiometry

The pure tone hearing thresholds were similar between the SCA and HC groups ($p > 0.05$, Mann-Whitney *U* test).

3.2.2. Tympanometry and stapedius reflex

Tympanometry measures (Ymt, TPP, and Veal) were similar between the SCA and HC groups ($p > 0.8$, > 0.5 and > 0.9 respectively, independent samples *t*-test). The group with SCA presented with the following proportions of absent contralateral acoustic reflex thresholds: in the right ear, two (5.4%) at 500 Hz and 1000 Hz, four (10.8%) at 2000 Hz, and six (16.2%) at 4000 Hz; in the left ear, four (10.8%) at 500 Hz and 1000 Hz, six (16.2%) at 2000 Hz, and seven (18.9%) at 4000 Hz. Additionally, the SCA group presented with a higher rate of increased contralateral acoustic reflex thresholds compared with those in the HC group at all frequencies and in both ears (Table 2).

3.2.3. Auditory evoked potentials

There was a significant difference in the BAEP values between the SCA and HC groups. In the SCA groups, the mean latencies of waves III and V and the mean interpeak latencies I-III and I-V were significantly higher compared to the HC group (Table 3).

Two participants from the SCA group and four participants from the HC group were excluded from the P300 analysis, because either P300 was absent or could not be analyzed. The P300 latencies were similar between the SCA and HC groups (353.6 ± 37.78 vs. 344.4 ± 40.98 ms, $p = 0.32$).

3.2.4. Otoacoustic emissions

The 4-way ANOVA did not show any interaction effect between the DPOAE amplitudes for group, sex, ear, and frequencies (F 3, 228 = 24.27, $p = 0.58$, $h^2 = 0.008$). The DPOAE amplitudes were not different between the SCA and HC groups (F 3228 = 177.69, $p = 0.16$, $h^2 = 0.023$).

In both SCA and HC groups, the DPOAE amplitude patterns with

Table 2
Comparison of the proportion of cases with increased acoustic reflex thresholds between the sickle cell anemia and healthy control groups.

Frequency (kHz)	Right ear			Left ear		
	SCA (n = 37)	HC (n = 44)	P-value	SCA (n = 37)	HC (n = 44)	P-value
	N (%)	N (%)		N (%)	N (%)	
0.5	13 (35.1)	3 (6.8)	0.002 ^a	12 (32.4)	4 (9.1)	0.009 ^a
1	10 (27.0)	3 (6.8)	0.015 ^a	14 (37.8)	4 (9.1)	0.002 ^a
2	11 (29.7)	1 (2.3)	0.001 ^a	12 (32.4)	1 (2.3)	< 0.001 ^a
4	15 (40.9)	0 (0)	< 0.001 ^a	10 (27.0)	1 (2.3)	0.001 ^a

Data are represented as absolute values and proportions for n subjects. SCA, sickle cell anemia; HC, healthy control group. p < 0.05 indicates statistical significance using the Chi-square test.

Table 3
Absolute latencies and interpeak latencies obtained with brainstem auditory evoked potential; for the two ears.

BAEP	SCA (n = 37; 74 ears)	HC (n = 44; 88 ears)	P-value
I	1.35 ± 0.11	1.34 ± 0.88	0.731
III	3.58 ± 0.17	3.51 ± 0.14	0.006
V	5.40 ± 0.17	5.32 ± 0.14	0.004
I-III	2.23 ± 0.15	2.17 ± 0.15	0.015
III-V	1.82 ± 0.14	1.82 ± 0.11	0.966
I-V	4.05 ± 0.19	3.98 ± 0.15	0.018

Data are represented as mean (SD) for n subjects. BAEP, brainstem auditory evoked potential; SCA, sickle cell anemia; HC, healthy control group. p < 0.05 indicates statistical significance using the independent samples t-test.

contralateral noise conditions were similar to those without contralateral noise; there was no statistically significant effect in the interaction in the groups based on sex, right or left ear, and frequencies (F 3228 = 24.047, p = 0.642, h2 = 0.007). Furthermore, the DPOAE amplitudes with contralateral noise conditions too were not different between the two groups (F 3228 = 221,534, p = 0.14, h2 = 0.025).

The 4-way ANOVA results for the inhibition effects of MOC were not different between the SCA and HC groups (F3,228 = 11.50, p = 0.41, h2 = 0.012). There was no interaction between the inhibition effects of MOC values for group, sex, ear, and frequencies (F 3228 = 13.23, p = 0.33, h2 = 0.015).

3.3. Association between audiological measures and clinical metabolic variables and sickle cell anemia complications and therapy

There was no association between the proportions of increased acoustic reflex thresholds and ED, presence of VOC, use of therapy HU, use of blood transfusion lipid profile, and FMD. There was also no association between BAEP and ED or presence of VOC. Furthermore, no correlation was observed between BAEP and lipid profile, between BAEP and FMD, and between BAEP and clinical variables.

4. Discussion

The present study contemplated several procedures to evaluate different auditory pathway sites in children and adolescents with SCA. To the best of our knowledge, there are no studies in the literature assessing the use of several concomitant hearing tests to analyze hearing from the peripheral to the central auditory pathways, which allows the analysis of either an already existing hearing loss or a sub-clinical hearing loss (e.g. hidden hearing loss) in SCA.

The results showed abnormalities in the acoustic reflex thresholds including absent or increase of thresholds in the SCA group and the average latencies of waves III and V and interpeak latencies I-III and I-V in the BAEP tests were increased in the SCA group in comparison with HC group. However, without associations between thresholds of AR or latencies obtained in BAEP with complications of the SCA (VOC,

ED), use de HU and profile lipidic.

Previous studies have reported audiological findings in SCA with SNHL. There was a consensus that SNHL is predominantly of cochlear origin due to ischemia and hypoxia of the stria vascularis and organ of Corti [7,8,17,31–34]. However, while a neural contribution could not be excluded [35], only a few studies have analyzed CAS in SCA patients [15,16,36–38].

We discuss our five principle findings for hearing assessment in the subsequent paragraphs. First, there was a significantly higher proportion of increased contralateral acoustic reflex thresholds in both ears in the SCA group than in the HC group. Similar results have been reported in a study with 27% of the patients without SNHL [9]. The afferent arm of the contralateral acoustic reflex depends on an intact transmission of the stimulus from the cochlea to the 8th cranial nerve (auditory nerve). Thus, abnormalities in the acoustic reflex thresholds (i.e., thresholds that are absent or increased) may be linked to cochlear impairment including SNHL. However, increased or absent acoustic reflex thresholds without SNHL can indicate alterations in the brainstem structures or in the efferent nervous system. The efferent arm of the contralateral acoustic reflex is formed by projections of neurons from brainstem structures in and around the nucleus of the seventh cranial nerve, and of efferent motor neurons from the facial nerve branch to the stapedius muscle [39]. Abnormalities in the acoustic reflex thresholds may be related to the difficulty of the neural circuitry of the superior olivary complex in transmitting the necessary command to activate the facial nerve, which is responsible for activating the stapedius muscle [40].

Our observations support the hypothesis that in SCA patients, the auditory system may be more susceptible to damage and subclinical alterations in the auditory system resulting in incomplete (cystic) silent cerebral infarction represented by selective neuronal loss with preservation of some neurons, glia, and microvessels [41].

In our second finding, the BAEP tests' results strengthen this hypothesis. The mean latencies of waves III and V and the mean interpeak latencies I-III and I-V between were significantly higher in the SCA patients, compared to the HC group. Considering that the differences in the two values between the SCA and HC groups in the BAEP do not identify clinical alterations, according to the literature [42], the mean values are statistically different but are clinically normal. Thus, the data found in our study are not enough to state the presence of an already installed retrocochlear alteration. However, considering the statistical difference indicating a more delayed transmission in the AF than in the HC group, and that other studies with SCA patients that included samples with an older age group and/or presence of SNHL reported abnormally increased latencies I-V, suggesting alterations in the CAS [15,16], we hypothesized that these results indicate damage in the afferent pathway at the brainstem level, and, with advancing age and disease worsening, these subclinical damages evolve to clinical damages. The interpeak I-V latency represents the speed of neural transmission from the beginning of the sound emission to the arrival of the sound to the inferior colliculus, including the sound transmission through the whole peripheral hearing system. A reduction in the speed

of sound suggests delayed transmission of the auditory pathway to the brainstem.

A study assessing children with sickle cell beta-thalassemia and SCA phenotypes reported a single patient with clinical change in BAEP (prolonged III-V interpeak) who also sustained a unilateral SNHL at the same side and an infarct of the middle cerebral artery, concluding that different hematological and clinical profiles may play a role in abnormal BAEP [38].

Further cohort studies are necessary to follow this process, since it is not possible to determine the moment when these hidden damages occur.

Third, there was no statistically significant difference in the DPOAE amplitudes between the SCA and HC groups. This was suggestive of a normal outer hair cells (OHC) function. Since OAE provides an objective measure of OHC function independent of the retrocochlear activity, this finding is expected, considering that our subjects had normal hearing indicating normal hearing peripheral function. However, other studies reported that DPOAE amplitudes were significantly larger in patients with SCA than in HC group [12–14]. Nevertheless, other studies have not attributed this increase in amplitude to the functional differences in the outer ear and mean values evaluated in tympanometry [13], as well as to the beginning of auditory dysfunction in CAS with dysfunction in the efferent neural pathway, the MOC [36]. The inflammatory processes in SCA possibly affects the mechanics of the basilar membrane and/or organ of Corti, which may lead to increased DPOAE amplitude. This leads to a swelling of the OHC in Organ's Corti causing an increase in the reflux of hyperosmolar fluid; hence, the influx of potassium (K^+) in the OHC leads to consequent modification in the configuration of prestin. The prestin gene-motor protein is responsible for the electromotility of the OHC [43–45]. This is believed to be a precursor of eventual hearing loss, as observed in children with SCA, who did not receive HU [14].

Fourth, our study did not reveal a significant difference in the absolute level of inhibition effects of the MOC between SCA and HC groups. After an extensive literature research, we found only one study which analyzed inhibition effects of the MOC by OAE with contralateral noise in SCA patients [36]. This study found that there was no significant difference in the inhibition effects of the MOC by OAE between the SCA and HC groups [36]. These findings are in line with our results. Fifth, the present study, the P300 latencies were similar between the SCA and HC groups. Little information is available on P300 test results in patients with SCA. A single study reported that children with sickle cell disease (SCD) had a longer P300 latency in comparison with the HC group but none of the markers of SCD morbidity were related to P300 results [46]. In another study in patients with clinically stable SCD, P300 responses were similar between the SCD patients and healthy controls [37].

P300 is an auditory cognitive evoked potential involved in attention, discrimination, and memory. It is an indicator of cortical processing speed, and delayed in patients with cognitive deterioration [47]. It has been used to evaluate the attention or learning deficit with alteration of central auditory pathways from periphery to the primary auditory cortex [48]. Studies in patients with SCA have shown that SCA including neurocognitive changes are accentuated in the transitional phase of adolescence into adulthood [49,50], which raises the hypothesis of later damages in the auditory cortex due to silent infarction. Thus, analysis of P300 deserves further investigation.

There was no association between the audiological measures (increased AR or BAEP), metabolic variables (lipid profile), SCA complications (VOC and ED), and use of HU and blood transfusion. To our knowledge, there is no previous report about these associations. Our study had laid a foundation for future research by detecting an association between otoneurological symptoms (vertigo and SNHL) in patients with SCA and ED [17,51] corroborating with the hypothesis that hearing disorders can be associated with vascular disorders [3–5].

