



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE PSICOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE PROCESSOS PSICOLÓGICOS BÁSICOS  
Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO MUSICAL NOS DÉFICITS DE  
MEMÓRIA DECORRENTES DA HIPÓXIA ISQUÊMICA  
ENCEFÁLICA EM RATOS (*RATTUS NORVEGICUS*)**

Larice Feitosa Costa

Orientadora: Profa. Dra. Vania Maria Moraes Ferreira.

Brasília/DF

2019

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO MUSICAL NOS DÉFICITS DE  
MEMÓRIA DECORRENTES DA HIPÓXIA ISQUÊMICA  
ENCEFÁLICA EM RATOS (*RATTUS NORVEGICUS*)**

Larice Feitosa Costa

Orientadora: Profa. Dra. Vania Maria Moraes Ferreira.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento, do Instituto de Psicologia, da Universidade de Brasília, como requisito à obtenção do grau de Doutora em Ciências do Comportamento, área de concentração: Cognição e Neurociência do Comportamento.

Brasília/DF

2019

Larice Feitosa Costa

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências do Comportamento, Instituto de Psicologia, Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências do Comportamento.

Banca Examinadora:

---

Prof. Dra. Vania Maria Moraes Ferreira  
(Presidente)  
Universidade de Brasília

---

Prof. Dra. Maria Ângela Guimaraes Feitosa  
(Membro Interno)  
Universidade de Brasília

---

Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz  
(Membro Interno)  
Universidade de Brasília

---

Prof. Dra. Patrícia Santos  
(Membro Externo)  
Universidade do Contestado – SC

---

Prof. Dr. Rui de Moraes Júnior  
(Suplente)  
Universidade de Brasília

Aos meus pais, **Paulo e Rosa**, aos meus irmãos, **Flávio, Mateus e Gabriel**, aos meus sobrinhos, **Henrique, Gustavo e Mateus** e a minha avó **Laura** por serem a base da minha vida e tornar possível à realização desse sonho.

## AGRADECIMENTOS

- Ao Programa de Pós-Graduação de Ciências do Comportamento (PPG-CdC), em especial ao corpo docente, pelos conhecimentos que me auxiliarão nessa nova etapa da minha vida profissional.
- À CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de estudo que muito auxiliou na minha permanência em Brasília.
- À minha orientadora, a Profa. Dra. Vania Ferreira, pela oportunidade e confiança depositada, pela agilidade, competência e compartilhamento dos seus conhecimentos.
- Aos professores e funcionários da Universidade de Brasília (UnB) que estiveram presentes em toda minha formação acadêmica.
- Ao Laboratório de Patologia, da Faculdade de Medicina/ UnB, que abriu as portas e nos deu todo apoio necessário para a realização desta pesquisa.
- A Dra. Leonora Vianna, pelo infatigável apoio e análises histológicas de suma importância para o enriquecimento deste trabalho.
- A profa. Dra. Fabiana Pirani, que não mediu esforços para nos auxiliar na compreensão e ilustração das análises histológicas.
- À colega de laboratório Mara, o meu apreço e admiração, por compartilhar comigo informações valiosas de extrema importância para a confecção desta tese.
- À colega de orientação Melissa, o meu carinho por compartilhar as emoções desse longo e árduo processo.
- Aos alunos de Iniciação científica do curso de Medicina, em especial Rhenan, Joadyson, Armindo, Nadyelle e Jonathan que foram incansáveis na exposição da música aos animais experimentais, de maneira muito responsável.

Os meus mais sinceros agradecimentos!

“A mente que se abre à uma nova idéia  
jamais voltará ao seu estado original”.

Albert Einstein

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Esquema dos subtipos de memória.....	16
<b>Figura 2</b> - Imagem das principais áreas da formação hipocampal de ratas Wistar .....	17
<b>Figura 3</b> - Respostas ao Estresse .....	19
<b>Figura 4</b> - Cascata de alterações metabólicas provocadas pela HIE .....	22
<b>Figura 5</b> - Delineamento experimental - grupos controles (G1 e G2).....	44
<b>Figura 6</b> - Delineamento experimental - grupos expostos de forma aguda à Sonata de Mozart (G3 e G4).....	45
<b>Figura 7</b> - Delineamento experimental - grupos expostos de forma crônica à Sonata de Mozart (G5 e G6) .....	45
<b>Figura 8</b> - Delineamento experimental - grupos expostos de forma crônica à Sonata de Mozart, com interrupção aos 3 meses (G7 e G8) .....	46
<b>Figura 9</b> - Corte histológico do hipocampo de rata Wistar com 4 meses de idade submetida a HIE induzida por NaNO <sub>2</sub> (60 mg/Kg) .....	48
<b>Figura 10</b> - Avaliação da Memória de Curta Duração e Memória de Longa Duração de ratas no teste da esQUIVA inibitória .....	49
<b>Figura 11</b> - Avaliação da Memória de Curta Duração e Memória de Longa Duração de ratas com NaNO <sub>2</sub> no teste da esQUIVA inibitória.....	50
<b>Figura 12</b> - Avaliação da Memória de Curta Duração e Memória de Longa Duração de ratas expostos de forma aguda à Sonata de Mozart no teste da esQUIVA inibitória .....	51
<b>Figura 13</b> - Avaliação da Memória de Curta Duração e Memória de Longa Duração de ratas expostos de forma aguda à Sonata de Mozart e com NaNO <sub>2</sub> no teste da esQUIVA inibitória .....	52
<b>Figura 14</b> - Avaliação da Memória de Curta Duração e Memória de Longa Duração de ratas expostos de forma crônica à Sonata de Mozart no teste da esQUIVA inibitória .....	53
<b>Figura 15</b> - Avaliação da Memória de Curta Duração e Memória de Longa Duração de ratas expostos de forma crônica à Sonata de Mozart no teste da esQUIVA inibitória e com NaNO <sub>2</sub> .....	54

<b>Figura 16</b> - Avaliação da Memória de Curta Duração e Memória de Longa Duração de ratas expostas de forma crônica à Sonata de Mozart no teste da esquiwa inibitória com abstinência aos 3 meses .....	55
<b>Figura 17</b> - Avaliação da Memória de Curta Duração e Memória de Longa Duração de ratas expostas de forma crônica à Sonata de Mozart no teste da esquiwa inibitória com abstinência e NaNO <sub>2</sub> aos 3 meses .....	56
<b>Figura 18</b> - Avaliação dos marcadores enzimáticos envolvidos com o nível de estresse ..	58
<b>Figura 19</b> - Contagem do número de neurônios lesionados das regiões CA1, CA2, CA3, CA4 e Giro Denteado .....	60
<b>Figura 20</b> - Imagens histológicas da área CA1 do hipocampo de ratas Wistar .....	61
<b>Figura 21</b> - Imagens histológicas da área CA2 do hipocampo de ratas Wistar .....	62
<b>Figura 22</b> - Imagens histológicas da área CA3 do hipocampo de ratas Wistar .....	63
<b>Figura 23</b> - Imagens histológicas da área CA4 do hipocampo de ratas Wistar .....	64
<b>Figura 24</b> - Imagens histológicas do giro denteado do hipocampo de ratas Wistar .....	65
<b>Quadro 1</b> – Estudos com o uso da exposição à música .....	32
<b>Quadro 2</b> - Demonstrativo da distribuição da amostra.....	41
<b>Quadro 3</b> - Marcadores do Nível de Estresse .....	57
<b>Quadro 4</b> - Análise Comportamental dos animais experimentais .....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH .....	Hormônio Adrenocorticotrófico
ANOVA .....	Análise de Variância
ATP.....	Adenosina Trifosfato
AVE.....	Acidente Vascular Encefálico
BNDF .....	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CEUA .....	Comitê de Ética no Uso Animal
DP.....	Doença de Parkinson
EEG .....	Eletroencefalograma
EROS.....	Espécies Reativas de Oxigênio
GD .....	Giro Denteado
HIE .....	Hipóxia Isquêmica Encefálica
HPA .....	Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
MCD.....	Memória de Curta Duração
MLD .....	Memória de Longa Duração
NaNO <sub>2</sub> .....	Nitrito de Sódio
NMDA .....	Receptor N-metil-D-aspartato
QI.....	Quociente de Inteligência
SNC .....	Sistema Nervoso Central
TEA .....	Transtorno do Espectro do Autismo
TrkB .....	Receptor de Tirosina Quinase B

## RESUMO

**Introdução:** A hipóxia isquêmica encefálica é conhecida como principal causa de danos neurológicos. Nessa condição, as células nervosas são expostas a alterações fisiológicas, incluindo insuficiência energética, do fluxo sanguíneo e estresse oxidativo. Interferindo também nos processos cognitivos como os de aprendizagem e memória. Exposição a música tem sido bastante relatada na literatura como mediador da estimulação cerebral antes e/ou após este evento. Os potenciais efeitos da música em animais e humanos, com implicações importantes para a neuroplasticidade e reabilitação neurológica, despertava o desenho do presente estudo. **Objetivos:** Fazer uma análise comparativa da exposição aguda e crônica à Sonata de Mozart frente à lesão hipocampal decorrente da hipóxia isquêmica encefálica. **Metodologia:** Foi realizado um estudo experimental com 36 ratas Wistar distribuídas em grupos controles e que sofreram hipóxia, e que ouviram ou não música em protocolos de exposição aguda, crônica e crônica com abstinência. A hipóxia foi induzida experimentalmente por Nitrito de Sódio, 60mg/kg, por 15 dias consecutivos, via intraperitoneal. Foi executado o teste de esQUIVA inibitória para avaliação da memória de curta e longa duração. Foram coletadas e analisadas amostras histológicas do hipocampo, regiões CA1, CA2, CA3, CA4 e Giro Denteado dos sujeitos a fim de verificar morte celular devido a lesão por hipóxia. **Resultados:** Os resultados demonstraram que os grupos que sofreram hipóxia tiveram pior desempenho comportamental e imagens histológicas com maior número de neurônios lesionados. Porém, os animais que sofreram hipóxia e receberam o protocolo de exposição aguda à Sonata (4 dias antes de completarem cada idade, durante 4 meses), apresentaram melhores resultados. No entanto, não ocorreu o mesmo para os animais que receberam o protocolo de exposição crônica (diariamente, durante 4 meses). Desta maneira, os achados indicam que a música atuou melhorando o desempenho na tarefa frente à lesão em acordo com tipo de exposição. **Conclusão:** A música Sonata de Mozart, na exposição aguda, destacou-se positivamente nas respostas comportamentais das ratas em diferentes fases de desenvolvimento. Deste modo, ao serem sugeridas novas perspectivas de intervenção com este método e seu aprimoramento, almeja-se importante ferramenta de estimulação à neuroplasticidade, com extrema relevância para o desenvolvimento do cérebro e reabilitação neurológica. Faz-se necessário esclarecer os mecanismos neurais subjacentes ao tratamento com música, a fim de compreender melhor seus mecanismos neurofisiológicos e instituir relevância entre o modelo animal adotado como estratégia de estimulação a readaptação funcional de redes neurais lesionadas.

**Palavras-chave:** Efeito Mozart, Hipóxia isquêmica, Memória, Música, Neuroplasticidade.

## ABSTRACT

**Introduction:** Brain ischemic hypoxia is known as the main cause of neurological damage. In this condition, nerve cells are exposed to physiological changes, including energy failure, blood flow and oxidative stress. Interfering also in cognitive processes such as learning and memory. Exposure to music has been widely reported in the literature as mediator of brain stimulation before and / or after this event. The potential effects of music on animals and humans, with important implications for neuroplasticity and neurological rehabilitation, awoke the design of the present study. **Objectives:** To perform a comparative analysis of the acute and chronic exposure to the Mozart Sonata in relation to the hippocampal lesion due to ischemic hypoxia in the brain. **Methods:** An experimental study was performed with 36 Wistar rats distributed in control and hypoxic groups, and who had or not heard music in protocols of acute, chronic and chronic exposure with abstinence. Hypoxia was experimentally induced by sodium nitrite, 60mg / kg, for 15 consecutive days, intraperitoneally. The inhibitory avoidance test was performed to evaluate short and long term memory. Histological samples from the hippocampus, CA1, CA2, CA3, CA4, and Giro Dentado regions of the subjects were collected and analyzed in order to verify cell death due to hypoxia lesion. **Results:** The results showed that the groups that suffered hypoxia had worse behavioral performance and histological images with greater number of injured neurons. However, animals that suffered hypoxia and received the protocol of acute exposure to Sonata (4 days before completing each age for 4 months) presented better results. However, the same did not occur for the animals that received the chronic exposure protocol (daily, for 4 months). In this way, the findings indicate that the music acted to improve the performance in the task in front of the lesion according to type of exposure. **Conclusion:** Mozart's Sonata music, in acute exposure, was positively highlighted in the behavioral responses of rats at different stages of development. Thus, when new perspectives of intervention with this method and its improvement are suggested, an important tool of stimulation to neuroplasticity is desired, with extreme relevance for the development of the brain and neurological rehabilitation. It is necessary to clarify the neural mechanisms underlying the treatment with music in order to better understand its neurophysiological mechanisms and to establish relevance between the animal model adopted as a strategy to stimulate the functional readaptation of injured neural networks.

**Keywords:** Mozart Effect, Ischemic Hypoxia, Memory, Music, Neuroplasticity.

## SUMÁRIO

<b>1 Introdução .....</b>	<b>14</b>
1.1 Aprendizagem e Memória .....	16
1.2 Estresse .....	19
1.3 Hipóxia Isquêmica Encefálica .....	21
1.4 Neuroplasticidade .....	24
1.4.1 Neuroplasticidade nas Lesões Neurológicas .....	25
1.4.2 Neuroplasticidade na Estimulação Musical.....	27
1.5 O Papel Modulador da Música .....	28
1.6 Sonata de Mozart para Dois Pianos (K448) .....	35
<b>2 Objetivos.....</b>	<b>40</b>
2.1 Geral .....	40
2.2 Específicos.....	40
<b>3 Metodologia.....</b>	<b>41</b>
3.1 Sujeitos Experimentais .....	41
3.2 Teste da Esquiva Inibitória.....	42
3.3 Indução da Hipóxia Isquêmica Cerebral .....	42
3.4 Exposição à Sonata de Mozart.....	43
3.5 Delineamento Experimental .....	43
3.6 Avaliação Comportamental .....	46
3.7 Coleta das Amostras Biológicas.....	47
3.8 Morfometria Histológica .....	48
3.9 Análise Estatística .....	48
<b>4 Resultados .....</b>	<b>49</b>
4.1 Controles.....	49
4.2 Exposição Aguda à Sonata de Mozart.....	51
4.3 Exposição Crônica à Sonata de Mozart.....	53
4.4 Abstinência .....	55
4.5 Marcadores Bioquímicos.....	57
4.6 Contagem de Neurônios Lesionados .....	59
4.7 Análise Comportamental .....	66

<b>5 Discussão .....</b>	<b>67</b>
5.1 Exposição à Sonata de Mozart.....	68
5.2 Avaliações Comportamentais e Bioquímicas e a Relação com o Estresse.....	68
5.3 Avaliação da Morfometria Histológica .....	69
5.4 A Neuroplasticidade .....	69
5.5 Análise das Hipóteses.....	72
5.6 Sugestões para Estudos Futuros .....	73
<b>6 Conclusões .....</b>	<b>74</b>
<b>7 Referências .....</b>	<b>75</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>91</b>
Comprovantes CEUA.....	91
Artigo Publicado.....	92

## 1 Introdução

O sistema nervoso central (SNC) possui capacidade de autoregulação da circulação sanguínea de superimposições, independente de variações do fluxo. Entretanto, em situação de lesão ao tecido cerebral esse mecanismo é prejudicado, alterando os níveis de suprimentos necessários ao bom funcionamento das células nervosas, a exemplo dos neurônios, podendo manifestar déficits cognitivos e comportamentais, demonstrando a alta vulnerabilidade do encéfalo frente a lesões (Shalak & Perlman, 2004; Zhang *et al.*, 2006).

A hipóxia isquêmica encefálica (HIE), por exemplo, é um dos tipos de lesões que envolvem fatores fisiopatológicos abrangendo processos inflamatórios, excitotoxicidade e estresse oxidativo (Zhao *et al.*, 2016). Essa lesão é responsável por 88% dos AVEs (Acidente Vascular Encefálico) e está associada a terceira maior causa de mortalidade e morbidade em países desenvolvidos e subdesenvolvidos (Girard *et al.*, 2014; Wan *et al.*, 2015). Com isso, o cérebro pode ser afetado como um todo, principalmente no que concerne às áreas envolvidas direta ou indiretamente com funções cognitivas, em especial a região hipocampal (Bhagya *et al.*, 2017; McDonald & Mott, 2017).

Durante a HIE, a atividade elétrica é comprometida no hipocampo, sendo o disparo neuronal uma característica acentuada em uma das suas regiões, a região CA1, que se torna mais vulnerável em segundos após a HIE. Podendo provocar morte neuronal nas áreas mais profundas e periféricas como as regiões CA3, CA4, tálamo, corpo estriado e o córtex cerebral. Desta forma, a perda de células do hipocampo prejudica as funções de aprendizagem e memória do sujeito acometido (Kim *et al.*, 2011; Zaidi, 2010). Todavia, a ativação neuroplástica das vias nervosas, as conexões entre neurônios, envolvendo o hipocampo, causa melhorias funcional e morfológica das sinapses (Izquierdo *et al.*, 2006).

Embora existam diferentes formas de tratamento para as consequências do evento isquêmico, a literatura é escassa no que concerne às terapias não-farmacológicas. Uma alternativa de tratamento, ou estimulação à neuroplasticidade em regiões afetadas pela HIE, sugere o uso da música como método de promoção de saúde (Thomas *et al.*, 2018).

O som ritmado pode proporcionar o alívio de sintomas emocionais e físicos, mostrando efetividade no manejo da dor, ansiedade e estresse, agindo em princípios hemodinâmicos, como frequência cardíaca, pressão arterial, temperatura corporal, respiração, sono e relaxamento muscular (Bakker & Martin, 2014; Krumhansl, 1997).

No entanto, não há uma clara explicação ou modelos específicos que expliquem a ação da música nos aspectos emocional e neuropsicológico. O "efeito Mozart" (Rauscher *et al.*, 1993) refere-se a uma teoria científica discutível (Pietschnig *et al.*, 2010), segundo a qual a audição da música clássica pode melhorar a capacidade de aprendizado subsequente e os resultados do teste de QI (quociente de inteligência) do caráter espaço-temporal (Korsós *et al.*, 2018). Contudo, a existência e confiabilidade do efeito Mozart se tornam um tópico de debate intensivo à espera de melhores investigações sistemáticas.

A Sonata de Mozart para dois pianos em ré maior, K 448, foi utilizada para produzir os resultados mais eficazes. A pesquisa examinou extensivamente os efeitos da música, incluindo efeitos emocionais e cognitivos. E diferente de outros estudos, buscou-se considerar conteúdos neurofisiológicos provenientes da sua exposição.

Depois de ouvir a música de Mozart (Sonata K 448), as funções mentais dos pacientes com doença de Alzheimer, por exemplo, mostraram melhor desempenho, além de conseguirem lembrar-se das melodias (Fukui *et al.*, 2012), ou como no teste no labirinto de cruz elevada, onde o desempenho de ratos também melhorou sob a influência desta Sonata (Rauscher *et al.*, 1998). Em contraste, ao silêncio, o ruído branco, ou outras composições, como Bach e Bethooven, não demonstraram efeitos similares. Surgindo, então, a questão de qual tipo de música é capaz de produzir melhor desempenho em testes experimentais com ratos (Bodner *et al.*, 2001; Verrusio *et al.*, 2015).

Segundo Tasset *et al.* (2012), a exposição de ratos à Sonata de Mozart (K 448) por 2 vezes em 2 horas diárias aumentou a atividade dopaminérgica no cérebro. A sensação de recompensa implica na secreção de dopamina e opióides endógenos nas estruturas do tronco encefálico. A música influencia o sistema de recompensa, motivação e prazer, como demonstrado também em estudos com humanos e técnicas de mapeamento cerebral. Nestes estudos foi verificada a ativação das regiões mesolímbica, núcleo accumbens, tronco encefálico, tálamo, cerebelo, ínsula, córtex cingulado anterior e córtex órbito frontal (Manikandan *et al.*, 2006).

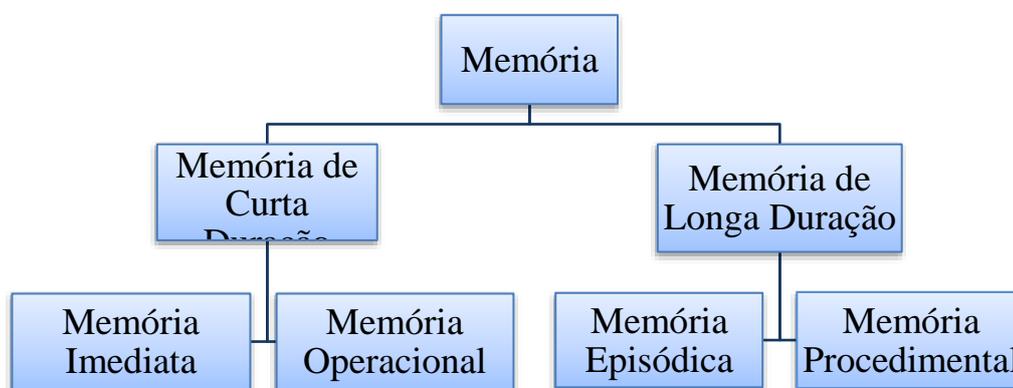
Diante desse contexto, coube o interesse em investigarmos a estimulação musical com a exposição aguda ou crônica à Sonata (K 448), em constituir uma alternativa que interfere não somente no comportamento, como também pode modificar a morfofuncionalidade celular, provocando plasticidade adaptativa após lesão por HIE.

## 1.1 Aprendizagem e Memória

Ao longo das décadas, o conhecimento sobre a base neuronal e molecular da memória avançou bastante. Os organismos vivos têm a excepcional capacidade para se adaptar a ambientes usando modificações de comportamentos resultantes de experiências passadas e novos aprendizados. As habilidades de aprendizagem e memória tornaram-se vitais ao longo da evolução das espécies, desencadeando modificações sinápticas, através da interação de múltiplas vias moleculares e por meio das experiências (Cammara *et al.*, 2005; Cassilhas *et al.*, 2016; Sun & Alkon, 2001).

A capacidade geral do cérebro para adquirir, consolidar e evocar informações é a definição do termo memória, que provem das experiências, caracterizando aprendizagem. As memórias são formadas por células nervosas, os neurônios, armazenadas em redes, e podem ser moduladas pelas emoções e nível de consciência do indivíduo. As emoções são os maiores reguladores da aquisição, formação e evocação da memória (Cassilhas *et al.*, 2016; Izquierdo & McGaugh, 2000; Kandel, 2012).

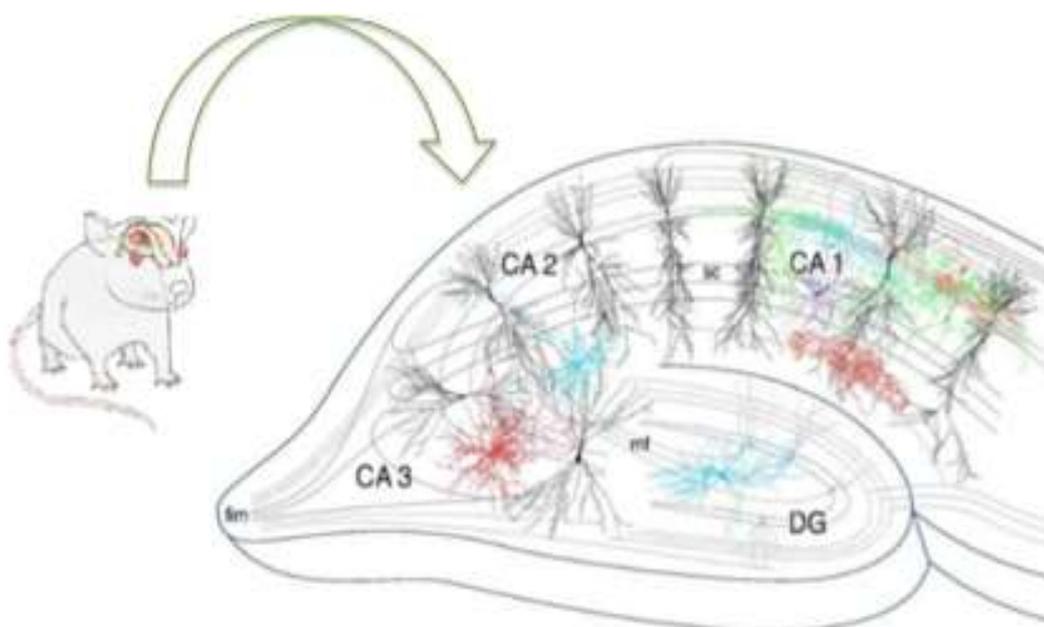
A memória pode ser distinguida de acordo com o tempo de retenção – curto ou longo prazo, ou em sua condição – memória operacional, memória declarativa e não declarativa (Figura 1). Pelo tempo de duração, na memória de longa duração (MLD) uma informação ou várias informações pode permanecer por muito tempo, enquanto a memória de curta duração (MCD) se refere a capacidade de armazenar pequenas quantidades de informações por breves intervalos. Esta última requer as mesmas estruturas nervosas que a MLP, mas compreende mecanismos próprios e distintos, processos paralelos e independentes entre si (Izquierdo *et al.*, 1998 e 1999).



**Figura 1** - Esquema dos subtipos da memória (Fonte: Baddeley *et al.*, 2011).

A formação hipocampal está intimamente envolvida no domínio da memória, já que envolve processos metabólicos desde o hipocampo à estruturas cerebrais adjacentes, como amígdala, córtex entorrinal e córtex pré-frontal, formando o circuito dos processos emocionais, denominado de sistema límbico, o qual desempenha um papel crítico na cognição (Chan, 2009; Izquierdo *et al.*, 2006; Reyes-Castro *et al.*, 2018).

Em seres humanos e não-primatas, essa formação encontra-se na parte anterior do lobo temporal medial. Em roedores e outros mamíferos com neocórtex menos desenvolvido, exibem uma justaposição semelhante nas metades caudais dos hemisférios cerebrais. A região do hipocampo compõem-se de áreas como giro denteado (GD), campos do corno de Amon - CA1, CA2, CA3 e CA4 (Figura 2), bem como córtices para-hipocampais adjacentes, incluindo o córtex entorrinal, córtex perirrinal, córtex pós-rinal, parasubiculum e presubiculum (McDonald & Mott, 2017).



**Figura 2** - Imagem das principais áreas da formação hipocampal de ratos (CA1, CA2, CA3, CA4 e GD) (Fonte: Lovatel, 2013).

O hipocampo é uma estrutura cerebral altamente preservada através da evolução. Está interconectado com campos associativos dos lobos frontal, temporal e parietal, e armazena traços de memória até que as interconexões dentro do córtex cerebral sejam estabelecidas (Cowan, 2008). Esta estrutura é essencial na evocação de memória de conteúdos espaciais e verbais, e auxilia a amígdala também no armazenamento de

componentes emocionais. Sendo considerado essencial, pois restabelece padrões de atividade cortical apresentados durante o aprendizado. Consistentes com a idéia de que conjuntos específicos de neurônios hipocampais são recrutados na codificação de informações (Kim & Fanselow, 1992; Moser & Moser, 1998).

Esses dados fornecem evidências funcionais de que o hipocampo reativa representações específicas da memória durante sua evocação (Frankland & Bontempi, 2005). Assim como indicado em trabalhos anteriores que observaram efeitos semelhantes em pacientes humanos durante a recordação livre da memória episódica (Gelbard-Sagiv *et al.*, 2008; Ji e Wilson, 2007; Tayler *et al.*, 2013).

No estudo de Tanaka *et al.* (2014) foi examinada a idéia de que o hipocampo evoca informações restabelecendo padrões de atividade cortical que foram observados durante o aprendizado. Foi inibido o funcionamento da região CA1 hipocampal, mostrando que a recuperação da memória é prejudicada e suas representações no córtex entorrinal e perirrinal, e também na amígdala. É importante ressaltar que a inativação do hipocampo não alterou a quantidade total de atividade na maioria das regiões do cérebro. Em vez disso, impediu seletivamente que os neurônios ativos durante o aprendizado fossem reativados na recuperação. E ainda, de acordo com Reyes-Castro *et al.*, 2018, das suas diferentes regiões, a CA3 desempenha um papel importante na integração de informações e na consolidação da memória associativa.

Enquanto modelos de condicionamento ao medo indicam que a informação contextual é retransmitida ao hipocampo como eventos aversivos, desencadeando sintomas de estresse nos animais (Ledoux, 2000; Balleine & Killcross, 2006). Embora evidências adicionais sejam necessárias para elucidar o papel do hipocampo na adaptação ao estresse e o consequente impacto emocional (Tsankova *et al.*, 2006).

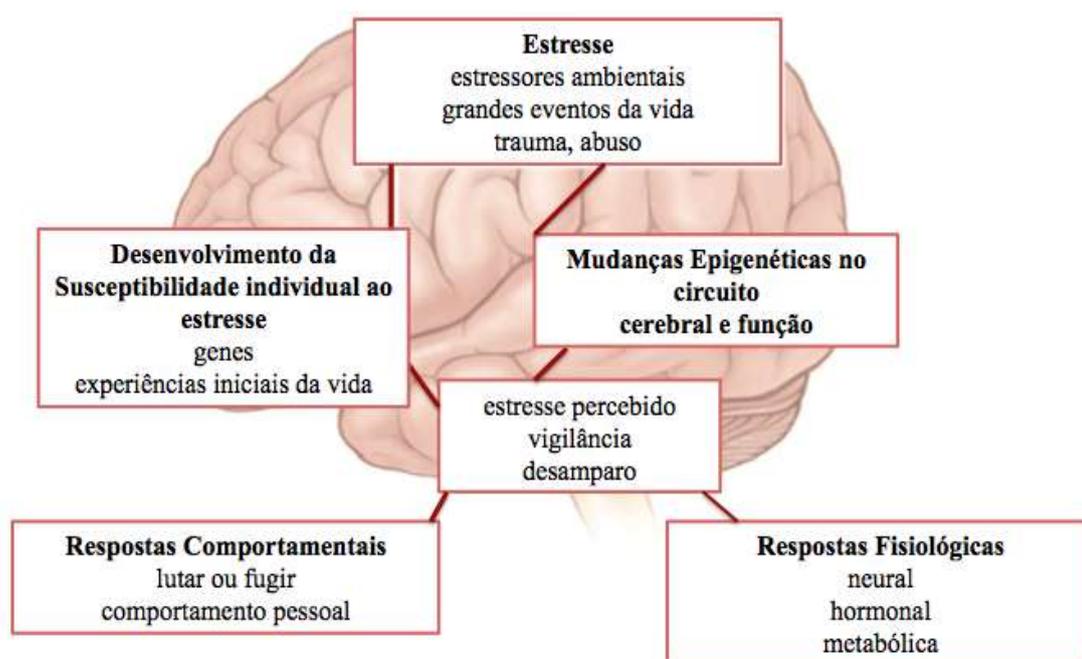
Há ênfases de que tanto a neurotransmissão noradrenérgica quanto a dopaminérgica (Harvey *et al.*, 2005; Dronjak & Gavrilovic, 2006) podem ser alteradas pelo estresse em certas áreas do cérebro, incluindo o hipocampo. A relevância da formação hipocampal nesta condição e também na depressão é destacada por sua alta concentração de receptores de corticóides, bem como pelas modificações neuroplásticas no hipocampo (Pittenger e Duman, 2008).

## 1.2 Estresse

Quando há perturbação à homeostase de um organismo vivo em decorrência de situações ambientais potencialmente perigosas, reações de estresse são manifestadas, como fatores emocionais e uma infinidade de manifestações físicas (Joëls *et al.*, 2007). As respostas variam com a intensidade do estímulo estressor, e o restabelecimento da homeostase implica no controle de sistemas neuroendócrinos e estímulos autônomos (Herman *et al.*, 2003). Organismos, tanto animais como humanos, respondem ao estresse com defesas comportamentais e fisiológicas. Se o estresse for prolongado demais, ou é percebido como muito ameaçador, ou se as defesas são inadequadas, disfunções somáticas podem ser expressas em dor, doenças crônicas e distúrbios emocionais (Yehuda, 2011).

O cérebro é o órgão central de resposta ao estresse e é vulnerável, mas resiliente, pois comunica-se reciprocamente com o resto de todo o corpo. Percebe e determina o que é ameaçador, bem como as respostas comportamentais e fisiológicas ao estressor, que não apenas promovem a adaptação, mas também contribuem para a fisiopatologia quando essas respostas são desreguladas (McEwen, 1998), figura 3.

Cérebro e o corpo influenciam um ao outro, como nas experiências estressantes que podem precipitar distúrbios psiquiátricos importantes, por exemplo, esquizofrenia, bipolaridade, transtornos ansiosos e depressivos (McEwen, 2017).



**Figura 3** - Respostas ao estresse frente à circunstâncias ambientais, desencadeando circuitos neuroendócrinos e promovendo mudanças fisiológicas e comportamentais. (Fonte: Adaptado McEwen, 2017).

Múltiplos processos neurais adaptativos e promotores de sobrevivência são ativados por experiências potencialmente ameaçadoras. Os mediadores, não apenas o cortisol e a adrenalina, mas também o sistema nervoso parassimpático, as citocinas pró e anti-inflamatórias e os hormônios metabólicos, podem alterar os circuitos e funções neurais em decorrência destes acontecimentos (Koob & Moal, 2001; McEwen, 2007).

As respostas ao estresse são mediadas por circuitos neuronais relacionados ao sistema límbico, hipotálamo e tronco encefálico, por ativação do sistema nervoso autônomo. As regiões límbicas se conectam aos circuitos responsáveis pela mediação do sistema de recompensa e formação da memória, proporcionando maior adaptação à experiências anteriores (Ulrich-Lai & Herman, 2009).

O estresse agudo e crônico pode causar desequilíbrio nos circuitos neurais favoráveis à cognição e ao humor, com expressão aumentada ou diminuída de comportamentos. Esse desequilíbrio afeta a fisiologia sistêmica por meio de mediadores neuroendócrinos, autonômicos, imunológicos e metabólicos (McEwen, 2007; McEwen *et al.*, 2015). As respostas fisiológicas inclui aumento da frequência cardíaca e pressão arterial, maior liberação de 'hormônios do estresse', principalmente o ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) e o cortisol que ativam o sistema nervoso simpático e causam reação do sistema imunológico (Yehuda, 2011).

O estado de alerta também é prejudicado por um forte estresse. Isso se deve à liberação de catecolaminas no córtex pré-frontal que, por sua vez, diminui o disparo dos neurônios circundantes e prejudica o desempenho da memória de trabalho modificando as vias de sinalização intracelulares (Arnsten, 2009). Por exemplo, a exposição de roedores ao estresse crônico imprevisível induz mudanças comportamentais que mimetizam sintomas da depressão em humanos, como anedonia e degradação do pêlo (Ducottet *et al.*, 2003).

Dentre os diversos estímulos estressores, a música, que também é apontada como um estímulo enriquecedor, pode exercer efeito estressor de curto prazo (modificando o comportamento) ou longo prazo (causando danos irreparáveis como em lesões neurológicas adquiridas) (Papoutsoglou *et al.*, 2010; Lin *et al.* 2011; Leanna *et al.*, 2013).

Exames histopatológicos do experimento de Vezer *et al.*, 2015 mostraram que ratos controles demonstraram glândulas supra-renais normais diferentemente do aumento do peso das glândulas supra-renais dos animais expostos à música (versão modificada da Sonata de Mozart para dois pianos em ré 10 minutos por dia durante 10 semanas), o que indicou presença de estresse e consequente elevação das concentrações de glicose e cortisol no sangue, alterando a composição bioquímica dos sujeitos.

