



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
EDUARDO DE MEDEIROS PERETTI

**AVALIAÇÃO DA MÚSICA NO DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO:
IMPLICAÇÕES NO APRENDIZADO E MEMÓRIA**

Tubarão
2019

EDUARDO DE MEDEIROS PERETTI

**AVALIAÇÃO DA MÚSICA NO DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO:
IMPLICAÇÕES NO APRENDIZADO E MEMÓRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade do Sul de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Jucélia Jeremias Fortunato

Tubarão
2019

EDUARDO DE MEDEIROS PERETTI

**AVALIAÇÃO DA MÚSICA NO DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO:
IMPLICAÇÕES NO APRENDIZADO E MEMÓRIA**

Esta Monografia foi julgada adequada à obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas e aprovada em sua forma final pelo Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade do Sul de Santa Catarina.

Tubarão, 02 de julho de 2019.

Professora e orientadora Jucélia Jeremias Fortunato, Dra.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Adilson Tibúrcio, Msc.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Naiana da Rosa, Msc.
Universidade do Sul de Santa Catarina

Para minha mãe.

Meus amigos e amigas.

Todos/as aqueles/as que passaram pela minha
vida e me transformaram no que sou.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Jucélia Jeremias Fortunato, obrigado por proporcionar experiências engrandecedoras dentro do grupo de pesquisa e da graduação.

A meus amigos e amigas, sem nossos momentos juntos nada disso seria possível.

“Não haverá borboletas se a vida não passar por longas e silenciosas metamorfoses” (Rubem Alves).

RESUMO

Em diversas culturas a música é utilizada como forma de tratamento para diversas condições físicas ou mentais. Entretanto, ainda não se sabe ao certo como a música afeta o corpo humano, principalmente num sentido fisiológico. Mais desconhecidos ainda são os mecanismos neurais afetados pela música. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da exposição pré-natal a distintos estímulos auditivos, em ratos Wistar com diferentes idades. Foram acasaladas 12 fêmeas com 4 machos para obtenção da prole. As fêmeas foram divididas em quatro grupos experimentais e expostas aos protocolos intermitentes de enriquecimento ambiental, sendo eles: Silêncio; Ruído Branco; Música Clássica; e Música Clássica Retrógrada. Para avaliação do desempenho cognitivo na prole, foram utilizados os testes de reconhecimento de objetos e esquiva inibitória, para avaliação das memórias declarativa e aversiva, respectivamente. Os resultados mostraram que a exposição pré-natal a música clássica promoveu melhor desempenho cognitivo em animais avaliados com 70 dias de vida quando comparados ao desempenho de animais mais jovens. Desta forma, este estudo sugere que a exposição pré-natal a música clássica pode auxiliar na formação de novas memórias e desenvolvimento cognitivo, facilitando o aprendizado em período pós-natal.

Palavras-chave: Música. Desempenho cognitivo. Exposição pré-natal.

ABSTRACT

In many cultures, music is used as means of treatment to a plethora of physical or mental conditions. However, it is still uncertain how music affects the human body, especially in a physiological sense. Even more in the unknown are the neural mechanisms affected by music. The objective of this study was to investigate the effects of prenatal exposure to distinct auditory stimuli in rats. Twelve females with 4 males were mated to obtain offspring. The populations were divided into four experimental groups and exposed to intermittent environmental enrichment protocols: Silence; White Noise; Classical music; and Retrograde Classical Music. To evaluate the offspring's cognitive performance, the object recognition test for the evaluation of declarative memory and inhibitory avoidance test for the evaluation of the aversive memory. The results show that the prenatal exposure to classical music promoted a better cognitive performance in 70 days old rats when compared to younger animals. Therefore, this study suggests that the prenatal exposure to classical music may help in the formation of new memories and cognitive development, facilitating the post-natal process of learning.

Keywords: Music. Cognitive performance. Prenatal exposure.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Desenho esquemático das etapas metodológicas	20
Figura 2 – Distribuição dos objetos no campo aberto	21
Figura 3 – Médias de filhotes por matriz em cada grupo experimental.	24
Figura 4 (A, B e C) – Teste de Reconhecimento de Objetos realizado em PND21 (A), PND45 (B) e PND70 (C), 90 minutos após o período de habituação, representando a MCD de animais expostos a diferentes estímulos auditivos – Silêncio, Ruído Branco, Música Clássica e Música Retrógrada. Os valores foram expressos em média ± erro padrão da média. *Silêncio x MÚSICA CLÁSSICA, $p=0.0433$. Valores alcançados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste <i>post hoc</i> Tukey.....	25
Figura 5 (A, B e C) – Teste de Reconhecimento de Objetos realizado em PND21 (A), PND45 (B) e PND70 (C), 24 horas após o período de habituação, representando a MLD de animais expostos a diferentes estímulos auditivos – Silêncio, Ruído Branco, Música Clássica e Música Retrógrada. Os valores foram expressos em média ± erro padrão da média. **Ruído Branco x Música Clássica, $p=0.0057$. Valores alcançados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste <i>post hoc</i> Tukey.....	26
Figura 6 (A, B e C): Teste de Esquiva Inibitória realizado em PND21 (A), PND45 (B) e PND70 (C), 90 minutos após o período de habituação, representando a MCD de animais expostos a diferentes estímulos auditivos – Silêncio, Ruído Branco, Música Clássica e Música Retrógrada. Os valores foram expressos em média ± erro padrão da média. *Silêncio x Ruído Branco, $p=0.0006$ ($p=0.0002$ em Mann-Whitney). **Ruído Branco x Música Clássica, $p=0.004$; **Ruído Branco x M. Retrógrada, $p=0.0019$. Valores alcançados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste <i>post hoc</i> Tukey.....	29
Figura 7 (A, B e C): Teste de Esquiva Inibitória realizado em PND21 (A), PND45 (B) e PND70 (C), 1 dia após o período de habituação, representando a MLD de animais expostos a diferentes estímulos auditivos – Silêncio, Ruído Branco, Música Clássica e Música Retrógrada. Os valores foram expressos em média ± erro padrão da média. Valores alcançados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste <i>post hoc</i> Tukey.....	30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	DELIMITAÇÃO DO TEMA E FORMULAÇÃO DO PROBLEMA.....	12
1.2	JUSTIFICATIVA	12
1.3	OBJETIVOS	12
1.3.1	Geral.....	12
1.3.2	Específicos.....	12
1.4	DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO: ESTRUTURAÇÃO DOS CAPÍTULOS ..	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1	DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO	14
2.2	MÚSICA X COGNIÇÃO	16
3	METODOLOGIA.....	18
3.1	NATUREZA E TIPO DE PESQUISA	18
3.2	ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	18
3.3	ACASALAMENTO DOS ANIMAIS	18
3.4	PADRONIZAÇÃO DA NINHADA.....	19
3.5	TESTES COMPORTAMENTAIS	20
3.5.1	Teste de Reconhecimento de Objetos	20
3.5.2	Esquiva Inibitória.....	21
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
3.7	ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	22
4	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS DADOS	23
4.1	AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE NASCIMENTOS	23
4.2	TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS.....	24
4.3	TESTE ESQUIVA INIBITÓRIA	28
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
	REFERÊNCIAS	33
	ANEXOS	39

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, personagens históricos, como Pitágoras, já observavam os benefícios da música para a saúde (FERREIRA; REMEDI; LIMA, 2006). Nas culturas antigas, a música era usada como recurso terapêutico para diminuir o sofrimento (BERGOLD; ALVIM, 2009), inclusive, foi utilizada na guerra da Criméia, por Florence Nightingale, como tratamento para amenizar a dor (GONÇALEZ; NOGUEIRA; PUGGINA, 2008).

Músicas com ritmo, melodia e harmonia mais lentas, calmas e com tons mais graves são as mais indicadas, quando se deseja proporcionar sensação de tranquilidade e diminuição do estado de alerta, pois estes atributos podem reduzir a frequência cardíaca e respiratória, a ansiedade e a agitação do paciente e ainda promover relaxamento (FERREIRA; REMEDI; LIMA, 2006). A música como recurso terapêutico visa a melhora na qualidade de vida do sujeito em situações em que promove alterações físicas, mentais e sociais, repercutindo na recuperação e resposta ao tratamento de diversas doenças (OLIVEIRA; OSELAME; NEVES; OLIVEIRA, 2014).

A música pode ser utilizada como um método de enriquecimento ambiental e é possível observar efeitos positivos em indivíduos que foram expostos à música (XING *et al.*, 2016). Crianças treinadas na música conseguem melhores resultados em tarefas que exigem habilidades espaciais do que crianças que recebem outro, ou nenhum, estímulo (GARDINER; MARTIN; FOX; KNOWLES, 1996; RAUSCHER *et al.*, 1997). Da mesma forma, indivíduos que ouvem música clássica como a sonata de Mozart “Sonata para Dois Pianos em D” (K. 448) apresentam uma melhora significativa em curto prazo (durando 10-15 min) em tarefas espacial-temporais (CASH *et al.*, 1997; RAUSCHER; SHAW, 1998) mas não em tarefas de reconhecimento espacial, quando comparados à indivíduos controle que ouvem algo diferente ou silêncio (CARSTENS; HUSKINS; HOUNSHELL, 1995; CASH *et al.*, 1997; RAUSCHER; SHAW, 1998).