In the SCA group, the increased AR, delay in the waves III and V

latencies, and increase in the I-III and I-V interpeak intervals without differences in the OAE amplitudes suggested that there may be a sub-clinical damage in the CAS in the absence of peripheral hearing loss. HHL is a condition in which damage to the auditory system is not sufficient to produce a threshold shift or the auditory system partially recovers to the extent to which thresholds are restored to original levels, despite residual physical damage. The causes of HHL in SCA still need to be elucidated. The possible contributing factors include silent cerebral infarction due neurologic complications and ischemia and hypoxia in the central nervous system due stenosis and/or incipient occlusion. The central nervous system is most vulnerable to hypoxia as it has poor tolerance to low oxygen levels which affects brainstem [52]. Further research is required to determine the etiology of changes in the various anatomical structures which contribute to the impaired CAS seen in SCA patients.

The strengths of our study include standardized methodology and strict patient characterization, which allowed us to diagnose subclinical hearing abnormalities in patients with SCA and possible associations with other complications. A limitation of this study is that we enrolled a sub-group of patients from our previous study, who were clinically stable [20]. Thus, our sample size might have been insufficient to observe associations with complications of SCA (i.e. VOC and ED), and thus use HU.

5. Conclusion

In conclusion, our findings suggest that damage in the auditory system in SCA patients can be present involving retrocochlear structures, causing functional deficits without deterioration of auditory sensitivity.

Disclaimers

The views expressed in the article submitted are their own and not an official position of the institution or funder.

Authors' contributions

MRRL, LCF, CS, and AMTL conceived the idea and drafted the manuscript; MRRL, RT, IML, RTR, CS, and AMTL performed the investigation; MRRL, LCF, and CS performed data curation and formal analysis; AML was the supervisor of the survey; and all authors revised the manuscript and approval the final version.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Funding

This work was supported by Foundation for Support of Research of the State of Bahia (FAPESB) - Research Program: shared health management – (PPSUS) of Bahia, Brazil [grant number: EFP_00006943].

Acknowledgements

This article is part of Mara Renata Rissatto Lago's PhD thesis in the Bahiana School of Medicine and Public Health Postgraduate Course.

References

- [1] A.J.J. Wood, Management of sickle cell disease, *N. Engl. J. Med.* 340 (1999) 1021–1030.
- [2] C. Brugnara, F.H. Bunn, D.C. Tosteson, Regulation of erythrocyte cation and water content in sickle cell anemia, *Science* 232 (1986) 388–390.
- [3] G.R. Serjeant, W. Normanf, G.B. Todd, The internal auditory canal and sensorineural hearing loss in homozygous sickle cell disease, *J. Laryngol. Otol.* 89 (1975)

- 453–455.
- [4] R.E. Whitehead, C.B. MacDonald, E.R. Melhem, L. McMahon, Spontaneous labyrinthine hemorrhage in sickle cell disease, *Am. J. Neuroradiol.* 19 (1998) 1437–1440.
 - [5] N. Saito, M. Watanabe, J. Liao, E.N. Flower, R.N. Nadgir, M.H. Steinberg, et al., Clinical and radiologic findings of inner ear involvement in sickle cell disease, *Am. J. Neuroradiol.* 32 (2011) 2160–2164 <https://doi.org/10.3174/ajnr.A2720>.
 - [6] K.M. Morgenstein, E.D. Manace, Temporal bone histopathology in sickle cell disease, *Laryngoscope* 79 (1969) 2172–2180 <https://doi.org/10.1288/00005537-196912000-00013>.
 - [7] N. Mgbor, I. Emodi, Sensorineural hearing loss in Nigerian children with sickle cell disease, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 68 (2004) 1413–1416 <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2004.05.009>.
 - [8] O. Odetoynbo, A. Adekile, Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 96 (1987) 258–260 <https://doi.org/10.1177/000348948709600304>.
 - [9] O. Piltcher, L. Cigana, J. Friedrich, F. De Andrade, Q. Ribeiro, S. Selaimen, Sensorineural hearing loss among sickle cell disease patients from southern Brazil, *Am. J. Otolaryngol.* 21 (2000) 75–79.
 - [10] S. Alabi, K. Ernest, P. Eletta, A. Owolabi, A. Afolabi, O. Suleiman, Otolologic findings among Nigerian children with sickle cell anaemia, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 72 (2008) 659–663 <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2008.01.024>.
 - [11] H. Al-Muhaimeed, G. Thomas, A. Sedran, H. Nasher, Pattern of hearing loss in sickle cell disease, *Aust. J. Oto Laryngol.* 3 (2000) 472–475.
 - [12] C.R. Downs, A. Stuart, D. Holbert, Distortion product otoacoustic emissions in normal-hearing children with homozygous sickle cell disease, *J. Commun. Disord.* 33 (2000) 111–119.
 - [13] L.J. Walker, A. Stuart, W.B. Green, Outer and middle ear status and distortion product otoacoustic emissions in children with sickle cell disease, *Am. J. Audiol.* 13 (2004) 164–172.
 - [14] A. Stuart, S.M. Jones, L.J. Walker, Insights into elevated distortion product otoacoustic emissions in sickle cell disease: comparisons of hydroxyurea-treated and non-treated young children, *Hear. Res.* 212 (2006) 83–89 <https://doi.org/10.1016/j.heares.2005.10.014>.
 - [15] A. Husain, S.S. Habib, A. Al Drees, S.A. Omar, A.S. Mujeed, Short-latency brainstem auditory-evoked responses associated with homozygous sickle cell disease, *J. Appl. Hematol.* 2 (2011) 197–199 <https://doi.org/10.4103/0256-4947.72265>.
 - [16] L. Jovanovic-Bateman, R. Hedreville, Sensorineural hearing loss with brainstem auditory evoked responses changes in homozygote and heterozygote sickle cell patients in Guadeloupe (France), *J. Laryngol. Otol.* 120 (2006) 627–630 <https://doi.org/10.1017/S0022215106001678>.
 - [17] M.R.R. Lago, C. Fernandes, I.M. Lyra, R.T. Ramos, R. Teixeira, C. Salles, et al., Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia and its association with endothelial dysfunction, *Hematology* 0 (2018) 1–7 <https://doi.org/10.1080/10245332.2018.1478494>.
 - [18] J. Jerger, Clinical experience with impedance audiometry, *Arch. Otolaryngol.* 92 (1970) 311–324.
 - [19] H.T. Xavier, M.C. Izar, J.R. Faria Neto, M.H. Assad, V.Z. Rocha, A.C. Sposito, et al., V diretriz brasileira de dislipidemia e prevenção da aterosclerose, *Arq. Bras. Cardiol.* 101 (2013) 1–22 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60739-3.09-2015-VYT-13-BR-J](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60739-3.09-2015-VYT-13-BR-J).
 - [20] T.A. Pearson, G.A. Mensah, R.W. Alexander, J.L. Anderson, R.O. Cannon, M. Criqui, et al., Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association, *Circulation* 107 (2003) 499–511 <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45>.
 - [21] M.J. Järvisalo, T. Rönemaa, I. Volanen, T. Kaitosaari, K. Kallio, J.J. Hartiala, et al., Brachial artery dilatation responses in healthy children and adolescents, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 282 (2002) H87–H92.
 - [22] R.S. Teixeira, R. Terse-Ramos, T.A. Ferreira, V.R. Machado, M.I. Perdiz, I.M. Lyra, et al., Associations between endothelial dysfunction and clinical and laboratory parameters in children and adolescents with sickle cell anemia, *PLoS One* 12 (2017) e0184076 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184076>.
 - [23] S. Barozzi, D. Soi, E. Comiotto, A. Borghi, C. Gavioli, E. Spreafico, et al., Audiological findings in Williams syndrome: a study of 69 patients, *Am. J. Med. Genet.* 158 A (2012) 759–771 <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35241>.
 - [24] S.A. Counter, L.H. Buchanan, F. Ortega, Acoustic stapedius muscle reflex in mercury-exposed andean children and adults, *Acta Otolaryngol.* 132 (2012) 51–63 <https://doi.org/10.3109/00016489.2011.617778>.
 - [25] S. Jerger, Validation of the pediatric speech intelligibility test in children with central nervous system lesions, *Int. J. Audiol.* 26 (1987) 298–311 <https://doi.org/10.3109/00206098709081557>.
 - [26] W.A. Kaf, A.A. Danesh, Distortion-product otoacoustic emissions and contralateral suppression findings in children with Asperger's Syndrome, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 77 (2013) 947–954.
 - [27] C.N. Rocha-muniz, R. Mota, M. Carvalho, E. Schochat, Medial olivocochlear function in children with poor speech-in-noise performance and language disorder, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 96 (2017) 116–121.
 - [28] C.A.O. Junqueira, J.F. Colafemina, Investigação da estabilidade inter e intra-examinador na identificação do P300 auditivo: análise de erros, *Rev. Bras. Otorrinolaringol.* 68 (2002) 468–478 <https://doi.org/10.1590/S0034-72992002000400004>.
 - [29] J. Polich, Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b, *Clin. Neurophysiol.* 118 (2009) 2128–2148 <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2007.04.019>.
 - [30] J.L. Duarte, K. de F. Alvarenga, O.A. Costa, Potential cognitive P300 realizado em campo livre: aplicabilidade do teste, *Rev. Bras. Otorrinolaringol.* 70 (2004) 780–785 <https://doi.org/10.1590/S0034-72992004000600013>.
 - [31] C.B. MacDonald, P.W. Bauer, L.C. Cox, L. McMahon, Otolologic findings in a pediatric cohort with sickle cell disease, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 47 (1999) 23–28.
 - [32] P.A. Onakoya, O.G.B. Nwaorgu, W.A. Shokunbi, Sensorineural hearing loss in adults with sickle cell anaemia, *Afr. J. Med. Med. Sci.* 31 (2002) 21–24.
 - [33] A. Aderibigbe, F.E. Ologe, B.A. Oyejola, Hearing thresholds in sickle cell anemia patients: emerging new trends? *J. Natl. Med. Assoc.* 97 (2005) 1135–1142.
 - [34] A. Taipale, T. Pelkonen, L. Bernardino, H. Peltola, A. Pitkaranta, Hearing loss in Angolan children with sickle-cell disease, *Pediatr. Int.* 54 (2012) 854–857 <https://doi.org/10.1111/j.1442-200X.2012.03719.x>.
 - [35] S.O. Ajulo, A.I. Osiname, H.M. Myatt, Sensorineural hearing loss in sickle cell anaemia—a United Kingdom study, *J. Laryngol. Otol.* 107 (1993) 790–794.
 - [36] A. Stuart, J.L. Preast, Contralateral suppression of transient-evoked otoacoustic emissions in children with sickle cell disease, *Ear Hear.* 33 (2012) 421–429 <https://doi.org/10.1097/AUD.0b013e31823effd9>.
 - [37] I.M. de C. Silva, I.Q. Magalhães, R.A. Toscano, L. Gandolfi, R. Pratesi, Auditory-evoked response analysis in Brazilian patients with sickle cell disease, *Int. J. Audiol.* 49 (2010) 272–276 <https://doi.org/10.3109/14992020903321742>.
 - [38] A. Koussi, D.I. Zafeiriou, G. Kontzoglou, I. Tsatra, G. Noussios, M. Athanassiou, Hearing loss in children with sickle cell disease, *Acta Oto-Rhino-Laryngol. Belg.* 55 (2001) 235–239.
 - [39] E. Borg, On the neuronal organization of the acoustic middle ear reflex. A physiological and anatomical study, *Brain Res.* 49 (1973) 101–123 [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(73\)90404-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(73)90404-6).
 - [40] R.M.M. Carvalho, O efeito do reflexo estapediano no controle da passagem da informação sonora, in: E. Schochat (Ed.), *Process. Audit.*, São Paulo, 1996, pp. 57–73.
 - [41] D.R. Powars, Management of cerebral vasculopathy in children with sickle cell anaemia, *Br. J. Haematol.* 108 (2000) 666–678 (pii), <https://doi.org/bjhh1912>.
 - [42] V. Scaioli, M. Brincioti, M. Di Capua, S. Lori, A. Janes, G. Pastorino, et al., A multicentre database for normative brainstem auditory evoked potentials (BAEPs) in children: methodology for data collection and evaluation, *Open Neural.* J. 3 (2009) 72–84 <https://doi.org/10.2174/1874205X00903010072>.
 - [43] Z.-W. Huang, Y. Luo, Z. Wu, Z. Tao, R.O. Jones, H.-B. Zhao, Paradoxical enhancement of active cochlear mechanics in long-term administration of salicylate, *J. Neurophysiol.* 93 (2005) 2053–2061 <https://doi.org/10.1152/jn.00959.2004>.
 - [44] K. Yang, Z.-W. Huang, Z.-Q. Liu, B.-K. Xiao, J.-H. Peng, Long-term administration of salicylate enhances prestin expression in rat cochlea, *Int. J. Audiol.* 48 (2009) 18–23 <https://doi.org/10.1080/14992020802327998>.
 - [45] N. Yu, M.L. Zhu, B. Johnson, Y.P. Liu, R.O. Jones, H.B. Zhao, Prestin up-regulation in chronic salicylate (aspirin) administration: an implication of functional dependence of prestin expression, *Cell. Mol. Life Sci.* 65 (2008) 2407–2418 <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8195-y>.
 - [46] M. Ohanian, U. Rozovski, F. Ravandi, G. Garcia-Manero, E. Jabbour, H.M. Kantarjian, et al., Cognitive evoked potentials and neural networks are abnormal in children with sickle cell disease and not related to the degree of anaemia, pain and silent infarcts, *Br. J. Haematol.* 169 (2015) 595–597 <https://doi.org/10.1111/bjh.13230>.
 - [47] J. Polich, A. Kok, Cognitive and biological determinants of P300: an integrative review, *Biol. Psychol.* 41 (1995) 103–146 [https://doi.org/10.1016/0301-0511\(95\)05130-9](https://doi.org/10.1016/0301-0511(95)05130-9).
 - [48] E. Schochat, C.I. Scheuer, E.R. De Andrade, ABR and auditory P300 findings in children with ADHD, *Arq. Neuropsiquiatr.* 60 (2002) 742–747 <https://doi.org/10.1590/S0004-282X2002000500012>.
 - [49] I.L. Angulo, Acidente vascular cerebral e outras complicações do Sistema Nervoso Central nas doenças falciformes, *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 29 (2007) 262–267 <https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000300013>.
 - [50] G.R. Serjeant, The natural history of sickle cell disease, *Cold Spring Harb Perspect Med* 3 (2013) a011783.
 - [51] M.R. Rissatto-Lago, C. Salles, F.G.C. de Pinho, I. Menezes Lyra, R. Terse-Ramos, R. Teixeira, et al., Association between endothelial dysfunction and otoneurological symptoms in children with sickle cell disease, *Hematology* 22 (2017) 299–303 <https://doi.org/10.1080/10245332.2016.1261982>.
 - [52] I. Al Jabr, Hearing loss among adults with sickle cell disease in an endemic region: a prospective case-control study, *Ann. Saudi Med.* 36 (2016) 135–138 <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2016.135>.