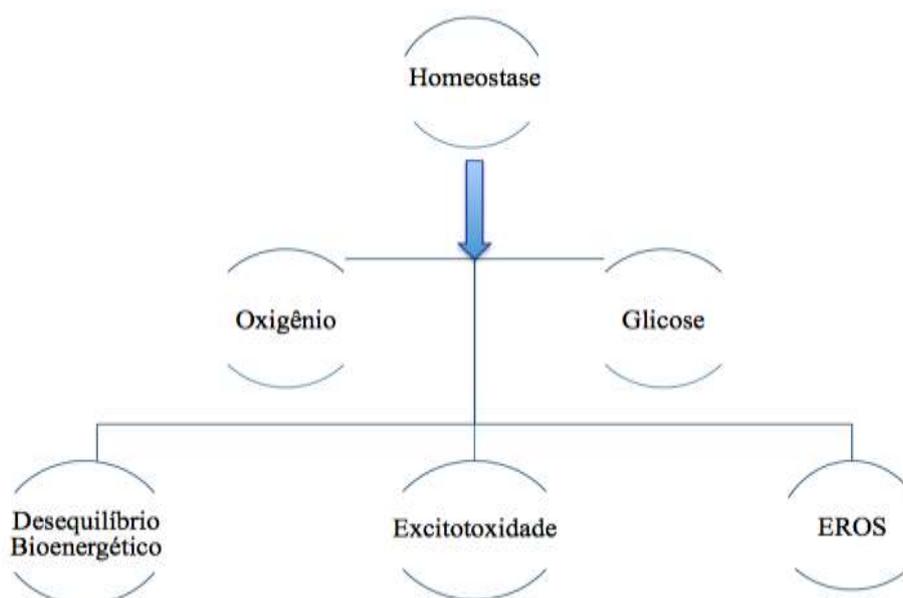
### 1.3 Hipóxia Isquêmica Encefálica

A estabilidade do nível de suprimentos como oxigênio e glicose é necessária para a produção regular de energia e garantia da integridade do funcionamento cerebral (Gill & Perez-Polo, 2008). O SNC utiliza cerca de 20% do oxigênio consumido no organismo, porém representa somente 2% do peso corporal, o que demonstra sua alta atividade oxidativa (Li *et al.*, 2004). Déficits na vascularização como consequência a HIE promovem alterações de nutrição e oxigenação dos tecidos encefálicos, desencadeando eventos moleculares desde redução energética, excitotoxicidade, disfunção mitocondrial e estresse oxidativo (Gabryel *et al.*, 2014; Raglio *et al.*, 2015).

Sendo o metabolismo aeróbico essencial ao funcionamento das células neuronais, a queda do transporte de oxigênio e glicose transforma este metabolismo em glicólise anaeróbica, a qual é insuficiente para gerar energia aos processos metabólicos. A parada da circulação cerebral pode cessar em 20 segundos o metabolismo aeróbico (Abdel Baky *et al.*, 2010). Em 5 minutos pode provocar anóxia, oferta de oxigênio abaixo do nível crítico, interferindo no funcionamento das mitocôndrias, bloqueando a fosforilação oxidativa, diminuindo níveis de Adenosina Trifosfato (ATP) e glicose, alterando a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS), inibição de neurotransmissores excitatórios e ativação de enzimas estimuladas por cálcio (Lee *et al.*, 2014; Maiti *et al.*, 2010).

A mudança do metabolismo aeróbico para anaeróbico causa formação de EROS, alteração do equilíbrio ácido-base, inibição da liberação de neurotransmissores excitatórios e alteração da homeostase (Maiti *et al.*, 2010). Com essa diminuição ou interrupção, será desencadeado um desequilíbrio energético, além de excitotoxicidade e/ou morte celular. Caracterizando uma cascata de reações bioquímicas produzida até o possível reestabelecimento do fluxo sanguíneo e aporte energético necessário (Abdel Baky *et al.*, 2010; Bari *et al.*, 2008; McLean & Ferriero, 2004).

A Figura 4 mostra, de forma resumida esse processo: desde perturbação da homeostase, disfunção mitocondrial e excitotoxicidade ao tecido cerebral.



**Figura 4** - Cascata de alterações metabólicas provocadas pela HIE. (Fonte: autoria própria, 2018).

A lesão isquêmica é caracterizada pela rápida manifestação de sinais clínicos de distúrbios focais ou globais das funções cerebrais. Estes sintomas podem durar horas ou semanas, e podem levar à morte sem causa aparente (Silasi & Murphy, 2014). Das complicações da HIE, as sequelas permanentes são as mais temidas. Manifesta-se, anatomicamente, em dano tecidual, com perda de partes do córtex, tronco encefálico, gânglios basais e hipocampo, refletindo suscetibilidade da matéria cinzenta à excitotoxicidade. Geralmente, ocorre em forma de lesão cerebral global, conhecida como encefalopatia hipóxica isquêmica (Fields, 2010; Girard *et al.*, 2014; Kent *et al.*, 2012).

Dentre as regiões anatômicas com maior suscetibilidade à HIE sobressai-se o hipocampo e as células de Purkinje do cerebelo. O hipocampo compõe o sistema límbico e, juntamente com outras áreas encefálicas, atua no controle de várias funções comportamentais e cognitivas (El Falougy & Benuska, 2006; Scorza *et al.*, 2005).

A lesão cerebral adquirida por HIE tem apresentado prejuízos aos pacientes como paralisia cerebral, epilepsia, distúrbios de aprendizagem e comportamento (Carloni *et al.*, 2008). Isso ocorre devido o cérebro ser altamente sensível a lesões, especialmente em partes cruciais ao funcionamento cognitivo, como a região hipocampal (Sun *et al.*, 2017). Danos comuns são percebidos nos processos de aprendizagem e memória em decorrência da atrofia no volume do hipocampo e em regiões adjacentes (Ortega *et al.*, 2004).

Devido à vulnerabilidade à HIE, os neurônios hipocampais podem ser afetados no estágio muito inicial da HIE (Newrzella *et al.*, 2007). Este processo patológico complexo

envolve múltiplos mecanismos como toxicidade de aminoácidos excitatórios, dano por radicais livres, sobrecarga de íons cálcio, inflamação e apoptose neuronal (Shin *et al.*, 2015). Esses eventos, entretanto, podem ser melhor visualizados experimentalmente com base nos modelos experimentais que reproduzem a condição das lesões, incluindo não somente o comportamento observado, assim como no aspecto histopatológico (Xiaoli *et al.*, 2017; Wan *et al.*, 2015).

Os prejuízos decorrentes do HIE são progressivos e variáveis ao indivíduo, desde o início até o período de recuperação. A severidade e a distribuição de suas lesões neurológicas dependem de fatores como: duração do estímulo, fase de desenvolvimento do indivíduo e região lesionada (Martinez-Biarge *et al.*, 2011). Devido aos efeitos neurais é muito provável que ocorram deficiências motoras e cognitivas de longo prazo e, ainda, com possibilidades terapêuticas limitadas (Huang *et al.*, 2015).

Existem diversas formas experimentais de simular eventos relativos à HIE, uma das mais simples e facilmente replicável é o uso do nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>), que é um sal inorgânico utilizado na fabricação de corantes e no tratamento de produtos têxteis (Gonchar *et al.*, 2006). Ao atingir a corrente sanguínea, ele é altamente reativo com a hemoglobina e induz a formação de metahemoglobina, reduzindo a capacidade da hemoglobina em transportar oxigênio (Gluhchevae *et al.*, 2012; Kohn *et al.*, 2002). Outras implicações decorrentes são formação de EROS, altamente lesivas aos neurônios, inibição de neurotransmissores excitatórios e alteração homeostática do cálcio (Ansari *et al.*, 2015; Abdel Baky *et al.*, 2010; Dellavalle *et al.*, 2013).

Diante disso, a HIE pode afetar a função hipocampal induzindo mudanças em propriedades elétricas neuronais no hipocampo, de forma a prejudicar funções cognitivas (Huang *et al.*, 2015; Ono *et al.*, 2015) e comportamentais em diferentes aspectos de modo a ser possível induzir sintomas típicos de depressão e ansiedade, devido ao estresse crônico, após este acometimento (Luo *et al.*, 2016; 2017).

Além de alteração dos comportamentos sexuais, perturbação do sono, diminuição do autocuidado e higiene, mudança de peso corporal e aparência da pelagem dos ratos, por exemplo, (Hu *et al.*, 2017; Willner, 1995; Willner, 2005) e disfunção cognitiva como déficits de memória e atenção (Gonda *et al.*, 2015; Tondo *et al.*, 2014; Willner, 2005).

## 1.4 Neuroplasticidade

Levando-se em considerações os possíveis danos que o sistema nervoso pode ser acometido, incluindo a HIE, sabe-se que mesmo assim a neuroplasticidade possibilita a geração de novos circuitos em diversas regiões encefálicas (Maguire *et al.*, 2000).

A neuroplasticidade pode ser compreendida como um fenômeno no qual o SNC é capaz de modificar-se em forma e função em decorrência de experiências. Estas adaptações promovem alterações sinápticas e podem aumentar ou diminuir a transmissão de impulsos, com a consequente modulação do comportamento, que explicam a capacidade dos neurônios de mudar suas respostas a estímulos (McMahon & Barrionuevo, 2002).

A estrutura anatômica cerebral do humano adulto saudável é plástica e demonstra capacidade de remodelamento induzido pela aprendizagem (Badhwar *et al.*, 2013; Sun *et al.*, 2017), possivelmente detectável como diferenças volumétricas em exames de ressonância magnética funcional (Draganski *et al.*, 2004; Badhwar *et al.*, 2013).

Acreditava-se que o SNC dos mamíferos tornava-se estruturalmente estável após o nascimento e que apenas algumas modificações poderiam ocorrer ao longo da vida. Por uma variedade de mecanismos o cérebro está constantemente sujeito à alterações (Leuner & Gould, 2010). O grau de plasticidade pode variar de acordo com a idade do indivíduo. Sabe-se que a plasticidade é maior durante o desenvolvimento, quando há maior eficácia da transmissão sináptica e estabilização das sinapses existentes (Cassilhas, 2016).

Durante o desenvolvimento o indivíduo é influenciado por fatores ambientais, o que refere-se ao “período crítico”, mais suscetível a transformações em vários componentes do SNC. Toda vez que alguma forma de energia proveniente do ambiente incide sobre o SNC, modifica-o de alguma maneira. E isso ocorre em todos os momentos da vida, a neuroplasticidade é uma característica marcante e constante da função neural (Kim *et al.*, 2006).

As regiões envolvidas nos processos cognitivos, como hipocampo e adjacências, podem ser reorganizadas para que funções cognitivas prejudicadas passem a envolver circuitos completamente novos com elementos que anteriormente não eram utilizados, assim como a modulação de antigas conexões para sua manutenção ou prevenção da perda total do seu funcionamento (Hallet, 2001; Knaepen *et al.*, 2010).

O hipocampo é uma área do cérebro que apresenta plasticidade e capacidade de neurogênese importante. Mesmo em estágios avançados da vida pode sofrer influências de diferentes variáveis ambientais, constituindo um recurso neural adaptativo também na idade

adulta (Samuels & Hen, 2011; Snyder *et al.*, 2011).

Alguns estudos utilizaram ratos experimentais para marcar neurônios ativos no hipocampo, córtex pré-frontal e amígdala durante o contexto da aprendizagem, e mostram que eles são reativados vários dias depois, quando a memória é recuperada (Liu *et al.*, 2012; Ramirez *et al.*, 2013; Reijmers *et al.*, 2007; Tayler *et al.*, 2013; Tanaka *et al.*, 2014).

A amígdala, que media o medo, a ansiedade e a agressividade, e o córtex pré-frontal, importante para a memória operacional, a função executiva e a regulação celular, mostram uma plasticidade estrutural. Na amígdala, os neurônios basolaterais expandem os dendritos do estresse crônico, enquanto os neurônios mediais pré-frontais do córtex, assim como os neurônios do hipocampo, apresentam encolhimento dendrítico da mesma experiência estressante (McEwen & Morrison, 2013).

Utilizando-se o exame de ressonância magnética de alta resolução é possível observar o crescimento volumétrico do hipocampo dorsal de camundongos treinados por cinco dias no labirinto aquático de Morris, região equivalente ao hipocampo posterior em humanos. O aprendizado espacial e aumento do volume focal induzido pela memória no hipocampo, é um efeito que severamente enfraquecido em camundongos no modelo induzido da doença de Alzheimer, consistente com um desempenho mal sucedido nesta tarefa. Esses achados implicam a plasticidade neuroanatômica prejudicada como um importante fator contribuinte para déficits cognitivos (Lerch *et al.*, 2011).

Um número crescente de dados também correlacionam anormalidades emocionais e cognitivas com a disfunção do GD, incluindo prejuízos à geração de novos neurônios nesta região. Esta região é dotada de geração contínua de novos neurônios que desempenham um papel na memória e no humor (Hill *et al.*, 2015; Yun *et al.*, 2016). Notavelmente, a gênese e a integração de novos neurônios nessa região são dinamicamente reguladas por fatores ambientais e fisiológicos (Kempermann, 2015).

#### 1.4.1 Nas Lesões Neurológicas e no Estresse

Mecanismos de plasticidade cerebral proporcionam aos adultos, bem como ao cérebro em desenvolvimento, uma notável capacidade de adaptação através da plasticidade estrutural e funcional em resposta a experiências estressantes e outras, incluindo a substituição neuronal, remodelação dendrítica, e rotatividade de sinapses. Mudanças na arquitetura neural influenciam não apenas, mas também a fisiologia sistêmica, que se alimenta epigeneticamente do cérebro (McEwen *et al.*, 2016).

Um insulto ambiental que incide sobre o tecido nervoso pode atingir muitas células, mas não necessariamente todas, nem de forma idêntica. Dentre as células atingidas, as que tiverem o corpo celular lesado provavelmente morrerão, mas as que tiverem apenas os prolongamentos danificados podem regenerá-los (McEwen, 2015).

Embora a prevenção seja mais importante, a plasticidade do cérebro dá esperança a terapias que consideram as interações cérebro-corpo, abrem “janelas de plasticidade” por meios farmacológicos ou comportamentais e facilitam intervenções comportamentais mais efetivas que incluem atividade física regular e terapias comportamentais cognitivas, como atenção plena e meditação e atividades que produzem interações sociais positivas e significado e propósito na vida (McEwen, 2007).

As alterações comportamentais induzidas por estresse repetido em ratos experimentais incluem uma diminuição de comportamentos como higiene, consumo de alimentos e exploração social ou ambiental (Keeney & Hogg, 1999). O que parece próximo de alguns sintomas depressivos observados em humanos, como retardo psicomotor, perda de energia, perda de consumo de alimentos e perda de interesse pela atividade habitual.

No entanto, uma grande variabilidade de respostas pode ser detectada em qualquer animal submetido ao estresse crônico (Nielsen *et al.*, 2000). Tal variabilidade indica a existência de diferenças interindividuais na suscetibilidade dos animais a estressores crônicos e na avaliação cognitiva da situação (Ducottet & Belzung, 2003).

Os aminoácidos excitatórios e o fator neurotrófico derivado do cérebro são mediadores dessa plasticidade junto com os endocanabinóides, liberador de corticotropina, noradrenalina, serotonina e outros mediadores de processos celulares. Tais quais fornecem base para desenvolver tratamentos mais eficazes ao aliviar os sintomas da depressão e retardar o progresso da demência, por exemplo (McEwen *et al.*, 2015, 2016).

Alternativas farmacológicas e não-farmacológicas podem intervir nesse processo. As não farmacológicas chamam atenção por modular comportamentos funcionais. A música, por exemplo, é uma dessas alternativas que tem sido muito estudada nos últimos anos, na busca de novos tratamentos envolvendo a neuroplasticidade.

Acredita-se que a intervenção precoce resgata a hemodinâmica do cérebro e exerce efeitos positivos nos processos cognitivos. Assim aos fatores de risco, a exemplo de prejuízos vasculares e comorbidades vasculares, espera-se que retardem o declínio cognitivo proveniente desses acometimentos (Deschaintre *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2011).

#### 1.4.2 Na Estimulação Musical

Devido a necessidade de intervenções terapêuticas para fornecer estratégias adaptativas para sustentar a qualidade de vida, diminuir o comprometimento neurológico e manter ou retardar o declínio cognitivo e o funcionamento devido a doenças neurológicas degenerativas, intervenções musicais com adultos com deficiências cognitivas receberam maior atenção nos últimos anos (Clements-Cortes & Bartel, 2018).

A terapia envolvendo sons tem sido estudada principalmente por promover alterações psicofisiológicas em seres humanos e animais, desde diminuição da frequência cardíaca e respiratória, redução do cortisol, controle da dor, aumento na sensação de bem-estar, diminuição da fadiga e da ansiedade, entre outras (Calamita *et al.*, 2016).

Dentre os estímulos selecionados, a sonata de Mozart tem sido descrita como benéfica para pacientes com déficits cerebrovasculares concomitantes e implicação do comprometimento da plasticidade neuroanatômica e funcional, como um fator adicional que contribui para déficits cognitivos, possivelmente definindo um novo alvo terapêutico.

Estudos indicam que a exposição de roedores à música modula o desenvolvimento cerebral e a neuroplasticidade, por mecanismos que facilitam a neurogênese hipocampal, a síntese de neurotrofinas e a sinalização glutamatérgica (Amagdei<sup>[1]</sup><sub>SEP</sub> *et al.*, 2010; Bhagya *et al.*, 2017; Bowman *et al.*, 2015; Xing *et al.*, 2016).

Os presentes achados podem oferecer importantes informações sobre a neuroplasticidade induzida pela música, relevante para o desenvolvimento cerebral e a neuroreabilitação. A literatura é revista que mostra que a estimulação elétrica do cérebro pode contribuir para a regulação da atividade oscilatória neural e para o alívio das condições de saúde mental (Bartel *et al.*, 2017). O papel da música na reabilitação cognitiva está evoluindo, baseado em descobertas mais recentes que emergem dos campos da neuromusicologia e da cognição musical.

Considerando a importância dos modelos experimentais para o entendimento dos aspectos neuropsicobiológicos provocados por lesões do SNC, muitas lacunas encontram-se em aberto no entendimento de como a terapia pela música pode se constituir em uma excelente ferramenta não-farmacológica na produção da neuroplasticidade com respostas neuroprotetoras que poderão ser úteis na reversão ou no bloqueio de déficits cognitivos decorrentes da HIE, para melhorar as funções motoras, cognitivas e sensoriais, geralmente prejudicadas por danos neurológicos. Coube aqui nosso interesse nestas investigações.

## 1.5 O Papel Modulador da Música

Achados sobre o poder medicinal da música são encontradas em muitas sociedades pré-industriais. Mas, o longo das últimas décadas, métodos experimentais têm sido cada vez mais utilizados na questão de saber se os efeitos são genuínos e atribuíveis à música (Levitin & Tirovolas, 2009).

Nos últimos anos vários estudos demonstraram que a audição musical, e mais ainda a produção musical, ativa uma infinidade de estruturas cerebrais envolvidas no processamento cognitivo, sensorio-motor e emocional. A exemplo dos processos sensoriais como atenção, memória, percepção e processamento da sintaxe musical. É provável que o engajamento desses processos pela música tenha efeitos benéficos sobre a saúde psicológica e fisiológica dos indivíduos, embora os mecanismos subjacentes a tais efeitos atualmente não sejam bem compreendidos (Korsós *et al.*, 2018).

A música é uma linguagem simbólica e abstrata cuja estrutura transmite significados ao nosso cérebro. Pode atuar como um poderoso estímulo sensorial, que envolve o cérebro e sua capacidade de neuroplasticidade (Miell *et al.* 2005; Yehuda, 2011). Além de que, ouvir música pode ser um forte estímulo emocional, ativando o sistema límbico e circuitos neuroquímicos (Koelsch, 2014; Altenmüller & Schlaug, 2015).

Os efeitos fisiológicos e psicológicos da audição musical são documentados em humanos e modelos animais, fornecendo evidências de que a música pode afetar animais e humanos de forma semelhante. Sugere-se também que a música pode ser usada para melhorar o bem-estar dos animais de laboratório, como por meio de enriquecimento ambiental, alívio do estresse e modificação comportamental (Leanna, 2013).

Entende-se que o mecanismo da audição é o fenômeno que envolve a alteração da compressão e descompressão das moléculas de ar na percepção consciente do som (Clements-Cortes & Bartel 2018). A percepção musical envolve funções cerebrais complexas subjacentes à análise acústica, memória auditiva, análise de cenas auditivas e processamento de sintaxe e semântica musical. Além disso, a percepção musical afeta potencialmente a emoção, influencia o sistema nervoso autônomo, os sistemas hormonal e imunológico e ativa as representações pré-motoras (Koelsch & Siebel, 2005).

A informação acústica é traduzida em atividade neural na cóclea e transformada no tronco auditivo com diferentes propriedades de respostas ao tom, timbre e frequência (Sinex *et al.*, 2003). Este pré-processamento permite o registro de sinais auditivos ao nível do colículo superior e tálamo. A partir do tálamo, a informação é projetada principalmente no

córtex auditivo primário, e também está diretamente conectado com a amígdala (LeDoux, 2000) e córtex orbitofrontal (Ongur & Price, 2000), estruturas implicadas no controle do comportamento emocional. No córtex auditivo informações mais específicas sobre características acústicas, como altura do tom, timbre e intensidade são extraídas (Tramo *et al.*, 2002; Fishman *et al.*, 2001).

Diversos estudos apontam algumas evidências da musicoterapia sendo usada como alternativa no tratamento da depressão, Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) autismo, esquizofrenia e quadros demenciais, bem como para o estresse, ansiedade, insônia e abuso de substâncias (Li *et al.*, 2011).

A musicoterapia já foi indicada como capaz de melhorar comportamentos sociais em crianças com TEA (Lagasse, 2014). Assim como músicos são frequentemente estudados a respeito da melhoria das funções neurofisiológicas, especialmente no sistema auditivo, em consequência ao treinamento musical, concentrando a atenção em sinais acústicos significativos, e essas melhorias no processamento auditivo refletem na linguagem e demais habilidades cognitivas (Kraus *et al.*, 2014).

Exames de neuroimagem mostram que a percepção do ritmo ativa estruturas dentro das principais redes motoras, tais como áreas motoras pré-motoras e suplementares, gânglios da base e cerebelo - muitas das quais estão comprometidas em graus variados na doença de Parkinson (DP). Assim, parece provável que o engajamento de áreas motoras durante a percepção do ritmo possa ser o elo entre as melhorias musicais e o desempenho motor na DP (Nombela *et al.*, 2013; Perrone-Capano *et al.*, 2017).

Contudo, muito se descobriu sobre a base neuroanatômica da música, enquanto pouco se sabe sobre sua base neuroquímica. Estudos sobre a neuroquímica da música podem ser a próxima grande fronteira, particularmente quando investigadas alegações sobre os efeitos da música no tratamento de doenças, em diversos graus de gravidade, e suas manifestações clínicas (Chanda & Levitin, 2013).

A música influencia o funcionamento fisiológico ao desencadear respostas no tronco cerebral e influencia respostas dos neurotransmissores, que reduzem a excitação simpática e aumentam a atividade parassimpática. Estes sistemas neuroquímicos, especialmente o dopaminérgico, medeiam a sensação de prazer associando a música ao mecanismo de recompensa (Chanda & Levitin, 2013; Lin *et al.*, 2013; Polston *et al.*, 2011).

A estimulação rítmica pode levar a um maior número de neurônios à sincronização, que pode ser realizada por meios sensoriais (som, luz, toque) e/ou elétricos (estimulação magnética transcraniana). Usa-se aqui o termo rítmico como estímulo recorrente que pode

ser um curto “surto” auditivo de 2ms que ocorre uma vez por segundo (1Hz) ou pode ocorrer 10 vezes por segundo (10Hz) ou 60 vezes por segundo (60Hz). Ou uma "explosão" de estimulação elétrica. As ondas sonoras a 100 Hz são ainda uma estimulação rítmica, isto é, periódica, ao ouvido por meio de compressões de moléculas de ar (Bartel *et al.*, 2017).

A música provoca estimulação também nos circuitos neurais de regiões do lobo temporal, como hipocampo (Rideout e Laubach, 1996; Sarnthein *et al.* 1997) e córtex pré-frontal, ligados ao comportamento, emoção e cognição (Hattem *et al.*, 2006; Verrusio *et al.*, 2015). As melhorias da música sobre a cognição manifestam-se na memória, atenção inteligência, funções executivas e linguagem, reforçando o potencial neuroplástico, que vai além de simples estímulos auditivos ambientais (Kraus *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014).

Circuitos corticais auditivos responsáveis pela codificação e armazenamento de padrões de tons, como o córtex auditivo e córtex frontal, são importantes ao manter a informação musical na memória operacional e reconhecer estruturas dos padrões musicais, que, então, desencadeiam respostas. Ao ouvir um determinado conjunto de tons esperam-se respostas específicas com maior probabilidade do que outras (Zatorre & Salimpoor, 2013).

O SNC tem significativo potencial de reorganização funcional, uma vez que o treinamento auditivo é capaz de provocar mudanças nas redes neurais (Heim *et al.*, 2013; Zatorre & Salimpoor, 2013). A música pode ser empregada por meio do uso controlado da sua exposição, a fim de coordenar a conexão psicológica, fisiológica e emocional, durante o tratamento de transtornos e doenças (Raglio *et al.*, 2015).

Trabalhos no nosso laboratório realizados ao longo dos anos, verificaram possíveis efeitos moduladores da música em animais experimentais (Ribeiro *et al.*, 2017; Sampaio *et al.*, 2017). A neuromodulação da música clássica, por exemplo, como método terapêutico, facilitador de processos psicológicos e como estímulo à neuroplasticidade, faz com que a música passe a ser reconhecida não como um simples elemento perceptivo, mas uma rica estratégia terapêutica, a fim de promover a readaptação funcional de áreas lesionadas do SNC (Sarkamo *et al.*, 2013; Strait *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2008).

Associações entre abuso de drogas e a facilidade da aquisição e manutenção de comportamentos aditivos tem sido feitas afim de elucidar o papel que os estímulos condicionados desempenham no vício. Os resultados mostraram que a música é um estímulo condicionante contextual eficaz, aumentando significativamente a atividade locomotora após a associação repetida com a metanfetamina. Além disso, aumentou significativamente os níveis de dopamina extracelular na amígdala basolateral e no núcleo acumbens (Polston *et al.*, 2011).

Doenças comum ao envelhecimento estão recebendo mais atenção devido ao aumento da população idosa em todo o mundo, entre elas as doenças degenerativas, como a doença de Alzheimer, DP e AVE. Com isso, novas alternativas terapêuticas também tem sido exploradas (Deschaintre *et al.*, 2009), a fim de retardar o declínio cognitivo e promover qualidade de vida do indivíduo por um maior período de tempo. Intervenções musicais com adultos com déficits cognitivos receberam maior atenção nos últimos anos (Clements-Cortes & Bartel, 2018; Fukui *et al.*, 2012; Raglio *et al.*, 2015).

O uso da música pode produzir efeitos substanciais sobre os sintomas motores, bem como os psicológicos no tratamento da DP e outros processos degenerativos (Hillecke *et al.*, 2005; Koelsch *et al.*, 2009). As interações motoras e auditivas e as bases neurais da percepção do ritmo musical fornecem informações importantes para o desenvolvimento de terapias em potencial (Nombela *et al.*, 2013).

A intervenção com a estimulação auditiva rítmica é utilizada na DP, que consiste em aplicação de estímulos auditivos rítmicos incluídos à iniciação e facilitação em atividades relacionadas à marcha, proporcionando melhorias no comprimento do passo e na velocidade da caminhada, proporcionando melhor adaptação dos circuitos do cerebelo, gânglios da base e área motora suplementar, que permitem o controle do desempenho motor (de-Breu *et al.*, 2014; Keus *et al.*, 2001; Nombela *et al.*, 2013).

Com isso, diferentes estímulos sonoros podem funcionar como desencadeadores de alterações fisiológicas e comportamentais nas diferentes espécies animais, inclusive em humanos. O estímulo musical pode ser um recurso de alcance de efeitos benéficos na recuperação da saúde de humanos e outros animais (Calamita *et al.*, 2016).

Neste contexto, o potencial uso da música nas lesões por HIE, é indefinido. Uma vez que, a música pode agir de diferentes formas nos processos fisiológicos, mentais, emocionais e físicos. De forma que a terapia com música, como método terapêutico, tem atingido diferentes vias de interpretação cortical, sendo possível ser associada ao tratamento medicamento tradicional, como adjuvante em diferentes doenças e alterações, especialmente as comportamentais (Antorveza, 2017).

A Sonata de Mozart tem apresentado em pacientes efeito modulatório em consequências decorrentes da HIE, assim como tem sido utilizada para tratar déficit de atenção, epilepsia, depressão, ansiedade, estresse, e demência, refletindo em reorganizações corticais funcionais (Kim *et al.*, 2006; Lagasse, 2014; Lin *et al.*, 2011; Lin & Yang, 2015; Xing *et al.*, 2016), assim como demonstrado no levantamento bibliográfico exposto no quadro 1.

**Quadro 1** - Estudos com exposição à música em humanos, ratos, camundongos, porcos e vacas ao longo das últimas décadas.

<b>Autores</b>	<b>Tipo de Estudo</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Resultados/Conclusões</b>
Rauscher <i>et al.</i> , 1995	Experimental 79 estudantes universitários	Mostrar que ouvir a sonata de Mozart para dois pianos produzia um aumento de curto prazo do raciocínio espaço-temporal no teste de Stanford-Binet.	Não confirmaram a melhora do raciocínio e memória de curto prazo.
Uetake <i>et al.</i> , 1997	Experimental 19 Vacas holandesas	Avaliar o efeito da música na abordagem voluntária das vacas para um sistema automático de ordenha.	Influencia da música na prontidão comportamental das vacas para acessar os compartimentos de ordenha.
Hillecke <i>et al.</i> , 2005	Revisão Bibliográfica	Investigar fatores de trabalho da musicoterapia (modulação da atenção, emoção, cognição, comportamento e comunicação).	Foi demonstrada a eficácia da musicoterapia no tratamento de certas doenças.
Kim <i>et al.</i> , 2006	Experimental 20 ratos fêmeas 20 ratos machos	Investigar a influência do ruído e da música pré-natal na memória espacial e neurogênese no hipocampo de ratos em desenvolvimento.	A exposição à música aumentou a neurogênese no hipocampo e a aprendizagem espacial dos filhotes. A exposição ao ruído causou prejuízos nestes aspectos.
Rickard <i>et al.</i> , 2005	Revisão Bibliográfica	Análise crítica sobre a exposição musical e melhora cognitiva.	Estímulos musicais modificam os índices de excitação neuroquímica e modifica a plasticidade sináptica.
Chikahisa <i>et al.</i> , 2006	Experimental 30 camundongos	Examinar o efeito da exposição à Sonata de Mozart durante o período perinatal na aprendizagem em camundongos adultos, através da medição do nível do BDNF e seu receptor (TrkB).	A exposição perinatal de camundongos à música tem uma influência na sinalização de BDNF / TrkB e PDK1. Induz o aprendizado e memória.
Hatem <i>et al.</i> , 2006	Experimental 84 crianças	Investigar o efeito da música em crianças com cardiopatias na unidade pediátrica de terapia intensiva após cirurgia cardíaca, em conjunto com o tratamento padrão.	Efeito benéfico da música em crianças no pós-operatório de cirurgia cardíaca, por meio dos sinais vitais (frequência cardíaca e frequência respiratória) e dor reduzida.
Jones <i>et al.</i> , 2006	Experimental 41 estudantes universitários	Avaliar em um subteste de relações espaciais de Stanford-Binet após a exposição à música ou ao silêncio.	Indicou efeito positivo de ouvir Mozart, embora a excitação tenha mediado essa associação. Nenhum efeito de preferência foi evidente.
Trehub, 2006	Revisão Bibliográfica	Avaliar o processamento de predisposições para a música, discutindo como a música, a exemplo do canto materno também tem um efeito moderador na excitação infantil.	Bebês podem detectar mudanças quando os tons são relacionados por pequenas frequências, aprimorando o processamento para escalas desiguais e ritmos métricos.
Jones & Estell, 2007	Experimental 86 estudantes do ensino médio	Investigar a hipótese da melhora do desempenho no raciocínio espacial e comportamento de excitação com a Sonata de Mozart e em silêncio.	Na condição de Mozart houve maior pontuação no raciocínio espacial, mas não mais ou menos excitados.
de Jonge, 2008	Experimental 258 leitões	Investigar se a música pode facilitar o comportamento lúdico em leitões pós-desmame, hipotetizando que a música pós-desmame facilita o comportamento de brincadeira.	A música foi associada à execução do comportamento lúdico após o desmame, como ferramenta para melhorar o bem-estar dos sistemas de criação animal.
Fukui & Toyoshima, 2008	Revisão Bibliográfica	Propor que a música facilita a neurogênese e ajusta a secreção de hormônios cortisol, testosterona e estrogênio, genes e proteínas relacionadas.	A secreção de hormônios que supostamente têm efeitos preventivos na doença de Alzheimer, é significativamente aumentada pela musicoterapia.

Zhu <i>et al.</i> , 2008	Experimental 16 sujeitos destros	Investigar os efeitos da sonata de Mozart, K.448 sobre a atenção voluntária e involuntária através dos potenciais comportamentais e relacionados a eventos (ERPs) em uma tarefa visual.	O "efeito Mozart" foi mostrado no ERP, mas não em dados comportamentais, mostrou efeito na atenção involuntária e voluntária, funcionando em diferentes mecanismos.
Amagdelis <i>et al.</i> , 2010	Experimental 57 filhotes de ratos Wistar	Verificar o efeito protetor da exposição à música perinatal e entre 2 e 32 dias pós-natal, contra déficits funcionais da calosotomia neonatal em ratos.	A calosotomia neonatal induziu déficits que se tornaram aparentes após o 45º dia pós-natal. A exposição perinatal à música protegeu o desempenho de alternância espontânea.
da Cruz <i>et al.</i> , 2010	Experimental 16 camundongos	Expor camundongos ( <i>Mus musculus</i> ) a duas condições: sem estímulos auditivos e com música (Sonata de Mozart número 10, em B maior, KV361, Largo), em testes comportamentais.	Alterações comportamentais significativas nos animais expostos a 24h de música foram demonstradas na atividade motora e testes comportamentais.
Lin <i>et al.</i> , 2011	Revisão Bibliográfica	Analisar o efeito da música em pessoas com diferentes doenças mentais, e examinar teorias neurobiológicas sobre a eficácia no tratamento de transtornos psiquiátricos.	A música é capaz de influenciar processos neurobiológicos complexos no cérebro e pode desempenhar um papel importante no tratamento de transtornos psiquiátricos.
Polston <i>et al.</i> , 2011	Experimental Ratas fêmeas	Examinar o estímulo musical condicionado ("Four" de Miles Davis) através da avaliação da atividade locomotora e respostas das regiões do cérebro como a amígdala basolateral, o núcleo accumbens e o córtex pré-frontal.	A música é um estímulo condicionante contextual eficaz, aumentando a atividade locomotora após a associação repetida com a metanfetamina, os níveis de dopamina extracelular na amígdala basolateral e no núcleo accumbens.
Tasset <i>et al.</i> , 2012	Experimental 22 ratos Wistar	Avaliar o efeito da sonata de Mozart para dois pianos (K. 448) sobre alterações de dopamina no núcleo estriado, córtex pré-frontal e mesencéfalo, e da prolactina e corticosterona.	A música desencadeou redução na pressão sistólica e aumento de dopamina do mesencéfalo nos ratos tratados com ecstasy, através de um sistema dependente de calmodulina.
Chanda & Levitin, 2013	Revisão Bibliográfica	Avaliar evidências de que a música melhora a saúde e o bem-estar por meio de sistemas neuroquímicos de recompensa, motivação e prazer; estresse e excitação; imunidade; e afiliação social.	Efeitos da música na motivação, imunidade, estresse, excitação e afiliação social.
Leanna <i>et al.</i> , 2013	Revisão Bibliográfica	Revisar pesquisas atuais sobre o efeito da música na fisiologia e comportamento dos animais.	Os benefícios de fornecer música aos animais de laboratório dependem da espécie e do tipo de música.
Lin <i>et al.</i> , 2013	Experimental 64 crianças	Investigar as descargas epileptiformes e atividade autonômica antes, durante e depois de ouvir Mozart K.448 ou K.545.	Ouvir Mozart diminuiu as descargas epileptiformes em crianças com epilepsia.
Nombela <i>et al.</i> , 2013	Revisão Bibliográfica	Potencializar a conexão entre percepção auditiva e movimento através de estímulo musical.	Estímulos auditivos aumenta a atividade do putâmen compensando a falta dopaminérgica na doença de Parkinson.
Perlovsky <i>et al.</i> , 2013	Experimental 64 participantes	Verificar a influência da música (agradável ou desagradável) no desempenho de testes acadêmicos e a dissonância cognitiva.	A exposição à música agradável mostrou melhor desempenho do que a música desagradável.
Sarkamo <i>et al.</i> , 2013	Experimental 89 cuidadores	Determinar a eficácia da intervenção musical no treino dos cuidadores de pessoas com deficiências físicas para cantar ou ouvir música regularmente como parte do cuidado diário.	O canto e a audição musical melhoraram humor, orientação e memória episódica, atenção, funções executivas, memória de trabalho e bem-estar do cuidador.
Zatorre & Salimpoor, 2013	Revisão Bibliográfica	Revisar achados a respeito da percepção de padrões sonoros para respostas prazerosas, através de circuitos auditivos corticais.	O sistema dopaminérgico medeia o prazer associado à música, codificado no núcleo accumbens, áreas auditivas e frontais.
Kraus <i>et al.</i> , 2014	Experimental Crianças	Treinar o uso da música em crianças carentes de uma comunidade, através do programa de instruções gratuitas de música associadas a maiores ganhos no processamento neural.	As crianças que completaram 2 anos de treinamento musical tiveram distinção neurofisiológica mais forte das consoantes oclusivas.