Apesar de já se ter uma noção estabelecida sobre o efeito da música em certas habilidades, ainda se sabe muito pouco sobre o mecanismo neural desse fenômeno. Pesquisadores sugerem que estruturas do lobo temporal são responsáveis pela representação musical e espacial-perceptiva (HASSLER; BIRBAUMER; FEIL, 1985; ZATORRE; EVANS; MEYER, 1994), reforçando a noção de que essas funções dividem similares áreas do encéfalo. Modelos de rede neural (BHARUCHA, 1987; SHAW; SILVERMAN; PEARSON, 1985) fornecem compreensão desse relacionamento. Especificamente o modelo de ‘trion’ (SHAW, 1991), baseado nos princípios organizacionais colunares para o córtex de mamíferos

de Mountcastle (MOUNTCASTLE, 1997), propõe que a atividade musical reforça padrões de disparo neural que também são utilizados para realizar atividades especial-temporais.

1.1 DELIMITAÇÃO DO TEMA E FORMULAÇÃO DO PROBLEMA

Assim, considerando o potencial da música como enriquecimento ambiental, este estudo tem como problema investigar qual o efeito da música no desenvolvimento do sistema nervoso (SN) sobre o aprendizado e a memória em animais experimentais. O aprendizado e a memória são propriedades básicas do sistema nervoso central (SNC). Considerando que pesquisas sugerem que existe uma melhora no desenvolvimento e comportamento humano proveniente da música, há a necessidade de conhecer os aspectos neurofisiológicos que são beneficiados por esse enriquecimento ambiental.

1.2 JUSTIFICATIVA

Este estudo pode beneficiar não apenas a comunidade científica, mas também a comunidade geral, podendo indicar a música como uma forma de melhoramento da capacidade cognitiva.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Geral

Avaliar os efeitos da exposição pré-natal, em ratos da linhagem Wistar, à música clássica (Mozart) em parâmetros comportamentais.

1.3.2 Específicos

Expor as matrizes a diferentes protocolos de enriquecimento ambiental.

Analisar a prole de matrizes expostas prenatalmente a partir da música clássica sob os seguintes parâmetros:

- Memória de reconhecimento de objetos em PND21, PND45 e PND70;
- Memória aversiva em PND21, PND45 e PND70;

1.4 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO: ESTRUTURAÇÃO DOS CAPÍTULOS

Esta pesquisa está dividida em cinco capítulos, quais sejam: neste capítulo, faz-se a apresentação do trabalho. O capítulo 2 trata da fundamentação teórica com base em autores como Rauscher e Shaw (1998), Xing *et al.* (2016), Partanen *et al.* (2013) entre outros. No capítulo 3, apresenta-se a metodologia, descrevendo como a pesquisa se desenvolveu. No capítulo 4, são apresentados os dados obtidos na pesquisa bem como a sua discussão. Por fim, apresentam-se as considerações finais, seguida das referências bibliográficas utilizadas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO

A partir de um pequeno aglomerado de células a formação do SN inicia-se no pré-natal e estende-se até a fase adulta do indivíduo (STILES; JERNIGAN, 2010). Após a fertilização, o embrião passa por processos de intensa proliferação celular, assim são produzidas células totipotentes com grande capacidade de diferenciação (GIBB, 2015). Essas células se comprometem com diferentes destinos, assim originando os três folhetos embrionários: ectoderma, mesoderma e endoderma (STILES; JERNIGAN, 2010).

Em humanos, o desenvolvimento do SN começa na terceira semana gestacional com o processo de neurulação, a partir da diferenciação celular do ectoderma que originará a placa neural (DE LAHUNTA; GLASS; KENT, 2016). A placa neural se modifica, elevando-se lateralmente formando as pregas neurais e, no meio, o sulco neural (DE LAHUNTA; GLASS; KENT, 2016). O sulco neural se retrai e as pregas aproximam-se, para então unir-se completamente formando o tubo neural, cuja cavidade interna é preenchida por líquido amniótico, responsável por originar os elementos do SNC, sendo eles o encéfalo e a medula espinal (SLOTKIN, 2009; FRANCO; MÜLLER, 2013).

A zona ventricular é formada pela cavidade cilíndrica do tubo neural, região em que também se encontram em abundância as células tronco embrionárias que contribuirão para desenvolvimento encefálico organizado (GRAAF-PETERS; HADDERS-ALGRA, 2006). Com aproximadamente quatro semanas de gestação o encéfalo começa a se desenvolver na extremidade superior do tubo neural, chamada de porção rostral, sendo que a medula espinal se desenvolve a partir da extremidade caudal do tubo neural (STILES; JERNIGAN, 2010).

Para que possa ocorrer a formação do encéfalo, a porção rostral do tubo neural desenvolve-se e se diferencia em três unidades estruturais primárias que determinarão os aspectos estruturais principais do SNC (DE LAHUNTA; GLASS; KENT, 2016). Estas três estruturas darão origem ao (a) Prosencéfalo: telencéfalo (córtex cerebral e os núcleos de base) e o diencéfalo; (b) Mesencéfalo; e (c) Rombencéfalo: metencéfalo (cerebelo e a ponte) e mielencéfalo (bulbo) (DE LAHUNTA; GLASS; KENT, 2016; FRANCO; MÜLLER, 2013).

Por sucessivos processos mitóticos, as células do SN promovem a formação e a organização das células essenciais para o desenvolvimento normal do SNC e sistema nervoso periférico (SNP) até o nascimento (GRAAF-PETERS; HADDERS-ALGRA, 2006). Após o

nascimento, as células neuronais continuarão seu processo de formação sináptica, que se estende até a fase adulta (MORTON; FELICIANO, 2016). Este processo de formação continuado é vital para a modulação da plasticidade sináptica, de processos neuroregenerativos e da memória (JIANG; NARDELLI, 2015).

Donald Hebb (1949), foi o primeiro a demonstrar resultados de estimulação ambiental no desenvolvimento SNC e na sinaptogênese. Ele concluiu que o enriquecimento ambiental é importante no desenvolvimento neurofisiológico e comportamental dos seres humanos (COOPER *et al.* 2005).

O enriquecimento ambiental causa mudanças na anatomia neural, modificação da expressão genética e no número de espinhas dendríticas (MORA *et al.* 2007). Também traz melhoras na sinaptogênese para neurogênese e aumento no nível neurotrófico de diferentes regiões do encéfalo como no hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala (FALKENBERG *et al.*,1992; PIETROPAOLO *et al.*, 2004; GELFO *et al.*, 2010). Em estudos que analisam os efeitos do enriquecimento ambiental no desenvolvimento cognitivo, a estrutura encefálica mais analisada é o hipocampo, que participa no aprendizado e na memória (BINDER; SCHARFMAN, 2004; KIM *et al.*, 2006; RAUSCHER; ROBINSON; JENS, 1998; XING *et al.*, 2016). Tal estrutura pode ser influenciada pelo enriquecimento ambiental, que passa a apresentar níveis elevados de BDNF (ROSSI *et al.*,2006).

Estudos sobre o relacionamento de seres humanos e música sugerem que o humor (MCCRATY *et al.*, 1998) e o comportamento (YALCH; SPANGENBER, 2000) podem ser influenciados por tais estímulos auditivos.

Os aparentes benefícios, associados à música no bem estar do ser humano, incentivaram pesquisadores a estudar o valor da estimulação auditiva como uma forma de enriquecimento ambiental, que acabou sendo testado em várias espécies como: pássaros (GVARYAHU *et al.*, 1989; LADD *et al.*, 1992; NICOL, 1992; REED *et al.*, 1993), gado (EVANS, 1990; UETAKE *et al.*, 1997; WISNIEWSKI, 1977), cavalos (HOUPPT *et al.*, 2000), roedores (NÚÑEZ *et al.*, 2002; SUTOO; AKIYAMA, 2004; NAKAMURA *et al.*, 2007) e primatas (BRENT; WEAVER, 1996; HANSON *et al.*, 1976; MARKOWITZ; LINE, 1989; NOVAK; DREWSON, 1989; OGDEN *et al.*, 1994; O'NEILL, 1989; SHEPHERDSON *et al.*, 1989). Vários desses trabalhos identificam mudanças no comportamento e/ou fisiologia dos animais expostos a gravações de música, transmissões de rádio ou sons da natureza.

2.2 MÚSICA X COGNIÇÃO

A cognição é o processamento de uma sequência de operações que envolvem a entrada, o armazenamento e a saída de informações. Recupera e processa dados de memórias armazenadas. Consiste em obter, organizar e usar o conhecimento intelectual (SADOCK; SADOCK, 2007). É um sistema que significa adquirir conhecimento, esse conhecimento compreende um processo complexo que envolve a atenção, a percepção, a memória, as emoções, a coordenação e a linguagem, onde o indivíduo torna-se capaz de conhecer e aprender (RIBEIRO, 2012).

A aprendizagem se caracteriza por mudanças relativamente duradouras de comportamentos adquiridos pela prática, observação ou experiência. A memória pode ser definida, por sua vez, como registros de representações de informações adquiridas por meio de experiências. Desta forma, aprendizagem e memória estão intimamente relacionadas, pois um indivíduo apresenta capacidade de adaptação e modificação do comportamento quando exposto a novas experiências (EICHENBAUM, 2004; IZQUIERDO *et al.*, 1998).

Memória é a aquisição, a formação, a conservação e a evocação de informações (IZQUIERDO, 1989; SQUIRE, 2004). É o processo de retenção e reconstrução do conhecimento aprendido (REICHENBERG, 2010). Há muitas classificações para as memórias, considerando sua função, seu conteúdo e seu tempo de duração. Se for considerado o tempo que as memórias duram, pode-se dizer que algumas duram somente alguns segundos, enquanto outras duram horas, dias, meses ou anos (SQUIRE e ZOLA, 1996). Neste aspecto, as memórias podem ser classificadas como memórias de trabalho, de curta duração (MCD) ou memória de longa duração (MLD) (ALONSO *et al.*, 2002).