6 DISCUSSÃO

A literatura tem evidenciado uma lacuna acerca da clareza dos prejuízos no sistema auditivo, decorrentes da AF. Nos estudos^(19,20,23-25,124,125) aqui revisados, há um consenso quanto à maior ocorrência de PASN na AF, contudo, poucos deles abordam essa temática, especificamente na população infantil e em adolescentes. Argumentos para uma etiologia causal comum relacionada às alterações circulatórias na AF foram mencionados, entretanto, o mecanismo pelo qual essas alterações fisiopatológicas contribuem para a disfunção do sistema auditivo precisa ser elucidado. Desse modo, levantou-se a hipótese de que uma maior ocorrência de prejuízos ao sistema auditivo é mais prevalente em crianças e adolescentes com AF e alterações na função do endotélio vascular influenciam negativamente no sistema auditivo. Este foi o primeiro estudo com o objetivo de investigar a função auditiva (periférica, central e sintomas auditivos) em crianças e adolescentes com AF e levantar hipóteses acerca da fisiopatologia com envolvimento da DE.

Um conjunto de publicações foi fruto das investigações científicas motivadas pelos objetivos desta tese, contribuindo para o desenvolvimento de um conhecimento amplo acerca dos prejuízos que envolvem o sistema auditivo de crianças e adolescentes com AF.

Neste estudo, observou-se uma maior prevalência de PASN no grupo com AF em comparação com o grupo de indivíduos aparentemente saudáveis (28,8% versus 0%; $p < 0.001$), bem como maior ocorrência de sintomas otoneurológicos, como tontura (46,4% versus 7,7%) e zumbido (46,4% versus 7,7%). Os resultados também mostraram que, na ausência de deteriorização da sensibilidade auditiva (limiares auditivos ≤ 20 dB NA), alterações nos limiares dos RA (RA ausentes ou aumentados) foram significativamente mais frequentes em participantes com AF do que naqueles saudáveis, assim como esse mesmo grupo apresentou média das latências absolutas das ondas III e V e dos intervalos interpicos I-III e I-V maiores, quando comparados ao grupo aparentemente saudáveis.

Esses achados suportam a hipótese de maior prevalência de alterações auditivas na AF do que na população saudável. Apesar de poucos estudos abordarem essa população, a literatura demonstra maior ocorrência de PASN em pacientes com AF nessa faixa etária do que na população saudável, a exemplo dos EUA (12%)⁽¹²⁶⁾ e Nigéria (3,6 a 21,4%)^(20,127). Parece claro que a detecção de risco para alterações auditivas deve voltar-se aos jovens, a fim de detectarmos com acurácia indivíduos acometidos por alterações subclínicas que poderão evoluir para prejuízos sensoriais.

A literatura considera que a diversidade da prevalência pode ser explicada por fatores incluindo nível socioeconômico, acompanhamento médico e alimentar adequado^(20,23), além dos diferentes haplótipos da região do gene da globina- β , que desempenham um papel importante na determinação da severidade da doença⁽³³⁾. No Brasil, a AF é uma das doenças hereditárias mais prevalentes⁽³⁾ e, apesar disso, na literatura pesquisada, somente um estudo⁽²²⁾, realizado no Estado do Rio Grande Sul, abordou e encontrou, na população brasileira, uma prevalência de 21,4% em 28 participantes com AF com idades de 6-55 anos. Além de uma significativa alta ocorrência de sintomas otoneurológicos (vertigem e zumbido) em participantes com AF documentada, quando comparada com controles saudáveis (50% *versus* 10,7%), dados corroboram com os resultados do presente estudo, apesar de abordarem uma população com faixa etária diferente.

A Bahia é o Estado de maior prevalência de AF⁽³⁾, entretanto, na revisão de literatura não há dados referentes a prejuízos auditivos nessa população, o que torna este estudo de magnitude ímpar no intuito de demonstrar, ainda que de modo singular e momentâneo, por ser um estudo de corte transversal, a prevalência de PASN e outros prejuízos ao sistema auditivo em crianças e adolescentes com AF, levando-se em conta os fatores citados que podem contribuir para esse achado. A PASN, assim como os demais prejuízos auditivos já instalados numa população muito jovem é um fato muito relevante e exige atenção particular dos especialistas que lidam com esses pacientes, considerando que, além de influenciar na qualidade de vida, uma boa audição é crucial para um bom aprendizado e o rendimento escolar pode ser prejudicado também por esse fator, sendo indicando avaliação auditiva regular a avaliação auditiva.

Os resultados deste estudo mostraram uma associação entre a presença de PASN e DE, demonstrada por menor valor da VMF em participantes com AF e PASN, independentemente do perfil lipídico, uso de HU e número de crises vaso-oclusivas. Foi demonstrada uma associação entre DE e sintomas otoneurológicos (vertigem) por meio da correlação entre o menor valor da VMF em participantes com maior tempo de evolução da vertigem, o que reforça o envolvimento vascular na etiopatogênese dos prejuízos do sistema auditivo na AF ⁽¹⁶⁾. Nesse sentido, em concordância com a literatura, conforme descrito na revisão desta tese, o processo de vasoconstrição na AF é resultante da polimerização da Hb S com aderência de hemácias ao endotélio vascular, gerando depleção de NO, aumento das moléculas de adesão e inflamação crônica com consequente lesão isquêmica de reperfusão ⁽³³⁻³⁹⁾. Embora essa observação não permita uma conclusão sobre a patogênese, ela suporta a hipótese de que o sistema auditivo de pacientes com AF pode ser mais suscetível a danos, visto que a DE causada pelo processo inflamatório da AF leva à diminuição do fluxo sanguíneo na artéria labiríntica, no sistema venoso coclear com consequente diminuição no balanço de oxigênio, provocando hipóxia no órgão de Corti e morte das CCE, causando PASN e, do mesmo modo, ocorre com a porção da artéria labiríntica responsável pela irrigação dos canais semicirculares, mácula e utrículo ocasionando sintomas otoneurológicos, como a vertigem.

A VMF da artéria braquial é usada como um marcador de DE, que fornece informações importantes sobre a função vascular na saúde e na doença. É considerada uma ferramenta diagnóstica simples, não invasiva e tem sido amplamente utilizada com base em diretrizes ⁽⁸⁾. Uma diminuição da VMF após estresse na parede do vaso decorrente da oclusão arterial já foi demonstrada, tanto em adultos ^(6,11) como em crianças com AF ⁽¹²⁾. Para tanto, seguimos o que há de mais recente nas recomendações metodológicas para a avaliação da VMF ⁽⁹⁾.

Considerando o estado inflamatório crônico da AF, este estudo levantou questões importantes acerca do curso clínico da doença, sobre o fato de os pacientes com pior apresentação clínica possam ser mais predispostos a déficits auditivos. Apesar dos critérios de inclusão e exclusão mostrarem uma população clinicamente estável, os dados mostraram que todos os pacientes com PASN apresentaram crise vaso-oclusiva, no último ano, bem como participantes com vertigem apresentaram uma

correlação positiva entre o número de episódios de crises vaso-oclusivas e o tempo de evolução da vertigem, o que culmina com a hipótese de alteração vascular e que a melhora do processo crônico da doença pode minimizar esses prejuízos auditivos. Na literatura ⁽¹²⁵⁾, resultados similares mostraram que pacientes com PASN apresentam forma mais grave da doença com frequentes crises vaso-oclusivas (7–8 crises por ano).

A HU, considerada uma terapia farmacológica eficaz com vários efeitos benéficos, como aumento da taxa de hemoglobina fetal, hidratação melhorada dos glóbulos vermelhos, produção aumentada de NO e moléculas de adesão diminuídas, com a consequente redução do número de crises vaso-oclusivas ^(55,56), pode exercer um efeito adicional positivo na microcirculação e, conseqüentemente, reduzir e prevenir danos ao sistema auditivo, entretanto, neste estudo, o uso da HU não foi associado à presença ou não da PASN. No Brasil, o Ministério da Saúde determina, pelo protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da DF, que crianças maiores de três anos podem receber a medicação ⁽⁶⁰⁾. Neste estudo, apesar da distribuição homogênea entre uso e não uso de HU, não foi possível controlar alguns fatores, a exemplo do tempo de uso, bem como o uso regular que depende de fatores econômicos do governo e da autonomia de cada paciente, no caso dos adolescentes, o que pode ser uma das limitações deste estudo. Além disso, o modelo de estudo de corte transversal não permite identificar o momento da instalação dos prejuízos auditivos, sendo que eles já podem ter surgido antes do início da terapia com uso da medicação HU.