Lagasse, 2014	Experimental Crianças com TEA	Examinar os efeitos de uma intervenção do grupo de musicoterapia no olhar, atenção conjunta e comunicação.	Revelaram-se maiores ganhos em relação a atenção conjunta com os pares e olhar para as pessoas.
Strait <i>et al.</i> , 2014	Experimental 76 participantes	Discutir a vantagem neural em músicos no início da vida em respostas auditivas do tronco encefálico às sílabas / ba / e / ga.	Os músicos exibem diferenciação neural aprimorada de consoantes oclusivas com alguns anos de treinamento.
Bowman <i>et al.</i> , 2015	Experimental 54 cachorros (34 machos e 16 fêmeas)	Identificar mudanças fisiológicas/psicológicas em cães expostos à estimulação auditiva por 7 dias, pela avaliação da variabilidade da frequência cardíaca, cortisol salivar e comportamento.	A estimulação auditiva como técnica de enriquecimento ambiental induziu mudanças na frequência cardíaca, do cortisol e dados comportamentais de níveis de estresse reduzidos.
Coppola <i>et al.</i> , 2015	Experimental 11 pacientes ambulatoriais (7 homens e 4 mulheres).	Avaliar o efeito de ouvir composições de Mozart sobre o sono e distúrbios comportamentais: agressão, irritabilidade e hiperatividade em pacientes com encefalopatia epiléptica resistente a medicamentos.	45,4% dos pacientes tiveram uma redução de $\geq 50\%$ no número total de convulsões. Todos também tiveram uma melhora no sono noturno e no comportamento diurno.
Dewi <i>et al.</i> , 2015	Experimental 78 alunos do 3º grau do ensino fundamental	Determinar o efeito da música para aumentar a atenção através de uma escala de inteligência (Escala de Inteligência Wechsler para Crianças - WISC).	A intervenção musical aumentou a atenção em 11,7%, a intervenção com música e movimento aumentou a atenção em 0,5%, e o grupo controle mostrou diminuição em 13%.
Ferreri <i>et al.</i> , 2015	Experimental 20 jovens adultos	Investigar se a memória episódica, através do teste de lista de palavras, pode ser melhorada em contexto de música instrumental no fundo em contraste a sons ambientais ou silêncio.	Observou-se melhor desempenho sob condição de música do que sons ambientais ou silêncio, corroborando que a música atua como facilitador de codificação de informações.
Lin & Yang, 2015	Revisão Bibliográfica	Mostrar os efeitos benéficos da música (sonata de Mozart K 448) nas descargas epileptiformes, identificar frequência de convulsão e recorrência da primeira convulsão.	Descargas epileptiformes são significativamente reduzidas após ouvir Mozart K.448, incluindo vias dopaminérgicas e ativação parassimpática.
Raglio, 2015	Revisão Bibliográfica	Investigar o treinamento baseado em pistas auditivas rítmicas e compensação da rede cerebelo-tálamo-cortical, melhorando habilidades perceptivas e motoras de pacientes com Parkinson.	Intervenções que envolvam música como ferramenta pode ser um importante método de reabilitação atuando no desempenho motor de pacientes com Parkinson.
Raglio <i>et al.</i> , 2015	Revisão Bibliográfica	Revisar intervenções musicais e seus efeitos no humor e depressão em pacientes com distúrbios neurológicos.	Há eficácia da musicoterapia sobre o humor, síndromes depressivas e qualidade de vida em pacientes neurológicos.
Verrusio, 2015	Experimental 30 sujeitos	Investigar a influência da música de Mozart sobre a atividade cerebral através do EEG em adultos jovens, idosos saudáveis e idosos com comprometimento cognitivo leve.	Após ouvir Mozart, um aumento da frequência alfa e seu ritmo foi observado tanto em adultos quanto em idosos. Depois de ouvir Beethoven, nenhuma alteração foi detectada.
Xing <i>et al.</i> , 2016	Experimental ratos Wistar	Avaliar alterações da cognição espacial em diferentes estágios da epileptogênese e explorar efeitos da exposição à música de Mozart a longo prazo na recuperação da capacidade cognitiva.	O efeito de Mozart é o efeito do ritmo de Mozart, indicando que músicas diferentes podem ter efeitos diferentes.
Nieto-Romero, 2017	Experimental 31 pacientes de ambos os sexos	Comparar o nível de ansiedade de adultos cardiopatas após uma intervenção musicoterapia, em um estudo de ressonância magnética.	O uso da música mostrou-se eficaz para controle fisiológico, estado emocional e comportamental.
Korsós <i>et al.</i> , 2018	Experimental 40 ratos machos	Avaliar as capacidades de aprendizagem espacial e memória em testes comportamentais com expostos à sonata de Mozart com alterações no ritmo.	A música dentro da faixa de audição dos ratos melhorou a capacidade de aprendizagem espacial, mas somente se os animais fossem expostos antes e durante a tarefa.

## 1.6 Sonata de Mozart para dois pianos

No debate a respeito de estímulos musicais sobre a cognição, alguns estudos buscaram investigar como melhorar o desempenho da memória episódica, manipulando os fatores que são cruciais para uma codificação bem-sucedida (Ferreri *et al.*, 2015; Fukui & Toyoshima, 2008). Entre um dos mais explorados métodos, o “Efeito Mozart” destacou-se pelas explorações científicas do século XXI acerca do cérebro e das funções cognitivas como aprendizagem e memória. A partir do qual investe-se cada vez mais em reproduções tecnológicas que promovam aperfeiçoamento e atributos positivos ao funcionamento deste órgão (Beauvais, 2015).

A melhoria na aprendizagem espacial e temporal como manifestação do “efeito Mozart” foi o início de uma nova época em termos de musicoterapia. Inicialmente foi testado por Rauscher *et al.* (1993), mostrando melhorias no desempenho de estudantes em tarefas específicas no teste de inteligência Stanford-Binet, tarefas de raciocínio espacial, manifestando aumento de 8 a 9 pontos no QI em curto período de tempo, após ouvirem uma das Sonatas de Mozart (K.448) (Jones & Estell, 2007, Zhu *et al.*, 2008).

Mas tal efeito torna-se uma teoria discutível. Pietschnig *et al.* (2010) realizou uma abrangente meta-análise (quase 40 estudos, mais de 3.000 sujeitos), sobre a eficácia desse efeito sobre a cognição. Este autor demonstrou que há pouca concordância a um efeito específico da Sonata de Mozart nos trabalhos publicados. Embora os resultados indiquem um efeito positivo e significativo da exposição à sonata de Mozart (K.448), em comparação com nenhum estímulo no desempenho de tarefas espaciais, os efeitos observados foram pouco significativos. Além disso, a exposição a outros estímulos musicais, produziu um efeito global significativo de aproximadamente mesma proporção.

Muitos dos trabalhos anteriores sobre o efeito Mozart, ressaltando o aumento temporário em tarefas espaciais após ouvir Mozart, tentaram determinar se a causa é devida a estímulos neurológicos ou a mudanças na excitação geral do indivíduo (Jones & Estell, 2007). Talvez exista um pequeno efeito significativo apenas nos estudos publicados para a exposição à sonata de Mozart em comparação a outros estímulos musicais, indicando assim um desempenho um tanto melhorado dos indivíduos expostos à sonata de Mozart. No entanto, este achado pode ser explicado pela ativação potencialmente diferente da música. Uma vez que a excitação geral afeta a ativação cortical, os sujeitos expostos a música mais

excitante, portanto, são mais propensos a pontuar mais em tarefas espaciais (Thompson *et al.*, 2001).

Em contraste, o silêncio, o ruído branco ou a música minimalista não têm efeitos similares. Surge a questão de qual tipo de música geralmente é capaz de produzir o efeito Mozart. Melodias semelhantes em estrutura, harmonia e previsibilidade (recorrência) também foram encontradas eficiente na produção de efeitos similares. Hughes & Fino (2000) realizaram análises computadorizadas de diversas peças de música. No caso de Mozart e Bach, a periodicidade a longo prazo (o número de repetições dentro de meio minuto em média) foi decisiva. A outra característica comum das músicas de Mozart e Bach foi o uso mais frequente de sons (196 Hz, 523 Hz e 987 Hz). Durante e logo após ouvir a sonata, os padrões de disparo dos neurônios no córtex frontal direito e temporal esquerdo foram sincronizados (Rideout & Laubach, 1996). Os estímulos musicais efetivos induziram mais ondas beta no cérebro (Sarnthein *et al.*, 1997).

Estímulos musicais menos estimulantes podem ter desempenhado um papel moderador no desempenho de tarefas, resultando em escores mais baixos em amostras expostas a outros estímulos musicais, do que em amostras expostas à sonata de Mozart. Em conclusão, essa música em particular, dentro da faixa de audição dos ratos, era adequada para melhorar a capacidade de aprendizagem espacial dependente do hipocampo, mas somente se os animais fossem expostos a ela não apenas antes, mas também durante a tarefa (Korsós *et al.*, 2018).

Por exemplo, a sonata de Mozart para dois pianos em Ré maior, o K448, demonstrou diminuir as descargas de EEG interictais e a recorrência de convulsões clínicas em adultos e pacientes jovens (Coppola *et al.*, 2015).

Xu *et al.* (2009) mantiveram ratos recém-nascidos expostos ao Sonata oito horas por dia durante dois meses. De acordo com seus resultados, a capacidade de reconhecer sons e a duração dos sons melhorou em comparação com o grupo controle mantido em silêncio. Essa habilidade foi acompanhada por aumento da expressão do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA). Os receptores NMDA promovem a maturação das sinapses glutamatérgicas e garantem sua plasticidade durante a ontogênese e a aprendizagem.

Segundo Tasset *et al.* (2012), a exposição de ratos ao Sonata por  $2 \times 2$  h diários aumentou a atividade do sistema de dopamina. Estes dados podem explicar a aplicação positiva e associação de música com a obtenção da isca. Kirste *et al.* (2015) transpuseram o Sonata para a linha de audição de camundongos C57BL / 6J, elevando os passos em 5 oitavas e, assim, colocando 90% dos tons entre 5 e 20 kHz. Uma exposição de 2 h durante

três dias consecutivos resultou na proliferação de neurônios precursores no hipocampo e no giro denteado, sendo ambos cruciais no aprendizado e no desempenho da memória. O silêncio total teve um efeito semelhante. Em contraste, o ruído padrão da casa dos animais, o ruído branco não estruturado (8 a 80 kHz) e as vozes dos filhotes (65 kHz) foram ineficientes. Escribano *et al.* (2014) descobriram que a exposição à dada música de Mozart teve um efeito ansiolítico para ratos.

Xing *et al.*, 2016 apresentaram efeitos cognitivos positivos com o uso da Sonata K.448. Utilizaram uma versão retrógrada, por meio da qual obteve-se um efeito negativo no desempenho dos ratos no teste do labirinto aquático de Morris e no desempenho dos seres humanos no teste de dobramento e corte de papel e no labirinto de lápis e papel. Além disso, quando o ritmo e o tom da Sonata de Mozart são manipulados de forma independente, entre normal e retrógrada, o desempenho de aprendizagem dos ratos no teste do labirinto aquático de Morris indicou que o ritmo é um elemento crucial na produção dos efeitos comportamentais.

A análise imuno-histoquímica mostrou efeitos consistentes no hipocampo e córtex auditivo, sugerindo que os níveis de expressão proteica do BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) e do TrkB (receptor tirosina quinase B), foram influenciados seletivamente no cérebro após os ratos expostos à música (Xing *et al.*, 2016). Também foram encontrados novos neurônios. Como é bem sabido, a geração de neurônios recém-nascidos no giro dentado é fundamental para manter os processos normais de aprendizado e memória (Derrick *et al.*, 2000). Combinando esses resultados acima, o possível efeito Mozart indicou que os escores de memória melhorados na tarefa espacial estão enraizados na neurogênese e aumentam o BDNF / TrkB no cérebro (Xing *et al.*, 2016).

Sabe-se que o BDNF e o TrkB, desempenham um papel crítico na aquisição e consolidação da memória no SNC de mamíferos (Heldt *et al.*, 2007; Masana *et al.*, 1993) e tem um papel vital na mediação de mudanças duradouras na estrutura e função sináptica central. A exposição de ratos à música de Mozart aumenta o desempenho de aprendizado e aumenta os níveis da proteína BDNF e TrkB medidos no hipocampo dos ratos recém-nascidos (Tolwani *et al.*, 2002; Tyler *et al.*, 2002).

Sampaio *et al.* (2017) realizou de testes experimentais em ratos com o campo aberto (locomoção), labirinto em cruz elevado (ansiedade), nado forçado (depressão) e esquiiva inibitória, expostos à Sonata de Mozart para dois Pianos, observaram que a música clássica foi capaz de afetar respostas comportamentais, corroborando outro estudo onde camundongos foram submetidos à música clássica por 24 horas. Os resultados

demonstraram uma significativa diminuição na imobilidade no nado forçado, aumento na entrada nos braços fechados do labirinto em cruz elevado e diminuição na imobilidade no campo aberto, sugerindo que a música foi capaz de provocar mudanças na atividade motora dos animais, podendo ser utilizada como um recurso de enriquecimento ambiental e bem-estar para animais em cativeiro (Da Cruz, 2011).

Resultados mostraram que os efeitos da composição de Bach, foram inferiores aos do experimento com a Sonata Mozart (Korsós *et al.*, 2018). No entanto, como a música contém uma infinidade de elementos, como ritmo, tom e intensidade, ainda não está claro quais elementos da música contribuem para esse efeito cognitivo. Acredita-se que o fator crucial seria os diferentes ritmos. O papel do ritmo no efeito de Mozart pode ter fornecido uma explicação razoável de que os ratos podem não precisar ouvir toda a música como os humanos ouvem, eles precisam apenas ter o ritmo mais importante para obter tal efeito. O mecanismo subjacente pode ser que a sequência em Mozart K.448 pode desencadear uma resposta forte no cérebro, porque essa regularidade é semelhante ao ciclo fisiológico (Trehub, 2006). E o efeito similar de Mozart K.448 em humanos e ratos pode ser devido aos ritmos fisiológicos similares obtidos evolutivamente.

O principal argumento levantado por Steele (2006) é que a faixa de audição dos roedores é diferente dos humanos. O audiograma humano estende-se de 0,02 a 20 kHz, enquanto o de ratos de 0,5 a 90 kHz, medido a 60-70 dB de nível de pressão sonora, afirmando que os ratos não podem ouvir os 33-57% das notas nesta Sonata.

Nos experimentos de Fekete & Bernitsa (2013) foi utilizada a versão distorcida da Sonata (duas vezes mais rápida que uma oitava acima do original, por 10 minutos por dia durante 10 semanas). Um grupo recebeu o estímulo musical antes, outro durante e o terceiro antes e durante o teste de memória, enquanto os animais controle foram mantidos em silêncio. A aprendizagem espacial e a memória dos animais foi testada em labirinto radial de 8 braços. A atividade cinética diminuiu e o tempo gasto no ensaio da tarefa aumentou em comparação a versão original. Em conclusão, esta música em particular, dentro da faixa de audição dos ratos, melhorou a aprendizagem espacial, mas somente se os animais fossem expostos não apenas antes, mas também durante a tarefa.

Em sujeitos humanos a sonata de Mozart para dois pianos (K 448) revelou efeito modulatório na atividade cerebral em estudos que relataram que o estímulo musical da sonata para dois pianos (K448) foi capaz de diminuir descargas da atividade elétrica cerebral de pacientes epiléticos, como também aumento de atividade de ondas em circuitos corticais relacionados à cognição em adultos e idosos saudáveis, no

eletroencefalograma (EEG), diferentemente de respostas a outros compositores como Beethoven (Coppola *et al.*, 2015; Perlovsky *et al.*, 2013; Verrusio *et al.*, 2015).

Essa Sonata demonstrou melhorias comportamentais e cognitivas, na atenção, concentração, aprendizagem e memória, alterações no estado de humor, aumento do sentimento de alegria e diminuição da tristeza, e sensação de relaxamento (Dewi *et al.*, 2015; Hausmann *et al.*, 2016).

A Sonata de Mozart para dois pianos em ré maior, K 448, mostrou também produzir resultados eficazes em pacientes com doença de Alzheimer, que depois de ouvir a música de Mozart, as funções mentais melhoraram e eles conseguiram lembrar-se das melodias (Fukui *et al.*, 2012).

Kanduri *et al.* (2015) realizaram perfis transcricionais do genoma de voluntários humanos antes e depois de ouvirem um concerto de violino de Mozart. Eles encontraram diferenças substanciais na expressão gênica de participantes com experiência musical e/ou talentosos. Pode se referir à importância da exposição repetitiva anterior à música (“treinamento”) e pode explicar o mau desempenho do período de aquisição do Grupo B.

Verrusio *et al.* (2015) encontraram um aumento na banda alfa e no índice de frequência mediana da atividade de ritmo alfa de fundo (indicador de despertar). Bons executores de memória mostram significativamente mais alfa superior, mas menos poder theta. Nenhum evento semelhante pôde ser demonstrado em humanos que ouviram "Für Elise" de Beethoven. Usando um dispositivo de ressonância magnética funcional Bodner *et al.* (2001) observaram durante a escuta de Mozart um aumento estatisticamente significativo na circulação sanguínea cortical, em particular no córtex dorsolateral pré-frontal e occipital, bem como no cerebelo.

Apesar do pouco respaldo científico sobre sua eficácia, estudos e artigos ainda discutem a possibilidade do efeito Mozart, lembrando a sociedade do possível impacto da música clássica no cérebro e propondo uma solução indolor para questões educacionais e socioculturais (Beauvais, 2015). Com isso, os presentes achados podem oferecer importantes informações sobre a neuroplasticidade induzida pela música, relevante ao desenvolvimento cerebral e a neuroreabilitação. Desta forma, a promessa de tratamentos baseados em música é que eles não são invasivos, têm efeitos colaterais mínimos ou inexistentes, são acessíveis e completamente "naturais" (Chanda & Levitin, 2013).

## **2 Objetivos**

### **2.1 Geral**

Fazer uma análise comparativa da exposição aguda e crônica da Sonata de Mozart K 448 frente à lesão hipocampal decorrente da hipóxia isquêmica encefálica.

### **2.2 Específicos**

- Avaliar de que maneira a exposição aguda e crônica da Sonata de Mozart pode modular a aprendizagem e memória de ratos no teste de esQUIVA inibitória.
- Fazer uma análise comparativa da exposição aguda e crônica da Sonata de Mozart frente as lesões cerebrais decorrentes da hipóxia encefálica.
- Observar parâmetros comportamentais de estresse dos sujeitos experimentais baseados em escala de estresse previamente padronizada envolvendo aspectos relacionados a atividade espontânea, resposta ao manuseio, sinais neurológicos e aparência dos pêlos.
- Examinar os aspectos bioquímicos indicadores de estresse decorrente da exposição ou ausência da música e/ou hipóxia isquêmica, por meio das avaliações dos marcadores laboratoriais enzimáticos.
- Observar as possíveis alterações morfofuncionais das células hipocampais frente a exposição ou ausência da música e/ou hipóxia isquêmica.

### 3 Metodologia

#### 3.1 Sujeitos Experimentais

Ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), fêmeas (n = 48), com 3 semanas de idade, provenientes do Biotério da Faculdade de Medicina/UnB, e alojados em grupos de 3 ratos por gaiolas de polipropileno de 41 x 34 x 16 cm, mantidos em ciclos claro/escuro de 12 h, condições controladas de temperatura (23°C), alimentados com ração (marca Purina®) e água *ad libitum* diariamente, exceto no período dos testes. Todos os testes foram realizados entre as 8:00-10:00 e 16:00-18:00 horas. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA), do Instituto de Ciências Biológicas da UnB, aprovados pelos Pareceres nº 80243/2013 e nº 67736/2014, em anexo (pág 71).

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 6 grupos de 6 animais (n=36), de acordo com o quadro 1 ilustrado a seguir:

**Quadro 2** - Distribuição da amostra nos grupos experimentais. HIE = hipóxia isquêmica encefálica.

Grupos	Condição	Protocolo Aplicado
(G1)	Controle	Animais controle - sem indução de hipóxia e sem exposição à música.
(G2)	HIE	Animais que sofreram HIE induzida experimentalmente aos 3 meses.
(G3)	Exposição Aguda	Animais que receberam exposição aguda à música (4h/dia, durante 4 dias), antes de completar cada idade.
(G4)	Exposição Aguda + HIE	Animais que receberam exposição aguda à música (4h/dia, durante 4 dias), antes de completar cada idade e HIE induzida aos 3 meses.
(G5)	Exposição Crônica	Animais que receberam exposição crônica à música (4h/dia, durante 4 meses), iniciada no 1º mês de idade.
(G6)	Exposição Crônica + HIE	Animais que receberam exposição crônica à música (4h/dia, durante 4 meses), iniciada com um mês de idade e HIE induzida aos 3 meses.
(G7)	Exposição Crônica interrompida aos 3 meses de idade	Animais que receberam exposição crônica à música (4h diariamente), iniciada no 1º mês de idade.
(G8)	Exposição Crônica interrompida + HIE aos 3 meses de idade	Animais que receberam exposição crônica à música (4h diariamente), iniciada com um mês de idade e interrompida aos 3 meses de idade e submetidos a HIE induzida.

(Fonte: autoria própria, 2018)

### **3.2 Teste da Esquiva Inibitória**

Os animais foram levados para a sala de testes aproximadamente 30 min antes e todos os procedimentos foram realizados às cegas. A escolha de fêmeas deveu-se a maior sensibilidade nas respostas cognitivas observadas em resultados obtidos pelo grupo de pesquisa, tornando os mesmos mais significativos para a proposta apresentada. Os testes foram realizados quando os animais completaram 4 meses de idade. Os que sofreram HIE, essa lesão ocorreu aos 3 meses de idade.

Foi utilizado para estes procedimentos o teste de esquiva inibitória (*step-down*) para avaliação da memória de curto e longo prazo. O aparelho utilizado compõe-se de uma caixa de metal (50 x 25 x 25 cm) com uma plataforma (5 x 8 x 25cm) e uma parede frontal de vidro. A parte interna possui barras de alumínio paralelas separadas em uma distância de 1cm, sendo o aparato conectado a um painel de controle que possibilita disparar choque elétrico previamente determinado.

Nessa tarefa, o animal deve associar um estímulo inicialmente não aversivo ao recebimento de um choque de baixa intensidade (0,4 mA, por 1 seg). Os parâmetros de avaliação envolvem uma fase de treino e pós-treino e que serve de estímulo aversivo para que o animal deixe de executar a tarefa a ele apresentada. A recordação da informação do contexto aversivo é sugerida ser equivalente a capacidade de MCD e MLD dos sujeitos experimentais (Izquierdo *et al.*, 1998).

### **3.3 Indução da Hipóxia Isquêmica Encefálica**

A indução da lesão por HIE foi realizada com o NaNO<sub>2</sub>, os ratos foram submetidos a administração de 60 mg/kg por via intraperitoneal, aos 3 meses, durante 15 dias consecutivos, conforme protocolo adaptado da literatura científica na área (Abdel Baky *et al.*, 2010). Animais na mesma idade, que não receberam a administração de NaNO<sub>2</sub>, serviram de controles para as nossas investigações.

### 3.4 Exposição à Sonata de Mozart

A Sonata de Mozart para dois Pianos (K. 448) foi tocada em uma sala padronizada, onde a intensidade do som foi criteriosamente uniformizada por meio de um decibelímetro em nível sonoro de 65 dB. Para se conseguir a uniformidade do som, o aparelho eletrônico foi colocado em uma posição centralizada, de maneira que todas as gaiolas ficassem a a mesma distância de cerca de 50 cm, de tal maneira a garantir a mesma intensidade de som para todos os sujeitos experimentais.

A Sonata de Mozart para dois pianos (K. 448) escrita em três movimentos: *Allegro con spirito*; *Andante* e *Molto Allegro*, foi apresentada aos animais na tonalidade de Ré Maior. Estes movimentos refletem certa duração e diferentes estruturas de notas. A Sonata foi gravada em formato MP3. A duração do arquivo original é de 22 minutos e 3 segundos, precisando ser adaptado para ter duração de 2 horas, sendo repetido 5 vezes e meia no mesmo arquivo, salvo em um pen drive, para ser melhor adaptado em um aparelho emissor de som com entrada USB.

A música foi tocada por 4h alternadas, 2h no período da manhã e 2h à tarde (Tasset *et al.*, 2012). A exposição musical aguda foi realizada quando os animais tinham apenas 1 mês de idade, sendo repetida ao completarem 2, 3 e 4 meses, durante 4 dias consecutivos antes completarem cada idade (exposição aguda). Na exposição crônica o procedimentos de exposição à música ocorriam diariamente durante os 4 meses, iniciados quando os animais completaram 1 mês de idade. Os grupos controle (G1 e G2) não foram expostos a nenhuma música.

### 3.5 Delineamento Experimental

A avaliação experimental foi realizada conforme as etapas a seguir (Figura 4):

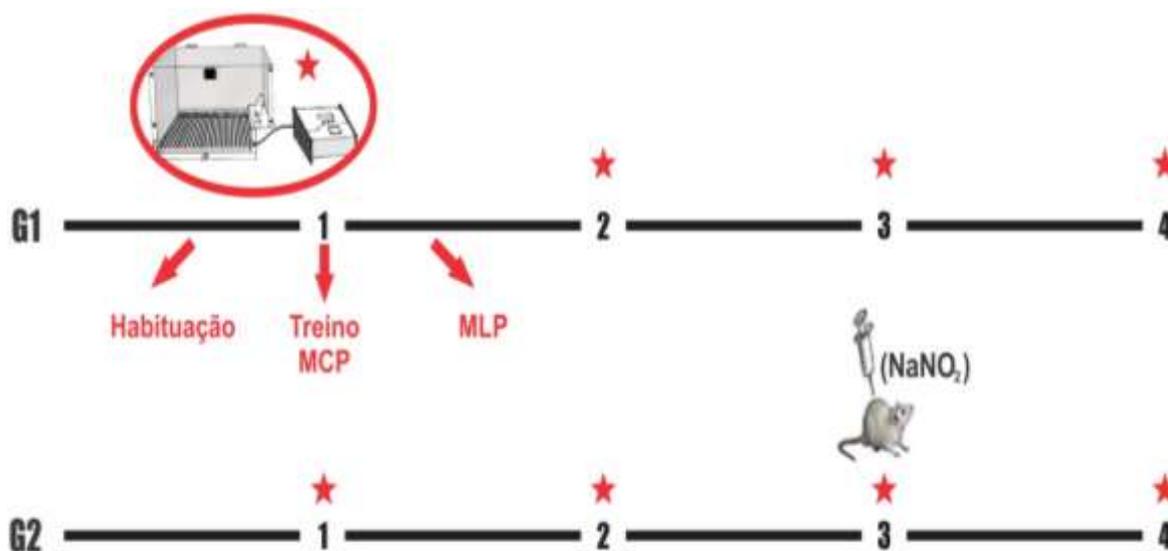
- **1º dia:** Os animais foram inseridos na plataforma da caixa de esquiva inibitória, individualmente, durante 180 segundos, para habituação ao espaço de teste. Este procedimento só foi realizado uma única vez antes de iniciar todos os procedimentos.

- **2º dia:** Cada animal foi colocado cuidadosamente na mesma plataforma com a face voltada para o lado oposto ao observador. Assim que desceu e colocou as quatro patas nas barras, recebeu o choque e foi retirado imediatamente da caixa. A MCD foi testada 1 h após o treino, seguindo o mesmo protocolo.

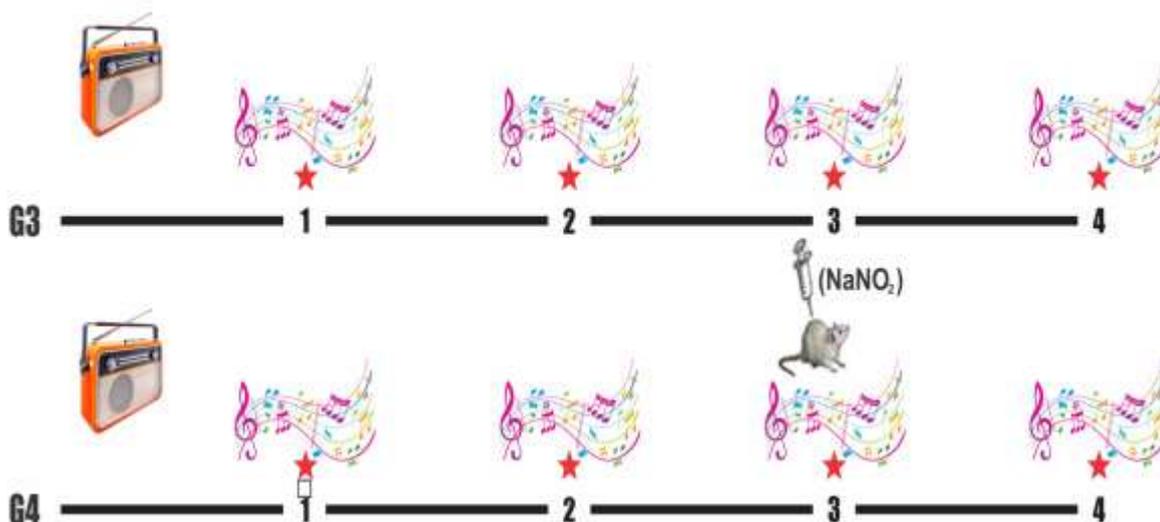
- **3º dia:** Após 24 h do primeiro teste, foi realizado o segundo a fim de avaliar a capacidade de MLD, seguindo os mesmos critérios procedimentais. Mediu-se o tempo que cada animal levou para descer da plataforma (latência de descida), novamente como uma medida de retenção da memória.

Os procedimentos experimentais de avaliação da aprendizagem e memória foram realizados no período da manhã (8 às 12h), para que não ocorressem interferências do ciclo circadiano dos animais e houvesse menor variação dos resultados obtidos. Após a observação de cada animal, o aparato foi limpo com álcool 10% a fim de minimizar o estímulo olfativo e evitar interferências no comportamento dos ratos.

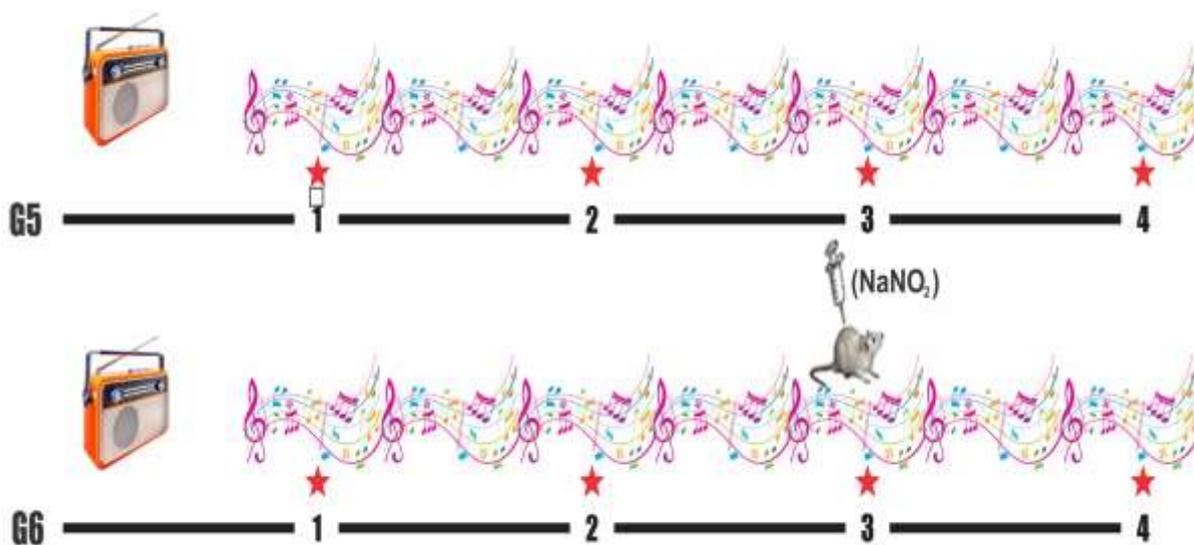
Normalmente, a reexposição ao ambiente aversivo favorece o aumento da permanência na plataforma, indicando que o estímulo repetido produz o conteúdo de memória nos animais, relacionado ao comportamento de descida da plataforma, ou seja, quanto mais tempo permanecer nela, maior será a latência de descida, indicando que a resposta final é decorrente da aprendizagem ao procedimento proposto (Deacon, 2002).



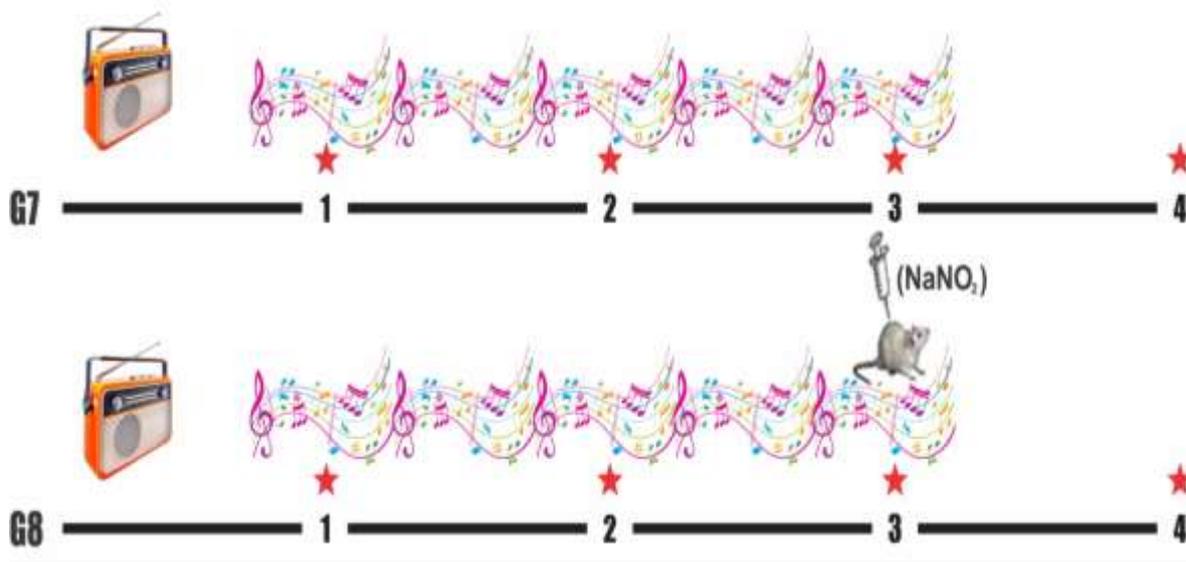
**Figura 5** - Representação Esquemática dos Procedimentos Experimentais nos grupos controles (G1) e NaNO<sub>2</sub> (G2). Na parte superior esquerda um aparelho de esquiwa inibitória do tipo *step down*, usado para avaliação da memória de curta duração (MCD) e memória de longa duração (MLD), cujos procedimentos eram realizados quando os animais completavam 1, 2, 3 e 4 meses de idade, sendo representados pelo símbolo estrela. A habituação ocorreu somente no primeiro contato do animal com o equipamento. As fases de treino e MCD se dava no mesmo dia com intervalo de 1h. A MLP, por sua vez, se constituía na terceira etapa experimental. Estes procedimentos se repetiram no grupo G2, sendo que o NaNO<sub>2</sub> era administrado as 3 meses de idade (Fonte: autoria própria, 2018).