Há também outra classificação onde se define dois sistemas de memória distintos: (a) memória declarativa (explícita) de fatos e acontecimentos, para as pessoas, lugares e objetos, dividida em episódica (memória para eventos) e memória semântica (memória para fatos) (REICHENBERG, 2010); e (b) memória não declarativa (implícita), memória de habilidades motoras e perceptivas que engloba condicionamento clássico simples, a aprendizagem não associativa, *priming* e memória processual (REICHENBERG, 2010; DUDAI e MORRIS, 2013).

Esses sistemas de memórias dependem de mecanismos idênticos associados ao reforço da transmissão sináptica, que envolvem mudanças morfológicas na sinapse e ultrapassa o tempo de estabilização da memória (ATTARDO *et al.*, 2015). A intensidade e a

duração dessas memórias são determinadas pela importância da informação, grau de atenção e a emoção envolvida no momento da aquisição (IZQUIERDO *et al.*, 1998)

Existem várias estruturas cerebrais relacionadas à memória, e não há somente um alvo envolvido na aquisição, armazenamento e evocação das diversas informações adquiridas por aprendizagem, tais como: hipocampo, amígdala, córtex entorrinal, giro parahipocampal, fórnix, corpos mamilares, giro do cíngulo, entre outros (BEAR *et al.*, 2002; KANDELL *et al.*, 2003).

O hipocampo é considerado como uma região fundamental para a formação da memória (ZOREC *et al.*, 2015). A formação de memórias envolve alterações neurais, através da ativação plástica que modifica as sinapses de distintas vias, que incluem o hipocampo e suas principais conexões (IZQUIERDO, 2011).

Visto que a formação de memórias também é um movimento que envolve a participação de fatores ambientais, a música entre outros estímulos sonoros durante o período pré-natal pode vir a ser um fator agravante do processo de aprendizagem.

3 METODOLOGIA

3.1 NATUREZA E TIPO DE PESQUISA

Estudo pré-clínico com o uso de modelo animal.

3.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas doze fêmeas de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) adultas (90 dias), virgens, pesando entre 250 e 300g, provenientes do biotério Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, acasaladas com 6 ratos machos da mesma linhagem e mesma idade. A escolha do número de casais considerou que cada ninhada resulta, em média, oito filhotes com distribuição equivalente entre os gêneros, ou seja, para cada ninhada têm-se quatro filhotes machos e quatro filhotes fêmeas totalizando o número amostral de animais necessários ao estudo.

Durante todo o período experimental, os animais foram mantidos em temperatura controlada (22°C +/-1) e sistema de iluminação que garantia 12 horas de ambiente claro e 12 horas de ambiente escuro, recebendo ração comercial padronizada para ratos de laboratório e água *ad libitum*.

3.3 ACASALAMENTO DOS ANIMAIS

Para o acasalamento, as fêmeas foram introduzidas ao final do período de luz (19 horas) nas gaiolas dos machos, na proporção de duas fêmeas para cada macho. Às 7 horas da manhã do dia posterior foi verificada a possibilidade de prenhez por meio do esfregaço vaginal (MARCONDES *et al*, 2002), que consistiu na introdução de cloreto de sódio através de uma pipeta plástica no canal vaginal da fêmea, coletando secreção para análise em microscópio óptico a procura de espermatozoides junto ao material biológico do animal. Quando verificada a presença de espermatozoides, considerou-se como o dia gestacional (DG) zero daquela fêmea (LEITE *et al*, 2002). As fêmeas prenhes, também chamadas de matrizes, foram separadas aleatoriamente caracterizando os grupos experimentais (n=3 animais por grupo), conforme a descrição abaixo:

- Grupo 1 (Grupo silêncio): composto por fêmeas prenhes mantidas em condição de manutenção padrão do biotério.

- Grupo 2 (Grupo ruído branco): composto por fêmeas expostas ao ruído branco. O ruído branco foi caracterizado por um sinal sonoro aleatório que em diferentes frequências mantiveram a intensidade constante (CARTER; MANCINI, 2009)

- Grupo 3 (Grupo música clássica): composto por fêmeas prenhes expostas à música clássica. O estímulo sonoro para este grupo experimental foi a sonata K. 448 para dois pianos de Mozart.

- Grupo 4 (Grupo música clássica retrógrada): composto por fêmeas prenhes expostas à música clássica retrógrada. O estímulo sonoro para este grupo experimental foi a sonata K. 448 para dois pianos de Mozart em forma retrógrada, ou seja, tocada ao contrário, mas mantendo as propriedades estruturais da música original.

Cada grupo experimental foi submetido ao protocolo intermitente de enriquecimento ambiental por 12 horas consecutivas (XING *et al.*, 2016), com adaptações, das 19 às 7 horas, em dias alternados, respeitando o ritmo circadiano dos animais e não interferindo nos períodos de sono, durante todo o período gestacional (21 dias).

3.4 PADRONIZAÇÃO DA NINHADA

Os partos aconteceram de forma natural e entre os dias PND1 e PND3 não ocorreu nenhuma manipulação na ninhada para evitar a possibilidade de rejeição da mãe em relação à prole. Em PND4 as ninhadas avaliadas quanto ao número de filhotes e ajustadas em 4 fêmeas e 4 machos, totalizando 8 animais por ninhada. A distinção entre os gêneros foi obtida através da identificação da diferença visual relacionada à distância ano-genital, sendo maior em machos. Em PND8-15 foi possível confirmar a distinção entre os gêneros a partir da presença de testículos nos machos e de mamas nas fêmeas (MEGUID *et al.*, 2011; HOLSON *et al.*, 2002).

Somente a prole composta por ratos machos foi utilizada para os testes comportamentais.

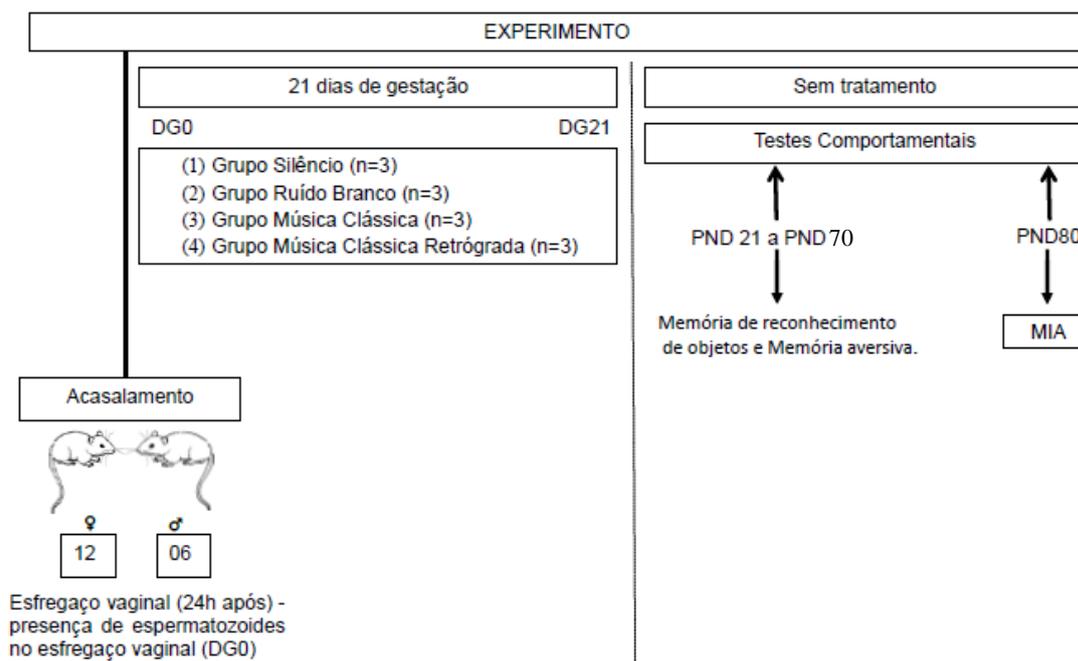


Figura 1 – Desenho esquemático das etapas metodológicas.

3.5 TESTES COMPORTAMENTAIS

Os testes comportamentais aconteceram em diferentes idades (de PND21 a PND80) da prole exposta prenatalmente aos protocolos de enriquecimento ambiental usando os diferentes estímulos sonoros. Os parâmetros comportamentais avaliados foram: memória de reconhecimento de objetos e memória aversiva.

3.5.1 Teste de Reconhecimento de Objetos

O teste de reconhecimento de objetos busca avaliar as memórias não-aversivas. Foi realizado em uma sala escura com luz branda apenas na caixa, onde os ratos foram individualmente inseridos em uma caixa de madeira na parte traseira e nas laterais e, vidro na parte da frente com dimensões (60 x 60 x 30 cm) dividida igualmente em 12 quadrantes. Foi utilizado o protocolo proposto por Dere *et al* (2005). Todos os animais foram habituados ao ambiente de teste durante três minutos, 24h antes do experimento para livre exploração do aparato na ausência de objetos. Os objetos, feitos de plástico ou madeira, foram fixados à arena com fita adesiva.

No primeiro dia da sessão de treino, Figura 2, os animais foram colocados na arena contendo dois objetos iguais (A e A) para livre exploração por 5 minutos. O teste foi repetido 180 minutos depois para testar a memória de curta duração (MCD) e 24 horas depois

do treino para testar a memória de longa duração (MLD). No teste, um dos objetos foi substituído por um novo objeto (B, para MCD e C, para MLD) e o rato foi colocado na arena por 5 minutos.