A presença de danos subclínicos no sistema auditivo foi evidenciada nos resultados do presente estudo que mostraram alterações em vias do sistema auditivo central, em pacientes com AF, sem prejuízos na parte sensorial auditiva, corroborando com a hipótese de que pacientes com AF possuem um SAC mais suscetível a danos, até mesmo subclínicos (ou perdas auditivas ocultas), em decorrência de danos no sistema nervoso geral, gerados pela vasculopatia. Conforme descrito na literatura, complicações neurológicas em decorrência da vasculopatia que afeta as artérias carótida interna e artéria média cerebral distal ⁽⁴⁵⁾, são muito comuns em crianças e adolescentes com AF, incluindo aquelas sem sintomas aparentes como infarto cerebral silencioso. Essas alterações são progressivas, podendo evoluir para déficits

neurológicos, como problemas de aprendizado, déficit de atenção, falta de habilidades executivas, da memória ativa e, em longo prazo, envolvendo prejuízos na qualidade de vida ⁽⁴⁷⁾.

As alterações nos limiares do RA em pacientes com AF podem indicar possíveis acometimentos em uma ou mais estruturas que compõem o arco reflexo via aferente, cruzamento (tronco encefálico – núcleos cocleares e COS) e da via eferente por meio do nervo facial ⁽⁷¹⁾. Apesar da diferença encontrada na média das latências absolutas e interpicos, no PEATE, entre os grupos AF e GC não foi identificada uma alteração clínica já instalada. Segundo a literatura ⁽¹²⁸⁾, os valores estão dentro da normalidade, diferença que levanta a hipótese de indícios de alterações subclínicas (danos ocultos) na via aferente, especificamente no tronco encefálico, decorrentes de um atraso sináptico ou na transmissão neural, em virtude de uma incompleta mielinização e reduzida eficiência sináptica. Raros são os estudos que analisam o SAC. As alterações no PEATE do presente estudo corroboram com a literatura ^(18,19), entretanto, os estudos que analisaram respostas do PEATE encontraram atraso nas latências interpicos, sugerindo alterações do tronco encefálico alto, em participantes acometidos de PASN e com faixa etária mais elevada.

Outro dado importante refere-se à ausência de alterações no P300, com resultado semelhante entre participantes com AF e aqueles aparentemente saudáveis, indicando integridade do córtex auditivo primário e secundário. Apesar do genótipo Hb SS ser o tipo de DF mais propenso a desenvolver alterações cognitivas ^(129,130) não foram encontrados, na revisão de literatura, estudos com avaliação do P300 específico no genótipo SS. Modificações neurocognitivas decorrentes da AF são descritas na literatura como mais acentuadas na fase de transição da adolescência para a fase adulta ^(49,131), o que pode indicar que essas possíveis alterações no P300 seja visualizadas mais tardiamente e, nesse caso, o grupo estudado possui faixa etária média mais baixa. Assim, futuras investigações analisando o P300 em pacientes com AF são importantes.

Os dados exploratórios deste estudo não indicaram associações entre as alterações encontradas nos limiares do RA, bem como no PEATE, com fenômenos vaso-

oclusivos e DE. A amostra da população pode ter contribuído para essa não associação considerando fatores como população clinicamente estável e o tamanho da amostra com prejuízos no PEATE e RA, podendo indicar uma limitação do estudo.

A causa dos prejuízos ocultos no sistema auditivo ainda precisa ser elucidada. Sugerem-se danos resultantes da ausência de suprimento sanguíneo para os neurônios responsáveis pela transmissão dos impulsos elétricos no SAC ^(132,133).

Nesse contexto, é importante o aprimoramento da avaliação audiológica, com a proposta de inclusão de um protocolo para detecção precoce e diagnóstico das alterações auditivas na população com AF, associadas ao acompanhamento clínico, nutricional, uso de terapias para a obtenção de um melhor controle da saúde vascular desses pacientes com o objetivo de minimizar prejuízos no sistema auditivo periférico e central.

6.1 Limitações e perspectivas

Este estudo contém algumas limitações metodológicas que merecem serem discutidas.

A avaliação da função endotelial foi realizada por um método de imagem baseado na habilidade dependente do avaliador. No entanto, o profissional responsável pelas avaliações era treinado e experiente na técnica, além de a literatura demonstrar que se trata de um procedimento com resultados confiáveis, precisos e ser um procedimento de baixo custo. Como não há consenso sobre qual valor de referência deve ser usado para inferir dano vascular, utilizamos a comparação com um grupo aparentemente saudável.

A análise dos sintomas otoneurológicos (zumbido e vertigem) foi realizada por meio de entrevista, o que torna dependente do viés de memória dos participantes sobre essa sintomatologia e tempo de acometimento. Além disso, a amostra foi composta por crianças e adolescentes que podem ter apresentado dificuldades de entendimento e descrição desses sintomas, entretanto, essas limitações são

inerentes ao questionamento que envolve a identificação dos sintomas e das manifestações crônicas da própria doença.

A ATL é um método comportamental de medida podendo haver variações nos resultados da pesquisa dos limiares auditivos, contudo, é considerado o teste padrão-ouro capaz de determinar o limiar psicoacústico e analisar o sistema auditivo como um todo.

O estudo trata-se de um corte transversal com grupo comparação, portanto, não sendo possível estabelecer uma relação de causa e efeito DE e PASN, no entanto, é o modelo possível e responde aos objetivos e, além disso, as hipóteses de associação foram confirmadas. Além disso, os questionamentos levantados, norteiam os pesquisadores na relação de novos estudos de corte prospectivos com o intuito de analisar a relação da saúde vascular com o sistema auditivo desses pacientes.

7 CONCLUSÕES

7.1 Artigo de revisão

Artigo 1: Os achados dessa revisão demonstram que pacientes com AF podem ter alterações auditivas decorrentes de origem coclear ou central. A PASN parece ser mais prevalente na AF em comparação com pessoas saudáveis, podendo ocorrer em diferentes faixas etárias, incluindo crianças, adolescentes e adultos jovens e, embora pareça evoluir com o aumento da idade, não há consenso sobre a prevalência em crianças, necessitando de mais estudos sobre grupos etários mais restritos. Além disso, as maiores amplitudes das EOA na AF indicam que a presença de distúrbios circulatórios decorrentes do estado inflamatório crônico da doença é o mecanismo mais provável que responde pela perda auditiva.

7.2 Artigos originais

Artigo 2: A PASN é uma complicação comum em crianças e adolescentes com AF e está associado com DE. Esses achados sugerem que perturbações do endotélio vascular geram distúrbios circulatórios, culminando em distúrbios auditivos, como a PASN.

Artigo 3: Há uma associação entre DE e sintomas otoneurológicos e as manifestações clínicas dos fenômenos vaso-oclusivos em crianças e adolescentes com AF. Isso sugere que a agressão endotelial pode ser considerada um gatilho para o envolvimento vascular nas manifestações auditivas nessa população.

Artigo 4: Danos ocultos ao sistema auditivo de crianças e adolescentes com AF podem estar presentes envolvendo estruturas retrococleares, causando déficits funcionais sem deterioração da sensibilidade auditiva.

8 RELATO DA EXPERIÊNCIA CIENTÍFICA

Esta Tese de Doutorado iniciou-se da necessidade de aprimoramento da carreira docente associada a inquietações acadêmico-científicas.

Juntamente com a Prof^a. Dra. Luciene Fernandes dividi o interesse em estudar aos achados audiológicos na população com doença falciforme, doença que se constitui um problema de saúde pública no Estado da Bahia, e que na vasta literatura pesquisada, não encontramos estudos de maior magnitude abrangendo a população do referido Estado. A primeira escolha foi estudarmos a prevalência da perda auditiva sensorineural na doença falciforme. No ano de 2014 ingressei, como aluna especial, no curso de doutorado em Medicina e Saúde Humana da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) e a oportunidade de participar do grupo de pesquisa, coordenado pela Prof^a. Dra Ana Marice Ladeia, que tem como objetivo estudar os vários aspectos da doença falciforme associado a alterações vasculares, especificamente o genótipo anemia falciforme. Uma nova temática evidencia-se nesta vertente, e sob a orientação da Prof^a Ana Marice, surge o principal objetivo da minha Tese: associação entre perda auditiva sensorineural e sua associação com disfunção endotelial na anemia falciforme.

Neste grupo de pesquisa, tive o prazer de receber a coorientação da otorrinolaringologista Prof^a. Dra Cristina Salles, que cursava seu pós-doutorado, e meu estudo passou a ser parte do seu projeto de pós-doutorado. E a vertente inicial deu frutos maiores, e assim consegui ir além da avaliação audiológica básica, incorporando no estudo avaliação auditiva complementar (emissões otoacústicas e potenciais evocados auditivos).

Os desafios foram grandes, envolveram imersões em estudos para aquisição de novos conhecimentos de áreas como a cardiologia e a hematologia, muito além da fonoaudiologia. Aprender sobre a complexidade da doença falciforme, adquirir conhecimento sobre as funções e avaliação do endotélio vascular. E como não bastasse a necessidade de treinamento para técnica e operacionalização de

equipamentos para aquisição de dados da audiologia complementar (potências corticais –P300 e efeito inibitório da via eferente).

É imensurável a contribuição científica que recebi resultante das discussões oriundas das reuniões com as diversas especialidades que constituíram o estudo (profissionais cardiologistas, hematologistas, pediatras, otorrinolaringologistas, pneumologistas e fonoaudiólogos).

O processo árduo e extensivo de coleta de dados foi apoiado em todo o grupo de pesquisadores do projeto e contou com a participação de alunos da graduação do curso de medicina da EBMS, por meio de bolsa auxílio de iniciação científica e por alunos do curso de graduação do curso de fonoaudiologia da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), com bolsas de auxílio de um projeto de extensão.

Este ambiente científico proporcionou um avanço nas minhas atividades também como docente, através da orientação de trabalhos acadêmicos e da criação de um projeto de extensão para alunos da graduação de fonoaudiologia da UNEB para atendimento audiológico básico e complementar de pessoas com doença falciforme. Esta extensão propiciou aquisição de conhecimento, aprimoramento técnico e apoio financeiro aos alunos, através de bolsa auxílio e, além disso, contribuição social com as orientações e atendimento ambulatorial para pacientes com doença falciforme. Trabalhos acadêmicos foram apresentados em congressos internacionais, eventos regionais além de palestras proferidas sobre o tema para a comunidade acadêmica.

O percurso nestes quase cinco anos do doutoramento, permitiram um grande amadurecimento pessoal, profissional e científico-acadêmico. As novas habilidades adquiridas ao longo deste caminho, a exemplo do aprimoramento em metodologia científica, e da estatística proporcionaram uma evolução nas minhas apresentações nos cenários acadêmico e assistencial.

Como resultado científico desta Tese, um artigo focado no objetivo principal já publicado, um artigo referente a um dos objetivos secundários também publicado, um segundo artigo referente a outro objetivo secundário, aceito para publicação e um quarto referente a uma revisão bibliográfica também em revisão.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Como contrapartida à sociedade, a equipe envolvida nesse estudo, pretende elaborar um material informativo sobre a importância da realização da avaliação auditiva precoce nos pacientes com AF e também do acompanhamento audiológico, incluindo, quais os procedimentos devem ser realizados, de acordo, com os resultados desta Tese. E para os pacientes, a elaboração de um material informativo sobre os cuidados com a saúde auditiva.

Como unidade de acompanhamento audiológico pretende-se manter o projeto de extensão, já iniciado com este estudo, na clínica de fonoaudiologia da UNEB. Assim, será proposto um ambulatório especializado nestes atendimentos. Considerando a associação de prejuízos auditivos com alteração da função endotelial encontrados neste estudo, tem-se a projeção de inclusão, neste ambulatório, de outras doenças circulatórias sistêmicas.