**Figura 6** - Delineamento Experimental – grupos expostos à Sonata de Mozart (K.448) de forma aguda. A exposição ocorreu com os mesmos ratos com 1, 2, 3 e 4 meses, sendo tocada durante 4 dias antes de completarem cada idade (grupos 3 e 4). O grupo 4 foi induzido experimentalmente à HIE aos 3 meses de idade. (Fonte: autoria própria, 2018)



**Figura 7** - Delineamento Experimental – grupos expostos à Sonata de Mozart (K.448) de forma crônica à Sonata de Mozart (K.448). A exposição ocorreu com os mesmos em ratos com 1, 2, 3 e 4 meses, sendo tocada diariamente durante 4 meses (grupos 5 e 6). O grupo 6 foi induzido experimentalmente a HIE aos 3 meses de idade. (Fonte: autoria própria, 2018)



**Figura 8** - Delineamento Experimental – grupos expostos à Sonata de Mozart (K.448) de forma crônica à Sonata de Mozart (K.448). A exposição ocorreu com os mesmos em ratos com 1, 2 e 3 meses, sendo interrompida nesta idade, e tocada diariamente (grupos 5 e 6). O grupo 6 foi induzido experimentalmente a HIE aos 3 meses de idade. (Fonte: autoria própria, 2018).

### 3.6 Avaliação Comportamental

Apesar do fator estresse não compor o objetivo principal deste trabalho, foi considerada indispensável a percepção da sua manifestação nos sujeitos experimentais, uma vez que, por menos invasivo e controlado que fosse o ambiente experimental, estressores ambientais podiam se fazer presentes e, conseqüentemente, poderiam interferir no comportamental dos animais. Um conjunto de sintomas podem ser considerados característicos de comportamentos doentios em roedores (“*sickness behavior*”) (Anisman *et al*, 2007), dentre eles alterações na atividade geral, nas respostas ao manuseio, em sinais neurológicos e outros (aspecto do pêlo).

A avaliação foi realizada pelo grupo de pesquisa no início e no final dos experimentos. Os animais foram avaliados por meio de pontuações atribuídas com variação desde o estado normal a uma alteração grave.

### 3.7 Coleta de Amostras Biológicas

Ao final dos procedimentos experimentais, os animais foram anestesiados com ketamina (80 mg/kg) + xilazina (10 mg/kg) por via intraperitoneal, para a coleta de amostras sanguíneas de cortisol, glicose, colesterol e lactato. As amostras sanguíneas foram coletadas por punção cardíaca e o sangue colocado em tubos de exames, previamente identificados e encaminhados para laboratório especializado.

Em seguida foi realizada a decaptação em guilhotina e craniotomia. Com uma pinça, os ossos parietais foram afastados a partir da sutura sagital, sendo os encéfalos rapidamente removidos e lavados em solução fisiológica a 0,9%, sendo posteriormente, imersos em solução de formalina 10%. Decorridas 48h, os encéfalos foram clivados em cortes coronais e retirados fragmentos correspondentes à região hipocampal. Os tecidos foram processados, desidratados e liofilizados. Para tal, passaram por congelamento prévio, onde a quantidade de água foi reduzida por meio do processo de sublimação, para que depois fossem submetidos ao procedimento de secagem.

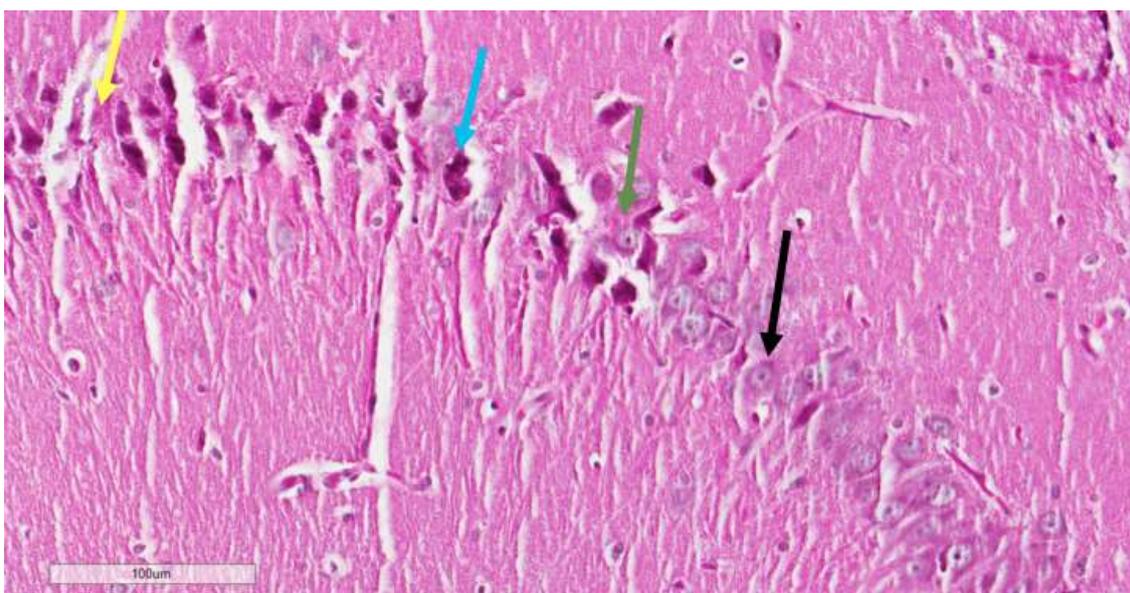
Posteriormente foram embebidos e emblocados em parafina, cortados com 2-5  $\mu\text{m}$  de espessura e corados com hematoxilina e eosina. Na região hipocampal foram analisadas especificamente as áreas CA1, CA2, CA3, CA4 e GD (Caceres *et al.*, 2010; Pawluski *et al.*, 2010; Uran *et al.*, 2012).

Nessa avaliação aplicou-se o aumento de 3,6 vezes na imagem, para visualização e seleção das referidas áreas. Em cada uma delas foi feita a marcação em aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ , nas quais os neurônios foram contados (Uran *et al.*, 2012). Optou-se pelo aumento de 16,6 vezes que possibilitou melhor visualização (Figura 9).

As imagens foram selecionadas e transportadas para o programa Power Point do Pacote Microsoft, versão Windows Vista 2008, para que pudessem ser diferenciados os neurônios íntegros dos que apresentavam lesões. As células lesionadas foram contadas por 3 examinadores, quando somente 1 conhecia os parâmetros estabelecidos. A média da contagem dos três examinadores combinou os dados que estão apresentados nos resultados. As lâminas foram escaneadas no aparelho Aperio Digital Pathology Slide Scanners: Leica Biosystems, pertencente ao Laboratório de Patologia, da Faculdade de Medicina, da UnB. Por fim, elas foram analisadas por meio do Software ImageScope, no qual foram ampliadas e analisadas.

### 3.8 Morfometria Histológica

A Figura 9 ilustra lesões celulares como necrose e apoptose, quando as células na primeira condição não apresentam núcleo ou quando não é possível distinguir a morfologia celular normal. Enquanto a apoptose é considerada o principal mecanismo de morte celular, a qual pode comprometer o desenvolvimento e a diferenciação do SNC e afetar negativamente suas funções (Kodavanti *et al.*, 2015).



**Figura 9** - Corte histológico do hipocampo de rata Wistar com 4 meses de idade e exposto a HIE induzida por NaNO<sub>2</sub> (aumento de 20x H&E). Seta preta - Células de aspecto normal. Seta amarela - Células apresentando necrose. Seta azul - Células com apoptose. Seta verde - Células com aparência de edema.

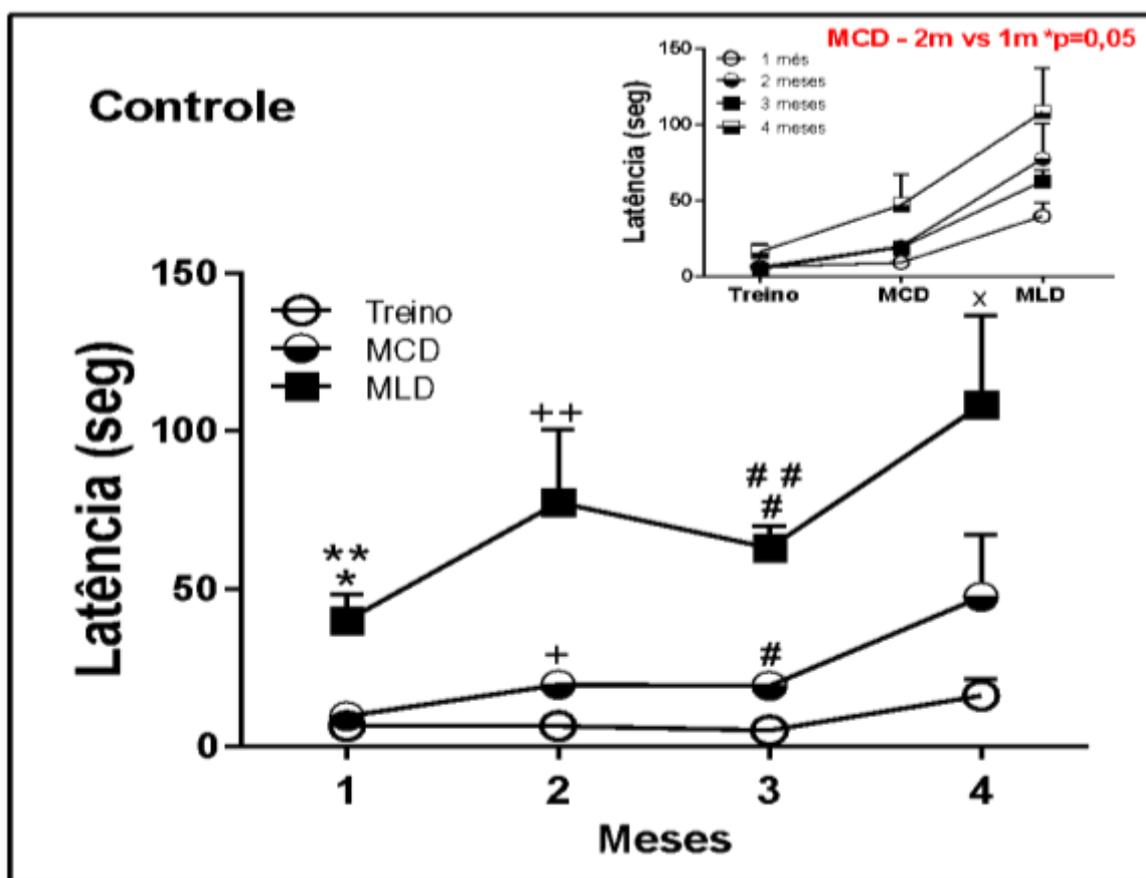
### 3.9 Análise Estatística

As avaliações estatísticas dos dados obtidos foram realizadas por meio da Análise de Variância (ANOVA) de três vias, com medidas repetidas, considerando as variáveis dependentes: idade, tipo de exposição à música e lesão por HIE. As diferenças observadas entre os grupos foram comparadas entre si pelo teste post-hoc de Sidak ou Bonferroni. O nível de significância estatística estabelecido foi de  $p \leq 0,05$ . O software para avaliação das amostras foi o Programa estatístico IBM SPSS ® VERSÃO 22. E para a confecção dos gráficos o Programa GraphPad Prism, versão 5.01®, 2010 (San Diego, CA).

## 4 Resultados

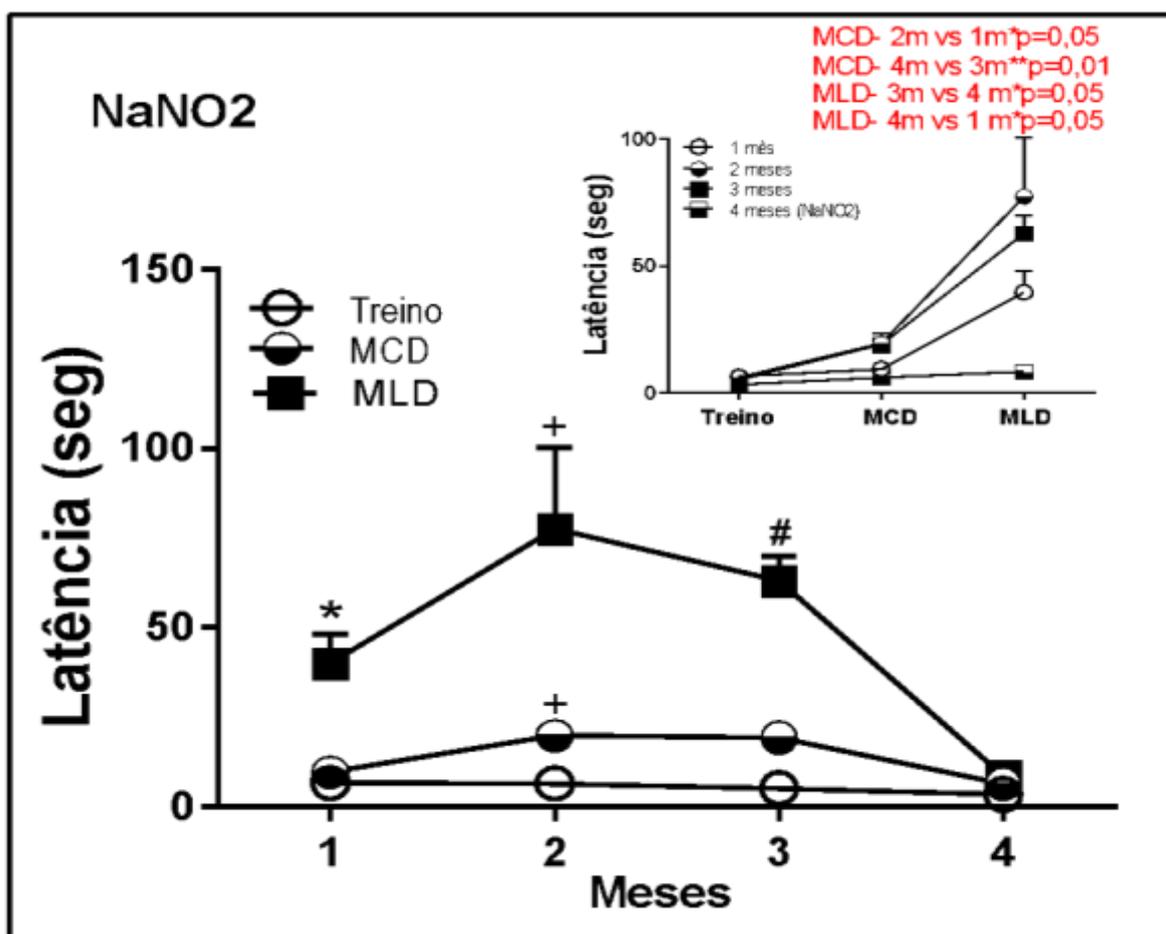
### 4.1 Controles

De acordo com a avaliação do desempenho dos ratos do grupo controle investigados, ou seja, não submetidos a nenhum tipo de tratamento, em diferentes idades (1, 2, 3 e 4 meses), foi demonstrado no teste de esQUIVA inibitória um aumento de latência, após a sessão de treino, quando o rato foi exposto ao estímulo aversivo. A MCD ficou evidente nos animais de 2 meses, ao passo que a MLD manifestou resultados positivos nos animais em todas as idades ( $p \leq 0,05$ ), caracterizando capacidade de aprendizagem e memória desses sujeitos (Figura 10).



**Figura 10** - Avaliação da memória de ratos controles (G1) no teste da esQUIVA inibitória, em três diferentes momentos - treino, MCD (1h após o treino) e MLD (24h após a MCD). As análises foram realizadas com os mesmos animais quando tinham 1, 2, 3 e 4 meses de idade. \* $p \leq 0,01$  MLD1 vs Treino1; \*\*  $p \leq 0,05$  representa diferença estatística MLD1 vs MCD1, +  $p \leq 0,01$  MCD2 vs Treino2; ++  $p \leq 0,05$  MLD2 vs Treino2; #  $p \leq 0,001$  MCD3 e MLD3 vs Treino3; ##  $p \leq 0,01$  MLD3 vs MCD3; e x  $p \leq 0,05$  Treino4 vs MLD4 (ANOVA, post hoc Sidak). MCD = memória de curta duração, MLD = memória de longa duração. As numerações após o Treino, MCD e MLD representam as idades dos animais.

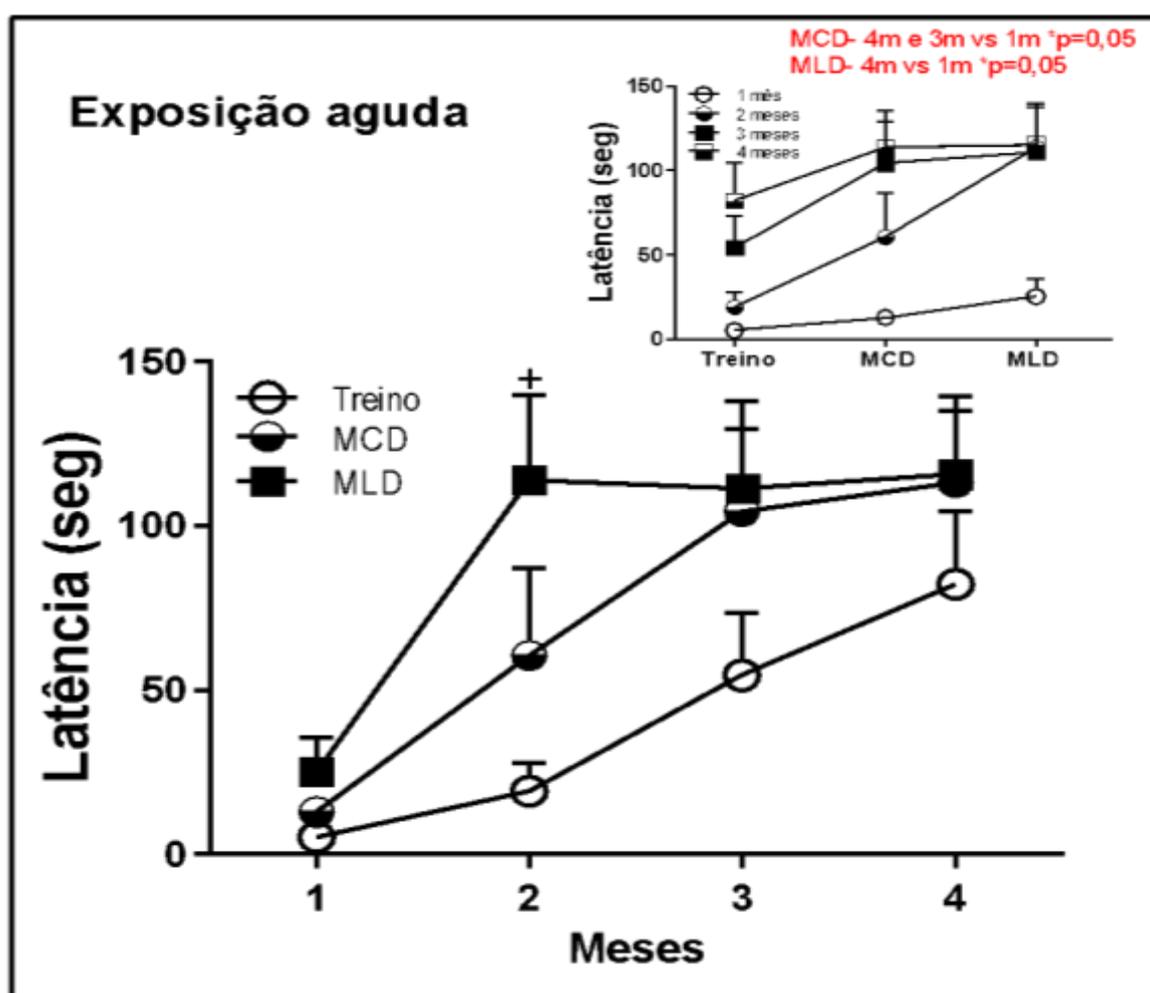
Observando-se o desempenho dos sujeitos controles restritos ao tratamento de indução da HIE, aos três meses de idade, foi possível identificar diferença significativa na latência ao longo dos meses, demonstrando diminuição do comportamento esperado, no que se refere ao tempo de permanência na plataforma, para as fases de avaliação da MCD e MLD após a indução da HIE (Figura 11). Houve diminuição da latência aos 4 meses, em comparação aos meses anteriores. Com isso, entende-se que o protocolo selecionado de lesão encefálica por hipóxia, foi capaz de interferir no comportamento e aspectos cognitivos dos ratos avaliados.



**Figura 11** - Avaliação da memória de ratos com NaNO<sub>2</sub> (G2) no teste da esquiwa inibitória, em três diferentes momentos - treino, MCD (1h após o treino) e MLD (24h após a MCD). As análises foram realizadas com os mesmos animais quando tinham 1, 2, 3 e 4 meses de idade, sendo que aos 3 meses de idade foram administrados com NaNO<sub>2</sub> para indução da hipóxia isquêmica encefálica. \*p≤0,01 MLD1 vs Treino1 e MCD1; + p≤0,05 MLD2 e MCD2 vs Treino2; # p≤0,01 MLD3 vs Treino3. MCD = Memória de curta duração; MLD = Memória de longa duração; NaNO<sub>2</sub> = Nitrito de Sódio. As numerações após o Treino, MCD e MLD representam as idades dos animais.

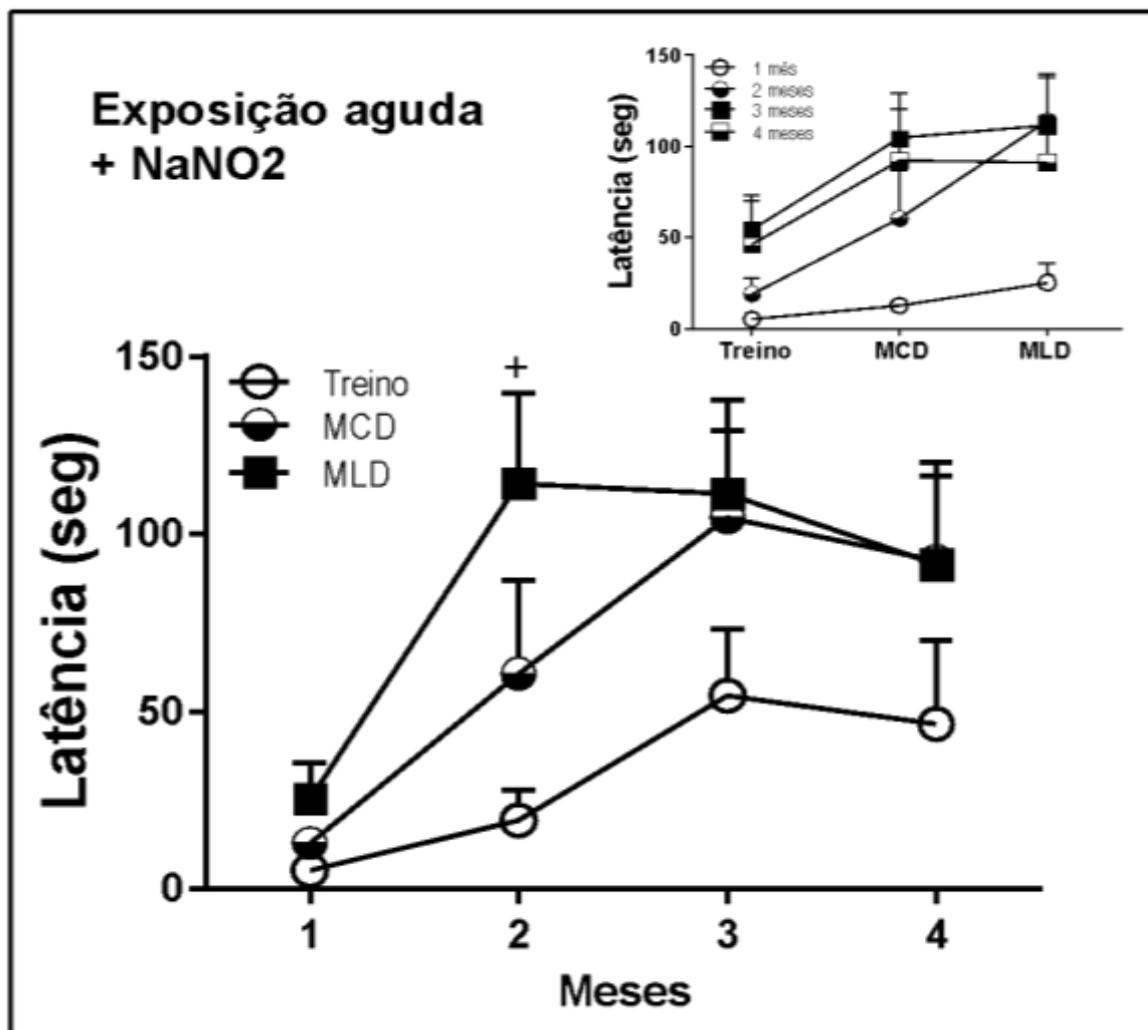
## 4.2 Exposição aguda à Sonata de Mozart

O grupo experimental G3 foi submetido à exposição à Sonata de Mozart para dois Pianos durante 4h/dia, em um período de 4 dias anteriores ao completarem cada idade (2, 3 e 4 meses). Apenas aos 2 meses de idade responderam claramente à MLD, onde a latência aumentou progressivamente com esta forma de exposição ( $p \leq 0,01$ ). De uma maneira geral, os ratos com 3 e 4 meses de idade apresentaram respostas similares, não havendo diferença significativa entre estas idades, provavelmente decorrente de exposições prévias no equipamento de esQUIVA inibitória (Figura 12).



**Figura 12** - Avaliação da memória de ratos expostos à música de forma aguda (G3) no teste da esQUIVA inibitória, em três diferentes momentos - treino, MCD (1h após o treino) e MLD (24h após a MCD). As análises foram realizadas com os mesmos animais quando tinham 1, 2, 3 e 4 meses de idade, sendo que a exposição à musica ocorria durante 4h/dia por 4 dias antes de completarem cada idade. + $p \leq 0,01$  MLD2 vs Treino2. MCD = Memória de curta duração; MLD = Memória de longa duração. As numerações após o Treino e MLD representam as idades dos animais.

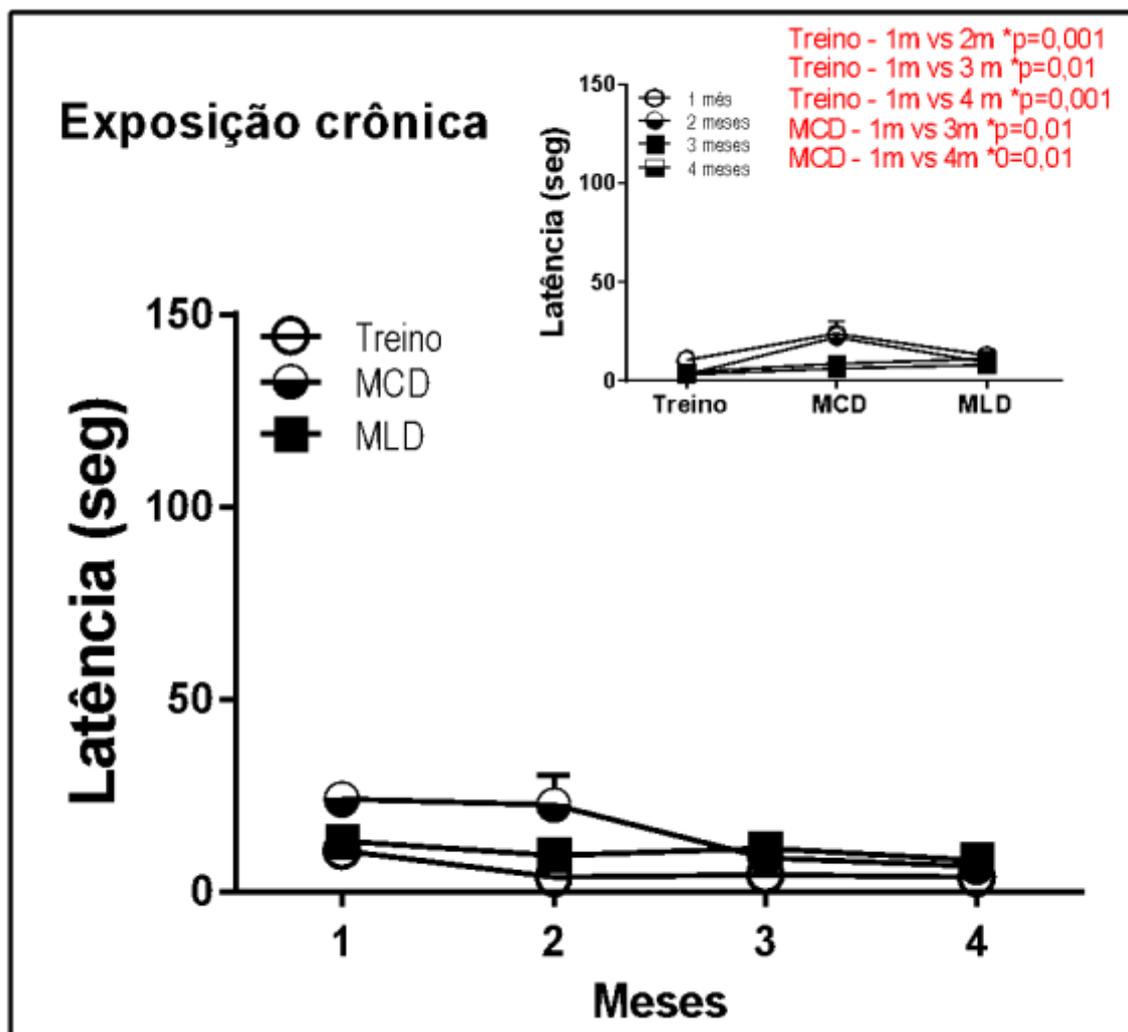
Em um grupo complementar de animais submetidos ao mesmo tipo de tratamento com a música, foi aplicado o NaNO<sub>2</sub>, com a intenção de induzir a HIE aos 3 meses de idade. Observou-se que os animais que receberam a sonata de forma aguda (G4) mantiveram a resposta prévia (Figura 13), diferentemente do que o observado nos controles, que receberam NaNO<sub>2</sub> (G2), que deixaram de responder ao tempo de latência na plataforma.



**Figura 13** - Avaliação da memória de ratos expostos à música de forma aguda e com NaNO<sub>2</sub> (G4) no teste da esQUIVA inibitória, em três diferentes momentos - treino, MCD (1h após o treino) e MLD (24h após a MCD). As análises foram realizadas com os mesmos animais quando tinham 1, 2, 3 e 4 meses de idade, sendo que aos 3 meses de idade foram administrados com NaNO<sub>2</sub> para indução da hipóxia isquêmica encefálica. A exposição à música ocorreu 4h/dia durante 4 dias antes de completarem cada idade. + $p \leq 0,05$  MLD<sub>2</sub> vs Treino<sub>2</sub>. MCD = Memória de curta duração; MLD = Memória de longa duração; NaNO<sub>2</sub> = Nitrito de Sódio. As numerações após o Treino e MLD representam as idades dos animais.

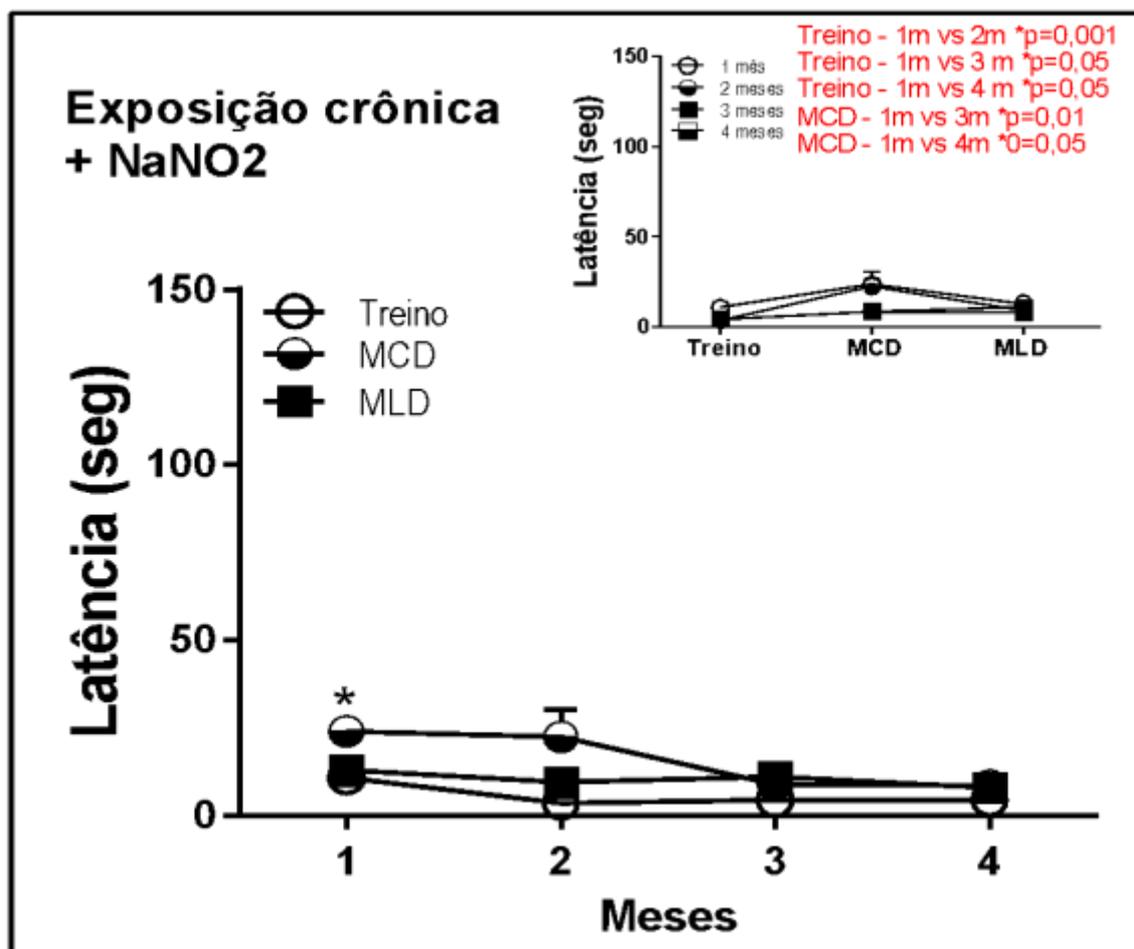
### 4.3 Exposição crônica à Sonata de Mozart

Na exposição crônica ao estímulo musical (Sonata de Mozart K 448), diariamente, sempre obedecendo aos mesmos horários de 2h na parte matutina e 2 h na parte vespertina, observou-se que os animais em todas as idades não responderam às MCD e MLD como os ratos submetidos à exposição aguda, conforme ilustrado na Figura 14.



**Figura 14** - Avaliação da memória de ratos expostos à música de forma crônica (G5) no teste da esQUIVA INIBITÓRIA, em três diferentes momentos - treino, MCD (1h após o treino) e MLD (24h após a MCD). As análises eram realizadas com os mesmos animais quando tinham 1, 2, 3 e 4 meses de idade, sendo que a exposição à música ocorreu 4h/dia durante 4 meses. \*p≤0,01 MCD1 vs Treino1. MCD = Memória de curta duração; MLD = Memória de longa duração. As numerações após o Treino e MCD representam as idades dos animais.