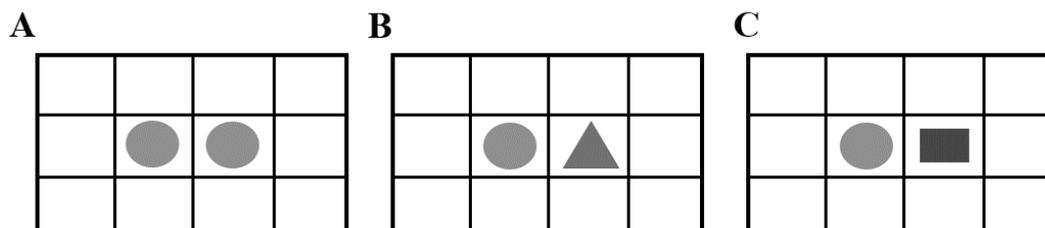


Figura 2 – Distribuição dos objetos no campo aberto

A exploração foi definida como cheirar ou tocar o objeto com nariz e/ou as patas dianteiras. Sentar ou andar em torno do objeto não foi considerado comportamento exploratório. O tempo gasto explorando cada objeto foi marcado por um observador cego ao tratamento recebido pelo animal e o total de tempo de exploração foi computado em segundos (DERE *et al.*, 2006).

3.5.2 Esquiva Inibitória

O teste na esquiva inibitória é realizado para avaliar memória aversiva do animal, neste ensaio experimental é investigado as fases de aquisição, consolidação e evocação das memórias, sendo realizado em treino simples para avaliar aprendizado, e treino múltiplos para avaliar memória.

Para avaliação da memória gerada por estímulo aversivo utilizou-se o teste da esquiva inibitória. O equipamento de esquiva passiva *step-through* consiste em uma gaiola dividida em dois compartimentos iguais, sendo um iluminado e outro escuro, separados por uma porta-guilhotina. Os animais foram colocados individualmente na parte iluminada da gaiola e foi medida a latência, em segundos, para que eles passem para o compartimento escuro. Estando no lado escuro, o animal recebeu um choque de 0,5 mA por 2 segundos, deflagrado pelas barras metálicas localizadas no chão do compartimento. Inicialmente foi realizada a habituação, colocando os ratos na gaiola para exploração com omissão de choque por três minutos. Nas sessões de treino, 90 minutos pós habituação para a memória de curta duração (MCD) e 24 horas para a memória de longa duração (MLD) após o treino. A diferença entre a latência da sessão treino e da sessão teste foi tomada como medida da memória. Foi estabelecido um teto máximo de latência correspondente a 180s, de modo que

latências superiores a 180s foram computadas como 180s (ROSSATO *et al.*, 2007). Os testes para avaliação de MCD e MLD foram realizados 90 minutos e 24 horas após a sessão de treino, respectivamente.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada através do programa estatístico *GraphPad Prism*. Os dados paramétricos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo *post hoc* de Tukey. Os resultados foram expressos pela média \pm erro padrão. As comparações dentro do grupo foram feitas utilizando-se o teste de Mann-Whitney. A significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Este estudo foi submetido à avaliação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Sul de Santa Catarina e aprovado sob número de protocolo 17.018.2.01.IV. A utilização dos animais seguiu a Diretriz Brasileira para Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos – DBCA do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal, Resolução Normativa nº 12, de 20 de setembro de 2013, publicado no Diário Oficial da União – Seção 1) (BRASIL, 2013)

4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS DADOS

O estudo científico sobre os efeitos da música em organismos vivos surgiu a poucas décadas devido a longa história de tratamentos medicinais que foi empregada nas mais diversas culturas, tratamentos estes que focam principalmente em seu efeito relaxante. Baseado nestes estudos sobre os efeitos orgânicos da música (KIM *et al.*, 2006; RAUSCHER; ROBINSON; JENS, 1998; XING *et al.*, 2016), abaixo foram discutidos os achados científicos deste estudo, que buscou avaliar os efeitos da música no desenvolvimento do SN, por meio da exposição pré-natal a diferentes estímulos auditivos sobre a memória e aprendizado.

Duas hipóteses foram consideradas. A primeira, que a música clássica, principalmente as obras de Mozart – neste caso a Sonata para Dois Pianos em D, K.448 –, pode causar um efeito positivo no desenvolvimento, aumentando a capacidade de formação, manutenção e retenção de memórias dos indivíduos a ela exposta e, por consequência, facilitar o aprendizado. A segunda, que a música retrógrada representada pela inversão da peça supracitada, causaria um efeito contrário ao da música clássica em sua forma original, expressando um efeito negativo sobre o desenvolvimento e reduzindo a capacidade de formação, manutenção e retenção de memórias, dificultando o aprendizado.

4.1 AVALIAÇÃO DO NÚMERO DE NASCIMENTOS

Para avaliação da fertilidade de cada matriz exposta aos diferentes protocolos de enriquecimento ambiental, em PND4 a prole de cada matriz foi avaliada quanto ao número de filhotes. A Figura 3 mostra a média do número de filhotes nascidos por grupo experimental, sendo que as fêmeas do grupo silêncio, mantidas em condição de manutenção padrão do biotério representaram o grupo com o maior número de filhotes nascidos, seguida pelas fêmeas expostas a música clássica, ruído branco e, finalmente, música retrógrada com o menor número de filhotes nascidos.

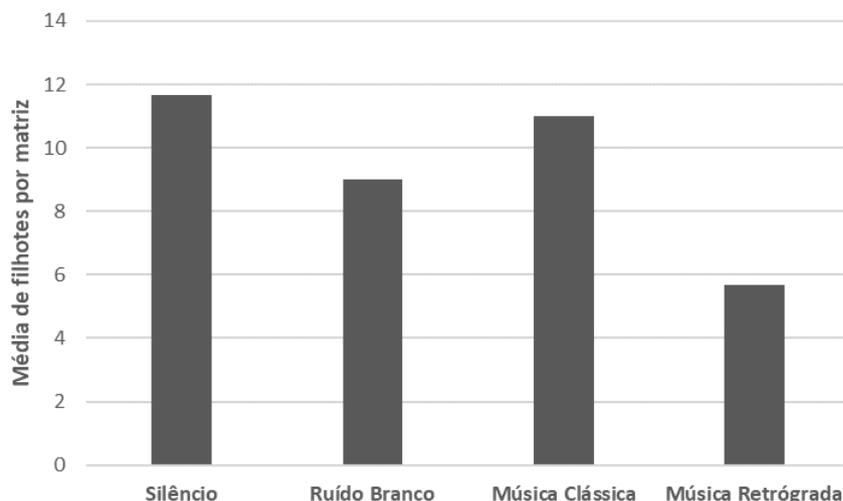


Figura 3: Médias de filhotes por matriz em cada grupo experimental.

Uma média baixa de filhotes por ninhada, como vista na Música Retrógrada, sugere que há algum fator causador desta condição. No estudo de Xing *et al.* (2016), ratos expostos a música retrógrada obtiveram um menor desempenho nos testes de memória e aprendizado quando comparados ao grupo controle, levantando a hipótese de que a música em sua forma retrógrada pode impactar negativamente o processo de formação de memórias. Neste estudo não obtivemos resultados como os de Xing *et al.*, entretanto, ao comparar a média de filhotes por ninhada entre os grupos experimentais, pode-se observar que o grupo Música Retrógrada apresenta uma média reduzida entre os outros grupos, indicando que a música em sua forma retrógrada possa ter sido um agente estressor nas matrizes, pois o estresse materno está ligado a um baixo número de prole, uma gestação mais curta e um pior desempenho cognitivo da prole (YAO *et al.*, 2014).

4.2 TESTE DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS

Este estudo avaliou, através do teste de reconhecimento de objetos, a formação de memórias não aversivas. Neste teste, o desempenho cognitivo foi avaliado pela diferença no tempo de exploração de objetos novos e objetos conhecidos. Este protocolo é considerado uma forma de avaliação eficaz da cognição em roedores (ZOU *et al.*, 2015).

Os resultados deste estudo mostraram que os animais expostos a música clássica em seu período gestacional, foram capazes de apresentar um maior desempenho cognitivo em

teste de memória e aprendizado, principalmente quando avaliados em idades maiores (PND 45 e 70). A Figura 4 mostra o desempenho dos animais durante o TRO quando avaliados em 90 minutos após o período de habituação. Os animais avaliados em PND21 e em PND45 não apresentaram nenhuma diferença significativa no índice de reconhecimento (Figuras 4A e 4B, respectivamente). No entanto, em PND45 (Figura 4B), a música clássica apresentou uma média maior no índice de reconhecimento de objetos, embora com valores não significativos.

Quando avaliados em PND70 (Figura 4C), os animais expostos a música clássica durante o período gestacional tiveram um melhor desempenho quando comparados aos animais do grupo silêncio ($p=0.0433$).