Estudos futuros de coorte prospectiva, voltados para o acompanhamento audiológico deste grupo de risco, especificamente crianças e adolescentes, podem vir a contribuir para a identificação da instalação dos prejuízos auditivos, de forma precoce, bem como da associação destes prejuízos com os tratamentos utilizados para a AF, possibilitando o planejamento de estratégias de prevenção mais individualizadas nos adultos jovens.

REFERÊNCIAS

1. Franklin BH. Pathogenesis and Treatment of Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 1997; 337: 762–9.
2. Costa FF, Conran N, Fertrin KY. Anemia Falciforme. In: Zago M A, Falcão R P, Pasquini R. *Tratado de Hematologia.* 1ª edição. São Paulo: Atheneu; 2013. p. 205–23.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. *Doença Falciforme. Conduas básicas para tratamento.* Brasília (DF), 2013.
4. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet.* 2010; 376(9757): 2018–31.
5. Kault DK, Fabry ME, Nagel RL. Microvascular sites and characteristics of sickle cell adhesion to vascular endothelium in shear flow conditions: Pathophysiological implications. *Med Sci.* 1989;86:3356–60.
6. Belhassen L, Pelle G, Sediame S, Bachir D, Carville C, Bucherer C, et al. Endothelial dysfunction in patients with sickle cell disease is related to selective impairment of shear stress-mediated vasodilation. *Blood.* 2001; 97(6): 1584–9.
7. Eberhardt RT, McMahon L, Duffy SJ, Steinberg MH, Perrine SP, Loscalzo J, et al. Sickle cell anemia is associated with reduced nitric oxide bioactivity in peripheral conduit and resistance vessels. *Am J Hematol.* 2003; 74(2): 104–11.
8. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39(2): 257–65.
9. Greyling A, Van Mil ACCM, Zock PL, Green DJ, Ghiadoni L, Thijssen DH. Adherence to guidelines strongly improves reproducibility of brachial artery flow-mediated dilation. *Atherosclerosis.* 2016; 248:196–202.
10. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK DJ. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992; 340: 1111–5.
11. Zawar SD, Vyawahare M a, Nerkar M, Jawahirani a R. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in sickle cell disease by doppler ultrasonography. *J Assoc Physicians India.* 2005; 53: 677–80.
12. De Montalembert M, Aggoun Y, Niakate A, Szezepanski I, Bonnet D. Endothelial-dependent vasodilation is impaired in children with sickle cell disease. *Haematologica.* 2007; 92(12): 1709–10.

13. Powars DR, Chan LS, Hiti A, Ramicone E, Johnson C. Outcome of sickle cell anemia: A 4-decade observational study of 1056 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2005; 84(6): 363–76.
14. Saito N, Nadgir RN, Flower EN, Sakai O. Clinical and radiologic manifestations of sickle cell disease in the head and neck. *Radiographics*. 2010; 30(4): 1021–34.
15. Saito N, Watanabe M, Liao J, Flower EN, Nadgir RN, Steinberg MH, et al. Clinical and Radiologic Findings of Inner Ear Involvement in Sickle Cell Disease. *Am J Neuroradiol*. 2011; 32(11): 2160–4.
16. Serjeant GR, Norman W, Todd GB. The internal auditory canal and sensori-neural hearing loss in homozygous sickle cell disease. *J Laryngol Otol*. 1975; 89(4): 453–5.
17. Ajulo SO, Osiname AI, Myatt HM. Sensorineural hearing loss in sickle cell anaemia--a United Kingdom study. *J Laryngol Otol*. 1993; 107(9): 790–4.
18. Husain A, Habib SS, Al Drees A, Omar SA, Mujeed AS. Short-latency brainstem auditory-evoked responses associated with homozygous sickle cell disease. *J Appl Hematol*. 2011; 2(2): 197–9.
19. Jovanovic-Bateman L, Hedreville R. Sensorineural hearing loss with brainstem auditory evoked responses changes in homozygote and heterozygote sickle cell patients in Guadeloupe (France). *J Laryngol Otol*. 2006;120(8): 627–30.
20. Alabi S, Ernest K, Eletta P, Owolabi A, Afolabi A, Suleiman O. Otological findings among Nigerian children with sickle cell anaemia. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2008;72(5): 659–63.
21. Onakoya PA, Nwaorgu OGB, Shokunbi WA. Sensorineural hearing loss in adults with sickle cell anaemia. *Afr J Med Med Sci*. 2002; 31(1): 21–4.
22. Piltcher O, Cigana L, Friedriech J, Andrade F, Ribeiro Q, Selaimen S. Sensorineural hearing loss among sickle cell disease patients from southern Brazil. *Am J Otolaryngol*. 2000; 21(2): 75–9.
23. Aderibigbe A, Ologe FE, Oyejola BA. Hearing thresholds in sickle cell anemia patients: emerging new trends? *J Natl Med Assoc*. 2005; 97(8): 1135–42.
24. Mgbor N, Emodi I. Sensorineural hearing loss in Nigerian children with sickle cell disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2004; 68(11): 1413–6.
25. Al-muhaimeed H, Thomas G, Sedran A, Nasher H. Pattern of hearing loss in sickle cell disease. *Aust J Oto-Laryngology*. 2000; 3(5): 472–5.

26. Herrick JB. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. *Yale Journal of Biology and Medicine* 2001; 74: 179-84
27. Berry RA. Sickle cell anemia: audiological findings. *J Am Audiol Soc.* 1975; 1(2): 61-3.
28. Castelo NM, Nascimento RE, Rodrigues ASN. Study on sickle cell disease haplotypes reveals the African origin of Amapá ' s population. *J Bras Patol e Med Lab.* 2014; 50: 131-4.
29. Naoum PC. Anemias imigrantes: origem das anemias hereditárias no Brasil. *Ciência Hoje.* 1984; 3(14): 59-64.
30. Brasil. Ministério da Saude. PORTARIA Nº 822, DE 06 DE JUNHO DE 2001: Insutui no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Triagem Neonatal / PNTN [Internet]. 2001. [acesso em 2017 março 30] Available from: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2001/prt0822_06_06_2001.html
31. Brasil. Ministério da Saude. Portaria nº 1.391/GM de 16 de Agosto de 2005: Institui no âmbito do Sistema Único de Saúde-SUS, as diretrizes para a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias [Internet]. 2005. [acesso em 2017 março 30]. Available from: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2005/prt1391_16_08_2005.html
32. Reiter CD, Gladwin MT. An emerging role for nitric oxide in sickle cell disease vascular homeostasis and therapy. *Curr Opin Hematol.* 2003; 10(2): 99-107.
33. Zago MA, Pinto ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes : da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29(3):207-14.
34. Morris CR. Mechanisms of vasculopathy in sickle cell disease and thalassemia. *Hematolgy ASH Educ Program Book.* 2008; 2008(1):177-85.
35. Morris CR. Vascular risk assessment in patients with sickle cell disease. *Haematologica.* 2011; 96(1): 1-5.
36. Hebbel RP. Adhesive interactions of sickle cell erythrocytes with endothelium. *Am Soc Clin Investig.* 1997; 99(11): 2561-4.
37. Stuart MJ, Setty BNY. Sickle Cell Acute Chest Syndrome: Pathogenesis and Rationale for Treatment. *Blood.* 1999; 94(5): 1555-61.
38. Solovey AA, Solovey AN, Harkness J, Hebbel RP. Modulation of endothelial cell activation in sickle cell disease : a pilot study. 2016;97(7):1937-42.

39. Steinberg MH. Pathophysiologically based drug treatment of sickle cell disease. *Trends Pharmacol Sci.* 2006; 27(4): 204–10.
40. Bruniera P. Crise de seqüestro esplênico na doença falciforme. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007; 29(3): 259–61.
41. Vichinsky BEP, Styles LA, Colangelo LH, Wright EC, Castro O, Nickerson B. Acute chest syndrome in sickle cell disease: clinical presentation and course. *Blood.* 1997; 89(5): 1787-92.
42. Gladwin MT, Vichinsky E. Pulmonary complications of sickle cell disease. *New Engl J Med Rev.* 2008; 359(21): 2254–65.
43. Dessap AM, Leon R, Habibi A, Nzouakou R, Roudot-Thoraval F, Adnot S, et al. Pulmonary hypertension and cor pulmonale during severe acute chest syndrome in sickle cell disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008; 177(6): 646–53.
44. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper L, Miller ST, Embury S, Moohr JW, et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood.* 1998; 91(1): 288–94.
45. Deane CR, Goss D, Bartram J, Pohl KRE, Height SE, Sibtain N, et al. Extracranial internal carotid arterial disease in children with sickle cell anemia. *Haematologica.* 2010; 95(8): 1287–92.
46. Switzer JA, Hess DC, Nichols FT, Adams RJ. Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. *Lancet Neurol.* 2006; 5(6): 501–12.
47. Wong WY, Powars DR. Overt and incomplete (silent) cerebral infarction in sickle cell anemia: Diagnosis and management. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2005; 19(5): 839–55.
48. Adams RJ, Ohene-Frempong K, Wang W. Sickle cell and the brain. *Hematology ASH Educ Program Book.* 2001; 2001 (1): 31–46.
49. Angulo IL. Stroke and other vascular complications of the central nervous system in sickle cell disease. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007; 29(3): 262–7.
50. Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, Rosse WF, Vichinsky E, Kinney ThR. Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors. *N Engl J Med.* 1991; 325(1): 11–6.
51. Gill BFM, Sleeper L a, Weiner SJ, Brown AK, Bellevue R, Grover R. Clinical events in the first decade in a cohort of infants with sickle cell disease. *Blood.* 1995; 86(2): 776–83.

52. Vichinsky E, Hurst D, Earles A, Kleman K, Lubin B. Newborn screening for sickle cell disease: effect on mortality. *Pediatrics*. 1988; 81(6): 749–55.
53. Platt OS, Orkin SH, Dover G, Beardsley GP, Miller B, Nathan DG. Hydroxyurea enhances fetal hemoglobin production in sickle cell anemia. *J Clin Invest*. 1984; 74: 652–6.
54. Cartron JP, Elion J. Erythroid adhesion molecules in sickle cell disease: Effect of hydroxyurea. *transfus clin biol. Transfusion Clinique et Biologique* 2008; 15(1): 39–50.
55. Platt OS. Hydroxyurea for the Treatment of Sickle Cell Anemia. *The N Engl J Med*. 2008; 358(13): 1362-69.
56. Vicari P, Mello AB, Figueiredo MS. Effects of hydroxyurea in a population of Brazilian patients with sickle cell anemia. *Am J Hematol*. 2005; 78(3): 243–4.
57. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert S V., et al. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. *N Engl J Med*. 1995; 332(20): 1317–22.
58. Steinberg MH, Barton F, Castro O, Pegelow CH, Ballas SK, Kutlar A, et al. Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. *Jama*. 2003; 289(13): 1645–51.
59. Hankins JS, Mccarville MB, Rankine-Mullings A, Reid ME, Lobo CLC, Moura PG, et al. Prevention of conversion to abnormal TCD with hydroxyurea in sickle cell anemia: a phase III international randomized clinical trial. *Am J Hematol*. 2015; 90(12): 1099–105.
60. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. Doença Falciforme. Hidroxiureia: uso e acesso. Brasília (DF), 2014.
61. Wood JC, Tyszka JM, Carson S, Nelson MD, Coates TD. Myocardial iron loading in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease. *Blood*. 2004;103 (5): 1934-36.
62. Chiodo AA, Alberti PW, Sher GD, Francombe WH, Tyler B. Desferrioxamine ototoxicity in an adult transfusion-dependent population. *J Otolaryngol*. 1997; 26(2): 116–22.
63. Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sickle cell disease. *Lancet*; 2017;390(10091):311–23.
64. Bonaldi LV, Angelis MA de, Ribeiro EC, Smith RL. Bases anatômicas da audição e do equilíbrio. 2ª edição: São Paulo: Livraria Santos; 2004. 92 p.