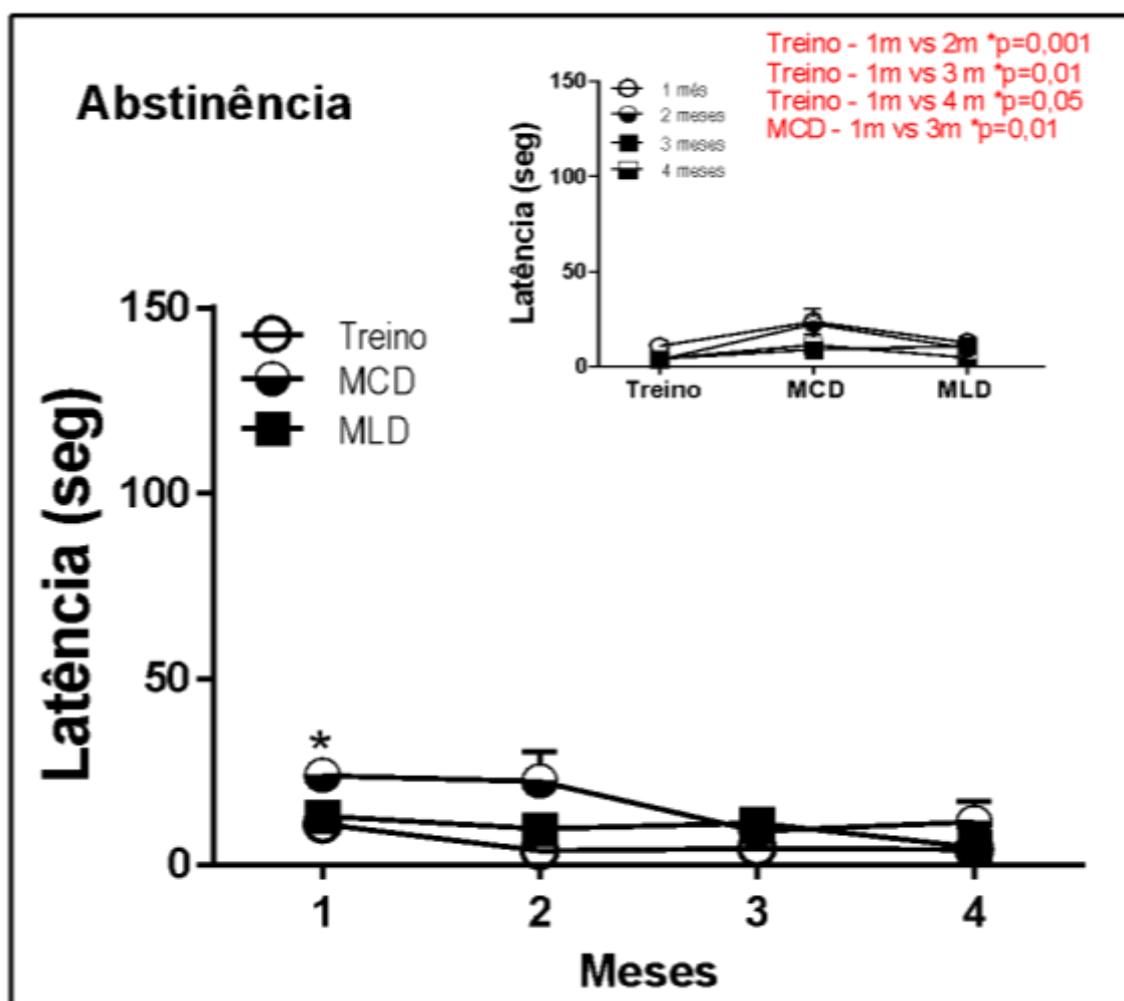
Assim como quando a música foi exposta de forma crônica e a HIE aplicada aos 3 meses de idade. Também não se observou permanência na plataforma da esQUIVA inibitória no grupo G6. A exposição à Sonata de Mozart de forma crônica, provavelmente, não protegeu os circuitos neurais afetados pelo NaNO<sub>2</sub>, e ainda, mostrou-se um estímulo ambiental causador de estresse, interferindo de maneira negativa nos resultados cognitivos e alterações comportamentais notadas durante toda a pesquisa (Figura 15).



**Figura 15** – Avaliação da memória de ratos expostos à música de forma crônica e com NaNO<sub>2</sub> (G6) no teste da esQUIVA inibitória, em três diferentes momentos – treino, MCD (1h após o treino) e MLD (24h após a MCD). As análises foram realizadas com os mesmos animais quando tinham 1, 2, 3 e 4 meses de idade, sendo que aos 3 meses de idade foram administrados com NaNO<sub>2</sub> para indução da hipóxia isquêmica encefálica. A exposição à música ocorreu 4h/dia durante 4 meses. \*\*p≤0,01 MCD1 vs Treino1. MCD = Memória de curta duração; MLD = Memória de longa duração; NaNO<sub>2</sub> = Nitrito de Sódio. As numerações após o Treino e MCD representam as idades dos animais.

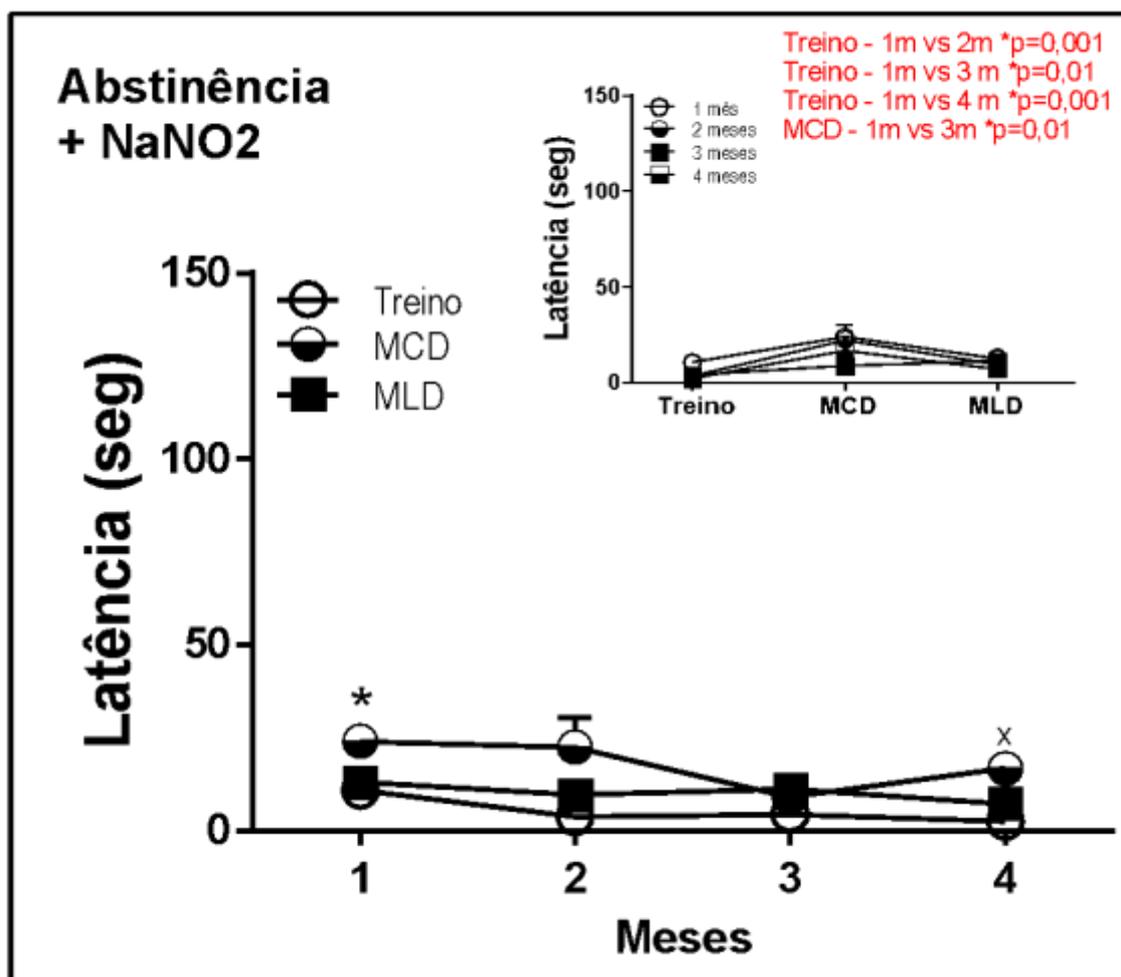
#### 4.4 Abstinência

Estes resultados também foram apresentados pelos animais expostos de modo crônico à música e aos 3 meses deixaram de receber abruptamente este estímulo, tornando-se abstinentes à música, demonstraram que a latência diminuiu nesta condição. Mesmo considerando o estímulo um fator ambiental indutor de estresse, após a retirada de tal estímulo, não revelou mudança no desempenho cognitivo (Figura 16).



**Figura 16** - Avaliação da memória de ratos expostos à música de forma crônica (G7) no teste da esquiwa inibitória, em três diferentes momentos – treino, MCD (1h após o treino) e MLD (24h após a MCD). As análises foram realizadas com os mesmos animais quando tinham 1, 2, 3 e 4 meses de idade, sendo que a exposição à música ocorreu 4h/dia durante 3 meses e posteriormente interrompida. \* $p \leq 0,01$  MCD1 vs Treino1. MCD = Memória de curta duração; MLD = Memória de longa duração.

Do mesmo modo, os animais que passaram pelo protocolo de abstinência assim como à indução da HIE, diminuiu a latência aos 3 e 4 meses de idade, o que indicou prejuízo no funcionamento cognitivo (Figura 17). Assim, observa-se que as diferenças entre as avaliações após 3 e 4 meses (em relação à avaliação após 1 mês) e o uso do NaNO<sub>2</sub> não são significantes ( $p = 0,01$ ).



**Figura 17** - Avaliação da memória de ratos expostos à música de forma crônica e com NaNO<sub>2</sub> (G8) no teste da esQUIVA inibitória, em três diferentes momentos – treino, MCD (1h após o treino) e MLD (24h após a MCD). As análises foram realizadas com os mesmos animais quando tinham 1, 2, 3 e 4 meses de idade, sendo que aos 3 meses de idade foram administrados com NaNO<sub>2</sub> para indução da hipóxia isquêmica encefálica. A exposição à música ocorreu 4h/dia durante 3 meses e posteriormente interrompida. \* $p \leq 0,01$  MCD1 vs TREINO1; X  $p \leq 0,05$  MCD4 e MLD4 vs Treino4. MCD = Memória de curta duração; MLD = Memória de longa duração; NaNO<sub>2</sub> = Nitrito de Sódio.

#### 4.5 Marcadores Bioquímicos

O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) desempenha um papel crucial na regulação de comportamentos e emoções, proporcionando respostas aos estímulos externos e internos. Com isso, o aumento de corticóides endógenos podem indicar a hiperatividade do eixo HPA e demonstrar disfunções neste circuito, consideradas a base de desordens afetivas como ansiedade, depressão e transtorno bipolar (Chen *et al.*, 2015).

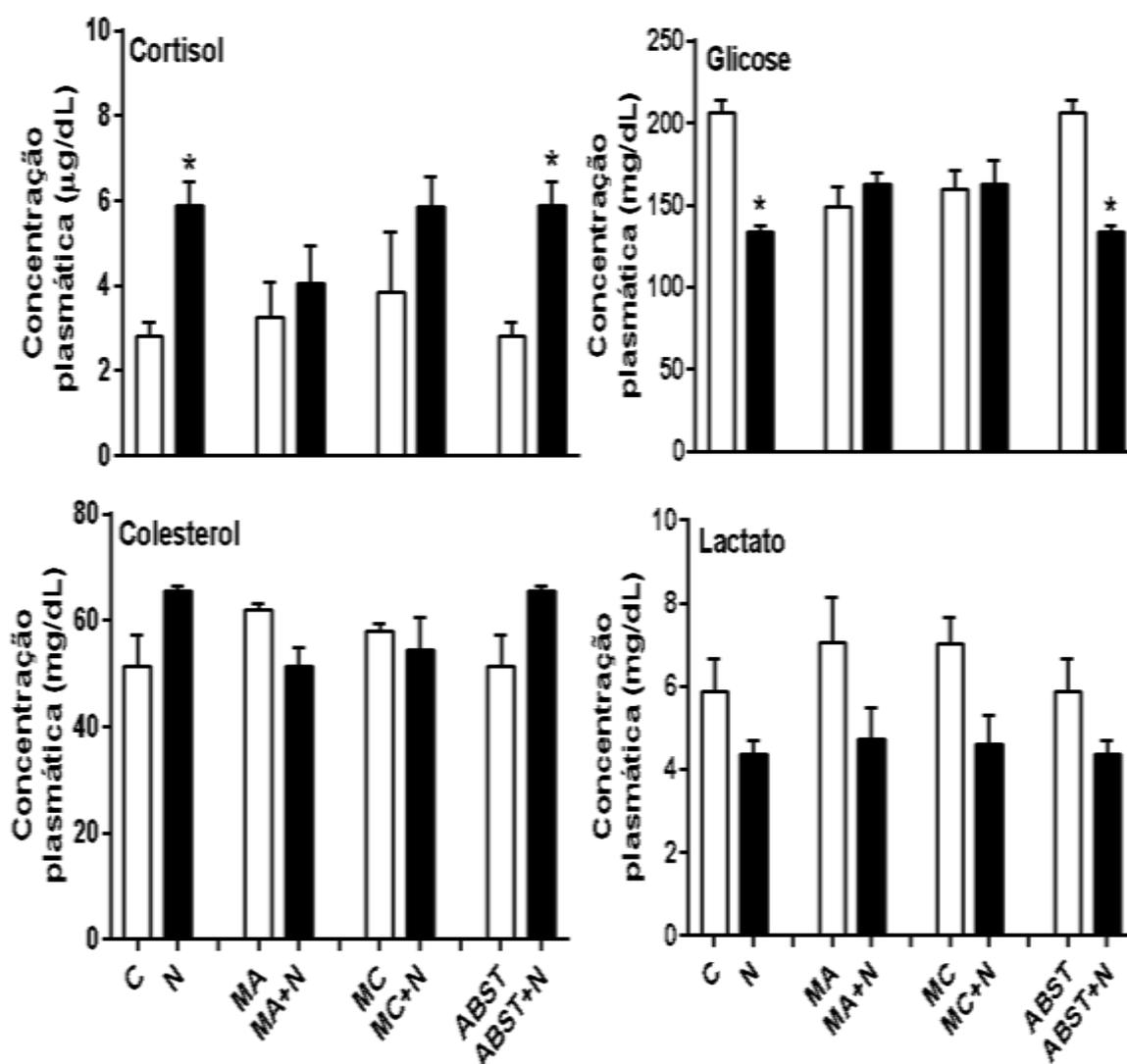
Os níveis de cortisol dos grupos que sofreram HIE induzida e os que também foram submetidos a exposição crônica à música apresentaram valores mais altos. Permitindo inferir que a soma da lesão e este tipo de exposição provocou efeito estressor sobre estes animais. Do mesmo modo, valores menores dos níveis de cortisol e colesterol no grupo de exposição aguda à música, indicou que este grupo estava sob menor efeito do estresse, como observado no quadro 4.

**Quadro 3** - Marcadores do Nível de Estresse (Cortisol, Glicose, Colesterol e Lactato).

Variáveis bioquímicas	Grupos	Média	Erro Padrão
Cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ )	G1	2,80	0,33
	G2	5,88	0,56
	G3	3,26	0,83
	G4	4,05	0,89
	G5	3,85	1,42
	G6	5,85	0,72
	G7	2,80	0,33
	G8	5,88	0,56
Glicose ( $\text{mg/dL}$ )	G1	206,40	7,76
	G2	133,60	4,51
	G3	149,00	12,36
	G4	162,80	7,24
	G5	159,80	11,40
	G6	162,80	14,41
	G7	206,40	7,76
	G8	133,60	4,51
Colesterol ( $\text{mg/dL}$ )	G1	51,20	6,13
	G2	65,60	0,95
	G3	62,00	1,12
	G4	51,20	3,75
	G5	58,00	1,42
	G6	54,40	6,25
	G7	51,20	6,13
	G8	65,60	0,95
Lactato ( $\text{mg/dL}$ )	G1	5,88	0,78
	G2	4,38	0,32
	G3	7,06	1,08
	G4	4,74	0,75
	G5	7,04	0,63
	G6	4,62	0,68
	G7	5,88	0,78
	G8	4,38	0,32

Enquanto que na figura 18 são representados estes dados em colunas e de forma que foi possível verificar a diferença estatística do cortisol do grupo controle (G1), com nível mais baixo e no grupo de HIE (G2) apresentando os resultados menos favoráveis, ou seja, os animais apresentaram os maiores índices de cortisol circulante, acompanhado dos grupos submetidos a HIE e exposição crônica à música (G6, G7 e G8). Sendo o cortisol o principal representante enzimático da manifestação de resposta ao estresse.

De modo geral, tanto os grupos de exposição aguda, quanto crônica à música, submetidos a HIE induzida, apresentaram resultados menos favoráveis, em quase todas as variáveis, exceto nos níveis de Lactato.



**Figura 18** - Avaliação dos marcadores enzimáticos envolvidos com o nível de estresse (Cortisol, Glicose, Colesterol e Lactato) provenientes de amostra biológicas coletadas de 5 ratos com 4 meses de idade de cada grupo experimental.

#### 4.6 Contagem dos Neurônios Lesionados

Alterações morfológicas cerebrais podem prejudicar a capacidade de aprendizagem e memória dos animais testados em comparação aos controles (Caceres *et al.*, 2010; Pawluski *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2017; Uran *et al.*, 2012).

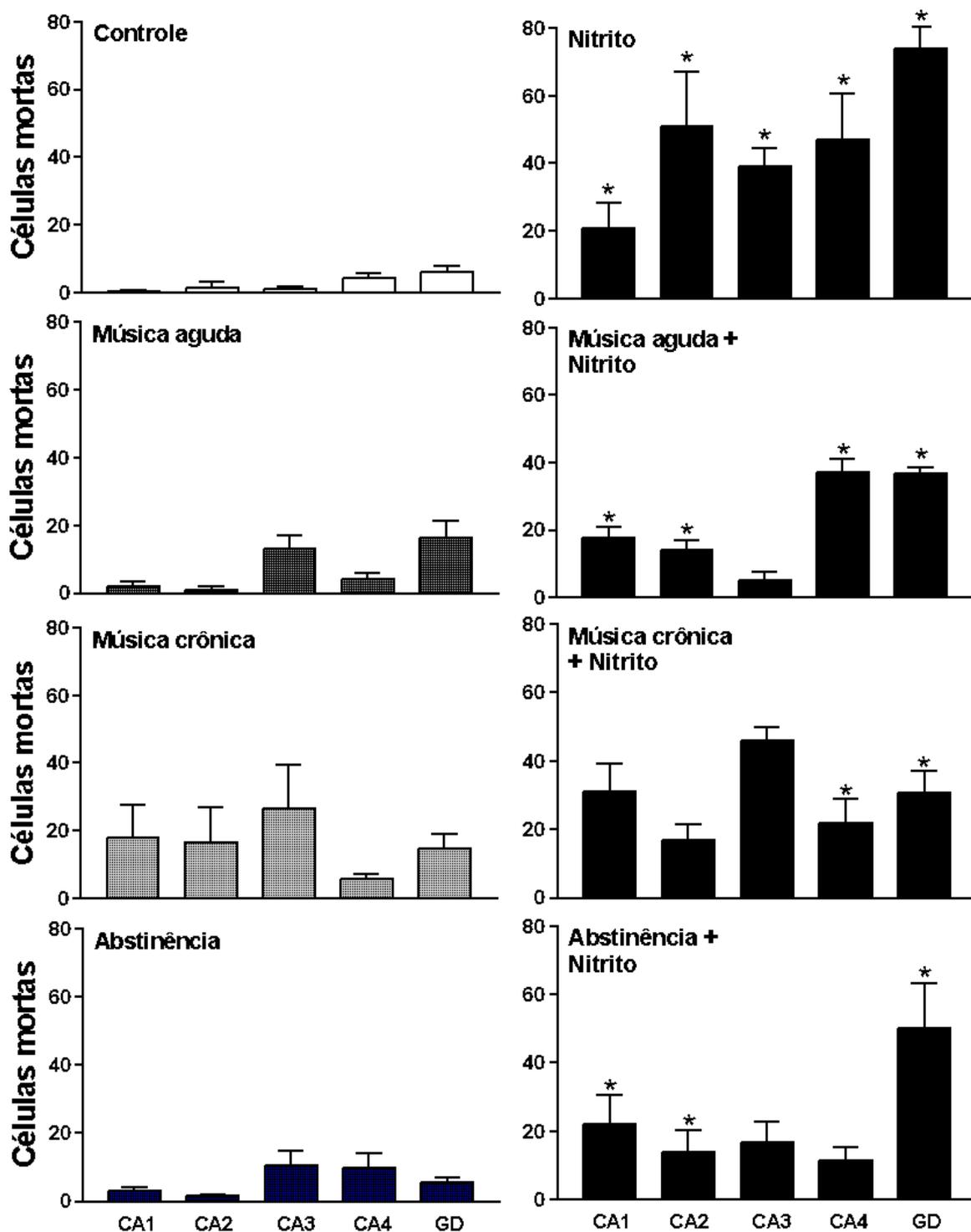
O número de neurônios saudáveis e lesionados nas regiões hipocâmpicas (CA1, CA2, CA3, CA4 e GD) estão representados nos gráficos abaixo (Figura 19) e nas imagens microscópicas das figuras 20 a 24, em seguida.

Por meio da análise histológica das regiões hipocâmpicas e contagem do número de células neuronais dos sujeitos experimentais, foi possível verificar que os grupos controle e os de exposição aguda à música (G1, G3 e G4) apresentaram maior número de neurônios saudáveis que lesionados. Já os grupos que foram submetidos a HIE induzida experimentalmente por NaNO<sub>2</sub> e nos grupos expostos de forma crônica à música (G2, G5, G6, G7 e G8), apresentaram número maior de neurônios lesionados que saudáveis, o que indica que houve hipóxia nos animais que foram intoxicados com NaNO<sub>2</sub> e lesões ao tecido cerebral.

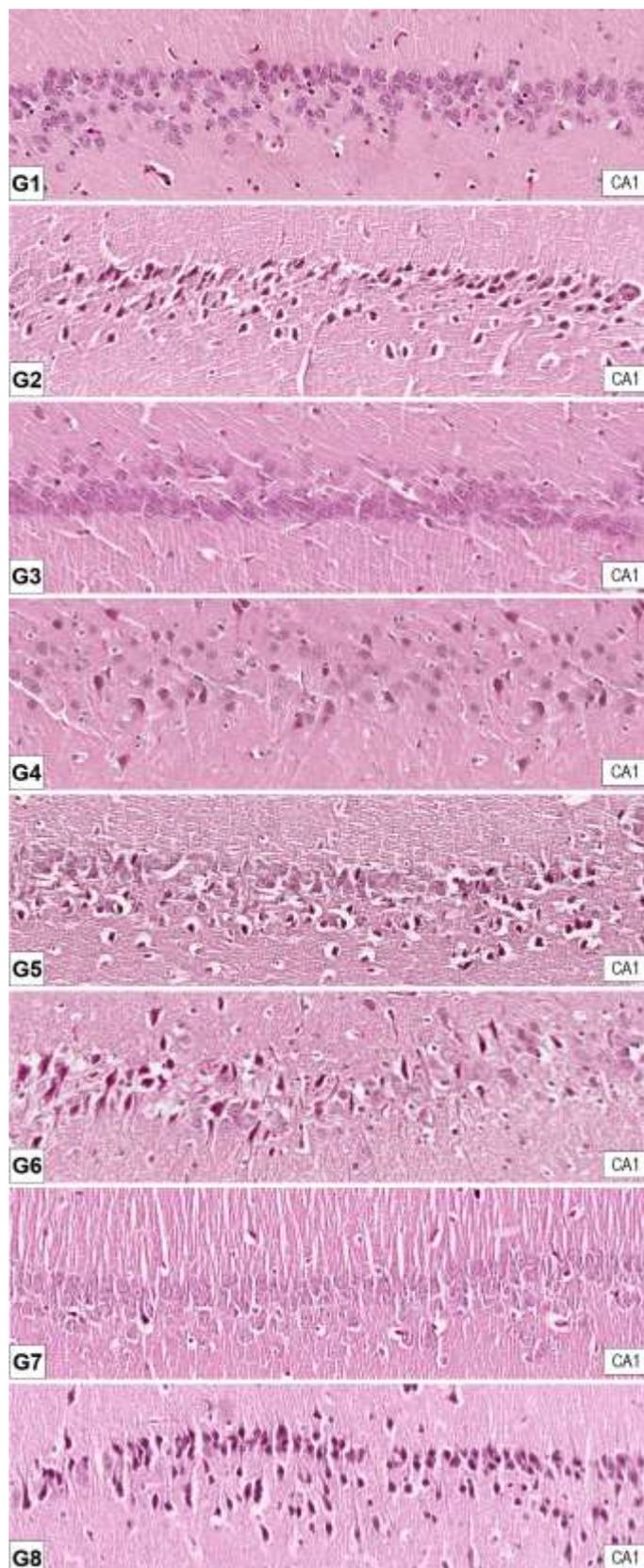
As regiões CA2 e GD em comparação às outras áreas, na contagem das células mortas foi significativa no grupo G2. A região GD também se destacou no número de células mortas, nos grupos G3, G5 e G8. A região CA3 mostrou grande quantidade de lesões às células nos grupos G2, G4 e G5.

Comparando-se os protocolos de exposição à música, o grupo de exposição crônica (G5) sofreu maior quantidade de morte celular que o grupo de exposição aguda (G3) em todas as regiões, exceto CA4. O tipo de exposição aguda (G4) ainda mostrou menos neurônios lesionados, mesmo após HIE, que o grupo controle de HIE (G2) em todas as regiões, exceto CA1.

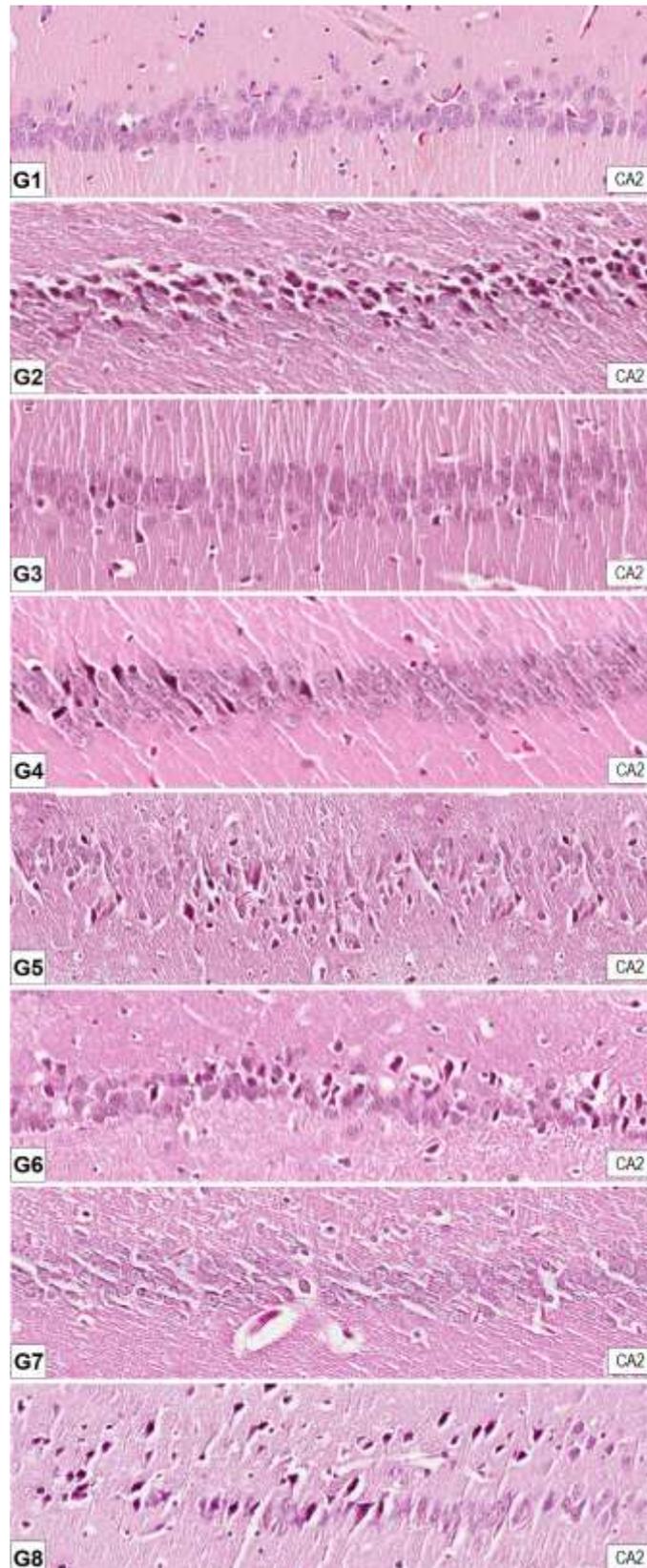
Em relação ao protocolo de abstinência, o grupo G7 demonstrou menos prejuízo em termos de lesão que o submetidos a HIE (G8) e ainda em comparação à exposição crônica da música (G5 e G6).



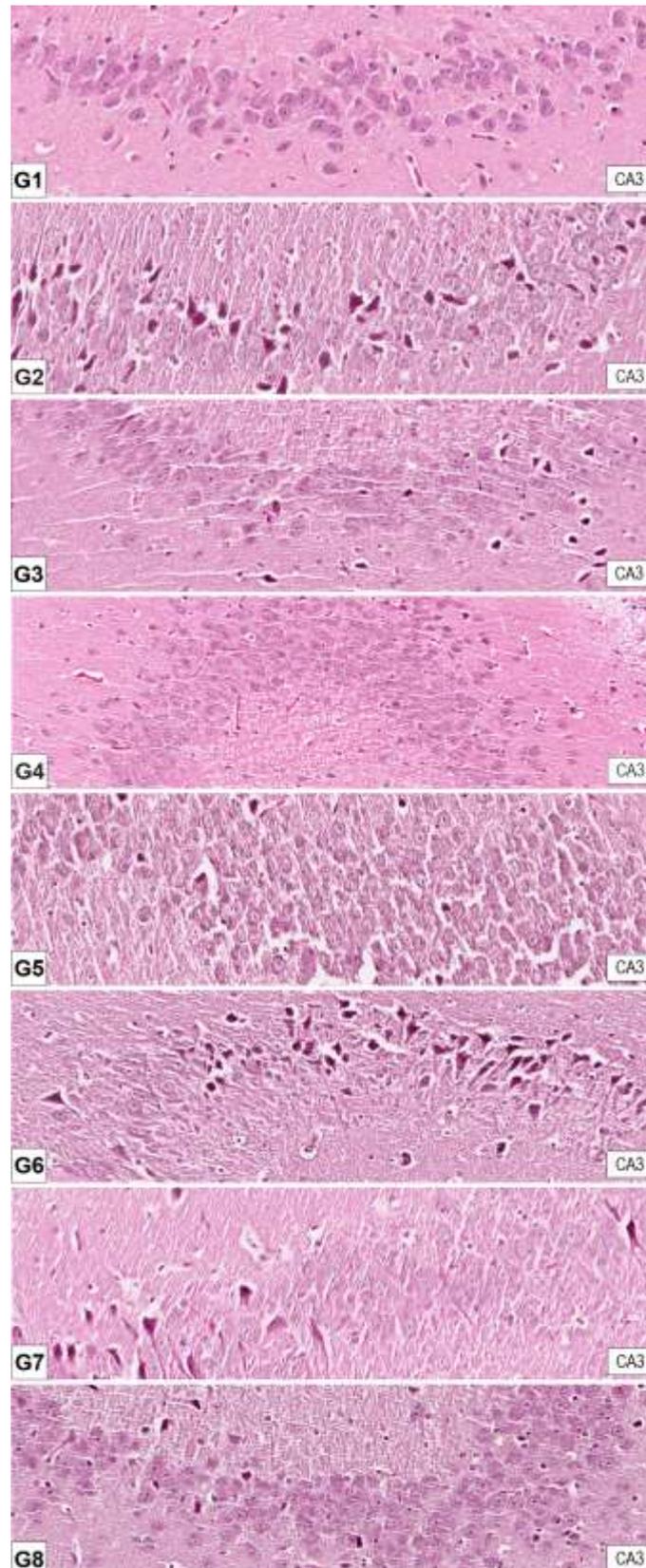
**Figura 19** - Contagem do número de neurônios lesionados das regiões CA1, CA2, CA3, CA4 e GD de 5 ratos de cada grupo experimental, com 4 meses de idade, sacrificados imediatamente após a coleta das amostras sanguíneas. CA = Corno de Amon, GD = Giro denteado. \*indica significância estatística dos grupos que receberam protocolos e intervenção em relação aos que não receberam.



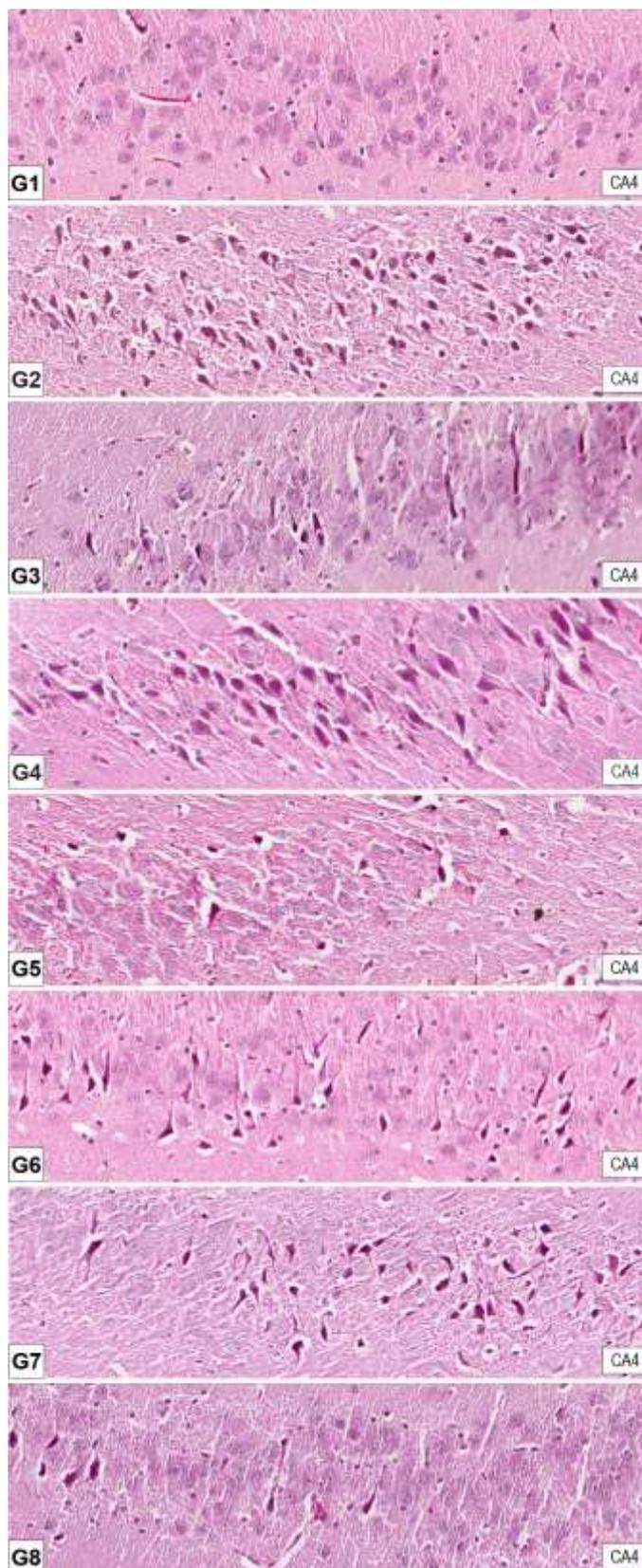
**Figura 20** - Imagens histológicas da área CA1 do hipocampo de ratos Wistar. A medida realizada foi de 100  $\mu$ m. G1= controle, G2= Hipóxia, G3= Exposição aguda à Sonata, G4= Exposição aguda à Sonata + Hipóxia, G5= Exposição crônica à Sonata, G6= Exposição crônica à Sonata + Hipóxia, G7= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses, G8= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses + Hipóxia.