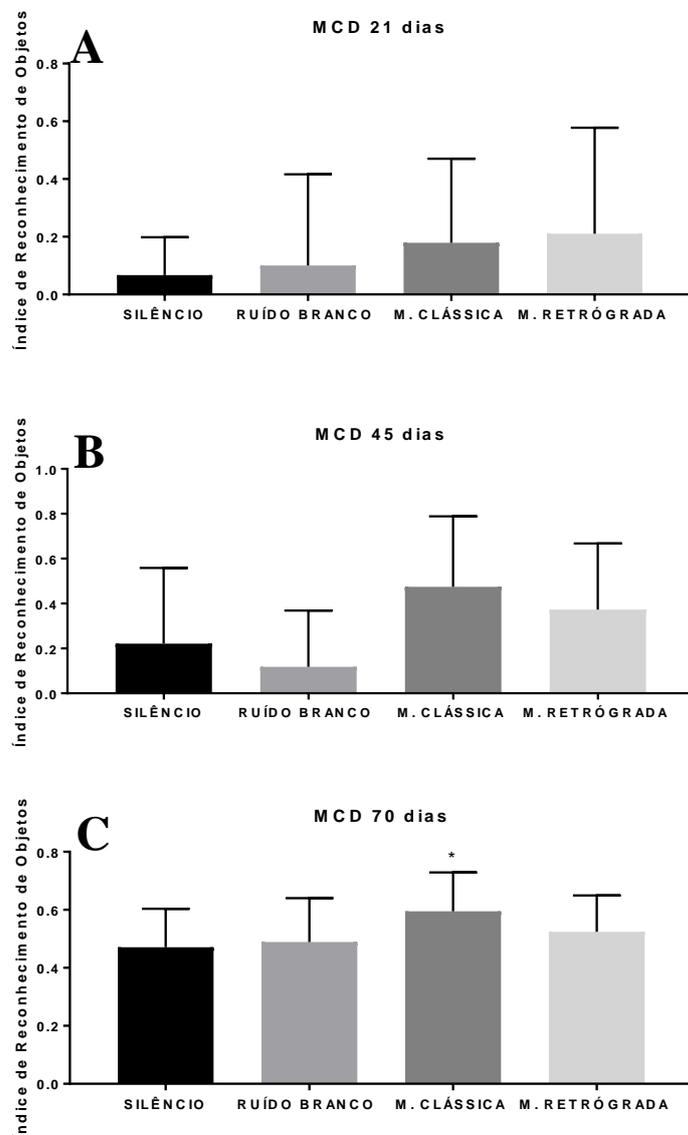


Figura 4 (A, B e C): Teste de Reconhecimento de Objetos realizado em PND21 (A), PND45 (B) e PND70 (C), 90 minutos após o período de habituação, representando a MCD de animais expostos a diferentes estímulos auditivos – Silêncio, Ruído Branco, Música Clássica e Música

Retrógrada. Os valores foram expressos em média \pm erro padrão da média. *Silêncio x MÚSICA CLÁSSICA, $p=0.0433$. Valores alcançados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste *post hoc* Tukey.

A Figura 5 mostra o desempenho dos animais durante o TRO quando avaliados 24 horas após o período de habituação. Os animais avaliados em PND21 não apresentaram diferença significativa no índice de reconhecimento (Figura 5A). No entanto, em PND45 (Figura 5B), os animais expostos a música clássica durante o período gestacional tiveram um melhor desempenho quando comparados aos animais do grupo ruído branco ($p=0.0057$). Os animais avaliados em PND70 (Figura 5C) não apresentaram diferença significativa no índice de reconhecimento.

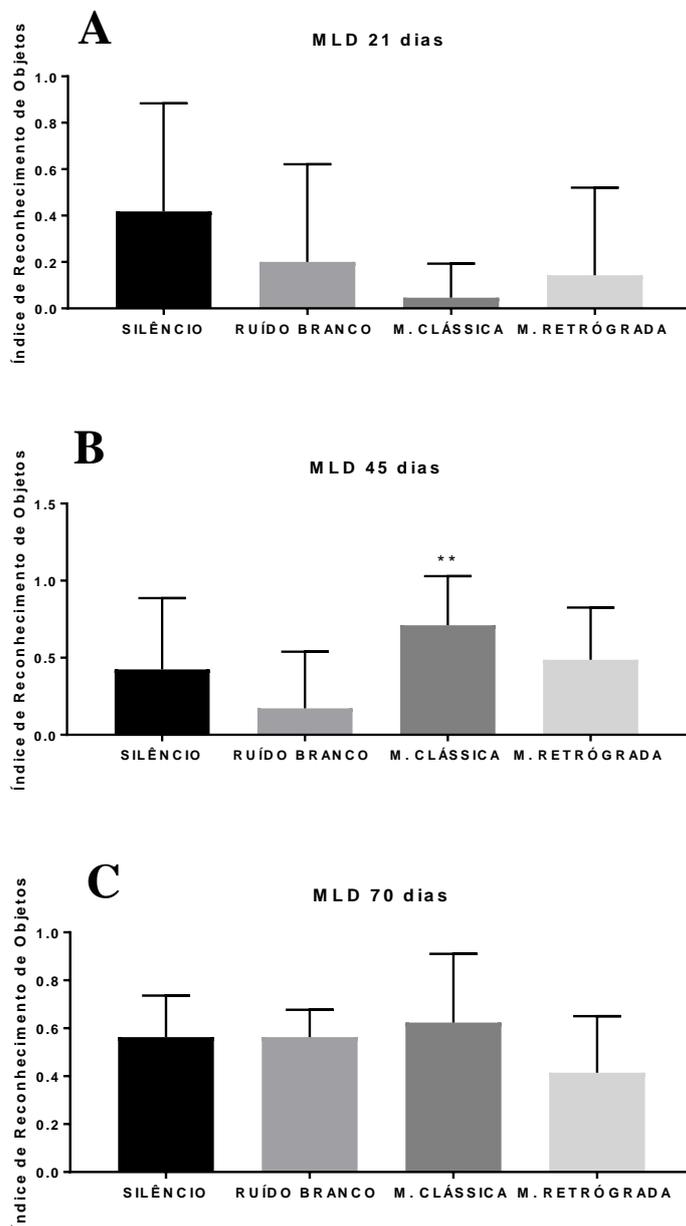


Figura 5 (A, B e C): Teste de Reconhecimento de Objetos realizado em PND21 (A), PND45 (B) e PND70 (C), 24 horas após o período de habituação, representando a MLD de animais expostos a diferentes estímulos auditivos – Silêncio, Ruído Branco, Música Clássica e Música Retrógrada. Os valores foram expressos em média \pm erro padrão da média. **Ruído Branco x Música Clássica, $p=0.0057$. Valores alcançados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste *post hoc* Tukey.

Na memória de reconhecimento de objetos, a música clássica permitiu um desempenho cognitivo maior em animais avaliados em PND45 (Figura 5B) e PND70 (Figura 4C). Estes resultados sugerem que o processo de formação de novas memórias pode ser facilitado quando já existe uma maturação do SN. Estes resultados demonstram ligação com o desenvolvimento das crianças, que têm melhor desempenho em testes de memória de curta duração – e memória de trabalho – nas fases finais da infância (CARNEIRO, 2008), da mesma forma, quanto mais idade tiver a criança, maior é sua capacidade de aprender e criar memórias mais duradouras e complexas (FANNY, 2016). Em relação aos resultados deste estudo, a exposição pré-natal a música clássica, juntamente com a maturação do SN pode resultar num melhor desenvolvimento das capacidades de formação de memórias e de aprendizado.

Os resultados da análise dos parâmetros cognitivos, através do reconhecimento de objetos, indicam que a exposição pré-natal a música clássica possa estar relacionada com o maior desempenho cognitivo em tarefas que envolvam a memória. Em seu estudo de 2006, Kim *et al.* perceberam que ratos expostos a música em período pré-natal tiveram um melhor desempenho no aprendizado e na memória, neste caso, quando avaliados em um labirinto – *radial-arm maze test*. Rauscher *et al.* (1998), também demonstraram que ratos quando expostos a música em período pré-natal e até 60 dias pós-parto apresentam melhores resultados no teste *T-maze*, completando-o de forma mais rápida e com menos erros. Os mesmos resultados podem ser encontrados em estudos com galinhas (SANYAL *et al.*, 2013), demonstrando que não é exclusividade de roedores ou apenas de uma espécie de animal se influenciar pela música em período pré-natal. Dados semelhantes foram apresentados por Partanen *et al.* (2013), que demonstraram que após serem expostos a uma melodia no período pré-natal, bebês humanos podiam reconhecê-la e identificar erros nesta melodia meses após seu nascimento.

Os resultados deste estudo evidenciaram que os animais expostos a música clássica em período pré-natal apresentaram diferenças significativas entre o grupo silêncio e

ruído branco, conforme atingiam idades mais avançadas. Neste estudo, os animais expostos a música retrógrada não apresentaram diferenças significativas na memória e no aprendizado quando comparados com os outros grupos experimentais, nem aparentou lesar a habilidade de formação de memórias, diferenciando-se dos resultados de Xing *et al.* (2016).

Ao comparar os métodos deste trabalho com os de Xing *et al.* (2016) é possível apontar possíveis motivos para haver essa incongruência nos resultados referentes aos testes com a Música Retrógrada. Em primeiro, Xing *et al.* (2016) não utilizaram de um protocolo de exposição pré-natal, fizeram sim um estudo focando no desenvolvimento do sistema nervoso, mas apenas pós-natal, iniciando os estímulos no PND1. Em segundo, seus testes para avaliar memória e aprendizado também foram diferentes, utilizando o labirinto aquático de Morris. Enquanto neste estudo utilizamos do Teste de Reconhecimento de Objetos e da Esquiva Inibitória.

4.3 TESTE ESQUIVA INIBITÓRIA

A memória aversiva foi avaliada pelo teste de esquiva inibitória. A Figura 6 mostra o desempenho dos animais durante o teste de esquiva passiva quando avaliados em 90 minutos após o período de habituação. Os animais avaliados em PND21 (Figura 6A) e expostos a música clássica durante o período gestacional tiveram um melhor desempenho quando comparados aos animais do grupo ruído branco ($p=0.0241$). Em PND45 não houve diferença significativa no tempo de latência, que é utilizado como uma forma de medir a retenção das memórias, mensurando o tempo entre o choque e a fuga do rato (VALLEJO *et al.*, 2017), (Figura 6B).