65. Munhoz MS, Silva MLG, Caovilla HH, Ganança MM, Frazza MM. Neuroanatomofisiologia da audição. In: Munhoz MS, Caovilla HH, Silva MLG, Ganança MM, editors. Audiologia Clínica. 1ª edição. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 19–43.
66. Spoendlin H. Receptoneural and innervation aspects of the inner ear anatomy with respect to cochlear mechanics. Scand Audiol Suppl. 1986; 25: 27–34.
67. Anatomy library [Internet]. Gross anatomy of the external ear. 2018 [cited 2018 Aug 20]. Available from: <https://anatomy-library.com/img/gross-anatomy-of-the-external-ear-17.html>
68. Kemp DT. Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. J Acoust Soc Am. 1978; 64(5): 1386–91.
69. Oliveira JAA. Fisiologia clínica da audição – cóclea ativa. In: Lopes Filho O, Campos CAH, editors. Tratado de otorinolaringologia. 4ª edição. São Paulo: Cortez; 1994. p. 510–30.
70. Magalhães CR. Bio Portu(ga)l [Internet]. Audição e equilíbrio. [cited 2018 Aug 20]. Available from: <http://bioug.blogspot.com/2012/12/audicao-e-equilibrio-nos-vertebrados.html>
71. Warr BW, Guinan JJJ. Efferent innervation of the organ of corti: two separate systems. Brain Res. 1979; 173: 152–5.
72. Musiek FE, LL. Neuroanatomy and neurophysiology of central auditory processing. In: Katz J, Stecker NA, Henderson D, editors. Central auditory processing: a transdisciplinary view. 1ª edition. St. Louis: Mosby Year Book; 1992. p. 11–38.
73. Liberman MC, Guinan JJ. Feedback control of the auditory periphery: Anti-masking effects of middle ear muscles vs. olivocochlear efferents. J Commun Disord. 1998; 31(6) :471–83.
74. Rajan R. Contextual Modulation of Olivocochlear Pathway Effects on Loud Sound-Induced Cochlear Hearing Desensitization. J Neurophysiol. 2005; 93(4): 1977–88.
75. Burguetti FAR, Carvalho RMM. Efferent auditory system: its effect on auditory processing. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology. 2008; 74(5): 737-45
76. Gil-Loyzaga P, Pujol R. Fisiología del receptor y la vía auditiva. In: Tresguerres JAF, Ariznavarreta C, Cachafeiro V, Cardinali D, E EE, Gil-Loyzaga P, et al., editors. Fisiología Humana. 3ª edition. Madrid: McGraw-hill Interamericana de Espana; 2005. p.217-28.
77. Moore T. Arterial Supply to the Structures of Balance [Internet]. 2013 [cited

2018 Aug 7]. Available from: <http://www.vestib.com/arterial-supply.html>

78. Wiber LA. Audiometria tonal liminar: via aérea e via óssea. In: Musiek FE, F RW, editors. *Perspectivas atuais em avaliação auditiva*. 1ª edição. Baueri: Manole; 2001. p.1–17.
79. Frazza MM, Caovilla HH, Munhoz MS, Silva MLG, Ganança MM. Audiometria tonal e vocal. In: Munhoz MS, Caovilla HH, Silva MLG, Ganança MM, editors. *Audiologia Clínica*. 1ª edição. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 49–71.
80. American Speech-Language-Hearing Association. Guidelines for manual pure-tone threshold audiometry. *Rockville*. 1977;19:236–40
81. Glatke TJ. Equipamentos e calibração. In: Musiek FE, Rintelmann WF, editors. *Perspectivas atuais em avaliação auditiva*. 1ª edição. Baueri: Manole; 2001. p. 581–92.
82. Jerger J. Clinical experience with impedance audiometry. *Arch Otolaryngol*. 1970; 92(4): 311–24.
83. Silva F. C, Salas N. R, Friant M. M, Silva S. J. Reflectometría acústica: Un nuevo método para el estudio de efusión en el oído medio en pediatría. *Revista chilena de pediatría*; 2002. p. 369–74.
84. Carvalho RMM, Soares JC. Efeito do estímulo facilitador no limiar de reflexo acústico. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2004; 70(2): 200–206.
85. Sesterhenn G, Breuninger H. The Acoustic Reflex at Low Sensation Levels. *Audiology*. 1976; 15(6): 523–33.
86. Boéchat EM, Menezes PL, Couto CM, Frizzo ACF, Scharlach RC, Anastasio ART. *Tratado de Audiologia*. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2015. 565 p.
87. Kemp DT. Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use. *British Medical Bulletin*. 2002; 63: 223- 41.
88. Guinan JJ. Olivocochlear efferents: Anatomy, physiology, function, and the measurement of efferent effects in humans. *Ear Hear*. 2006; 27(6): 589–607.
89. Durante AS, Mamede RM. Contralateral suppression of otoacoustic emissions in neonates. *Int J Audiol*. 2002; 41: 211–5.
90. Sousa LCA, Piza MRT, Alvarenga KF, Cóser PL. Potencial evocado auditivo de tronco encefálio (PEATE). In: Sousa LCA, Piza MR de T, Alvarenga K de F, Cóser PL, editors. *Eletrofisiologia da audição e emissões otoacústicas Princípios e aplicações clínicas*. 2ª edição. Ribeirão Preto: Novo Conceito; 2010. p. 49–87.

91. Sousa LCA, Piza MRT, Alvarenga KDF, Cóser PL. Potenciais evocados auditivos corticais relacionados a eventos (P300). In: Sousa LCA, Piza MR de T, Alvarenga KDF, Cóser PL, editors. Eletrofisiologia da audição e emissões otoacústicas Princípios e aplicações clínicas. 2^o edição. Ribeirão Preto: Novo Conceito; 2010. p. 95–107.
92. Sousa LCA, Piza MRT, Alvarenga KDF, Cóser PL. Sistema de registro dos potenciais. In: Sousa LCA, Piza MR de T, Alvarenga KDF, Cóser PL, editors. Eletrofisiologia da audição e emissões otoacústicas Princípios e aplicações clínicas. 2^a edição. Ribeirão Preto: Novo Conceito; 2010. p. 9–14.
93. Hashimoto I, Ishiyama Y, Yoshimoto T, Nemoto S. Brainstem auditory evoked potentials recorded directly from human brain-stem and thalamus. *Brain*. 1981;104:841–59.
94. Sousa LCA, Piza MRT, S CS. Brainstem Evoked Auditory Potential (ABR) in Neurology and Neurosurgery. 99th Meeting of the American Academy of Otolaryngology- Head and Neck Surgery. 1995. New Orleans, USA.
95. Person OC, Marone MR, Rapoport PB. A utilização dos potenciais evocados auditivos como método diagnóstico em medicina The use of auditory evoked potentials as diagnostic method in medicine. 2005; 5–10.
96. Musiek FE, Lee WW. Potenciais de média e longa latência. In: Musiek FE, Rintelmann WF, editors. Perspectivas atuais em avaliação auditiva. 1^a edição. Barueri: Manole; 2001. p. 239–67.
97. Puel N, Gil-loyzaga P. Voyage au centre de L" audition [Internet]. Vias auditivas y centros. [cited 2018 Aug 20]. Available from: <http://www.cochlea.eu/es/exploracion-funcional/metodos-objetivos/vias-auditivas-y-centros>
98. Barbato JE, Tzeng E. Nitric oxide and arterial disease. *J Vasc Surg*. 2004;40(1):187–93.
99. Machado BH, Bonagamba LG. Microinjection of S-nitrosocysteine into the nucleus tractus solitarii of conscious rats decreases arterial pressure but L-glutamate does not. *Eur J Pharmacol*. 1992; 221: 179–82.
100. Luscher TF, Seo BG, Buhler FR. Potential role of endothelin in hypertension. *Hypertension*. 1993; 21(32): 752–7.
101. Reinhardt RR, Bondy CA. Differential cellular pattern of gene expression for two distinct cGMP-inhibited cyclic nucleotide phosphodiesterases in developing and mature rat brain. *Neuroscience*. 1996; 72(2): 567–78.
102. Teixeira BC, Lopes AL, Macedo RCO, Correa CS, Ramis TR, Ribeiro JL, et al. Inflammatory markers, endothelial function and cardiovascular risk. *J Vasc Bras*. 2014; 13(2): 108–15.

103. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135–43.
104. Leinonen E, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Hultén LM, Hiukka A, Taskinen MR. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2003;166(2):387–94.
105. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285–95.
106. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, et al. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Hear J*. 1995; 74: 247–53.
107. Järvisalo MJ, Rönnemaa T, Volanen I, Kaitosaari T, Kallio K, Hartiala JJ, et al. Brachial artery dilatation responses in healthy children and adolescents. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;282:H87–92.
108. Alma Č, Dadonien J, Rugien R, Rylisžkyt L, Kovait M, Petrulionien Ž, et al. The influence of mean blood pressure on arterial stiffening and endothelial dysfunction in women with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Med*. 2010; 46(8): 522–30.
109. Oever IAM Van Den, Raterman HG, Nurmohamed MT, Simsek S. Endothelial Dysfunction , Inflammation , and Apoptosis in Diabetes Mellitus. *Mediators of Inflammation*. 2010; 2010: 1-15.
110. Rossi R, Nuzzo A, Origliani G, Modena MG. Prognostic Role of Flow-Mediated Dilatation and Cardiac Risk Factors in Post-Menopausal Women. *JAAC*. 2008; 51(10): 997-1002.
111. Hadeed K, Hascoet S, Castex M-P, Munzer C, Acar P, Dulac Y. Endothelial Function and Vascular Properties in Children with Sickle Cell Disease. *Echocardiography*. 2015; 32(8): 1215–331.
112. Teixeira RS, Terse-Ramos R, Ferreira TA, Machado VR, Perdiz MI, Lyra IM, et al. Associations between endothelial dysfunction and clinical and laboratory parameters in children and adolescents with sickle cell anemia. *PLoS One*. 2017; 12(9): e0184076.
113. Balletshofer BM, Stock J, Rittig K, Lehn-Stefan A, Braun N, Burkart F, et al. Acute effect of rheopheresis on peripheral endothelial dysfunction in patients suffering from sudden hearing loss. *Ther Apher Dial*. 2005; 9(5): 385–90.
114. Ciccone MM, Cortese F, Pinto M, Di Teo C, Fornarelli F, Gesualdo M, et al. Endothelial function and cardiovascular risk in patients with Idiopathic sudden sensorineural hearing Loss. *Atherosclerosis*. 2012; 225(2): 511–6.