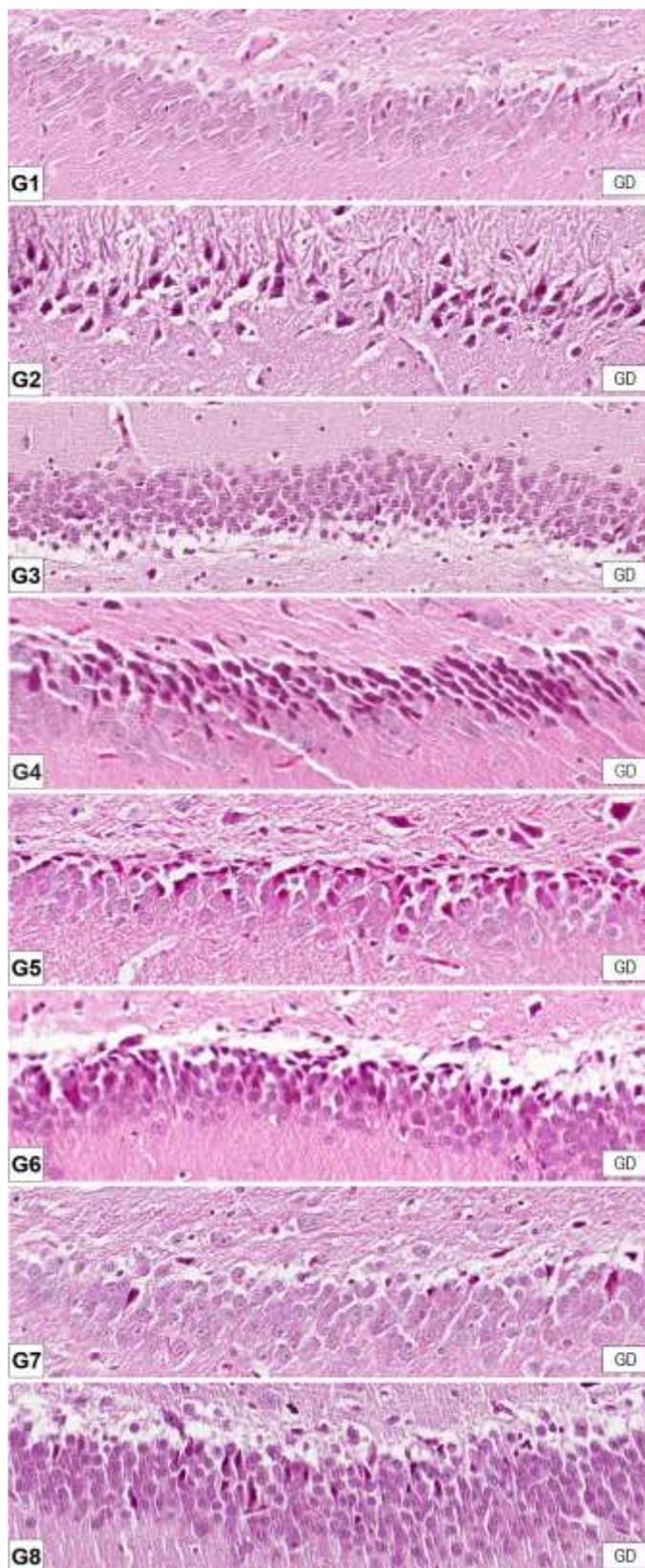
**Figura 21** - Imagens histológicas da área CA2 do hipocampo de ratos Wistar. A medida realizada foi de 100  $\mu$ m. G1= controle, G2= Hipóxia, G3= Exposição aguda à Sonata, G4= Exposição aguda à Sonata + Hipóxia, G5= Exposição crônica à Sonata, G6= Exposição crônica à Sonata + Hipóxia, G7= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses, G8= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses + Hipóxia.



**Figura 22** - Imagens histológicas da área CA3 do hipocampo de ratos Wistar. A medida realizada foi de 100  $\mu$ m. G1= controle, G2= Hipóxia, G3= Exposição aguda à Sonata, G4= Exposição aguda à Sonata + Hipóxia, G5= Exposição crônica à Sonata, G6= Exposição crônica à Sonata + Hipóxia, G7= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses, G8= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses + Hipóxia.



**Figura 23** - Imagens histológicas da área CA4 do hipocampo de ratos Wistar. A medida realizada foi de 100  $\mu$ m. G1= controle, G2= Hipóxia, G3= Exposição aguda à Sonata, G4= Exposição aguda à Sonata + Hipóxia, G5= Exposição crônica à Sonata, G6= Exposição crônica à Sonata + Hipóxia, G7= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses, G8= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses + Hipóxia.



**Figura 24** - Imagens histológicas do GD (giro denteado) do hipocampo de ratos Wistar. A medida realizada foi de 100  $\mu$ m. G1= controle, G2= Hipóxia, G3= Exposição aguda à Sonata, G4= Exposição aguda à Sonata + Hipóxia, G5= Exposição crônica à Sonata, G6= Exposição crônica à Sonata + Hipóxia, G7= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses, G8= Exposição crônica à Sonata interrompida aos 3 meses + Hipóxia.

#### 4.7 Análise Comportamental

A avaliação dos aspectos comportamentais foi a observação de conjunto de sintomas podem ser considerados característicos de comportamentos doentes em roedores (Anisman *et al.*, 2007), dentre eles atividade geral, resposta ao manuseio, sinais neurológicos e outros (comportamento de autolimpeza e aspecto do pêlo).

Com isso, os animais foram avaliados por meio de pontuações atribuídas da seguinte maneira: 0 = estado normal, 1 = leve alteração, 2 = alteração moderada e 3 = alteração grave. Os escores foram adaptados de estudos anteriores (Dantzer *et al.*, 2008; Ferreira, 2000; Lal *et al.*, 1988) que, ao final dos procedimentos, serviu de parâmetro para avaliação do nível de estresse causado pelas condições ambientais, conforme apresentado no quadro 3 (Isingrini *et al.*, 2010; Yalcin *et al.*, 2005; 2008).

**Quadro 4** - Análise Comportamental dos animais experimentais.

<b>ATIVIDADE ESPONTÂNEA ANTES DO MANUSEIO</b>				
Atividade Geral	Imobilidade = 0	Sem locomoção = 1	Locomoção ocasional = 2	Locomoção contínua ou rápida = 3
<b>RESPOSTA AO MANUSEIO</b>				
Vocalização	Sem som = 0	Som de baixa Intensidade = 1	Vocalização alta = 2	Vocalizações altas, repetitivas e contínuas = 3
Esquiva	Nenhuma = 0	Esquiva rápida = 1	Emite movimentos evasivos = 2	Pressiona o corpo contra a parede da gaiola = 3
<b>OUTROS</b>				
Ausência do comportamento de auto-limpeza (Aspecto do Pêlo)	Limp = 0		Pelagem suja ou de aparência alterada = 1	

(Fonte: Adaptado de Ferreira, 2000 e Ducottet & Belzung, 2004).

Foi possível identificar maiores índices de alterações comportamentais nos grupos referentes a lesões por HIE induzida e também os grupos que foram submetidos ao protocolo de exposição crônica à música. Manifestando desde locomoção contínua, vocalizações e pelagem de aparência suja. Diferentemente dos demais grupos, como os de protocolo de exposição aguda, que demonstraram pouca ou quase nenhuma alteração nestes aspectos.

## 5 Discussão

Durante os últimos anos, a música tem sido usada cada vez mais como uma ferramenta para a investigação da cognição humana e seus mecanismos cerebrais subjacentes. A música é um dos domínios sociocognitivos mais antigos e básicos da espécie humana (Koelsch & Siebel, 2005).

As evidências a respeito dos efeitos da música na cognição e comportamento de humanos e outros animais têm aumentado consideravelmente de maneira promissora, ainda que preliminarmente (Chanda & Levitin, 2013; Kreutz *et al.*, 2012), mas despertando reflexões importantes a respeito da música como ferramenta na reabilitação dos déficits cognitivos e comportamentais consequentes às lesões do SNC. O uso da música para fins terapêuticos tem demonstrado efeitos sobre distúrbios neurológicos e/ou psiquiátricos. No entanto, os mecanismos de ação subjacentes ao uso dessa ferramenta permanecem ainda pouco conhecidos (Chikahisa *et al.*, 2006; Fukui & Toyoshima, 2008).

Assim, a partir de estudos científicos que apontam a música como um agente capaz de influenciar processos neurobiológicos complexos, buscou-se compreender como ela pode desempenhar um papel importante de alternativa eficaz junto aos tratamentos tradicionais. É importante enfatizar que um modelo experimental perfeito para uso com animais é isomórfico às condições humanas e que se torna útil quando mostrada uma analogia relevante, ou seja, quando o modelo revela alguns aspectos de um processo complexo por meio de hipóteses testadas em humanos (McBride & Li, 1998).

Então, percebe-se a necessidade de empregar investigações rigorosas para compreender o mecanismo de ação da música, devendo isso estar relacionado à própria música ou à fatores embutidos, como distração, indução de humor, ou apenas como estímulo perceptivo-cognitivo. Isto tudo pode mostrar efeitos combinados à fatores já incorporados dentre as intervenções terapêuticas disponíveis (Chanda & Levitin, 2013; Sampaio, 2017).

Após a análise dos dados do presente experimento, foi possível verificar que houve diferença nos dados bioquímicos, nas variáveis relativas aos comportamentos sugestivos de ansiedade e de depressão, nas capacidades de aprendizagem e memória e também nas imagens histológicas das regiões hipocampais entre os grupos como discutido a seguir.

## 5.1 Exposição à Sonata de Mozart

O uso da música como método terapêutico tem sido interpretado como um facilitador de processos psicológicos, capaz de reduzir o estresse e respostas emocionais, mostrando resultados empíricos positivos às alterações neuroquímicas e comportamentais (Hegde, 2014; Bakker & Martin, 2014).

Desta forma, percebeu-se que a exposição à música produziu efeitos dependentes do tempo de exposição, uma vez que a exposição crônica, apresentada diariamente, mostrou prejudicar as funções de aprendizagem e memória, enquanto não foram observados prejuízos importantes na exposição aguda. Para investigar possíveis alterações moleculares/estruturais subjacentes a tais mudanças comportamentais, nós nos concentramos no hipocampo.

Provavelmente o prejuízo estrutural e funcional afetou fortemente a neurogênese, reduzindo a proliferação de células progenitoras após tratamento crônico e prejudicando a sobrevivência de neurônios recém-nascidos, podendo ser considerado um grande fator ambiental estressor e desencadeante de respostas bioquímicas ao estresse e manifestações comportamentais negativas ao desempenho nas tarefas propostas.

Esses dados também corroboram resultados prévios mostrando que os grupos expostos à Sonata de maneira aguda, demonstraram efeito ansiolítico e antidepressivo do estímulo musical nas manifestações comportamentais (Ribeiro, 2017; Sampaio *et al.*, 2017).

## 5.2 Avaliações Comportamentais e Bioquímicas e a Relação Com o Estresse

Os estudos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa exploraram como as alterações histológicas hipocâmpais provocadas pela HIE, induzida experimentalmente por NaNO<sub>2</sub>, refletiam diretamente sobre o comportamento. Foram realizados experimentos em diferentes momentos, pré e pós lesão, onde os ratos foram avaliados em equipamentos como Campo aberto, Labirinto em Cruz Elevado e Nado Forçado, testes que avaliam locomoção, ansiedade e depressão, respectivamente (Bezerra, 2017; Ribeiro, 2017).

Os marcadores de estresse foram avaliados por meio da verificação da concentração sanguínea de cortisol, glicose, colesterol e lactato. As lesões hipocâmpais foram verificadas por meio de estudo histológico das áreas hipocâmpais CA1 a CA4 e GD. Foi possível verificar que o NaNO<sub>2</sub> promoveu lesão encefálica por HIE, resultando em maior número

de células neuronais lesionadas nos animais submetidos a HIE induzida, desde a região CA1 a CA4 do hipocampo. Foram constatados aspectos negativos como diminuição do peso encefálico, manifestação de comportamentos ansiogênicos e depressivos.

Com isso, buscou-se compreender como lesões neurológicas, como a HIE, manifestam alterações comportamentais e, conseqüentemente, prejuízos a qualidade de vida e propor uma intervenção benéfica, que cause menos danos possíveis ao indivíduo.

### **5.3 Avaliação da Morfometria Histológica**

Por meio da análise histológica das lâminas esteve presentes tanto lesão neuronal por necrose, quanto por apoptose. Quantitativamente, o número médio de células saudáveis foi significativamente reduzido em ratos com HIE em comparação aos grupos que não sofreram HIE.

De maneira geral, constatou-se que os grupos que sofreram HIE também tiveram pior desempenho comportamental comparados aos grupos que não sofreram hipóxia. Porém, os animais que sofreram hipóxia e receberam o protocolo agudo da música apresentaram melhores resultados, tanto comportamentais quanto histológicos e, desta maneira, pode-se entender que a música contribuiu para impedir eventos deletérios frente a HIE. Os animais dos grupos com hipóxia, recebendo a mesma dose de NaNO<sub>2</sub>, que receberam as mesmas condições de alojamento, a música sustentou um potencial neuroprotetor sobre o hipocampo, região importante ao desempenho da memória e aprendizagem.

Os animais que sofreram hipóxia e receberam o protocolo de exposição crônica, por sua vez, demonstraram resultados não significativos. Faz-se necessário esclarecer os mecanismos neurais subjacentes ao tratamento com música, a fim de compreender melhor os possíveis mecanismos neurofisiológicos do Efeito Mozart. Adicionalmente é necessário estabelecer relevância entre o modelo animal adotado como estratégia de estimulação a readaptação funcional de redes neurais lesadas.

### **5.4 A Neuroplasticidade**

Funções cognitivas são frequentemente comprometidas por lesão cerebral do tipo HIE, gerando conseqüências devastadoras ao longo da vida de um indivíduo. Assim,

objetivou-se investigar neste estudo o uso da música como instrumento neuroprotetor contra déficits resultantes da HIE, em ratos experimentais.

Estudos como o de Zaidi (2010) demonstraram degeneração em regiões do hipocampo, CA1 a CA4 e GD, após indução de hipóxia por NaNO<sub>2</sub>, por meio da presença de núcleos picnóticos nas células nervosas e densidade celular significativamente menor em todas as regiões, com possibilidade de necrose. A hipóxia diminuiu significativamente a concentração de hemoglobina e produção da metemoglobina. A hemoglobina tem como principal função o transporte de oxigênio (O<sub>2</sub>) no sangue, e a metemoglobina é uma hemoglobina anormal, incapaz de executar sua função (Abdel Baky *et al.*, 2010; Nascimento *et al.*, 2008).

Considerando a neuroplasticidade, sabe-se que ela permite ao SNC aprender novas habilidades, consolidar e recuperar memórias, reorganizar redes neuronais em resposta a estímulos ambientais e recuperar-se após lesões (de los Angeles *et al.*, 2016; Schlett, 2006).

Portanto, um ambiente enriquecido tem mostrado efeitos benéficos na estrutura e função do hipocampo, como melhora da memória, aumento da neurogênese e plasticidade sináptica (Bhagya *et al.*, 2017). Fornece estimulação multissensorial, modula as funções cognitivas, aumentando a neurogênese, aumento da complexidade dendrítica nos neurônios e melhora do desempenho na memória e aprendizagem (Beauquis *et al.*, 2010; Passineau *et al.*, 2001; Veena *et al.*, 2009).

Nesta pesquisa a HIE induzida pelo NaNO<sub>2</sub> produziu uma lesão significativa na região hipocampal, principalmente nas áreas CA1, CA2, CA3, CA4 e GD uma vez que foram observados aspectos característicos de necrose e apoptose. Dessa maneira, observa-se que o hipocampo é uma região de associação que integra informações sensoriais altamente processadas em representações configuracionais complexas (McDonald, 2016). A interação entre o córtex pré-frontal medial e o hipocampo é essencial para a memória episódica em ratos (Kheradmand *et al.*, 2018).

De modo geral, observou-se que a HIE prejudicou as respostas relacionadas aprendizagem/memória, no teste da esQUIVA inibitória do tipo “*step down*”, e que a Sonata de Mozart foi capaz de mediar prejuízos no desempenho do teste. O que foi dependente do tempo de exposição da mesma, visto que a melhor resposta observada foi apresentada a partir da exposição de curta duração. Enquanto a exposição de longa duração comprometeu a aprendizagem dos animais de tal maneira que não contribuiu para a reversão ou interrupção das lesões decorrentes da HIE. Com isso, a indução da HIE foi menos prejudicial aos sujeitos expostos à Sonata na medida de curta duração.

Durante a avaliação, dois ensaios de retenção foram usados em cada animal, o primeiro 1 hora após o treino, para medir a aprendizagem e o segundo após 24 horas, para medir a memória. A diferença entre o tempo que o animal permaneceu sobre a plataforma na sessão de teste e o tempo que permaneceu na sessão de treino, foi estabelecida como medida que permitiu inferir a ocorrência da aprendizagem. Quando a latência no teste foi maior que a de treino, inferiu-se que o animal recordou a exposição ao contexto aversivo (choque), ocorrendo assim a aprendizagem.

Os ratos expostos ao tratamento musical apresentaram modificações de estruturas ligadas à aprendizagem e memória (Chikahisa *et al.*, 2006). Estima-se assim, o uso da música como instrumento de estimulação para melhoria no desempenho de habilidades cognitivas e comportamentais (Chengzhi *et al.*, 2011; Kraus *et al.*, 2014; Xing *et al.*, 2016). Os resultados da presente pesquisa sugerem que essa plasticidade neuronal ocorreu considerando que quando os animais foram expostos a curta duração foram consideravelmente reduzidos, provavelmente ao fato da terapia musical ter protegido o longo do desenvolvimento dos animais.

Mesmo que ainda não esteja claro como especificamente a música melhora a capacidade cognitiva, é provável que a música possa ser utilizada como uma ferramenta auxiliar para a tratamento de danos cerebrais. E deste modo, abrir perspectivas importantes para a música como ferramenta de reabilitação. Como possibilidade de compor novos tratamentos neuroprotetores, estendendo uma janela terapêutica, a fim de promover o ajustamento funcional.

A música ativa circuitos neurais, como as partes do sistema nervoso ligadas ao comportamento emocional, tais como a ínsula, cíngulo, o hipocampo, a amígdala e o córtex pré-frontal (Tasset *et al.*, 2012). Em investigações realizadas com o uso da Ressonância Magnética Funcional, percebeu-se que adultos e crianças apresentaram ativação no lobo frontal e na porção anterior do giro temporal superior (Koelsch *et al.*, 2005). Além disso, a exposição à música aprimorou a performance da memória avaliada pelo teste de esQUIVA inibitória em ratos (Angelucci *et al.*, 2007).

Em resumo, de acordo com a observação comportamental, os sujeitos experimentais manifestaram alterações de acordo com o tratamento submetido, a exemplo dos que receberam o protocolo de indução à hipóxia induzida, pois demonstraram melhora na recuperação da memória e na consolidação da memória de reconhecimento. Produzindo um efeito deletério, ou seja, uma consequência que acarreta danos importantes dependentes do tratamento utilizado.

## 5.5 Análises das Hipóteses

Ao relacionar os resultados comportamentais com os achados histológicos, foi possível verificar que o grupo que mais se beneficiou dos efeitos da Sonata de Mozart foi o que recebeu o protocolo de música aguda, sem lesão e após lesão encefálica, tanto no que tange o efeito de aprendizagem e memória, quanto nos dados bioquímicos e histológicos.

O estudo permitiu compreender que a aplicação da Sonata de Mozart tem potencial para melhorar aspectos cognitivos após o acometimento da HIE em animais. Uma vez que todos os animais receberam as mesmas condições de alojamento, alimentação e para os grupos com hipóxia, a mesma dose de NaNO<sub>2</sub>, o fator diferencial entre os grupos pode ter sido a música, indicando um potencial neuroprotetor sobre o hipocampo.

Ao se projetar estes achados em humanos, é provável haver repercussões positivas sobre aspectos comportamentais e, conseqüentemente, na qualidade de vida de pessoas com lesões encefálicas. Então, a abordagem da música como instrumento de estimulação pode imprimir ao paciente intervenções com melhorias biopsicossocial.

Nossos resultados mostraram que, o intervalo de 1 mês para cada 4 dias de exposição a sonata de Mozart foi expressivamente diferente da exposição diária da mesma Sonata. Os ratos submetidos a exposição aguda levaram significativamente mais tempo para descer da plataforma da esquiiva inibitória que os submetidos a exposição crônica.

Estes dados sugerem que a exposição de 4h/ 4dias é mais eficaz que expor o estímulo musical da Sonata diariamente. Em nossa opinião, uma conclusão tão singular poderia ser atribuída a vários parâmetros das condições de alojamento, tempo de teste e protocolo, bem como a tensão da escolha do rato, fatores ambientais altamente estressantes, manifestando danos acerca da plasticidade do hipocampo, desempenho no teste de esquiiva inibitória, contagem de células neuronais, alteração comportamental, a exemplo da observação dos aspectos da pelagem do animal e do nível de cortisol. No entanto, mais estudos serão necessários para validar este modelo.

Essas descobertas sugerem que a natureza do efeito de Mozart é o efeito do ritmo dessa composição musical, podendo indicar que músicas diferentes podem ter efeitos diferentes para efeitos opostos. Estudos adicionais sobre o efeito do ritmo podem fornecer melhores conclusões para entender a base comum sobre animais de ratos para humanos.

## 5.6 Sugestões para estudos futuros

A pesquisa neurocientífica na música está dando origem a novas ideias, perspectivas e métodos. Elas parecem ser perspectivas promissoras de uma possível contribuição para uma base científica teórica e empírica para a musicoterapia.

Sugere-se que em estudos posteriores seja incluída uma análise paramétrica da condição de exposição à Sonata de Mozart para dois pianos K 448. Por exemplo, no que diz respeito ao processamento do significado musical, mais pesquisas são necessárias para discernir as propriedades físicas que determinam os sinais acústicos e informações musicais mais complexas.

É possível também aproveitar mais ainda a música de Mozart para investigar o planejamento e o controle de ações altamente complexas, aquisição de habilidades motoras e influências das emoções. O forte impacto da música, especialmente do ritmo, nas ações motoras faz da música uma ferramenta valiosa para investigar os mecanismos e as representações compartilhadas subjacentes à percepção e produção da música.

As tecnologias de neuroimagem podem ser associadas a melhores investigações, podendo demonstrar ativações específicas não apenas o córtex auditivo, mas também em grande parte do cérebro cognitivo, incluindo áreas que processam a linguagem, as emoções e a recompensa, memória, entre outras, a tipos específicos de estímulos musicais.

Nesse sentido, a pesquisa deve aumentar o número de estudos baseados em fortes critérios metodológicos, incluindo uma descrição clara da intervenção, uma amostra consistente e numericamente significativa, além de ferramentas mais sensíveis para avaliar resultados motores e psicológicos.

Em conclusão, uma metodologia de pesquisa mais forte e uma definição mais clara do meio exato ou parâmetro na música relacionada ao resultado específico da reabilitação são necessárias. Isso permitirá o desenvolvimento de abordagens de musicoterapia adequadas e cada vez mais específicas e eficazes.

Por fim, é necessária uma perspectiva de maior avanço na área, incluindo a colaboração das neurociências, neurologia, musicoterapia e psicologia, como um caminho para prosseguir investigações de pesquisa mais conclusivas.

## 6 Conclusões

O presente estudo permitiu a investigação de alterações cognitivas e histológicas na região hipocampal dos animais experimentais que passaram pelos procedimentos de HIE induzida e das exposições aguda e crônica à música.

- No teste de esQUIVA inibitória, foi reduzido significativamente o tempo de permanência dos ratos na plataforma dos grupos submetidos a lesão por HIE.

- Os grupos que receberam o protocolo de exposição aguda à música apresentaram maior número de neurônios saudáveis em todas as regiões hipocampais e foi possível identificar mudanças positivas na avaliação da memória.

- Os grupos submetidos a exposição aguda, após lesão encefálica, também apresentou maior número de neurônios saudáveis em quase todas as áreas hipocampais. Indicando que no hipocampo, a exposição aguda, após lesão, foi a que rendeu melhores resultados – proteção das células neuronais frente à lesão.

- Os animais que receberam o protocolo de exposição crônica, após a lesão, não apresentaram contagem de neurônios saudáveis tão proeminente quanto a exposição aguda.

- A exposição crônica à Sonata revelou efeitos negativos à memória, interferindo no desempenho dos ratos no teste de esQUIVA inibitória, com diminuição do tempo de permanência na plataforma.

- Os prejuízos às células neuronais, consequentes às lesões da HIE, são passíveis de serem reduzidos com a exposição aguda à Sonata de Mozart. Podendo ser considerada uma ferramenta importante para estimulação à plasticidade neuronal.

- À respeito das variáveis bioquímicas (níveis de cortisol, colesterol, lactato e glicose) houveram alterações importantes desses níveis em relação ao estado de homeostase, especialmente nos grupos de HIE e os de exposição crônica à música.

- Do mesmo modo, a avaliação comportamental sofreu interferência dos tipos de protocolos utilizados, ou seja, os grupos que foram submetidos a HIE assim como os expostos de forma crônica à música manifestaram maiores índices de alterações em resposta ao manuseio, vocalização e pouco ou nenhum comportamento de autolimpeza, modificando o aspecto da pelagem destes animais. Em contrapartida, os grupos de exposição aguda à música não demonstraram alterações importantes.

## 7 Referências

- Abdel Baky, N. A., Zaidi, Z. F., Fatani, A. J., Sayed-Ahmed, M. M. & Yaqub, H. (2010). Nitric oxide pros and cons: The role of L-arginine, a nitric oxide precursor, and idebenone, a coenzyme-Q analogue in ameliorating cerebral hypoxia in rat. *Brain Research Bulletin*, 83, 49-56.
- Altenmüller, E. & Schlaug, G. (2015). Apollo's gift: new aspects of neurologic music therapy. *Progress in Brain Research*, 217, 237-252.
- Amagdei, A., Baltes, F. R., Avram, J., & Mil, A. C. (2010). Perinatal exposure to music protects spatial memory against callosal lesions. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 28, 105-109.
- Angelucci, F., Ricci, E., Padua, L., Sabino, A., & Tonali, P. A. (2007). Music exposure differentially alters the levels of brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in the mouse hypothalamus. *Neuroscience Letters*, 429, 2, 152-155.
- Anisman, H., Poulter, M. O., Gandhi, R., Merali, Z., Hayley, S. (2007). Interferon- $\alpha$  effects are exaggerated when administered on a psychosocial stressor backdrop: Cytokine, corticosterone and brain monoamine variations. *Journal of Neuroimmunology*, 186, 45-53.
- Ansari, F. A., Ali, S. N. & Mahmood, R. (2015). Sodium nitrite-induced oxidative stress causes membrane damage, protein oxidation, lipid peroxidation and alters major metabolic pathways in human erythrocytes. *Toxicology in Vitro*, 29, 7, 1878-1886.
- Antorveza, I. G. (2017). Está de Moda La Musicoterapia. *Revista Universidad de La Salle, Columbia*, 34, 113-126.
- Baddeley, A., Anderson, M. C. & Eysenck, M. W. (2011). *Memória*. Porto Alegre: Artmed.
- Badhwar, A., Lerch, J. P., Hamel, E. & Sled, J. G. (2013). Impaired structural correlates of memory in Alzheimer's disease mice. *NeuroImage: Clinical*, 3, 290-300.
- Bakker, D. R. & Martin, F. H. (2014). Musical chords and emotion: Major and minor triads are processed for emotion. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 15, 15-31.
- Balleine, B.W. & Killcross, S. (2006). Parallel incentive processing: an integrated view of amygdala function. *Trends Neuroscience*, 29, 272-279.
- Bari, A., Dalley, J. W. & Robbins, T. W. (2008). The application of the 5-choice serial reaction time task for the assessment of visual attentional processes and impulse control in rats. *Nature*, 3, 5, 759-67.
- Bartel, L. R., Chen, R., Alain, C. & Ross, B. (2017). Vibroacoustic stimulation and brain oscillation: from basic research to clinical application. *Music and Medicine*, 9, 153-66.

- Beauquis, J., Roig, P., De Nicola, A. F., & Saravia F. (2010). Short-term environmental enrichment enhances adult neurogenesis, vascular network and dendritic complexity in the hippocampus of type 1 diabetic mice. *PLoS One*, 5, 13993.
- Beauvais, C. (2015). The 'Mozart Effect': A Sociological Reappraisal. *Cultural Sociology*, 9, 2, 185-202.
- Bezerra, T. S. (2017). Complicações neurológicas decorrentes da hipóxia isquêmica encefálica induzida experimentalmente por nitrito de sódio. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina, da Universidade de Brasília.
- Bhagya, V. R., Srikumar, B. N., Veena, J., & Rao, B. S. S. (2017). Short-Term Exposure to Enriched Environment Rescues Chronic Stress- Induced Impaired Hippocampal Synaptic Plasticity, Anxiety, and Memory Deficits. *Journal of Neuroscience Research*, 95,1602-1610.
- Bodner, M., Muftuler, L. T., Nalcioglu, O., & Shaw, G. L. (2001). fMRI study relevant to the Mozart effect: brain areas involved in spatial-temporal reasoning. *Neurological Research*, 23, 7, 683-690.
- Bowman, A., Scottish, S. P. C. A., Dowell, F. J. & Evans, N. P. (2015). 'Four Seasons' in an animal rescue centre; classical music reduces environmental stress in kennelled dogs. *Physiology & Behavior*, 143, 70-82.
- Caceres, L. G., Bertolino, L. A., Saraceno, G. E., Zubilete, M. A. Z., Uran, S. L., Capani, F. & Guelman, L. R. (2010). Hippocampal-related memory deficits and histological damage induced by neonatal ionizing radiation exposure. Role of oxidative status. *Brain Research*, 1312, 67-78.
- Calamita, S. C., da Silva, L. P., de Carvalho, M. D., & de Lima Costa, A. B. (2016). A música e seus diversos impactos sobre a saúde e o bem-estar dos animais. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia*, 14, 3, 6-11.
- Cammarota, M., Bevilacqua, L. R. M., Rossato, J.I. Ramirez, M., Medina, J. H. & Izquierdo, I. (2005). Relationship between short- and long-term memory and short- and long-term extinction. *Neurobiology of Learning and Memory*, 84, 25-32.
- Carloni, S., Perrone, S., Buonocore, G., Longini, M., Proietti, F. & Balduini, A. (2008). Melatonin protects from the long-term consequences of a neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats. *Journal of Pineal Research*, 44, 157-167.
- Cassilhas, R. C., Tufik, S. & de Mello, M. T. (2016). Physical exercise, neuroplasticity, spatial learning and memory. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 975-983.
- Chan, J. C. K. (2009). When does retrieval induce forgetting and when does it induce facilitation? Implications for retrieval inhibition, testing effect, and text processing. *Journal of Memory and Language*, 61, 153-170.
- Chanda, M. L. & Levitin, D. J. (2013). The neurochemistry of music. *Trends in Cognitive Sciences*, 17, 179-193.

- Chen, F., Zhou, L., Bai, Y., Zhou, R., & Chen, L. (2015). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity accounts for anxiety-and depression-like behaviors in rats perinatally exposed to bisphenol A. *Journal of Biomedical Research*, 29, 3, 250.
- Cheng, L., Wang, S. H., Chen, Q. C. & Liao, X. M. (2011). Moderate noise induced cognition impairment of mice and its underlying mechanisms. *Physiology Behavior*, 104, 981-988.
- Chengzhi, C., Yan, T., Xuejun, J., Xiang, L., Youbin, Q. & Baijie, T. (2011). Recovery of chronic noise exposure induced spatial learning and memory deficits in young male Sprague-Dawley rats. *Journal of Occupational Health*, 53, 157-163.
- Chikahisa, S., Sei, H., Morishima, M., Sano, A., Kitaoka, K., Nakaya, Y. & Morita, Y. (2006). Exposure to music in the perinatal period enhances learning performance and alters BDNF/TrkB signaling in mice as adults. *Behavioural Brain Research*, 169, 2, 312-319.
- Clements-Cortes, A., & Bartel, L. (2018). Mechanisms of Response to Music Therapy. *Frontiers in Medicine*, 5, 255.
- Coppola, G., Toro, A., Operto, F. F., Ferrarioli, G., Pisano, S., Viggiano, A. & Verrotti, A. (2015). Mozart's music in children with drug-refractory epileptic encephalopathies. *Epilepsy & Behavior*, 50, 18-22.
- Cowan, N. (2008). What are the differences between long-term, short-term, and working memory? *Progress in Brain Research*, 169, 323-338.
- da Cruz, J. G. P., Dal Magro, D. D., & da Cruz, J. N. (2011). Efeitos da música clássica como elemento de enriquecimento ambiental em *Mus musculus* em cativeiro (Rodentia: Muridae). *Biotemas*, 23, 2, 191-197.
- Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 9, 1, 46-56.
- Deacon, R. M. Bannerman, D. M. Kirby, B. P. Croucher, A. & Rawlins, J. N. (2002). Effects of cytotoxic hippocampal lesions in mice on a cognitive test battery. *Behavioural Brain Research*, 133, 57-68.
- de-Dreu, M., Kwakkel, G. & van Wegen, E. (2014). Rhythmic auditory stimulation (RAS) in gait rehabilitation for patients with Parkinson's disease: a research perspective. In: Thaut M, Hoemberg V, editors. *Handbook of Neurologic Music Therapy*. Oxford: Oxford University Press, 69-93.
- de Jonge, F. H., Boleij, H., Baars, A. M., Dudink, S. & Spruijt, B. M. (2008). Music during play-time: Using context conditioning as a tool to improve welfare in piglets. *Applied Animal Behaviour Science*, 115, 3, 138-148.
- Dellavalle, C. T., Daniel, C. R., Aschebrook-Kilfoy, B., Hollenbeck, A. R., Cross, A. J., Sinha, R. & Ward, M. H. (2013). Dietary intake of nitrate and nitrite and risk of renal cell carcinoma in the NIH-AARP Diet and Health Study. *British Journal of Cancer*, 108, 1, 205-212.