Quando avaliados em PND70 (Figura 6C), os animais expostos a música clássica da mesma forma que os animais expostos a música retrógrada durante o período gestacional tiveram um melhor desempenho quando comparados aos animais do grupo ruído branco (MC x RB, $p=0.004$; MR x RB, $p=0.0019$); o grupo ruído branco, por sua vez, apresentou um tempo de latência significativamente elevado quando comparado ao grupo silêncio em ambos os testes de Mann-Whitney e *post-hoc* de Tukey ($p=0.0002$ e $p=0.0006$, respectivamente).

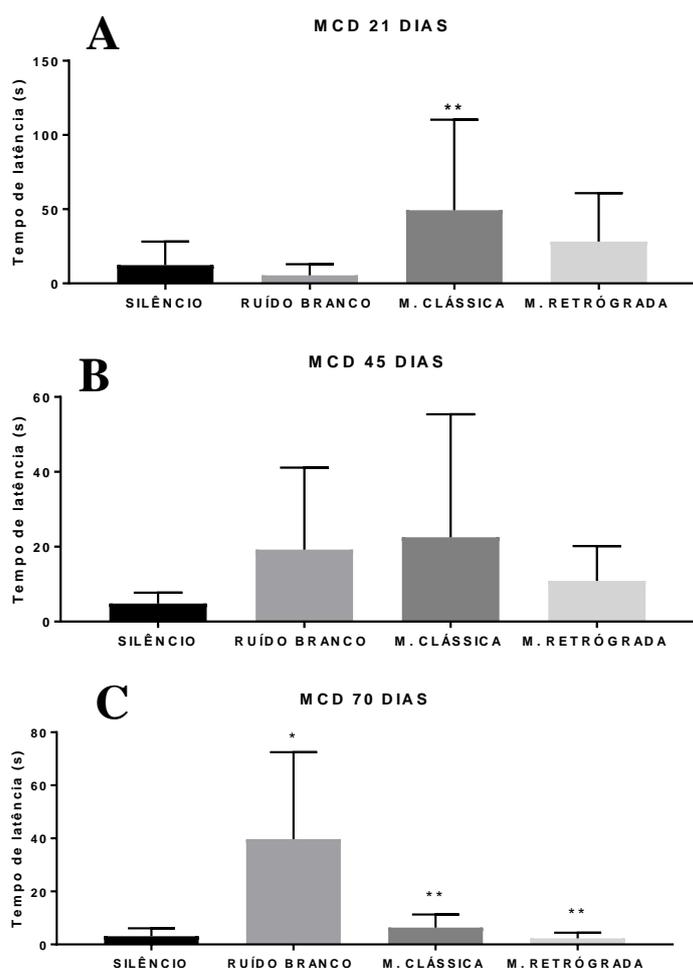


Figura 6 (A, B e C): Teste de Esquiva Inibitória realizado em PND21 (A), PND45 (B) e PND70 (C), 90 minutos após o período de habituação, representando a MCD de animais expostos a diferentes estímulos auditivos – Silêncio, Ruído Branco, Música Clássica e Música Retrógrada. Os valores foram expressos em média \pm erro padrão da média. *Silêncio x Ruído Branco, $p=0.0006$ ($p=0.0002$ em Mann-Whitney). **Ruído Branco x Música Clássica, $p=0.004$; **Ruído Branco x M. Retrógrada, $p=0.0019$. Valores alcançados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste *post hoc* Tukey.

A Figura 7 mostra o desempenho dos animais durante o teste de esquiva inibitória quando avaliados em 24 horas após o período de habituação. Embora nenhuma diferença significativa entre os grupos tenha sido apresentada, foi possível observar uma redução no tempo de latência entre os grupos quando comparados aos animais avaliados em PND 21 e 45.

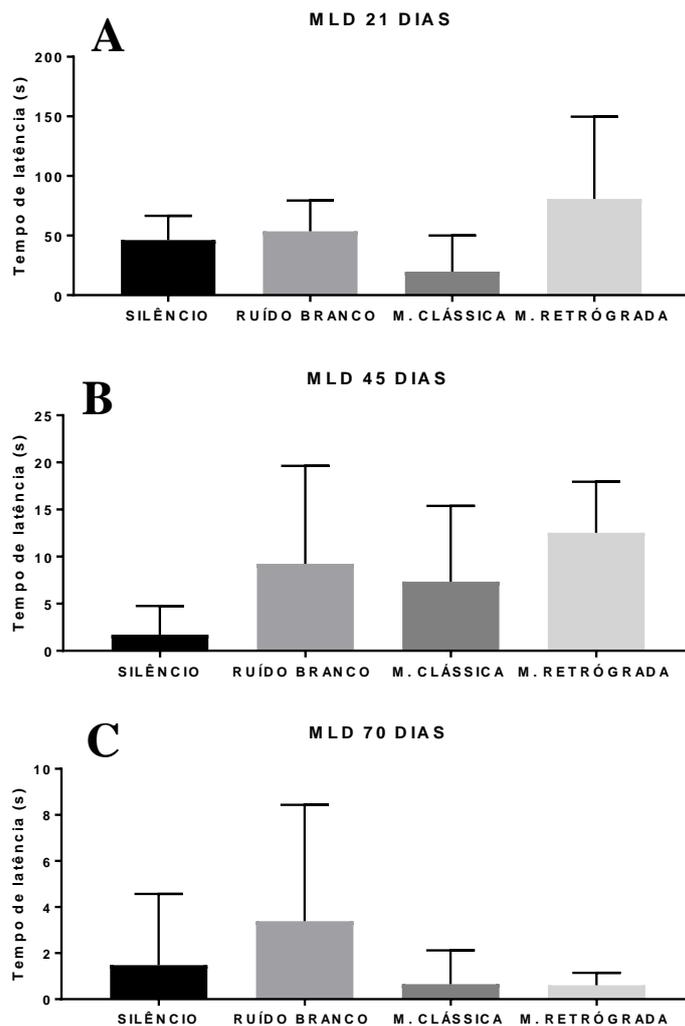


Figura 7 (A, B e C): Teste de Esquiva Inibitória realizado em PND21 (A), PND45 (B) e PND70 (C), 1 dia após o período de habituação, representando a MLD de animais expostos a diferentes estímulos auditivos – Silêncio, Ruído Branco, Música Clássica e Música Retrógrada. Os valores foram expressos em média \pm erro padrão da média. Valores alcançados por ANOVA de uma via, seguido pelo teste *post hoc* Tukey.

De modo geral, os resultados deste estudo mostraram que animais mais velhos tiveram melhor desempenho cognitivo, reforçando a ideia de que para a formação de memórias e aprendizado, certa maturação do sistema nervoso é necessária. Estes resultados reforçam então o proposto no item 4.2 deste estudo.

Até então, ainda não haviam sido testados os efeitos da exposição a música nos testes de memória aversiva como a esquiva inibitória. Entretanto, em outros testes de memória ratos expostos a música clássica apresentam um melhor desempenho quando comparados a grupos controle, ruído branco e/ou música clássica retrógrada (RAUSCHER; ROBINSON; JENS, 1998; XING *et al.*, 2016). O mesmo padrão pode ser observado no teste da esquiva

inibitória, entretanto neste estudo foi observado uma melhora da memória e aprendizado em indivíduos mais velhos, resultado que não corrobora os de Xing *et al.* (2016), que utilizou também da música retrógrada para testes, mas obteve uma proporção constante de evolução entre música clássica, controle e música clássica retrógrada, além de indicar que animais expostos a música retrógrada apresentam um desempenho cognitivo lesado em relação ao grupo controle. Como dito anteriormente, esta diferença nos resultados deste estudo para o de Xing *et al.*, pode ser consequência de uma diferença grande de métodos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os efeitos causados pela exposição das matrizes prenhes a diferentes estímulos auditivos causaram na prole mudanças significativas quanto seu aprendizado e memória, sendo a principal: uma melhora do desempenho cognitivo em animais mais velhos quando expostos a música clássica em período pré-natal.

Na prole, os efeitos da exposição pré-natal a diferentes estímulos sonoros parecem ter ocasionado não só uma diferença significativa nos testes de memória e aprendizado, mas também uma diferença notável no número de ratos por ninhada, ao comparar os grupos. As matrizes expostas à música retrógrada tiveram menos filhotes em média do que os outros grupos, possivelmente indicando estresse materno.

Pela primeira vez foi realizado um estudo unindo os testes de reconhecimento de objetos, esQUIVA INIBITÓRIA para avaliar os efeitos da música no desenvolvimento do sistema nervoso, expondo os animais prenatalmente a diferentes estímulos auditivos. Também pela primeira vez é feita a tentativa de replicar resultados de Xing *et al.* (2016) sobre a peça de Mozart em sua forma retrógrada, que no referido trabalho causou um decréscimo no desempenho cognitivo, enquanto neste estudo não apresentou resultados significativos para tal. Vale ressaltar que no estudo de Xing *et al.* (2016), a exposição a tal estímulo foi pós-natal, trazendo então a possibilidade de que a música retrógrada atue em diferentes mecanismos neurais quando exposta em diferentes períodos da vida, enquanto a música clássica aparenta ser positiva em qualquer fase do desenvolvimento.

Não foi possível observar alterações significativas frequentes ao avaliar o ruído branco, exceto no teste de esQUIVA INIBITÓRIA em PND70, avaliando a MCD, em que o grupo ruído branco apresentou um tempo de latência maior que o grupo silêncio, sugerindo, desta forma, que a exposição ao ruído branco possa ter provocado uma diminuição da habilidade de formar, manter ou armazenar as memórias de curta duração em ratos mais velhos.