115. Berjis N, Moeinimehr M, Nasiri S. Endothelial dysfunction in patients with sudden sensorineural hearing loss. *Adv Biomed Reserach*. 2016; 5(5): 1–4.
116. Xavier H t., Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz brasileira de dislipidemia e prevenção da aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2013; 101(4): 1–22.
117. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003; 107(3): 499–511.
118. Silva IMC. Avaliação eletrofisiológica da audição em portadores de doença falciforme.[Internet]. Brasília: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília; 2009 [citado 2018 jan 12]. disponível em: http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/9000/1/2009_isabellamonteirodecastro_silva.pdf.
119. Margolis RH, Heller JW. Screening tympanometry: Criteria for medical referral: Original papers. *Int J Audiol*. 1987;26(4):197–208.
120. Jerger S. Validation of the pediatric speech intelligibility test in children with central nervous system lesions. *Int J Audiol*. 1987; 26(5): 298–311.
121. Kaf WA, Danesh AA. Distortion-product otoacoustic emissions and contralateral suppression findings in children with Asperger ' s Syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2013; 77: 947–54.
122. Rocha-Muniz CN, Mota R, Carvalho M, Schochat E. Medial olivocochlear function in children with poor speech-in-noise performance and language disorder. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2017; 96: 116–21.
123. Junqueira CAO, Colafêmina JF. Investigação da estabilidade inter e intra-examinador na identificação do P300 auditivo: análise de erros. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2002;68(4): 468–78.
124. MacDonald CB, Bauer PW, Cox LC, McMahon L. Otologic findings in a pediatric cohort with sickle cell disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*.1999;47(1):23–8.
125. Samperi P, Bertuna G, Rossi G, Poli G, Serra A. Sensorineural hearing loss in sickle cell disease pacientes in Sicily. *Minerva Pediatr*. 2005; 57: 285–8.
126. Friedman EM, Luban NLC, Herer GR, Williams I. Sickle cell anemia and hearing. *Ann Otol*. 1980;89:342–7.
127. Odetoyinbo O, Adekile A. Sensorineural hearing loss in children with sickle cell anemia. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1987;96(3):258–60.
128. Scaioli V, Brinciotti M, Di Capua M, Lori S, Janes A, Pastorino G, et al. A

- multicentre database for normative brainstem auditory evoked potentials (BAEPs) in children: methodology for data collection and evaluation. *Open Neurol J.* 2009;3:72–84.
129. Hogan A, Pit-ten Cate I, Vargha-Khadem F, Prengler M, Kirkham F. Physiological correlates of intellectual function in children with sickle cell disease: hypoxaemia, hyperaemia and brain infarction. *Dev Sci.* 2006; 9: 379–387.
130. Steen RG, Xiong X, Mulhern RK, Langston JW, Wang WC. Subtle brain abnormalities in children with sickle cell disease: relationship to blood hematocrit. *Ann Neurol.* 1999;45(3):279–86.
131. Serjeant GR. *The Natural History of Sickle Cell Disease.* Cold Spring Harb Perspect Med. 2013;3:a011783.
132. Jabr I Al. Hearing loss among adults with sickle cell disease in an endemic region: a prospective case-control study. *Ann Saudi Med.* 2016; 36(2): 135–8.
133. Silva LP, Nova C V, Lucena R. Sickle cell anemia and hearing loss among children and youngsters: literature review. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2012;78(1):126–31.

APENDICES

Apêndice A – Roteiro para registro de dados dos prontuários e entrevista audiológica

ENTREVISTA AUDIOLÓGICA

DADOS PESSOAIS

DATA:
 NOME:
 DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____. IDADE: ____ ANOS SEXO: () M () F
 ESTUDA: () SIM () NÃO
 ESCOLARIDADE () Infantil () Fundamental I () Fundamental II Ano Específico _____
 TRABALHA: () SIM () NÃO Profissão _____
 ENDEREÇO: _____
 TELEFONE: _____
 NATURALIDADE: _____ PROCEDENCIA: _____
 AMBULATÓRIO: _____

ASPECTOS AUDITIVOS

QUEIXA

1. APRESENTA OU SENTE QUE APRESENTA PERDA AUDITIVA: () SIM () NÃO
- HÁ QUANTO TEMPO: ____ MESES
- EM QUA ORELHA: () ORELHA DIREITA () ORELHA ESQUERDA () EM AMBAS
() NÃO SOUBE REFERIR
- O PROBLEMA FOI SÚBITO: () SIM () NÃO
- O PROBLEMA É PROGRESSIVO () SIM () NÃO
2. SENTE QUE A AUDIÇÃO DIMINUI EM ALGUNS MOMENTOS (FLUTUAÇÃO): () SIM () NÃO

PROBLEMAS OTOLÓGICOS

3. JÁ APRESENTOU OTALGIA: () SIM () NÃO
- EM QUAL ORELHA: () ORELHA DIREITA () ORELHA ESQUERDA () EM AMBAS
() NÃO SOUBE REFERIR
4. PRURIDO: () SIM () NÃO
- EM QUAL ORELHA: () ORELHA DIREITA () ORELHA ESQUERDA () EM AMBAS
() NÃO SOUBE REFERIR
5. OTORRÉIA: () SIM () NÃO
- EM QUAL ORELHA: () ORELHA DIREITA () ORELHA ESQUERDA () EM AMBAS
() NÃO SOUBE REFERIR

SINTOMAS OTONEUROLÓGICOS

6. ZUMBIDO () SIM () NÃO

EM QUAL ORELHA () ORELHA DIREITA () ORELHA ESQUERDA () EM AMBAS
() NÃO SOUBE REFERIR

HÁ QUANTO TEMPO : _____ MESES

PITCH (Tipo) () GRAVE () AGUDO () CONTÍNUO () INTERMITENTE

FREQUENTEMENTE () ESPORÁDICAMENTE ()

7. VERTIGEM / TONTURA ROTATÓRIA: () SIM () NÃO

HÁ QUANTO TEMPO : _____ MESES

FREQUENTEMENTE () ESPORÁDICAMENTE ()

ASSOCIADA A SINTOMAS NEUROVEGETATIVO NÁUSEAS () SIM () NÃO () ÀS VEZES

VERIFICAÇÃO PSICOACÚSTICA DA AUDIÇÃO

8. DIFICULDADE DE COMPREENDER A FALA () SIM () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

9. DIFICULDADE PARA OUVIR TV () SIM () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

10. ESCUTA TV OU MÚSICA ALTA () SIM () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

11. DESEMPENHO ESCOLAR () ÓTIMO () BOM () REGULAR () RUIM

12. HÁBITO DE USAR FONES DE OUVIDO () SIM () NÃO ()

SAÚDE GERAL

12. HISTÓRICO DE HIPERCOLESTEROLEMIA : () SIM () NÃO

13. CIRURGIA DE CABEÇA E PESCOÇO: () SIM () NÃO

14. DOENÇAS QUE JÁ APRESENTOU

Catapora () caxumba () herpes () toxoplasmose () rubéola () citomegalovirus ()
herpes () sarampo () sífilis () meningite () AIDS () () AVC () TCE () TCA

15. POSSUI CASO NA FAMÍLIA DE SURDEZ? () SIM () NÃO / GRAU DE PARENTESCO _____

SE SIM CONGÊNITA () ADQUIRIDA () : () CRIANÇA / () ADULTO () IDOSO

16. MEDICAMENTOS QUE UTILIZA:

17. JÁ UTILIZOU ANTIBIÓTICOS COMO: (ESTREPTOMICINA, KANAMICINA, NEOMICINA,
GESTAMICINA, VIOMICINA E CISPLATINA) () SIM () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

18. JÁ FEZ EXAMES AUDITIVOS ANTERIORES

() SIM () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

19. UTILIZA AASI

() SIM, HÁ QUANTO TEMPO? _____ MESES / ESTÁ ADAPTADO: () SIM () NÃO
() NÃO

AVALIAÇÃO SAÚDE GERAL E DADOS DO PRONTUÁRIO

TESTE DO PEZINHO () SIM () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

ELETROFORESE DA HEMOGLOBINA () SIM () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

IDADE DO DIAGNÓTICO:

USO DE HIDROXIURÉIA : () SIM () NÃO

TEMPO DE USO DE HIDROXIURÉIA :

PRESENÇA DE CRISE ÁLGICA NO ÚLTIMO ANO: () SIM () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

NÚMERO DE CRISE ÁLGICA NO ÚLTIMO ANO

ATENDIMENTO EM EMERGÊNCIA SIM () () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR

NÚMERO DE VEZES _____

INTERNAMENTO SIM () () NÃO () NÃO SOUBE REFERIR NÚMERO DE VEZES _____

USO DE TRANSFUSÃO NO ÚLTIMO ANO () SIM () NÃO

DATA DA ÚLTIMA TRANSFUSÃO:

USO DE ANTIBIÓTICO NOS ÚLTIMOS TRÊS MESES () SIM () NÃO

DADOS ANTROPOMÉTRICOS E DADOS VITAIS

Peso _____ Altura _____ IMC _____ Escore z IMC CLASSIFICAÇÃO IMC _____

DADOS LABORATORIAS

(DADO MAIS RECENTE À DATA DA COLETA DE DADOS)

Hb: _____

Hb FETAL : _____

Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O (A) seu (a) filho (a) _____ está sendo convidado a participar da pesquisa **“Associação entre fatores cardiorespiratórios e otoneurológicos com desenvolvimento acadêmico em crianças com anemia falciforme”**. Esta pesquisa tem como objetivo avaliar se esta população apresenta mais dificuldades para respirar à noite, problemas nos pulmões que favorecerão a dificuldades respiratórias na vida adulta, inflamação nos vasos sanguíneos, problemas no coração e problemas auditivos e de equilíbrio. Esta pesquisa conta com a participação de Dra Iza Cristina Salles de Castro, pesquisadora responsável, otorrinolaringologista e médica do sono, e as pesquisadoras assistentes Dra Ana Marice Ladeia, cardiologista; Dra Regina Terse Ramos, pneumologista pediátrica; Dra Rozana Teixeira, pediatra; Dra Isabel Guimarães, cardiologista pediátrica; Dra Tatiane Ferreira; Dra Mara Renata Rissatto-Lago fonoaudióloga e Dra Luciene da Cruz Fernandes, fonoaudióloga.

No dia do atendimento médico seu filho realizará as seguintes avaliações: Peso, altura, medida da pressão arterial e medida da velocidade do sangue através de um sensor colocado do dedo da mão ou do pé e juntamente você responderá a um questionário sobre dados da audição do seu filho (exemplo: se já teve ou tem dor de ouvido, tontura, zumbido – barulho constante no ouvido e alguns medicamentos que já utilizou)

Seu filho realizará um exame chamado espirometria, onde soprará em um aparelho com bocal descartável. Este aparelho vai medir a força com que ele respira e se apresenta alteração ao respirar, como diminuição na passagem do ar nos pulmões. Durante o exame será dado um remédio que será colocado na boca do seu filho e logo depois ele terá que puxar o ar, rapidamente. Este remédio ajuda a melhorar a passagem do ar para os pulmões, pois algumas crianças podem ter algum problema como asma e não saber. Este remédio poderá aumentar os batimentos do coração, que cede espontaneamente, basta esperar. Nesse momento, ao seu lado e ao lado do seu filho terá uma médica e uma fisioterapeuta. E neste momento você responderá a algumas perguntas sobre o sono e respiração.

Seu filho será encaminhado para coleta de sangue com uma seringa e agulha descartáveis. Para exames como hemograma, colesterol e triglicérides, exames que avaliam inflamação no sangue e no fígado. Sendo necessário que fique 8 horas de jejum (podendo beber somente água) antes do exame. Posteriormente, neste mesmo dia do exame de sangue, será realizada avaliação das veias do corpo para saber se estão em tamanho normal. Para isso, será colocado no braço do seu filho um aparelho para medir a pressão, que será insuflado por 3 a 4 minutos, e depois de esvaziado. Também será colocado um gel no braço e no peito para passar um aparelho como massageador e na tela de um televisor será vista a imagem dos vasos sanguíneos (ou seja por onde o sangue corre no nosso corpo) .

E seu filho será encaminhado para avaliação clínica com outro médico, que utilizará uma lanterna para verificar o nariz, boca e ouvidos para identificar alterações que possam dificultar a respiração

Seu filho será encaminhado para avaliação da audição e neste dia responderá novamente algumas questões sobre a audição de seu filho. Os exames realizados serão: a audiometria tonal convencional com a colocação de um fone para emissão de sons como “apitos” e sinalizar a resposta através de uma campainha, numa sala sem barulhos; (paciente deve manter a cabeça parada e não falar durante a apresentação de estímulos sonoros com uma leve pressão no ouvido apresentados em um fone de ouvido especial); emissões otoacústicas (paciente se mantém apenas escutando um estímulo sonoro com um fone de ouvido especial); potencial evocado auditivo de tronco encefálico (paciente permanece deitado em uma maca confortável com adesivos na testa e orelhas e um fone especial para ouvir estímulos sonoros); potencial evocado auditivo de longa latência - P300 (neste exame ao paciente escutará dois apitos diferentes intercalados e deverá contar quantas vezes escutou um dos estímulos apresentados). Estes procedimentos terão duração de uma hora em média. Em outro momento será realizado a videonistagmografia para avaliar a tontura (na primeira etapa o paciente deve acompanhar com os olhos algumas luzes apresentadas em uma barra luminosa enquanto está sentado com uma

máscara; na segunda etapa permanece deitado em uma maca confortável com a mesma máscara recebendo um leve estímulo calórico com ar no ouvido para verificar presença de tonturas). Este exame tem duração média de uma hora no total. Os resultados todos indicarão se existem ou não alterações na parte auditiva ou no equilíbrio.