- de los Angeles, G. A. M., del Carmen, R. O. M., Wendy, P. M. & Socorro, R. M. (2016). Tactile stimulation effects on hippocampal neurogenesis and spatial learning and memory in prenatally stressed rats. *Brain Research Bulletin*, 124, 1-11.
- Derrick, B. E., York, A. D. & Martinez, J. L. Jr. (2000). Increased granule cell neurogenesis in the adult dentate gyrus following mossy fiber stimulation sufficient to induce long-term potentiation. *Brain Research*, 857, 300-307.
- Deschaintre, Y., Richard, F., Leys, D. & Pasquier, F. (2009). Treatment of vascular risk factors is associated with slower decline in Alzheimer disease. *Neurology*, 73, 674-80.
- Dewi, E. K., Rusmawati, D. & Ratnaningsih, I. Z. (2015). The Effect of Music and Motoric Movement Intervention to Increase Attention among Elementary School Students in Semarang Central Java. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 179-185.
- Draganski, B., Gaser, C., Busch, V., Schuierer, G., Bogdahn, U. & May, A. (2004). Neuroplasticity: changes in grey matter induced by training. *Nature*, 427, 311-312.
- Dronjak, S. & Gavrilovic, L. (2006). Effects of stress on catecholamine stores in central and peripheral tissues of long-term socially isolated rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39, 785-790.
- Ducottet, C. & Belzung, C. (2003). Strain differences in two rodent models of depression: a relationship with emotional reactivity? *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*.
- Ducottet, C., Griebel, G., & Belzung, C., (2003). Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 7, 625-631.
- Ducottet, C. & Belzung, C. (2004). Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice. *Physiology & Behavior*, 81, 417-426.
- El Falougy, H., & Benuska, J. (2006). History, anatomical nomenclature, comparative anatomy and functions of the hippocampal formation. *Bratislavske lekarske listy*, 107, 4, 103.
- Escribano, B., Quero, I., Feijóo, M., Tasset, I., Montilla, P., Túnez, I. (2014). Role of noise and music as anxiety modulators: relationship with ovarian hormones in the rat. *Applied Animal Behaviour Science*, 152, 73-82.
- Fekete, S. Gy. & Bernitsa, T. (2013). Influence of different environmental effects of human origin (socialization, music, noisemusic) upon the rats' behaviour. Part 2. Do rats react on human music? (in Hungarian, with English summary and subtitles). *Magyar Allatorvosok Lapja*, 135, 246-253.
- Ferreira, V. M. M. (2000). Efeitos da Exposição de Curta e Longa Duração ao Etanol: Participação das Vias Nitrérgicas e dos Receptores Glutamatérgicos Ionotrópicos. Tese de Doutorado do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

- Ferreri, L., Bigand, E. & Bugaiska, A. (2015). The positive effect of music on source memory. *Musicae Scientiae*, 19, 4, 402-411.
- Fields, R. D. (2010). Glutamate receptors: the cause or cure in perinatal white matter injury? *Neuron Glia Biology*, 6, 4, 209-211.
- Fishman, Y. I., Volkov, I. O., Noh, M. D., Garell, C., Bakken, H., Arezzo, J. C., & Steinschnieder, M. (2001). Consonance and dissonance of musical chords: Neural correlates in auditory cortex of monkeys and humans. *Journal of Neurophysiology*, 86, 2761-2788.
- Frankland, P. W. & Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 119-130.
- Fukui, H. & Toyoshima, K. (2008). Music facilitate the neurogenesis, regeneration and repair of neurons. *Medical Hypotheses*, 71, 5, 765-769.
- Fukui, H., Arai, A. & Toyoshima, K. (2012). Efficacy of music therapy in treatment for patients with Alzheimer's disease. *International Journal Alzheimer's*.
- Gabryel, B., Kasprowska, D., Kost, A., Labuzek, K. & Urbanek, T. (2014). Astrocytes in ischemic stroke-a potential target for neuroprotective strategies. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 69, 384-397.
- Gelbard-Sagiv, H., Mukamel, R., Harel, M., Malach, R. & Fried, I. (2008). Internally generated reactivation of single neurons in human hippocampus during free recall. *Science*, 322, 96-101.
- Gill, M. B. & Perez-Polo, J. R. (2008). Hypoxia Ischemia-Mediated Cell Death in Neonatal Rat Brain. *Neurochemical Research*, 33, 2379-2389.
- Girard, S., Murray, K. N., Rothwell, N. L., Metz, G. A. & Allan, S. M. (2014). Long-term functional recovery and compensation after cerebral ischemia in rats. *Behavioural Brain Research*, 270, 18-28.
- Gluhchevaa, Y., Ivanovb, I., Petrovaa, E., Pavlovaa, E., & Vladova, I. (2012). Sodium nitrite-induced hematological and hemorheological changes in rats. *Series on Biomechanic*, 27, 53-58.
- Gonchar, O., Mankovskaya, I. & Klyuchko, E. (2006). Role of complex nucleosides in the reversal of oxidative stress and metabolic disorders induced by acute nitrite poisoning. *Indian Journal of Pharmacology*, 38, 6, 414.
- Gonda, X., Pompili, M., Serafini, G., Carvalho, A. F., Rihmer, Z. & Dome, P. (2015). The role of cognitive dysfunction in the symptoms and remission from depression, *Ann. General Psychiatry*, 14, 27. <sup>[1]</sup><sub>SEP</sub>
- Hallet, M. (2001). Plasticity of the human motor cortex and recovery from stroke. *Brain Research Reviews*, 36, 169-174.

- Harvey, B. H., Bothma, T., Nel, A., Wegener, G., & Stein, D. J. (2005). Involvement of the NMDA receptor. NO-cyclic GMP and nuclear factor K-beta in an animal model of repeated trauma. *Human Psychopharmacology*, 20, 367-373.
- Hatem, T. P., Lira, P. I. & Mattos, S. S. (2006). The therapeutic effects of music in children following cardiac surgery. *Jornal de Pediatria*, 82, 186-92.
- Hausmann, M., Hodgetts, S. & Eerola, T. (2016). Music-induced changes in functional cerebral asymmetries. *Brain and Cognition*, 104, 58-71.
- Hegde, S. (2014). Music-based cognitive remediation therapy for patients with traumatic brain injury. *Frontiers in Neurology*, 34, 5, 1-7.
- Heim, S., Keil, A., Choudhury, N., Thomas Friedman, J. & Benasich, A. A. (2013) Early gamma oscillations during rapid auditory processing in children with a language-learning impairment: changes in neural mass activity after training. *Neuropsychologia* 51, 990-1001.
- Heldt, S. A., Stanek, L., Chhatwal, J. P. & Ressler, K. J. (2007). Hippocampus-specific deletion of BDNF in adult mice impairs spatial memory and extinction of aversive memories. *Molecular Psychiatry*, 12, 656-670.
- Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M. M., Choi, D. C., & Cullinan, W. E. (2003). Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo–pituitary–adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 24, 3, 151-180.
- Hill, A. S., Sahay, A. & Hen, R. (2015). Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to reduce anxiety and depression-like behaviors. *Neuropsychopharmacology*, 40, 2368-2378.
- Hillecke, T., Nickel, A. & Bolay, H. V. (2005). Scientific perspectives on music therapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1060, 271-282.
- Hu, C., Luo, Y., Wang, H., Kuang, S., Liang, G., Yang, Y., Mai, S., Yang, J. (2017). Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *PLoS One*, 12, 9, 0185129.
- Huang, C. C., Lai, C. J., Tsai, M. H., Wu, Y. C., Chen, K. T., Jou, M. J. & Wei, I. H. (2015). Effects of melatonin on the nitric oxide system and protein nitration in the hypobaric hypoxic rat hippocampus. *BMC Neuroscience*, 16, 1, 61.
- Hughes, J. R. & Fino, J. J. (2000). The Mozart effect: distinctive aspects of the music – a clue to brain coding? *Clinical Electroencephalography*, 31, 94-103.
- Isingrini, E., Camus, V., Le Guisquet, A., Pingaud, M., Devers, S., & Belzung, C. (2010). Association between Repeated Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) Procedures with a High Fat Diet: A Model of Fluoxetine Resistance in Mice. *PLoSOne*, 5, 4, 10404.
- Izquierdo, I. Barros, D. M. Mello, T. S. de Souza, M. M. Izquierdo, L. A. & Medina, J. H. (1998). Mechanisms for memory types differ. *Nature*, 393, 635-636.

- Izquierdo, I., Bevilacqua, L. R. M., Rossato, J. I., Bonini, J. S., Medina, J. H. & Cammarota, M. (2006). Different molecular cascades in different sites of the brain control consolidation. *Trends in Neurosciences*, 29, 496-505.
- Izquierdo, I. & McGaugh, J. L. (2000). Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behavior Pharmacology*, 11, 517-534.
- Izquierdo, I., Medina, J. H., Vianna, M. R., Izquierdo, L. A. & Barros, D. M. (1999). Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behavioural Brain Research*, 103, 1-11.
- Ji, D. & Wilson, M. A. (2007). Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nature Neuroscience*, 10, 100-107.
- Joëls, M., Karst, H., Krugers, H. J., & Lucassen, P. J. (2007). Chronic stress: implications for neuronal morphology, function and neurogenesis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 28, 2, 72-96.
- Jones, M. H., & Estell, D. B. (2007). Exploring the Mozart effect among high school students. *Psychology of Aesthetics, Creativity, and the Arts*, 1, 219-224.
- Jones, M. H., West, S. D., & Estell, D. B. (2006). The Mozart effect: Arousal, preference, and spatial performance. *Psychology of Aesthetics, Creativity and the Arts*, 1, 26-32.
- Kandel, E. R. (2012). The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. *Molecular Brain*, 5, 14, 1-12.
- Kanduri, C., Raijas, P., & Ahvenainen, M. (2015). The effect of listening to music on human transcriptome. *Peer Journal*, 12, 3, 830.
- Keeney, A. J. & Hogg, S. (1999). Behavioural consequences of repeated social defeat in the mouse: preliminary evaluation of a potential animal model of depression. *Behav Pharmacol*, 10, 753-64.
- Kempermann, G. (2015). Activity dependency and aging in the regulation of adult neurogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Biology*, 7, 018929.
- Kent, A. L., Wright, I. M. & Abdel-Latif, M. E. (2012). Mortality and adverse neurologic outcomes are greater in preterm male infants. *Pediatrics*, 129, 1, 124-131.
- Keus, S. H., Bloem, B. R., Hendriks, E. J., Bredero-Cohen, A. B. & Munneke, M. (2001). Evidence-based analysis of physical therapy in Parkinson's disease with recommendations for practice and research. *Movement Disorders*, 22, 451-60.
- Kheradmand, E., Moghaddam, A. H. & Zare, M. (2018). Neuroprotective effect of hesperetin and nano-hesperetin on recognition memory impairment and the elevated oxygen stress in rat model of Alzheimer's disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 1096-1101.
- Kim, D. S., Park, Y. G., Choi, J. H., Im, S. H., Jung, K. J., Cha, Y. A., Jung, C. O. & Yoon, H. Y. (2011). Effects of Music Therapy on Mood in Stroke Patients. *Yonsei Medical Journal*, 52, 6, 977-981.

- Kim, H., Lee, M. H., Chang, H. K., Lee, T. H., Lee, H. H. & Shin, M. C., (2006). Influence of prenatal noise and music on the spatial memory and neurogenesis in the hippocampus of developing rats. *Brain and Development*, 28, 2, 109-114.
- Kim, J. J., & Fanselow, M. S. (1992). Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256, 675-677.
- Knaepen, K., Goekint, M., Heyman, E. M. & Meeusen, R. (2010). Neuroplasticity exercise induced response of peripheral brain derived neurotrophic factor: a systematic review of experimental studies in human subjects. *Journal of Sports Medicine*, 40, 765-801.
- Kodavanti, P. R., Royland, J. E., Osorio, C., Winnik, W. M., Ortiz, P., Lei, L., Ramabhadran, R. & Alzate, O. (2015). Developmental exposure to a commercial PBDE mixture: effects on protein networks in the cerebellum and hippocampus of rats. *Environ. Health Perspective*, 123, 5, 428-436.
- Koelsch, S. (2009). A neuroscientific perspectives on music therapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1169, 374-384.
- Koelsch, S. (2014). Brain correlates of music-evoked emotions. *Nature Reviews Neuroscience*, 15, 3, 170-180.
- Koelsch, S., & Siebel, W. A. (2005). Towards a neural basis of music perception. *Trends in Cognitive Sciences*, 9, 578-584.
- Kohn, M. C., Melnick, R. L., Ye, F. & Portier, C. J. (2002). Pharmacokinetics of sodium nitrite-induced methemoglobinemia in the rat. *Drug Metabolism and Disposition*, 30, 6, 676-683.
- Koob, G. F. L. & Moal, M. (2001). Drugaddiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology*, 24, 2, 97-129.
- Korsós, G., Horváth, H., Lukács, A., Vezér, T., Glávits, R., Fodor, K. & Fekete, A. G. (2018). Effects of accelerated human music on learning and memory performance of rats. *Applied Animal Behaviour Science*, 202, 94-99.
- Kraus, N. Slater, J., Thompson, E. C., Hornickel, J., Strait, D. L., Nicol, T. & White-Schwoch, T. (2014). Music Enrichment Programs Improve the Neural Encoding of Speech in At-Risk Children. *The Journal of Neuroscience*, 34, 36, 11913-11918.
- Kreutz, G. (2012). Psychoneuroendocrine research on music and health: an overview. In *Music, Health, and Wellbeing In Music, Health, and Wellbeing* (MacDonald, A.R. et al., eds), 457-476.
- Kirste, I., Nicola, Z. & Kronenberg, G. (2015). Is silence golden?: effects of auditory stimuli and their absence on adult hippocampal neurogenesis. *Brain Structure and Function*, 220, 1221-1228.
- Krumhansl, C.L. (1997). An exploratory study of musical emotions and psychophysiology. *Canadian Journal of Experimental Psychology*, 51, 336-353.

- Lagasse, A. B. (2014). Effects of a Music Therapy Group Intervention on Enhancing Social Skills in Children with Autism. *Journal of Music Therapy*, 51, 3, 250-275.
- Lal, H., Harris, C. M., Benjamin, D., Springfield, A. C., Bhadra, S., & Emmett-Oglesby, M. W. (1988). Characterization of a Pentylenetetrazol-Like Stimulus Produced by Ethanol Withdrawal. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 247, 2.
- Leanna, C., Alworth, M. S., Shawna, C., & Buerkle, B. S. (2013). The effect of music on animal physiology behavior and welfare. *Lab Animal* 42, 54-61.
- Ledoux, J.E. (2000). Emotion Circuits In The Brain. *Annual Review Of Neuroscience*, 23, 155-184.
- Lee, J. Y., Lee, H. E., Kang, S. R., Choi, H. Y., Ryu, J. H. & Yune, T. Y. (2014). Fluoxetine inhibits transient global ischemia-induced hippocampal neuronal death and memory impairment by preventing blood–brain barrier disruption. *Neuropharmacology*, 79, 161-171.
- Lerch, J. P., Yiu, A. P., Martinez-Canabal, A., Pekar, T., Bohbot, V. D., Frankland, P. W., Henkelman, R. M., Josselyn, S. A. & Sled, J. G. (2011). Maze training in mice induces MRI-detectable brain shape changes specific to the type of learning. *Neuroimage*, 54, 2086-2095.
- Leuner, B. & Gould, E. (2010). Structural plasticity and hippocampal function. *Annual Review of Psychology*, 61, 111-113.
- Levitin, D. J. & Tirovolas, A. K. (2009). Current advances in the cognitive neurosciences of music. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1156, 211-231.
- Li, J., Wang, Y. J., Zhang, M., Xu, Z. Q., Gao, C. Y., Fang, C. Q., Yan, J. C. & Zhou, H. D. (2011). Vascular risk factors promote conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer disease. *Neurology*, 76, 1485-1491.
- Li, R. C., Row, B. W., Kheirandish, L., Brittan, K. R., Gozal, E. & Guo, S. Z. (2004). Nitric oxide synthase and intermittent hypoxia-induced spatial learning deficits in the rat. *Neurobiology of Disease*, 17, 44-53.
- Lin, L. C., Chiang, C. T., Lee, M. W., Mok, H. K., Yang, Y. H., Wu, H. C., Tsai, C. L. & Yang, R. C. (2013). Parasympathetic activation is involved in reducing epileptiform discharges when listening to Mozart music. *Clinical Neurophysiology*, 124, 1528-35.
- Lin, S. T., Yang, P., Lai, C. Y., Su, Y. Y., Yeh, Y. C., Huang, M. F. & Chen, C. C. (2011). Mental health implications of music: insight from neuroscientific and clinical studies. *Harvard Review of Psychiatry*, 19, 1, 34-46.
- Lin, L. C. & Yang, R. C. (2015). Mozart's music in children with epilepsy. *Translational Pediatrics*, 4, 4, 323-326.
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P. T., Puryear, C. B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., & Tonegawa, S. (2012). Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature* 484, 381-385.

- Luo, Y., Kuang, S., Li, H., Ran, D. & Yang, J. (2017). cAMP/PKA-CREB-BDNF signaling pathway in hippocampus mediates cyclooxygenase 2-induced learning/memory deficits of rats subjected to chronic unpredictable mild stress. *Oncotarget*, 8, 22, 35558-35572.
- Luo, Y., Kuang, S., Xue, L., Yang, J. (2016). The mechanism of 5-lipoxygenase in the impairment of learning and memory in rats subjected to chronic unpredictable mild stress. *Physiology Behavior*, 167, 145-153. <sup>[[L]]</sup><sub>[[SEP]]</sub>
- McDonald, A. J. & Mott, D. D. (2016). Functional Neuroanatomy of Amygdalohippocampal Interconnections and Their Role in Learning and Memory. *Journal of Neuroscience Research*, 00, 00-00.
- Maguire, E. A., Gadian, D. G., Johnsrude, I. S., Good, C. D., Ashburner, J., Frackowiak, R. S. & Frith, C. D. (2000). Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 4398-4403. <sup>[[L]]</sup><sub>[[SEP]]</sub>
- Maiti, P., Singh, S. B. & Ilavazhagan, G. (2010). Nitric oxide system is involved in hypobaric hypoxia-induced oxidative stress in rat brain. *Acta Histochemica*, 112, 3, 222-232.
- Manikandan, S., Padma, M. K., Srikumar, R., Parthasarathy, N. J., Muthuvel, A. & Devi, R. S. (2006). Effects of chronic noise stress on spatial memory of rats in relation to neuronal dendritic alteration and free radical-imbalance in hippocampus and medial prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, 399, 17-22.
- Martinez-Biarge, M., Diez-Sebastian, J., Kapellou, O., Gindner, D., Allsop, J. M., Rutherford, M. A. & Cowan, F. M. (2011). Predicting motor outcome and death in term hypoxic ischemic encephalopathy. *Neurology*, 76, 24, 2055-2061.
- Masana, Y., Wanaka, A., Kato, H., Asai, T. & Tohyama, M. (1993). Localization of trkB mRNA in postnatal brain development. *Journal Neuroscience Res* 35, 468-479.
- McBride, W. J. & Li, T. K. (1998). Animal models of alcoholism: neurobiology of high alcohol-drinking behavior in rodents. *Critical Reviews in Neurobiology*, 12, 339-369.
- McDonald, A. J. & Mott, D. D. (2017). Functional Neuroanatomy of Amygdalohippocampal Interconnections and Their Role in Learning and Memory. *Journal of Neuroscience Research*, 95, 3, 797-820.
- McEwen, B. S. (1998). Protective and damaging effects of stress mediators. *The New England Journal of Medicine*, 338, 3, 171-179.
- McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiological Reviews*, 87, 3, 873-904.
- McEwen, B. S. (2017). Allostasis and the epigenetics of brain and body health over the life course: the Brain on stress. *JAMA Psychiatry*, 74, 551-2.

- McEwen, B. S., Gray, J. D., Nasca, C. (2015). 60 Years of neuroendocrinology: redefining neuroendocrinology: stress, sex and cognitive and emotional regulation. *Journal of Endocrinology*, 226, 2, T67-T83.
- McEwen, B. S., Morrison, J. H. (2013). The brain on stress: vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course. *Neuron*, 79, 1,16-29.
- McEwen, B. S., Nasca, C., Gray, J. D. (2016). Stresseffectson neuronal structure: hippocampus, amygdala, and prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*, 41, 1, 3-23.
- Mclean, C. & Ferriero, D. (2004). Mechanisms of Hypoxic-Ischemic Injury in the Term Infant. Seminars in *Perinatology*, 28, 425-432.
- Mcmahon, D. B. T. & Barrionuevo, G. (2002). Short- and Long-Term Plasticity of the Perforant Path Synapse in Hippocampal Area CA3. *Journal Neurophysiology*, 88, 528-533.
- Miell, D., MacDonald, R. A. R., & Hargreaves, D. J. (2005). Musical communication. Oxford: Oxford University Press.
- Moser, M. B., & Moser, E. I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, 6, 608-19.
- Nascimento, T. S. Pereira, R. O. L. Mello, H. L. D. & Costa, J. (2008). Metemoglobinemia: do Diagnóstico ao Tratamento. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 651, 58, 651-664.
- Newrzella, D., Pahlavan, P. S., Krüger, C. Boehm, C. Sorgenfrei, O., Schröck, H., Eisenhardt, G., Bischoff, N., Vogt, G., Wafzig, O., Rossner, M., Maurer, M. H. Hiemisch, H., Bach, A., Kuschinsky, W. & Schneider, A. (2007). The functional genome of CA1 and CA3 neurons under native conditions and in response to ischemia. *BMC Genomics*, 8, 370.
- Nielsen, C. K., Arnt, J. & Sanchez, C. (2000). Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic mild stress: interstrain and interindividual differences. *Behavioral Brain Research*, 107, 1, 21-33.
- Nieto-Romero, R. M. (2017). Efectos de la musicoterapia sobre el nivel de ansiedad del adulto cardiópata sometido a resonancia magnética. *Enfermería Universitaria*, 14, 2, 88-96.
- Nombela, C., Hughes, L. E., Owen, A. M. & Grahn, J. A. (2013). Into the groove: can rhythm influence Parkinson's disease? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37, 2564-70.
- Ongur, D. & Price, J. L. (2000). The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cerebral Cortex*, 10, 206-219.
- Ono, Y., Koizumi, S. & Onozuka, M. (2015). Chewing prevents stress-induced hippocampal LTD formation and anxiety-related behaviors: a possible role of the dopaminergic system. *BioMed Research International*, 1-7.

- Ortega, V. J., Casal, B. G., Garrido, E. & Alcázar, B. (2004). Neuropsychological functioning associated with high-altitude exposure. *Neuropsychology Review*, 4, 4, 197-224.
- Papoutsoglou, S. E., Karakatsouli, N., Papoutsoglou, E. S., & Vasilikos, G. (2010). Common carp (*Cyprinus carpio*) response to two pieces of music ('Eine kleine Nachtmusik' and 'Romanza') combined with light intensity, using recirculating water system. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36, 539-554.
- Passineau, M. J., Green, E. J., & Dietrich, W. D. (2001). Therapeutic effects of environmental enrichment on cognitive function and tissue integrity following severe traumatic brain injury in rats. *Experimental Neurology*, 168, 373-384.
- Pawluski, J. L., Barakauskas, V. E. & Galea, L. (2010). Pregnancy decreases oestrogen receptor  $\alpha$  expression and pyknosis, but not cell proliferation or survival, in the hippocampus. *Journal of Neuroendocrinology*, 22, 4, 248-257.
- Perlovsky, L., Cabanac, A., Bonniot-Cabanac, M. C. & Cabanac, M. (2013). Mozart effect, cognitive dissonance, and the pleasure of music. *Behavioural Brain Research*, 244, 9-14.
- Perrone-Capano, C., Volpicelli, F. & di Porzio, U. (2017). Biological bases of human musicality, *Rev. Neuroscience*, 28, 3, 235-24.
- Pietschnig, J., Voracek, M., & Formann, A. M. (2010). Mozart effect-shmozart effect: a meta- analysis. *Intelligence*, 38, 314-323.
- Pittenger, C. & Duman, R.S. (2008). Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33, 88-109.
- Pittson, S., Himmel, A. M., & Maclver, M. B. (2005). Multiple synaptic and membrane sites of anesthetic action in the CA1 region of rat hippocampal slices. *BMC Neuroscience*, 5, 52.
- Polston, J. E., Rubbinaccio, H. Y., Morra, J. T., Sell, E. M. & Glick, S. D. (2011). Music and methamphetamine: conditioned cue-induced increases in locomotor activity and dopamine release in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 98, 1, 54-61.
- Raglio, A. (2015). Music therapy interventions in Parkinson's disease: the state-of-the-art. *Frontiers in Neurology*, 6, 185.
- Raglio, A., Attardo, L., Gontero, G., Rollino, S., Groppo, E. & Granieri, E. (2015). Effects of music and music therapy on mood in neurological patients. *World Journal of Psychiatry*, 5, 1, 68.
- Ramirez, S., Liu, X., Lin, P.A., Suh, J., Pignatelli, M., Redondo, R.L., Ryan, T.J., and Tonegawa, S. (2013). Creating a false memory in the hippocampus. *Science* 341, 387-391. 
- Rauscher, F. H., Shaw, G. L., & Ky, C. N. (1993). Music and spatial task performance. *Nature*, 365, 6447, 611-611.

- Rauscher, F. H., Shaw, G. L. & Ky, K. N. (1995). Listening to Mozart enhances spatial-temporal reasoning: towards a neurophysiological basis. *Neuroscience Letters*, 185, 44-47.
- Rauscher, F. H., Robinson, K. D., & Jens, J. J. (1998). Improved maze learning through early music exposure of rats. *Neurology Research*, 20, 427-432.
- Reijmers, L. G., Perkins, B. L., Matsuo, N., & Mayford, M. (2007). Localization of a stable neural correlate of associative memory. *Science* 317, 1230-1233.
- Reyes-Castro, L. A., Padilla-Gomez, E., Castro-Rodríguez, D. C., Quirarte, G. L., Nathanielsz, P. W. & Zambrano, E. (2018). Hippocampal mechanisms in impaired spatial learning and memory in male offspring of rats fed a low-protein isocaloric diet in pregnancy and/or lactation. *Hippocampus*, 8, 18-30.
- Ribeiro, M. C., Bezerra, T. S., Soares, A. C., Boechat-Ramos, R., Carneiro, F. P., Vianna, L. M. S., Faro, L. R., Silva, M. V., Vieira, M. P., Monteiro, I. O. & Ferreira, V. M. (2017). Hippocampal and cerebellar histological changes and their behavioural repercussions caused by brain ischaemic hypoxia experimentally induced by sodium nitrite. *Behavioural Brain Research*, 332, 223-232.
- Rickard, N. S., Toukhsati, S. R. & Field, S. E. (2005). The effect of music on cognitive performance: Insight from neurobiological and animal studies. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, 4, 4, 235-261.
- Rideout, B. E., & Laubach, C.M. (1996). EEG correlates of enhanced spatial performance following exposure to music. *Perceptual and Motor Skills*, 82, 2, 427-432.
- Sampaio, W. C. M., Ribeiro, M. C., Costa, L. F., Souza, W. C. D., Castilho, G. M. D., Assis, M. S. D., Carneiro, M., S., Marchiori, F. P., Lima, D., Cavalcanti, N. T., Ferreira P. P. & Ferreira, V. M. (2017). Effect of music therapy on the developing central nervous system of rats. *Psychology & Neuroscience*, 10, 2, 176.
- Samuels, B. A. & Hen, R. (2011). Neurogenesis and affective disorders. *European Journal of Neuroscience*, 33, 6, 1152-1159.
- Sarkamo, T., Tervaniemi, M., Laitinen, LicPhil, S. L., Numminen, A., Kurki, M., Johnson, J. K. & Rantanen, P. (2013). Cognitive, Emotional, and Social Benefits of Regular Musical Activities in Early Dementia: Randomized Controlled Study. *The Gerontologist*, 54, 4, 634-650.
- Sarnthein, J., von Stein, A., Rappelsberger, P., Petsche, H., Rauscher, F. H., Shaw, G. L., (1997). Persistent patterns of brain activity: an EEG coherence study of the positive effect of music on spatial-temporal reasoning. *Neurology Research*, 19, 107-116.
- Schlett, K. (2006). Glutamate as a modulator of embryonic and adult neurogenesis. *Current Topics In Medicinal Chemistry*, 6, 949-60.
- Scorza, F. A., Arida, R. M., Cysneiros, R. M., Scorza, C. A., Albuquerque, M. D., & Cavalheiro, A. (2005). Estudo qualitativo da formação hipocampal de animais hipertensos com epilepsia. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, 63, 2, 283-288.

- Shalak, L. & Perlman, J. M. (2004). Hypoxic–ischemic brain injury in the term infant—current concepts. *Early Human Development*, 80, 125-141.
- Shin, J. A., Sae, I. J., Kim, M., Yoon, J. C., Heen-Sun, K. & Park, E. M. (2015). Visceral adipose tissue inflammation is associated with age-related brain changes and ischemic brain damage in aged mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 50, 221-231.
- Silasi, G. & Murphy, T.H. (2014). Stroke and the connectome: how connectivity guides therapeutic intervention. *Neuron*, 83, 6, 1354-1368.
- Sinex, D. G. (2003). Responses of auditory nerve fibers to 39 harmonic and mistuned complex tones. *Hearing Research*, 182, 130-139.
- Snyder, J. S., Soumier, A., Brewer, M., Pickel, J., & Cameron, H. A. (2011). Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature*, 476, 7361, 458-461.
- Strait, D. L., O’Connell, S., Parbery-Clark, A. & Kraus, N. (2014). Musicians’ Enhanced Neural Differentiation of Speech Sounds Arises Early in Life: Developmental Evidence from Ages 3 to 30. *Cerebral Cortex*, 24, 2512-2521.
- Steele, K. M. (2006). Unconvincing evidence that rats show a Mozart effect. *Music Percept.* 23, 455-458.
- Sun, M. K. & Alkon, D. L. (2001). Pharmacological enhancement of synaptic efficacy, spatial learning, and memory through carbonic anhydrase activation in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 24, 222-228.
- Sun, W., Du, L., Tang, W., Kuang, L., Du, P., Chen, J. & Chen, D. (2017). PBDE-209 exposure damages learning and memory ability in rats potentially through increased autophagy and apoptosis in the hippocampus neuron. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 50, 151-158.
- Yalcin et al., 2005. Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol. *European Journal of Pharmacology*, 514, 165-174.
- Yalcin, I., Belzung, C., & Surget, A. (2008) Mouse strain differences in the unpredictable chronic mild stress: a four-antidepressant survey. *Behavioral Brain Research*, 193, 140-143.
- Yun, S., Reynolds, R. P., Masiulis, I. & Eisch, A. J. (2016). Re-evaluating the link between neuropsychiatric disorders and dysregulated adult neurogenesis. *Nature Medicine*, 22, 1239-1247.
- Tanaka *et al.*, (2014). Cortical Representations Are Reinstated by the Hippocampus during Memory Retrieval. *Neuron*, 84, 347-354.
- Tasset, I., Quero, I., García-Mayórgaz, A. D., Del Río, M. C., Túnez, I. & Montilla, P. (2012). Changes caused by haloperidol are blocked by musica in Wistar rat. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 68, 175-179.

- Taylor, K.K., Tanaka, K.Z., Reijmers, L.G. & Wiltgen, B.J. (2013). Reactivation of neural ensembles during the retrieval of recent and remote memory. *Current Biology*, 23, 99-106.
- Thomas, M. E., Friedman, N. H. M., Cisneros-Franco, J. M., Ouellet, L. & de Villers-Sidani, E. (2018). The Prolonged Masking of Temporal Acoustic Inputs with Noise Drives Plasticity in the Adult Rat Auditory Cortex. *Cerebral Cortex*, 1-15.
- Tolwani, R. J. *et al.* (2002). BDNF overexpression increases dendrite complexity in hippocampal dentate gyrus. *Neuroscience*, 114, 795-805.
- Tondo, L., Va'zquez, G. H. & Baldessarini, R. J. (2014). Options for pharmacological treatment of refractory bipolar depression. *Current Psychiatry Reports*, 16, 2, 431.
- Tramo, M. J., Shah, G. D., & Braida, L. D. (2002). Functional role of auditory cortex in frequency processing and pitch perception. *Journal of Neurophysiology*, 87, 122-139.
- Trehub, S. E. (2006). Musical predispositions in infancy. *Annals New York Academy of Sciences*, 930, 1-16.
- Tsankova, N. M., Berton, O., Renthal, W., Kumar, A., Neve, R. L., & Nestler, E. J. (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nature Neuroscience*, 9, 519-525.
- Tyler, W. J., Alonso, M., Bramham, C. R. & Pozzo-Miller, L. D. (2002).<sup>[L]</sup><sub>[SEP]</sub>From acquisition to consolidation on the role of brain-derived neurotrophic factor signalling in hippocampal- dependent learning. *Learning & Memory*, 9, 14, 224-237.
- Uetake, K., Hurnik, J. F. & Johnson, L. (1997). Effect of music on voluntary approach of dairy cows to an automatic milking system. *Applied Animal Behaviour Science*, 53, 3, 175-182.
- Ulrich-Lai, Y. M., & Herman, J. P. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 6, 397.
- Uran, S. L., Aon-Bertolino, M. L., Caceres, L. G., Capani, F. & Guelman, L. R. (2012). Rat hippocampal alterations could underlie behavioral abnormalities induced by exposure to moderate noise levels. *Brain Research*, 1471, 1-12.
- Veena, J., Srikumar, B. N., Mahati, K., Bhagya, V., Raju, T. R., & Shankaranarayana Rao, B. S. (2009a). Enriched environment restores hippocampal cell proliferation and ameliorates cognitive deficits in chronically stressed rats. *Journal of Neuroscience Research*, 87, 831-843.
- Verrusio, W., Ettore, E., Vicenzini, E., Vanacore, N., Cacciafesta, M. & Mecarelli, O. (2015). The Mozart Effect: A quantitative EEG study. *Consciousness and Cognition* 35, 150-155.
- Vezer, T., Varhelyi, Z., Ivitz, E., Horvath, K., Horvath, T., Lukacs, A., Szabo, A., Papp, A., Fekete Gy, S. (2015). Effects of environmental epigenetic factors on cognitive behavior of rats. *In: Proc.17th DKMT Euroregional Conf. Environ. Health*. June, 5-6, Szeged. (Abstract, 75).

- Wan, L., Cheng, Y., Luo, Z., Guo, H., Zhao, W., Gu, Q., Yang, X., Xu, J., Bei, W. & Guo, J. (2015). Neuroprotection, learning and memory improvement of a standardized extract from Renshen Shouwu against neuronal injury and vascular dementia in rats with brain ischemia. *Journal of Ethnopharmacology*, 13, 165, 118-26.
- Willner, P. (1995). Animal models of depression: validity and applications. *Advances in biochemical psychopharmacology*, 49, 19-41. [SEP]
- Willner, P. (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52, 2, 90-110.
- Xiaoli, F., Junrong, W., Xuan, L., Yanli, Z., Limin, W., Jia, L. & Longquan, S. (2017). Prenatal exposure to nanosized zinc oxide in rats: neurotoxicity and postnatal impaired learning and memory ability. *Nanomedicine*, 12, 7, 777-795.
- Xing, Y., Qin, Y., Jing, W., Zhang, Y., Wang, Y., Guo, D., Xia, Y. & Yao, D. (2016). Exposure to Mozart music reduces cognitive impairment in pilocarpine-induced status epilepticus rats. *Cognitive Neurodynamics*, 10, 23-30.
- Xu, J., Yu, L., Cai, R., Zhang, J., & Sun, X. (2009). Early auditory enrichment with music enhances auditory discrimination learning and alters NR2B protein expression in rat auditory cortex. *Behavioral Brain Research*, 196, 49-54.
- Yehuda, N. (2011). Music and Stress. *Journal of Adult Development*, 18, 85-94.
- Zaidi, Z. F. (2010). Periportal Necrosis in Rat Liver Exposed to Sodium Nitrite-induced Hypoxia. *Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 5, 2, 111-116.
- Zatorre, R. J. & Salimpoor, V. N. (2013). From perception to pleasure: Music and its neural substrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 10430-37.
- Zhang, Q., Wei, E. Q., Zhu, C.Y., Zhang, W.P., Wang, M.L., Zhang, S.H., Yu, Y.P. & Chen, Z. (2006). Focal cerebral ischemia alters the spatio-temporal properties, but not the amount of activity in mice. *Behavioural Brain Research*, 169, 66-74.
- Zhao, D. A., Bi, L. Y., Huang, Q., Zhang, F. M., & Han, Z. M. (2016). Isoflurano fornece neuroproteção em lesão cerebral hipóxico-isquêmica neonatal por inibição da apoptose. *Brazilian Journal of Anesthesiology*, 66, 6, 613-621.
- Zhu, X., Wang, F., Hu, H., Sun, X., Kilgard, M. P., Merzenich, M. M., Zhou, X. (2014). Environmental acoustic enrichment promotes recovery from developmentally degraded auditory cortical processing. *Journal Neuroscience*, 34, 5406-5415.
- Zhu, W., Zhao, L., Zhang, J., Ding, X., Liu, H., Ni, E., Ma, Y. & Zhou, C. (2008). The influence of Mozart's sonata K.448 on visual attention: An ERPs study. *Neuroscience Letters*, 434, 35-40.

## ANEXOS

- Comprovantes CEUA



**Universidade de Brasília**  
Instituto de Ciências Biológicas  
Comitê de Ética no Uso Animal

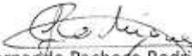
Brasília, 08 de novembro de 2013.



**DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto intitulado **"INFLUÊNCIA DA MUSICOTERAPIA NO SISTEMA NERVOSO EM DESENVOLVIMENTO: UMA AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL"**, UnBDOC n.º 80243/2013, sob responsabilidade da Professora Vânia Moraes Ferreira foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.





Prof. Fernando Pacheco Rodrigues  
Coordenador da CEUA

\*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.



**Universidade de Brasília**  
Instituto de Ciências Biológicas  
Comitê de Ética no Uso Animal

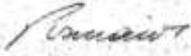
Brasília, 10 de julho de 2014.



**DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto intitulado **"APLICABILIDADE DA MUSICOTERAPIA NAS COMPLICAÇÕES NEUROLÓGICAS DECORRENTES DA HIPÓXIA ISQUÊMICA ENCEFÁLICA"**, UnBDoC n.º 67736/2014, sob responsabilidade da Professora Vânia Ferreira foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.