Novos estudos são necessários para avaliar os efeitos da música no desenvolvimento do SN, em outras fases do desenvolvimento e em diferentes protocolos de exposição ao estímulo auditivo. E, a partir desses resultados, propor estudos com uma abordagem clínica.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, M.; VIANNA, M. R. M.; DEPINO, A. M.; SOUZA, T. M.; PEREIRA, P.; SZAPIRO, G. *et al.* BDNF-triggered events in the rat hippocampus are required for both short- and long-term memory formation. **Hippocampus**. v. 12, p. 551-560, 2002.
- ATTARDO, A.; FITZGERALD, J. E.; SCHNITZER, M. J. Impermanence of dendritic spines in live adult CA1 hippocampus. **Nature**. v. 523, p. 592-596, 2015.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: desvendando o sistema nervoso**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- BERGOLD, L. B.; ALVIM, N. A. T. A música terapêutica como uma tecnologia aplicada ao cuidado e ao ensino de enfermagem. **Esc Anna Nery Rev Enferm**. v. 13, n. 3, p. 537-542, 2009.
- BHARUCHA, J. J. Music Cognition and Perceptual Facilitation: A Connectionist Framework. **Music Perception**, v. 5, n. 1, p. 1–30, 1987.
- BINDER, D. K.; SCHARFMAN, H. E. Brain-derived neurotrophic factor. **Growth factors (Chur, Switzerland)**, v. 22, n. 3, p. 123–31, 2004.
- BRENT, L.; WEAVER, D. The physiological and behavioral effects of radio music on singly housed baboons. **J. Med. Primat**. v. 25, p. 370-374, 1996.
- CARNEIRO, M. P. Memory development in children: What changes with age? **Psicologia-Reflexao E Critica**, v. 21, n. 1, p. 51–59, 2008.
- CARSTENS, C. B.; HUSKINS, E.; HOUNSHELL, G. W. Listening to Mozart may not enhance performance on the revised Minnesota Paper Form Board Test. **Psychological reports**, v. 77, n. 1, p. 111–114, 1995.
- CARTER, B.; MANCINI, R. **Op amps for everyone**. Texas Instruments. 3. ed. p. 10-11, 2009.
- CASH, A. H. et al. Structure of music may influence cognition. **Perceptual and motor skills**, v. 84, n. 1, p. 66, 1997.
- CASH, A. H. et al. Structure of music may influence cognition. **Perceptual and motor skills**, v. 84, n. 1, p. 66, 1997.
- COOPER, S. J. Donald Hebb's synapse and learning rule: a history and commentary. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. v. 8, p. 851-74, 2005.
- DE LAHUNTA, A.; GLASS, E. N.; KENT, M. Embryonic Development of the Central Nervous System. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 46, n. 2, p. 193-216, 2016.
- DE OLIVEIRA, M. F.; OSELAME, G. B.; NEVES, E. B.; OLIVEIRA, E. M. Musicoterapia Como Ferramenta Terapêutica No Setor Da Saúde: Uma Revisão Sistemática. **Revista da Universidade do Vale do Rio Verde**. v. 12, n. 2, p. 871-878, 2014.

- DERE, E.; HUSTON, J. P.; SILVA, M. A. S. Integrated memory for objects, places, and temporal order: evidence for episodic-like memory in mice. **Neurobiol Learn Mem.** v. 84, p. 214-221, 2005.
- DUDAI, Y.; MORRIS, R. G. Memorable trends. **Neuron.** v. 80, p. 742-750, 2013.
- EICHENBAUM, H. Hippocampus: Cognitive Processes and Neural Representations that Underlie Declarative Memory. **Neuron.** v. 44, p. 109-120, 2004.
- EVANS, A. Moosic is for cows, too. **Hoard's Dairyman.** v. 135, p. 721, 1990.
- FALKENBERG, T.; MOHAMMED, A. K.; HENRIKSSON, B.; PERSSON, H.; WINBLAD, B.; LINDEFORS, N. Increases expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat hippocampus is associated with improved spatial memory and enriched environment. **Neurosciences Letters.** v.138, p .153-156, 1992.
- FANNY, D. Le développement cognitif et cérébral de la mémoire : de l'enfance à l'âge adulte. **Biologie Aujourd'hui,** v. 209, n. 3, p. 249–260, 2016.
- FERREIRA, C. C. M.; REMEDI, P. P.; LIMA, R. A. G. A música como recurso no cuidado à criança hospitalizada: uma intervenção possível? **Rev. Bras. Enferm.** v. 59, p. 689-93, 2006.
- FRANCO, S. J.; MÜLLER, U. Shaping our Minds: Stem and Progenitor Cell Diversity in the Mammalian Neocortex. **Neuron,** v. 77, n. 1, p. 19-34, 2013.
- GARDINER, M. F. et al. Learning improved by arts training. **Nature,** v. 381, p. 1, 1996.
- GELFO, F.; CUTULI, D.; FOTI, F.; LARECCHIUTA, D.; DE BARTOLO, P.; CALTAGIRONE, C.; PETRORINI, L.; ANGELUCCI, F. Enriched environment improves motor function and increases neurotrophins in hemicerebellar lesioned rats. **Neurorehabil Neural Repair.** v. 25, n. 3, p. 1-10, 2010.
- GIBB, R. **The Neurobiology of Brain and Behavioral Development.** Elsevier Ltd. 2015.
- GONÇALEZ, C. D. F.; NOGUEIRA O. A. T.; PUGGINA A. C. G. O uso da música na assistência de enfermagem no Brasil: uma revisão bibliográfica. **Cogitare enferm.** v. 13, n. 4, p. 591-596, 2008.
- GRAAF-PETERS, V. B.; HADDERS-ALGRA, M. Ontogeny of the human central nervous system: What is happening when? **Early Human Development.** v. 82, p. 257-266, 2006.
- GVARYAHU, G.; CUNNINGHAM, D. L.; VAN TIENHOVEN, A. Filial imprinting, environmental enrichment and music application effects on behavior and performance of meat strain chicks. **Poul. Sci.** v. 68, p. 211-217, 1989.
- HANSON, J. D.; LARSON, M. E.; SNOWDON, C. T. The effects of control over high intensity noise on plasma cortisol levels in rhesus monkeys. **Behav. Biol.** v. 16, 333-340, 1976.
- HASSLER, M.; BIRBAUMER, N.; FEIL, A. Musical Talent and Visual-Spatial Abilities: A Longitudinal Study. **Psychology of Music,** v. 13, p. 99–113, 1985.

HOLSON, J. F.; MEMEC, M. D.; STUMP, D. G.; KAUFMAN, I. E.; LINDSTÖM, P.; VARSHO, J. Significance, reliability, and interpretation of developmental and reproductive toxicity study findings. **Developmental and Reproductive Toxicology**. v. 22, p. 185-221, 2002.

HOUPT, K.; MARROW, M.; SEELIGER, M. A preliminary study of the effect of music on equine behavior. **J. Equine Vet. Sci.** v. 20, p. 691-737, 2000.

IZQUIERDO, I.; CUNHA, C.; ROSAT, R.; JERUSALINSKY, D.; FERREIRA, M. B.; MEDINA, J. H. Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amigdala, medium septum, and hippocampus of the rat. **Behav Neural Biol.** v. 58, p. 16-26, 1992.

IZQUIERDO, I. Different forms of post-training memory processing. **Behav Neural Biol.** v. 51, n. 2, p. 171-202, 1989.

IZQUIERDO, I. **Memória**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

IZQUIERDO, I.; BARROS, D. M.; MELLO, T. S.; DE SOUZA, M. M.; IZQUIERDO, L. A.; MEDINA, J. H. Mechanisms for memory types differ. **Nature**. v. 393, p. 635-636, 1998.

JIANG, X.; NARDELLI, J. Cellular and molecular introduction to brain development. **Neurobiology of Disease**, v. 92, n. Part A, p. 3-17, 2015.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. **Princípios da neurociência**. Barueri: Manole, 2003.

KIM, H. et al. Influence of prenatal noise and music on the spatial memory and neurogenesis in the hippocampus of developing rats. **Brain and Development**, v. 28, n. 2, p. 109-114, 2006.

LADD, J. K.; ALBRIGHT, J. L.; BECK, A. M.; LADD, B. T. Behavioral and physiological studies on the effect of music on animals. **J. Anim. Sci.** v. 70, p. 170, 1992.

LEITE, L. G.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; PIACENT, A.; ARAGÃO, M.; SCHONS, S. V. Susceptibilidade de animais de laboratório à intoxicação por *Ateleia glazioviana*. **Pesquisa veterinária brasileira**. v. 22, n. 2, p. 73-78, 2002.

Lent, R. (2010). **Cem bilhões de neurônios**. 2nd ed. São Paulo (SP): Atheneu, p.378.

LU, B.; NAGAPPAN, G.; GUAN, X.; NATHAN, P. J.; WREN, P. BDNF-based synaptic repair as a disease modifying strategy for neurodegenerative diseases. **Nat Rev Neurosci.** v. 14, n. 6, p. 401-416, 2013.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: Some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology.** v. 62, n. 4, p. 609-614, 2002.

MARKOWITZ, H.; LINE, S.; 1989. Primate research models and environmental enrichment. Housing, Care and Psychological Well-being of Captive and Laboratory Primates. **Noyes Publications.** v. 44, n. 2, p. 203-212.