Depois destas etapas será encaminhado para realizar o estudo do sono (polissonografia), nesse dia a criança e o adolescente, dormirão no laboratório do sono e lá com seu acompanhante e um técnico, sob condições de segurança e ambiente semelhante a sua casa.

Todos estes exames não terão nenhum custo para os senhores. Após o exame de sangue será fornecido lanche para o paciente.

Em nenhum procedimento será utilizado remédio para dormir ou anestesiá-lo. Os exames não causam dor com exceção da coleta do sangue.

Estamos oferecendo ao seu filho (a) uma avaliação ampla de saúde, cujos resultados estarão disponíveis e, além disto, estarão ajudando outras crianças a se beneficiarem de medidas futuras que esta pesquisa poderá esclarecer.

Diante então do exposto acima, autorizo a participação do mesmo nesta pesquisa médica, ciente de que não trará malefícios para sua saúde. Entendo também que eu tenho permissão para a qualquer momento revogar o meu consentimento e retirar o paciente do estudo sem sofrer nenhuma punição ou perda de direitos. Entretanto, o paciente poderá ser solicitado a realizar exames, caso o médico que o assiste, julgue-os necessários para a sua saúde e bem estar. Minha recusa em permitir que meu filho ou tutelado participe do estudo não resultará em punições ou perda de benefícios a que ele/ela tenha direito.

Assinatura do responsável pelo paciente

_____.

Endereço: _____

Numero de identidade: _____.

Numero no estudo: _____.

Paciente (menor de idade) _____.



Impressão Dadiloscópia

Assinatura do Pesquisador Responsável

Assinatura do Pesquisador Assistente

Para maiores esclarecimentos e/ou dúvidas durante a pesquisa o senhor poderá entrar em contato com a Pesquisadora Responsável: Dra Iza Cristina Salles de Castro, telefone(71) 9949511 endereço: Pós Graduação da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Avenida Dom João VI, nº 275, Brotas, CEP 40.29000

Em caso de dúvida ou denúncia o Sr (a) poderá procurar o Comitê de Ética e Pesquisa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, na Rua Frei Henrique , nº 08, Nazaré CEP 40250-420. Fone: (71)21012944 / e-mail: cep@bahiana.edu.br

Apêndice C – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

1

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa chamada: **“Associação entre fatores cardiorespiratórios e otoneurológicos com desenvolvimento acadêmico em crianças com anemia falciforme”**. Esta pesquisa irá mostrar se você tem dificuldades para respirar à noite, problemas no sangue, no coração e problemas auditivos e de equilíbrio do corpo.

Primeiro você vai subir numa balança para verificar seu peso, identificar sua altura. Depois vamos colocar um anel no seu dedo para medir a velocidade do seu sangue no corpo. Realizará um exame chamado espirometria, onde soprará um tubo, como se fosse encher um balão, mas antes de soprar bem forte, você vai tomar um remédio que será colocado na sua boca e logo depois, você terá que puxar o ar, rapidamente. Irá para outro médico e será feita coleta de sangue com uma seringa, e depois será colocado no seu braço uma fita para medir sua pressão sanguínea será colocado um gel no seu braço e peito e por uma televisão você vai ver sua veia e seu coração trabalhando.

O médico com uma lanterna vai olhar seu nariz, sua boca e seus ouvidos.

Para verificar se está escutando bem será colocado um fone para você escutar alguns apitos e dizer se escutou ou não. Também será colocado outro fone e sentirá uma pressão de ar no ouvido. Depois irá deitar numa cadeira/maca confortável e será colado na sua testa, e atrás das suas orelhas alguns fios juntamente inserido um fone no ouvido para vc escutar outros barulhos. Depois será instruído a contar alguns apitos diferentes que escutar.

E para avaliar o seu equilíbrio fará movimentos com o corpo como levantar-se, deitar-se, rodar em uma cadeira e depois observaremos como você fica com colocação de ar na sua orelha, semelhante a um mergulho.

Você irá dormir com alguns fios que serão colados em seu corpo para que possamos avaliar a qualidade do seu sono.

As pessoas que te ajudarão nos exames serão: Dra Iza Cristina Salles de Castro, pesquisadora responsável, otorrinolaringologista e médica do sono, e as pesquisadoras assistentes Dra Ana Marice Ladeia, cardiologista; Dra Regina Terse Ramos, pneumologista pediátrica; Dra Rozana Teixeira, pediatra; Dra Isabel Guimarães, cardiologista pediátrica; Dra Tatiane Ferreira; Dra Mara Renata Risatto-Lago fonoaudióloga e Dra Luciene da Cruz Fernandes, fonoaudióloga.

Todos estes exames serão interessantes para analisar como está sua saúde e poderá futuramente ajudar outras criança. Esses exames não doem, podem incomodar um pouquinho, mas passa rapidamente.

Caso você concorde em participar desta pesquisa precisa escrever (assinar) seu nome neste papel ou colocar seu dedo com tinta no quadrado (impressão datiloscopia)

Nome completo _____.

Data: ____/____/____.

Assinatura



Impressão datiloscopia

ANEXOS

Anexo A – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASSOCIAÇÃO ENTRE FATORES CARDIORESPIRATÓRIOS E OTONEUROLÓGICOS COM DESENVOLVIMENTO ACADÊMICO EM CRIANÇAS

Pesquisador: CRISTINA SALLES

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 33705714.3.0000.5544

Instituição Proponente: Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências - FUNDECI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 780.731

Data da Relatoria: 27/08/2014

Apresentação do Projeto:

Anemia Falciforme é uma das doenças hereditárias, monogênicas mais prevalentes em todo o mundo e a mais frequente do Brasil. O estado da Bahia apresenta a maior incidência no Brasil, com proporção de 1:650 nascidos vivos. É uma doença multissistêmica associada a episódios de adoecimento agudo e dano orgânico progressivo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

1. Avaliar associação entre fatores cardiorespiratórios e desenvolvimento acadêmico em crianças com anemia falciforme.
2. Avaliar associação entre fatores vestibulo-auditivos e desenvolvimento acadêmico em crianças com anemia falciforme.

Objetivo Secundário:

Endereço: RUA FREI HENRIQUE, Nº 08.

Bairro: NAZARÉ

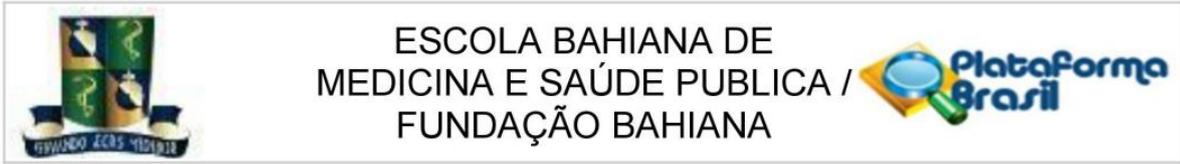
UF: BA

Município: SALVADOR

CEP: 40.050-420

Telefone: (71)2101-2944

E-mail: cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: 780.731

1. Estimar a frequência de disfunção endotelial em crianças com anemia falciforme.
2. Estudar a frequência de alterações respiratória (anatomia das vias aéreas, hipoxemia, SAOS, dessaturações) em crianças com anemia falciforme.
3. Avaliar a frequência de alterações do aparelho auditivo e vestibular em crianças com anemia falciforme.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo o Pesquisador Responsável revela que os riscos serão minimizados pois durante todos os procedimentos os participantes da pesquisa serão acompanhados por cardiologista experiente, e só serão liberados após confirmação de boas condições clínicas por este cardiologista. E os instrumentos que serão utilizados são conhecidos e validados o que minimiza os riscos envolvidos.

Benefícios:

Os voluntários serão beneficiados de avaliação cardiológica, otorrinolaringológica, respiratória, vestibulo auditiva e hematológica ampla e sem custos, com oportunidade de diagnosticar alterações subclínicas. E espera-se que o resultado dessa pesquisa possa contribuir para a implementação de normatizações que ajudarão a melhorar o bem estar destes grupos de pacientes

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo de corte transversal com população de crianças e adolescentes (6 a 19 anos de idade) provenientes do ambulatório de pediatria da Universidade Federal da Bahia (UFBA) em Salvador/BA, sendo no total 78 crianças divididas em dois grupos (estudo e controle), e atendendo aos seguintes critérios de inclusão: a) grupo do estudo: portadores de AF, sem eventos infecciosos e não infecciosos agudos há 1 mês antecedendo a entrada no estudo; b) grupo controle: sem AF e aparentemente saudáveis e que aceitem participar do estudo após assinatura do termo assentimento/consentimento livre.

Critérios de exclusão: a) grupo do estudo: portadores de outras hemoglobinopatias, síndromes

Endereço: RUA FREI HENRIQUE, Nº 08.

Bairro: NAZARÉ

UF: BA

Município: SALVADOR

CEP: 40.050-420

Telefone: (71)2101-2944

E-mail: cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: 780.731

genéticas,
obesidade, diabetes, hipercolesterolemia, cardiopatias, HAS, transfusão sanguínea nos últimos 3 meses e diagnóstico de SAOS; b) grupo controle: portadores de doenças cardiovasculares, doenças pulmonares (incluindo asma), diabetes, obesidade, sinais e sintomas de obstrução respiratória alta. Estes dois grupos realizarão os seguintes procedimentos: exame físico (peso, altura, medida da pressão arterial) e resposta ao questionário padrão; exames hematológicos e bioquímicos; espirometria; avaliação da função vasomotora; ecocardiograma; avaliação com otorrinolaringologista e fonoaudiólogo para verificação de sinais de obstrução das vias aéreas superiores; polissonografia e exames vestibulo-auditivos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto: preenchida;
Cronograma: adequado com início de coleta para setembro;
Orçamento: orçado no valor de R\$ 33.899,00;
Termo de assentimento e TCLE : adequados aos participantes.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sanadas as pendências anteriormente assinaladas relativas ao TCLE, Termo de assentimento e fonte de financiamento, o projeto garante o atendimento aos princípios básicos da bioética para pesquisa com seres humanos preconizados pela Res. 466/12 do CNS: autonomia dos participantes, equidade, beneficência e não maleficência.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Atenção : o não cumprimento à Res. 466/12 do CNS abaixo transcrita implicará na impossibilidade

Endereço: RUA FREI HENRIQUE, Nº 08.

Bairro: NAZARÉ

CEP: 40.050-420

UF: BA **Município:** SALVADOR

Telefone: (71)2101-2944

E-mail: cep@bahiana.edu.br



Continuação do Parecer: 780.731

de avaliação de novos projetos deste pesquisador.

XI 2 DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL

XI.1 - A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

XI.2 - Cabe ao pesquisador: a) e b) (...)

c) desenvolver o projeto conforme delineado;

d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final;

e) apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento;

f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;

g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; e

h) justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados

SALVADOR, 05 de Setembro de 2014

**Assinado por:
Roseny Ferreira
(Coordenador)**

Endereço: RUA FREI HENRIQUE, Nº 08.

Bairro: NAZARÉ

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)2101-2944

CEP: 40.050-420

E-mail: cep@bahiana.edu.br