- MCCRATY, R.; BARRIOS-CHOPLIN, B.; ATKINSON, M.; TOMASINO, D. The effects of different types of music on mood, tension and mental clarity. **Alternative Therapies in Health and Medicine**. v. 4, n. 1, p. 75-84, 1998.
- MEGUID, N. A.; DARDIR, A. A.; ABDEL-RAOUF, E. R.; HASHISH, A. Evaluation of oxidative stress in autism: defective antioxidant enzymes and increased lipid peroxidation. **Biol Trace Elem Res**. v. 143, n. 1, p. 58-65, 2011.
- MORA, F.; SEGOVIA, G.; DEL ARCO, A. Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. **Brain Research Reviews**. v. 55, p. 78-88, 2007.
- MORTON, M. C.; FELICIANO, D. M. Neurovesicles in Brain Development. Review Paper Cellular and Molecular. **Neurobiology**. p. 1-8, 2016.
- MOUNTCASTLE, V. B. The columnar organization of the neocortex. **Brain**, v. 120, n. 4, p. 701-722, 1997.
- NAKAMURA, T.; TANIDA, M.; NIJIMA, A.; HIBINO, H.; SHEN, J.; NAGAI, K. Auditory stimulation affects renal sympathetic nerve activity and blood pressure in rats. **Neuroscience Letters**. v. 416, n. 2, p. 107-112, 2007.
- NICOL, C. J. Effects of environmental enrichment and gentle handling on behaviour and fear responses of transported broilers. **Appl. Anim. Behav. Sci.** v. 33, p. 367-380, 1992.
- NOVAK, M. A.; DREWSON, K. H. Enriching the lives of captive primates: issues and problems. Housing, Care and Psychological Well-being of Captive and Laboratory Primates. **Noyes Publications**. p. 135-160, 1989.
- NÚÑEZ, M. J.; MAÑÁ, P.; LIÑARES, D.; RIVEIRO, M. P.; BALBOA, J.; SUÁREZ-QUINTANILLA, J.; MARACCHI, M.; MÉNEZ, M. R.; LÓPEZ, J. M.; FREIRE-GARABAL, M. Music, immunity, and cancer. **Life Sciences**. v. 71, n. 9, p. 1047-1057, 2002.
- O'NEILL, P. A room with a view for captive primates: issues, goals, related research and strategies. Housing, Care and Psychological Well-being of Captive and Laboratory Primates. **Noyes Publications**. p. 135-160, 1989.
- OGDEN, J. J.; LINDBURG, D. G.; MAPLE, T. L. A preliminary study of the effects of ecologically relevant sounds on the behaviour of captive lowland gorillas. **Appl. Anim. Behav. Sci.** v. 39, p. 163-176, 1994.
- PARTANEN, E. et al. Prenatal Music Exposure Induces Long-Term Neural Effects. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, 2013.
- PIETROPAOLO, S.; BRANCHI, I.; CIRULLI, F.; CHIAROTTI, F.; ALOE, L.; ALLEVA, E. Long-term effects of the periadolescent environment on exploratory activity and aggressive behaviour in mice: social versus physical enrichment. **Physiology and Behaviour**. v. 81, p. 443-53, 2004.
- RAUSCHER, F. H. et al. Music training causes long-term enhancement of preschool children's spatial-temporal reasoning. **Neurological research**, v. 19, n. 1, p. 2-8, 1997.

RAUSCHER, F. H.; ROBINSON, K. D.; JENS, J. J. Improved maze learning through early music exposure in rats. **Neurological research**, v. 20, n. 5, p. 427–32, 1998.

RAUSCHER, F. H.; SHAW, G. L. Key components of the Mozart effect. **Perceptual and motor skills**, v. 86, n. 9, p. 835–841, 1998.

REED, H.J.; WILKINS, L. J.; AUSTIN, S. D.; GREGORY, N. G. The effect of environmental enrichment during rearing on fear reactions and depopulation trauma in adult caged hens. **Appl. Anim. Behav. Sci.** v. 36, p. 39-46, 1993.

REICHENBERG, A. The assessment of neuropsychological functioning in schizophrenia. **Dialogues Clin Neurosci.** v. 12, n. 3. p. 383-392, 2010.

RIBEIRO, M. M. **Corpo, afeto e cognição na rítmica corporal de Ione de Medeiros: entrelaçamento entre ensino de arte e ciências cognitivas.** Tese de Doutorado UFMG, Belo Horizonte, 2012.

ROSSATO, J. I. et al. On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. **Learning & Memory**, v. 14, p. 36–46, 2007.

ROSSI, C. H.; ANGELUCCI, A. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment. **European Journal of Neuroscience.** v. 24, p.1850-56, 2006.

SADOCK, B. J.; SADOCK, V. A. **Compêndio de psiquiatria: ciências do comportamento e psiquiatria clínica.** 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

SANYAL, T. et al. Prenatal Loud Music and Noise: Differential Impact on Physiological Arousal, Hippocampal Synaptogenesis and Spatial Behavior in One Day-Old Chicks. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, 2013.

SHAW G. L.; LENG, X. Toward a neural theory of higher brain function using music as a window. **Concepts Neurosci.** v. 2, p. 229-258, 1991.

SHAW, G. L.; SILVERMAN, D. J.; PEARSON, J. C. Model of cortical organization embodying a basis for a theory of information processing and memory recall. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 82, n. 8, p. 2364–2368, 1985.

SHEPHERDSON, D.; BEMMENT, N.; CARMAN, M.; REYNOLDS, S. Auditory enrichment for Lar gibbons *Hylobates lar* at London Zoo. **Int. Zoo Yrbk.** v. 28, p. 256-260, 1989.

SLOTKIN, T. A. Cholinergic systems in brain development and disruption by neurotoxicants: nicotine, environmental tobacco smoke, organophosphates. **Toxicology and applied pharmacology.** v. 198, n. 2, p. 132-151, 2004.

SQUIRE, L. R.; ZOLA, S. M. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. **Proc Natl Acad Sci.** v. 93, n. 24, p. 13515-13522, 1996.

SQUIRE, L. R. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. **Neurobiol Learn Mem.** v. 82, p. 171-177, 2004.

- STILES, J.; JERNIGAN, T. L. The basics of brain development. **Neuropsychology Review**, v. 20, n. 4, p. 327-348, 2010.
- SUTOO, D.; AKIYAMA, K. Music improves neurotransmission: demonstration based on the effect of music on blood pressure regulation. **Brain Research**. v. 1016, n. 2, p. 255-262, 2004.
- UETAKE, K.; HURNIK, J. F.; JOHNSON, L. Effect of music on voluntary approach of dairy cows to an automatic milking system. **Appl. Anim. Behav. Sci.** v. 53, p. 175-182, 1997.
- VALLEJO, M. et al. Sauroxine reduces memory retention in rats and impairs hippocampal long-term potentiation generation. **Biomedicine et Pharmacotherapy**, v. 91, p. 155–161, 2017.
- WISNIEWSKI, E. W. **Behavioral modification of milking parlour entrance order in dairy cattle trained by operant conditioning methods**. Ph.D. Thesis, Purdue University, West Lafayette. 1977.
- XING, Y. et al. Mozart, Mozart Rhythm and Retrograde Mozart Effects: Evidences from Behaviours and Neurobiology Bases. **Scientific reports**, v. 6, n. January, p. 18744, 2016.
- YALCH, R. F.; SPANGENBERG, E. R. The effects of music in a retail setting on real and perceived shopping times. **Journal of Business Research**. v. 49, n. 2, p. 139-147, 2000.
- YAO, Y. et al. Ancestral exposure to stress epigenetically programs preterm birth risk and adverse maternal and newborn outcomes. **BMC Medicine**, v. 12, n. 121, p. 1–12, 2014.
- ZATORRE, R. J.; EVANS, A.; MEYER, E. Neural mechanisms underlying melodic perception and memory for pitch. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 14, n. 4, p. 1908–1919, 1994.
- ZOU, H. et al. Induced Cortical Neurogenesis after Focal Cerebral Ischemia – Three Active Components from Huang- Lian-Jie-Du Decoction. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 178, p. 115–124, 2015.
- ZOREC, R.; HORVAT, A.; VARDJAN, N.; VERKHRATSKY, A. Memory Formation Shaped by Astroglia. **Front Integr Neurosci**. v. 9, n. 56, 2015.

ANEXOS

ANEXO A



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/UNISUL

Palhoça, 23 de abril de 2018
Registro na CEUA (código): 17.018.2.01.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Jucélia Fortunato

Prezado(a),

Vimos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada “Avaliação da música no desenvolvimento do sistema nervoso: implicações na memória”, registrada com o nº 17.018.2.01.IV.IV, sob a responsabilidade de Jucélia Fortunato - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) desta Instituição, em reunião de 08 de maio de 2018.

A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal: enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,



Prof. Sandro Melim Sgrott
Coordenador da Comissão

ANEXO

B



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/UNISUL

Palhoça, 23 de abril de 2018

CERTIFICADO

Em consonância à Orientação Técnica nº 08, de 16 de março de 2016, do CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), certificamos que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada “Avaliação da música no desenvolvimento do sistema nervoso: implicações na memória”, registrada com o nº 17.018.2.01.IV, sob a responsabilidade de Jucélia Fortunato - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo CONCEA, e foi **aprovado** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), desta Instituição, em reunião de 08 de maio de 2018.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	agosto/2017 a setembro/2018
Espécie/linhagem/raça	Rattus norvegicus (ratos wistar)
No de animais	66
Peso/Idade	60/21 dias 250-300g/40-50g
Sexo	Macho e fêmea
Origem	Biotério da Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Sandro Melim Sgrott
Coordenador da Comissão