Prof. Dr. Rafael Plakoudi Souto Maior  
Coordenador da CEUA

\*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

## ● Artigo Publicado

Psychology & Neuroscience  
2017, Vol. 10, No. 2, 176–188

© 2017 American Psychological Association  
1983-3288/17/\$12.00 <http://dx.doi.org/10.1037/pne0000087>

## Effect of Music Therapy on the Developing Central Nervous System of Rats

Waneli Cristine Morais Sampaio,  
Mara Cláudia Ribeiro,  
Larice Feitosa Costa,  
Wânia Cristina de Souza,  
Goíara Mendonça de Castilho,  
Melissa Sousa de Assis,  
Fabiana Pirani Carneiro,  
Domitilla Marchiori,  
and Nadyelle Targino de Lima

University of Brasília, Campus Universitário  
Darcy Ribeiro

Pacífica Pinheiro Cavalcanti  
Federal University of Mato Grosso,  
Campus Universitário de Sinop

Vania Moraes Ferreira

University of Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro

This research was conducted to investigate the influence of music therapy on the behavior of rats at different stages of development. The procedures were performed when animals were approximately 1 month of age, and repeated once they completed 2, 3, and 4 months. Mozart's Sonata for Two Pianos was played at a sound intensity of 65 dB for 4 hours per day, 2 hours in the morning and 2 hours in the afternoon (12 hours, for 4 days) when the animals reached each age. In the Open Field test, the locomotion in rats with 4 months old was significantly less than in other ages. Female rats 1, 2, and 3 months old, which were exposed to music, increased the percentage of open arms time in the Elevated Plus Maze test while male rats 1 month old reduced this parameter. The statistical differences were observed in the Forced Swimming test only when both genders were 1 month old. In the Inhibitory Avoidance test, an improvement in age-dependent memory was observed. The music therapy based on Mozart's Sonata for Two Pianos positively interfered with the behavior of rats at different developmental stages. This result corroborates the clinical practice of palliative care, in which music therapy is generally used to improve patients' quality of life with anxiety and depression.

*Keywords:* anxiety, depression, locomotion, memory, music therapy

Anxiety, depression, and cognitive impairment frequently occur in patients with various pathological conditions and generally lead to a decreased quality of life (Robles Bayón & Gude

Sampedro, 2015). Several therapeutic interventions, including music therapy, are currently available for the rehabilitation of individuals who present with psycho-behavioral manifesta-

Waneli Cristine Morais Sampaio and Mara Cláudia Ribeiro, Postgraduate Program in Medical Sciences, University of Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro; Larice Feitosa Costa, Wânia Cristina de Souza, and Goíara Mendonça de Castilho, Postgraduate Program in Behavioural Sciences, University of Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro; Melissa Sousa de Assis, Fabiana Pirani Carneiro, Domitilla Marchiori, and Nadyelle Targino de Lima, Postgraduate Program in Medical Sciences, University of Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro; Pacífica Pinheiro Cav-

alcanti, Federal University of Mato Grosso, Campus Universitário de Sinop; Vania Moraes Ferreira, Postgraduate Program in Medical Sciences and Postgraduate Program in Behavioural Sciences, University of Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro.

Correspondence concerning this article should be addressed to Vania Moraes Ferreira, Postgraduate Program in Behavioural Sciences, Psychology Institute, University of Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, s/n, Brasília, DF, Brazil. E-mail: [vmmf@unb.br](mailto:vmmf@unb.br)

tions (Choi, Lee, & Lim, 2008; Kim et al., 2011). The effectiveness of music therapy in the treatment of diseases and their symptoms has been a matter of debate for decades (Kamiooka et al., 2014; Murrock & Bekhet, 2016).

Music therapy can significantly and efficiently decrease psycho-behavioral complications (Vuilleumier & Trost, 2015). Their therapeutic properties are due to an accelerated activation of the neural circuits in the brain regions associated with emotions, including the hippocampus and prefrontal cortex (Krumhansl, 1997). Also, this therapy can modulate the activity of neurotransmitters in the central nervous system (CNS), particularly mesolimbic dopaminergic activity, which, together with the aforementioned brain regions, is directly associated with brain reinforcement processes in response to pleasant emotional states (Tasset et al., 2012). Scientists have suggested that Mozart's Sonata, for example, has a modulatory effect on brain activity (Auon, Jones, Shaw, & Bodner, 2005; Jausovec, Jausovec, & Gerlic, 2006; Verriusio et al., 2015).

Furthermore, hormone levels are associated with cognitive and behavioral responses in humans. For example, many elderly people exhibit fully impaired cognitive and behavioral responses with decreased hormone levels (Fukui, Arai, & Toyoshima, 2012). Besides, music may be interpreted differently by the brain depending on the listener's life stage. During childhood, each neuron in the auditory system establishes several connections with other neurons, creating a neural network (Trainor, 2008).

Given these data, the healing power of music, and the limited number of studies available in this research area, we investigated the influence of music therapy on the behavior and cognition of developing rats.

## Method

### Animals

Male ( $n = 10$ ) and female ( $n = 10$ ) Wistar rats were used in the present study. The animals were transferred to the Pathology Laboratory of the Department of Medicine, at the University of Brasília (UnB), after final breastfeeding (21 days) to ensure that weaning would occur in the test environment. This procedure enabled the animals to adapt to the experimental area, re-

ducing the interference from noise and stress associated with animal transportation from different environments. The procedures were performed when the animals were approximately 1 month old and were repeated at 2, 3, and 4 months of age, which correspond to the life stages of childhood, adolescence, adulthood, and old age, respectively, according to previously established correlations and comparisons in the literature (Imhof, Coelho, Schmitt, Morato, & Carobrez, 1993; Quinn, 2005).

The animals underwent two stages of testing at each age: an evaluation without music therapy (control), and a reevaluation after music therapy. The study animals were maintained under standard laboratory conditions with water and food (brand: Presence) ad libitum. The study complied with the criteria established by the Ethics Committee on Animal Use (Comité de Ética no Uso Animal - CEUA) of UnB under protocol no. 80243. All the experiments were conducted between 8:00 a.m. and 12:00 p.m. to avoid circadian variations that might interfere with the experimental results.

### Music Therapy

The standardized environment consisted of a room in which a Mozart's Sonata was played at a sound intensity of 65 decibels (db), which was determined with a decibel meter (Minipa, model MSL-1325). Mozart's Sonata for Two Pianos in D major (K. 448) was downloaded from YouTube using the website Voohys Videos and converted to MP3 format using the audio editor Audacity. The length of the original file was 22 min and 3 seconds. To obtain a playing cycle of 2 hours, the Sonata was played repeatedly (5.5 times) until a 2-hr music sequence was obtained. The file was saved to a USB memory stick for use with a sound-emitting device, and the device was placed approximately 50 cm from the rats' cages.

To ensure equal sound intensity for the rats, the sound intensity was measured on the sides of each cage. The sound device was placed between two shelves as an additional strategy to ensure sound balance. When the animals were approximately 1 month old, the three movements (Allegro con spirito, Andante, and Allegro molto) of Mozart's Sonata for Two Pianos in D major were played for 2 hours in the morning and 2 hours in the afternoon (at approximately 12-h intervals) for 4 days. The therapy was repeated when the animals were 2,

3, and 4 months old. All the procedures were conducted as previously described (Tasset et al., 2012).

### Experimental Procedures

**Spontaneous locomotor activity.** For this test, a 60 × 60 × 35 cm wooden arena was used. The arena's floor was divided into 9 20 × 20 cm quadrants. Each animal was placed in the central quadrant of the arena and tested for a period of 5 min. Each rat's locomotor activity was assessed when it placed all four of its paws into a new quadrant (Lucena et al., 2010; Maia et al., 2009).

**Elevated plus maze (EPM).** An EPM maze is a cross-shaped wooden device that is built 50 cm up from the ground with two closed arms (10 × 40 cm) and two open arms (50 × 10 cm) placed in opposition to each other (Handley & Mithani, 1984). Our EPM had a 1 cm high transparent acrylic rail around the open arms to prevent the animals from falling off the EPM. Each rat was positioned at the center of the maze facing one of the closed arms and allowed to explore the maze for 5 min. A single observer recorded the number of entries and the periods of permanence in the open and closed arms. The percentage of entries into the open arms was calculated relative to the total number of entries into both arms, and the period of permanence in the open arms was calculated relative to the total period of the experiment. The anxiolytic effect was defined as an increase in the total periods of entry (or time) into the open arms relative to the total periods of entry (or time) into both arms. In contrast, the anxiogenic effect was defined as a decrease in the total periods of entry (or time) into the open arms relative to the total periods of entry (or time) into both arms (Pellow, Chopin, File, & Briley, 1985).

**Forced swimming test (FST).** For this test, we used a Plexiglas cylinder filled with approximately 22 ± 1 °C water to a height of 50 cm. The rats exhibited two types of behavior in a 5-min period: *escape*, which was observed during the first 2 min and associated with test habituation, and *continuous immobility*, the period in which each animal remained afloat using only the minimum movements required to keep their heads above water, which was observed in the last 3 min (Porsolt, Bertin, & Jalfre, 1977). These behaviors were evaluated by a single experimenter to reduce experimental bias.

**Inhibitory avoidance test.** The avoidance apparatus (EP-104 INSIGHT) consisted of a 50 × 25 × 25 cm glass and metal box with a 5 × 8 × 25 cm (Height × Width × Length) platform. The right side contained several aluminum bars distributed 9 cm apart on the floor of the box connected to an electrical stimulator. The evaluation parameters included training and post-training phases and a low-intensity shock, which served as an aversive stimulus for the animals to refrain from performing a specific task. Such a negative stimulus is considered to be a memory retention mechanism for a proposed task. On the first day of analysis, the animals were habituated to the apparatus and remained inside the apparatus for 3 min. On the second day, the animals were placed on the platform in front of the left corner of the training box, facing the side opposite the experimenter. Immediately after each animal descended the platform of the training box and put all four of its paws on the grid, it received a 0.4 mA shock for 1 sec and was immediately removed from the device. Short-term memory (STM) was evaluated 1 h after training. In this test, a maximum period (latency) of 180 sec was given to the animals to descend the platform with all four paws as an indication of memory retention. On the third day, the animals were again placed on the platform in front of the left corner of the training box to assess their long-term memory (LTM). The same maximum period (latency) of 180 sec was considered in the LTM analysis (Lucena et al., 2013).

After evaluating each animal, the apparatus was cleaned with 10% ethanol (vol/vol) to prevent the odor of recently tested animals from interfering with the behavior of the animals.

### Statistical Analysis

Anxiety, depression, immobility, STM, and LTM data were obtained from 10 male and 10 female Wistar rats. A statistical analysis was performed using three-way analysis of variance (ANOVA) with the independent variables age, gender, and treatment (music therapy). Age differences were evaluated using the post hoc Bonferroni's test. The probability of the occurrence of significant differences was  $p \leq .05$ . The data were analyzed using SPSS version 17, and the graphs were generated using GraphPad Prism version 5.01 2010 (San Diego, CA).

## Results

### Open Field Test

This test evaluated the number of quadrants traveled by each rat. In this test, there was no significant difference between genders [ $F_{(1,159)} = 0.046$ ;  $p = .831$ ] or between treatments [ $F_{(1,159)} = 0.940$ ;  $p = .334$ ]. However, there was a significant age difference [ $F_{(3,159)} = 10.704$ ;  $p < .001$ ]. The post hoc Bonferroni's test was used to evaluate age differences (1, 2, 3, and 4 months). With the exception of the pairs involved in the interactions at 2, 3, and 4 months of age, the remaining interactions were statistically significant. However, an analysis of the variable interactions revealed

that only the gender and age interaction was statistically significant. Female rats tended to have greater mobility than male rats as they progressed in age. When the rats' responses were evaluated for each age and gender, music therapy had no influence on the experimental versus control groups. Significant differences were only observed when comparisons were made between the 1-month-old animals (see Figure 1).

### EPM Test

**Frequency of entry into the open arms of the EPM.** In this test, there was no significant difference between the genders [ $F_{(1,159)} = 0.047$ ;  $p = .828$ ] or treatments [ $F_{(1,159)} = 0.965$ ;

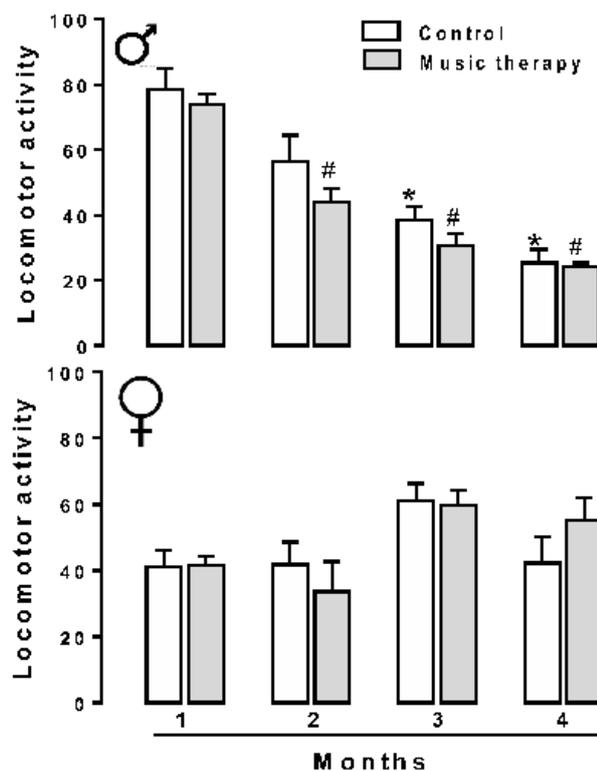
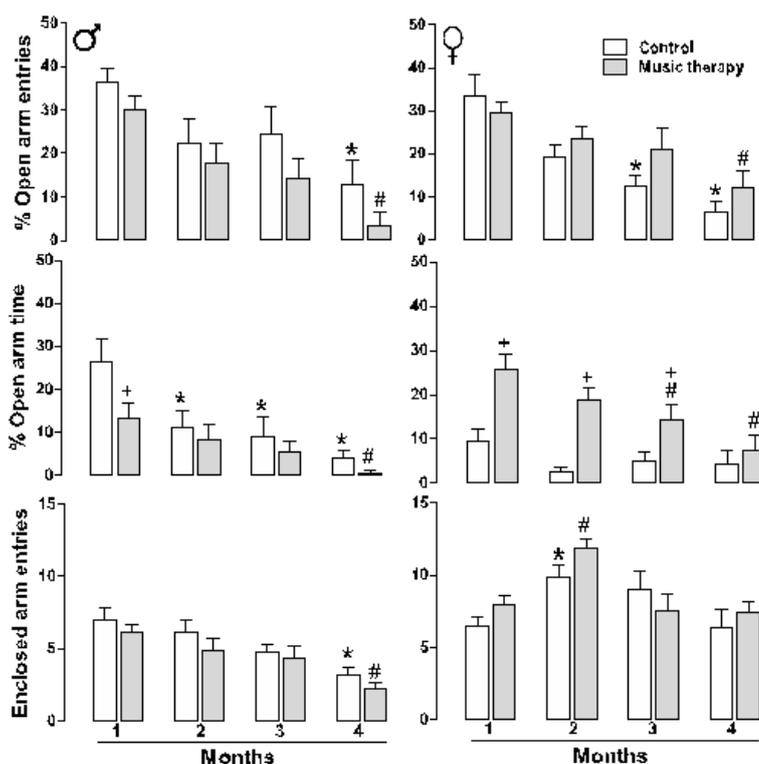


Figure 1. The locomotor activity of male (top panel) and female (bottom panel) rats with or without music therapy according to age using the open field test for 5 min. The results of the control group were considered in the premusic therapy evaluations of each age group. The data correspond to the mean  $\pm$  SEM of 10 animals/gender. \*  $p \leq .05$  compared with the control animals at 1 month of age; #  $p \leq .05$  compared with the animals subjected to music therapy at 1 month of age (ANOVA, Bonferroni's test).

$p = .328$ ]. However, there was a significant age difference [ $F_{(3,159)} = 22.268$ ;  $p < .001$ ]. The results of the post hoc Bonferroni's test indicated that the interactions of all the age pairs were statistically significant with the exception of the 2/3-month-old pair. Increased age corresponded with a lower frequency of entry into the open arms of the EPM. The statistical analysis indicated that only the gender and treatment interaction was significant, particularly in the 4-month-old animals. After music therapy, the frequency of entry into the open arms of the EPM decreased in male rats but increased in female rats (Figure 2, top panels).

**Time spent in the open arms of the EPM.** No significant difference was observed between

the genders [ $F_{(1,159)} = 0.641$ ;  $p = .425$ ] or treatments [ $F_{(1,159)} = 2.796$ ;  $p = .097$ ] despite the use of a low  $p$  value. However, there was a significant age difference [ $F_{(3,159)} = 14.614$ ;  $p < .001$ ]. The results of the post hoc Bonferroni's test indicated that only the 2/3-month-old and 3/4-month-old pairs did not significantly differ from each other. In general, there was a tendency for shorter permanence in the open arms with increasing age. In addition, gender and treatment was the only significant interaction observed. The responses of the control female rats did not change with increasing age. However, music therapy stimulated the female rats to stay in the open arms of the EPM for longer periods of time, whereas male rats stayed



**Figure 2.** Evaluation of anxiety behavior in male (left panels) and female (right panels) rats subjected with or without music therapy according to age using the EPM test for 5 min. The results of the control group were considered for the pre-music therapy evaluations at each age. A) % Open arm entries—the frequency of entry into the open arms of the EPM; B) % Open arm time—the time period spent in the open arms of the EPM; C) % Enclosed arm entries—the frequency of entry into the closed arms of the EPM. \*  $p < .05$  compared with the control animals at 1 month of age; #  $p < .05$  compared with the animals subjected to music therapy at 1 month of age; +  $p < .05$  compared with the respective control groups within each group (ANOVA Bonferroni's test).

in the open arms of the EPM for shorter periods of time, and music therapy significantly decreased the periods of permanence of 1-month-old male rats (Figure 2, middle panels).

**Frequency of entry into the closed arms of the EPM.** Significant gender [ $F_{(1,159)} = 67.616; p < .001$ ] and age [ $F_{(3,159)} = 10.955; p < .001$ ] differences were observed. However, no significant treatment difference was observed [ $F_{(1,159)} = 0.043; p = .837$ ]. The results of the post hoc Bonferroni's test indicated that only the 1/4-month and 2/4-month age pairs significantly differed from each other. There was a significant age difference in the frequency of entry into the closed arms of the EPM. The statistical analysis indicated a significant difference in only the gender and age interaction. In female rats, an increase in age did not significantly change the pattern of entry into the closed arms, whereas in male rats, a decrease in the frequency of entry was more evident (Figure 2, lower panels).

#### Forced Swimming Test

This test evaluated the animals' behavior suggestive of depression/stress by assessing their immobility after they were placed in a water tank. No significant difference was observed between the genders [ $F_{(1,159)} = 0.028; p < .868$ ]. However, significant treatment [ $F_{(1,159)} = 8.041; p = .005$ ] and age [ $F_{(3,159)} = 17.184; p < .001$ ] differences were found. The Bonferroni's test indicated that only the 1-month-old rats differed significantly from the older rats. In addition, starting at the age of 1 month, the period of immobility significantly increased in all of the evaluated groups. A statistical analysis of the interactions indicated that the relationship between gender and age was significant. Increased age, regardless of gender, was associated with longer periods of immobility. The 1-month-old female rats' mean period of immobility increased with music therapy, whereas that of the 1-month-old male rats decreased with music therapy. With regard to the animals' behavior suggestive of depression/stress, Figure 3 shows that music therapy significantly affected the period of immobility of the 1-month-old male and female rats. In addition, the male rats were more highly stressed after music therapy, whereas the female rats

remained immobile for longer time periods (see Figure 3).

#### Step-Down Inhibitory Avoidance Test

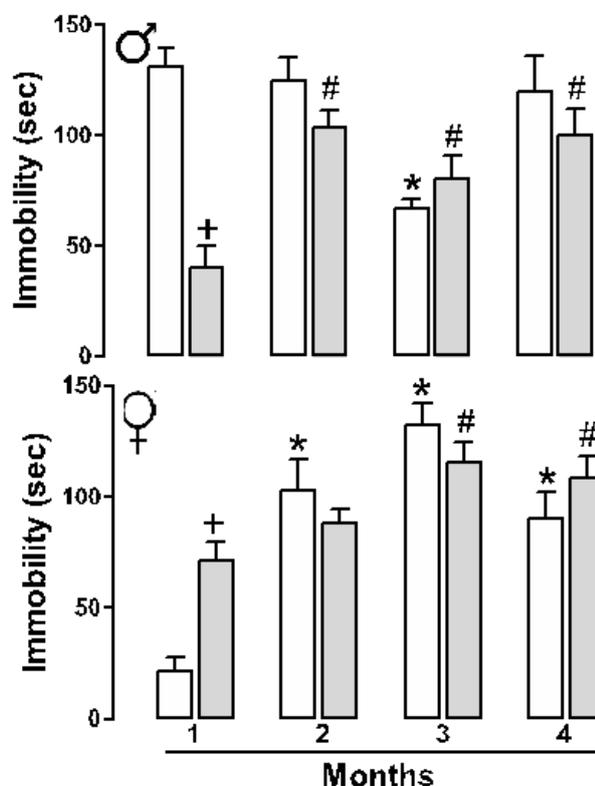
**STM.** In this test, no significant difference was observed between the genders [ $F_{(1,159)} = 0.178; p = .673$ ] or treatments [ $F_{(1,159)} = 2.628; p = .107$ ]. However, there was a significant age difference [ $F_{(3,159)} = 6.778; p < .001$ ]. The results of the post hoc Bonferroni's test indicated that the 1-month-old rats differed significantly from the older rats and that the time required for the animals to descend the platform increased with increasing age. In addition, only the interaction between gender and age was found to be significant. In general, the animals stayed in the apparatus platform longer with increasing age (see Figure 4).

**Long-term memory.** In this test, no significant difference was observed between the genders [ $F_{(1,159)} = 0.055; p = .815$ ], treatments [ $F_{(1,159)} = 0.124; p = .726$ ], or ages [ $F_{(3,159)} = 1.547; p = .205$ ]. Similarly, none of the interactions were found to be significant. The animals' permanence on the platform increased gradually with increasing age, but these differences were not found to be significant (see Figure 4).

#### Discussion

The modulating effect of music therapy appeared to positively affect the behavior of the animals that listened to Mozart's Sonata for Two Pianos, particularly when the effect was evaluated according to age. However, the cognitive responses associated with STM and LTM were not affected, which was likely due to the learning that occurred via test repetition at each age.

The observed behavioral responses may stem from the fact that music therapy can regulate animals' respiratory rate, induce the relaxation of muscle rigidity, and decrease their heart rate and blood pressure by creating a comfortable atmosphere and relieving stress, resulting in an increase in alpha waves in the brain. In addition, music therapy decreases depression and anxiety and contributes to the rehabilitation process (Kim et al., 2011). This therapy has also been used to treat physical and mental illnesses. In one study, a brief exposure to Mozart's Sonata



**Figure 3.** The effect of music therapy on the period of immobility in male (upper panel) and female (bottom panel) rats using the forced swimming test for 3 min. The results of the control group were considered for the premusic therapy evaluations in each age group.  $^+ p < .05$  compared with the control animals at 1 month of age;  $^{\#} p < .05$  compared with the animals subjected to music therapy at 1 month of age;  $^* p < .05$  compared with the respective control group within each group (ANOVA, Bonferroni's test).

for Two Pianos (Mozart K.448) increased spatial and temporal reasoning, the so-called "Mozart effect," and decreased the recurrence of seizures and epileptiform discharges (Lin, Lee, Wei, Mok, & Yang, 2014).

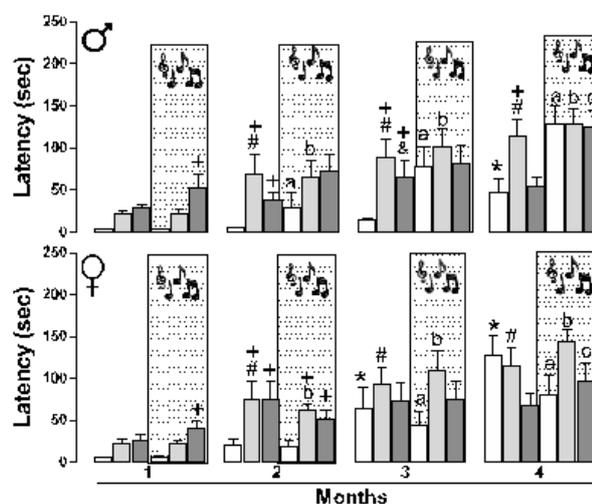
Regarding the anxiety associated with the frequency of entry and period of permanence in the open arms during the isolated evaluation of the variables tested in the EPM, there was no significant gender or treatment difference. However, there was a significant age difference at 1, 2, 3, and 4 months. With respect to the average frequency of entry into the open arms of the EPM for the different ages and age pairs, all of the age pairs differed from each other with the exception of the 2/3-month age pair, that is, increased age was associated with a lower fre-

quency of entry into the open arms. An age-based analysis of the average period of permanence in the open arms of the EPM and a comparison between age pairs indicated that only the 2/3-month and 3/4-month age pairs did not significantly differ from each other. There was a trend toward shorter permanence in the open arms with increasing age, and this behavior was particularly evident in the male rats.

The interaction between the independent variables and their statistical significance in the EPM test (frequency of entry and period of permanence in the open arms) indicated that only the gender and treatment interaction was significant, that is, music therapy only influenced the period of permanence in the open arms of the EPM in 1-month-old male rats and

## MUSIC THERAPY ON THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

183



*Figure 4.* The influence of music therapy during training (shock) on the short- and long-term memory of male rats (upper panel) and female rats (bottom panel) was measured by evaluating the time required for the animals to descend the platform using the inhibitory avoidance test for a period of 3 min. The results of the control groups were considered for the pre-music therapy evaluations in each age group. \*  $p < .05$  compared with the control animals at the age of 1 month; #  $p < .05$  compared with the STM results of the rats at the age of 1 month; a  $p < .05$  compared with the results of the control group subjected to music therapy at the age of 1 month; "b"  $p < .05$  compared with the STM results of the rats subjected to music therapy at the age of 1 month; "c"  $p < .05$  compared with the long-term memory results of the rats subjected to music therapy at the age of 1 month; "+"  $p < .05$  compared with the respective control group within each group. White bars = training (shock); light-gray bars = STM; dark gray bars = long-term memory. The musical notes represent the animals subjected to music therapy (Mozart's Sonata for Two Pianos).

1, 2, and 3-month-old female rats, which is suggestive of anxiolytic and anxiogenic response effects, respectively.

Rats have a greater preference for dark indoor environments, which are protective compared with bright open environments (Handley & Mithani, 1984). The results obtained herein indicate that the frequency of entry into the closed arms of the EPM was significantly different for the genders in that male rats entered the closed arms less frequently than female rats. In addition, there was a significant age difference but no significant treatment difference. The analysis of the average frequency of entry into the closed arms of the EPM among all of the ages and age pairs indicated that only the 1/4-month and 2/4-month age pairs were significantly different from each other, but this difference decreased with age. An analysis of the interactions between the independent variables indicated that

only the gender and age interaction was significant. Female rats did not change their patterns of entry into the closed arms with increasing age. However, in male rats, a decrease in the number of entries was evident between 1 and 4 months of age.

The results appeared to be specific for anxiogenic or anxiolytic activities, which neither interfered with the frequency of entry into the closed arms of the EPM in the majority of the evaluations nor affected the mobility of the animals in the open field test during the age pair analyses. The average number of quadrants traveled according to age and age pair indicated that in male rats, increasing age was associated with decreased mobility. For example, the 4-month-old animals were significantly less mobile than their younger peers. The age and treatment interaction was not significant. For the Gender  $\times$  Age interaction, a different pat-

tern was observed in the male versus female rats; the female rats tended to become more mobile with increasing age, whereas the male rats tended to become less mobile with increasing age. With regard to the Gender  $\times$  Treatment interaction, the female rats exhibited increased mobility after treatment compared with the male rats.

These data corroborate the results obtained by Imhof et al. (1993), who compared the performance of male and female Wistar rats at different ages (45, 60, 90, 120, and 150 days) using the EPM test. Until they were 60 days old, both the male and female animals showed a relatively higher frequency of entry and a longer period of permanence in the open arms ( $\geq 50\%$ ). After 120 days, both the male and female rats showed a decrease in their frequency of entry and period of permanence in the open arms ( $< 50\%$ ). Between 60 and 120 days of age, there was a significant difference between the genders. At 90 days of age, the male rats showed a marked change in their performance on the LCF test, whereas this effect was observed in the female rats after approximately 120 days. These results suggest that there are ontogenetic differences in rats and underscore the importance of carefully controlling the age of animals used in EPM studies.

Preferred behaviors are often established during childhood, but their underlying neural circuit mechanisms remain unknown. Yang, Lin, and Hensch (2012) confirmed the existence of a "critical age" in the development of musical preference in C57BL/6 mice with an assessment of their nesting behavior. They found that premature exposure to music (between 15 and 24 days after birth) reversed the nesting behavior of the mice. An image analysis of cFos expression revealed an increase in neuronal activation in response to music therapy. However, this increase occurred only under conditions of plasticity in the medial prefrontal cortex in the pre- and infralimbic regions. Neither behavioral changes nor the selective activation of the medial prefrontal cortex were observed in response to pure tone exposure, indicating the specific effect of music therapy. The animals' mobility in the open field test increased concurrently with changes in musical preference, suggesting a potential anxiolytic effect. Therefore, music therapy can offer both a unique window into the emotional state of mice and a poten-

tially efficient test to evaluate interruptions in the plasticity of the critical period, which commonly occurs in the sensory and higher order regions of the brain.

Previous studies have also shown that music therapy is closely associated with hormones, particularly steroids (including the sex hormones), which regulate human emotions and behavior. For example, a correlation was found between spatial or musical ability and testosterone and cortisol levels (Fukui et al., 2012). Other studies have revealed that the neurochemical effects of music therapy can strengthen the immune system by increasing the production of antibodies, immunoglobulin A, and leukocytes and may affect the ability to regulate mood and reduce anxiety and stress (Fancourt, Ockelford, & Belai, 2014; Lai, Liao, Huang, Chen, & Peng, 2013). Several nonpharmacological approaches have been used to treat anxiety and stress and evaluate the effects of music as a therapeutic intervention (Sakamoto, Ando, & Tsutou, 2013). The levels of two important markers for clinical manifestations of anxiety and stress, beta-endorphin and cortisol, which are regulated by the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, are altered by music therapy (Hegde, 2014). The levels of hormones and neurotransmitters were not measured in our study to confirm this interference in the observed responses.

One study investigated the ontogeny of an anxiety-like behavior in male and female rats, from adolescence to adulthood, by filming the animals as they were subjected to a potentially threatening new environment. Changes in this anxiety-like behavior were evaluated during the transition from adolescence to adulthood using the open field and EPM tests. Adult female rats were observed to have increased mobility in the open field and stayed for longer time periods in the open arms of the EPM compared with adult male rats. Thus, gender differences in the performance of these tasks may be associated with gender differences in exploratory motivation or spatial learning ability (Lynn & Brown, 2010).

One pilot study investigated the effects of music therapy on the psychological symptoms of psychiatric patients. Significant improvements in the severity of the patients' symptoms were observed after 15 music sessions, compared with the control patients. This result is consistent with previous data indicating that music therapy is beneficial for the treatment of

depression, anxiety, and other psychological symptoms. The likely explanation for these results is that regular music therapy activates the neural networks in different brain regions. Music therapy also produces physical and psychological improvements that provide benefits against stress, anxiety, and mood changes (Choi et al., 2008).

The descriptive etiological analysis in one study indicated that swimming is one of the first behaviors displayed by rats in forced swimming test sessions. The frequency and duration of immobility/swimming increased throughout the test sessions. Immobility is interpreted to be the impairment of escape-associated behavior (the behavioral state of despair) or the development of a passive behavior to deal with stressful stimuli. In this respect, behavioral despair is treated with antidepressant. Gradual immobility/swimming is one of the factors suggesting that the last few minutes of test sessions are essential for evaluating the development of behavioral despair and, consequently, the effects of antidepressant drugs (Lino-de-Oliveira, De Lima, & de Pádua Carobrez, 2005).

In the present study, an analysis of the interactions between the independent variables indicated a significant relationship between gender and age. Regardless of gender, increasing age was associated with longer periods of immobility. However, this difference was higher in female rats compared with male rats who were 1–4 months of age. The relationship between gender and treatment differed as well: The female rats' average period of immobility increased significantly after music therapy, which is suggestive of apathetic behavior compatible with depressive symptoms. In contrast, the male rats' average period of immobility decreased at 1 month of age, which was likely due to higher levels of stress. It is possible that these results were influenced to a certain extent by maternal abandonment due to the fact that weaning occurred a few days prior to experimentation.

In the step-down inhibitory avoidance test, there was no significant gender or treatment difference, only an age difference in the evaluation of STM wherein the 1-month-old rats differed significantly from their older peers. It was observed that the time required for the rats to descend the platform increased with increasing age, which suggests a possible increase in "adaptive memory." This was possibly due to

the fact that the experimental procedures performed at 1 month of age were repeated at subsequent ages. This hypothesis was raised because no significant difference was observed, even in the control group. In addition, only the gender and age interaction was found to be significant. The time required for the female rats to descend the platform was shorter at 1 month of age than at 4 months of age. In male rats, the pattern was unchanged, although there was a small increase in the time required for them to descend the platform. In the long-term memory evaluation, no significant difference was observed for any of the variables (gender, treatment, and age). Similarly, none of the interactions between these variables were found to be significant.

Memory dysfunction is an important symptom of age-associated dementia. Although recent studies suggest that electrical stimulation has positive effects on memory, its potential targets remain largely unknown. One recent hypothesis is that deep brain stimulation directed to the ventromedial prefrontal cortex enhances memory functions in experimental rat models. A previous study indicated that acute stimulation enhanced STM, but not LTM, in the new element recognition task. Of note, after high-frequency chronic stimulation, both STM and LTM improved in new element recognition tests (Liu, Jain, Vyas, & Lim, 2015).

From a cognitive viewpoint, the therapeutic applicability of music therapy has gained importance in recent years. Although several music therapy reviews have reported on its beneficial effects on behavior and social interactions in Alzheimer's patients, the effects of music therapy have been inconsistent with respect to cognition. Li et al. (2015) aimed to evaluate the adjunctive long-term effect of music therapy in patients undergoing pharmacological treatment for Alzheimer's disease. Patients with mild cases of Alzheimer's disease were recruited and voluntarily separated into music therapy and control groups for 6 months. The subsequent evaluations included an assessment of their cognitive skills, a mental state examination, and a classification of clinical dementia. The therapies used were Mozart's Sonata for Two Pianos (KV 448) and Pachelbel's Canon, which were applied daily with headphones for 30 min in the morning and before bedtime, respectively. The adjusted differences in the mental state exami-

nation after 6 months were slightly lower in the music therapy group compared with the control group, but these differences were not found to be significant. In a cognitive skill analysis, the difference in the music therapy group was significantly higher than that in the control group.

In line with previous data, it is noteworthy that music therapy improves autobiographical memory and the memory of letters in Alzheimer's patients. The effectiveness of music therapy for treating dementia has been demonstrated in recent systematic reviews. In healthy older people, cognitive interventions that offer training in memory, attention, fine motor coordination, visual-motor coordination, and auditory processing are associated with cognitive gains. Previous studies have indicated that older musicians have superior auditory memory compared with nonmusicians. Moreover, there is evidence that musical training can reduce the impact of age-related falls, that is, music therapy may be useful for the maintenance of cognitive functions in healthy older people and in patients with dementia (Satoh et al., 2014).

In Alzheimer's patients, music therapy has been found to alter the different components of the disease via sensory, cognitive, emotional, behavioral, and social effects and also affects the global progression of the disease. Music therapy is used to decrease the amount of medication prescribed to Alzheimer's patients and to significantly reduce their anxiety, depression, and aggression. Music therapy also helps patients remember their past experiences, memories, and images and stimulates their cognitive functions (Guetin et al., 2009).

Therefore, the results of our study corroborate to a certain extent the results obtained in the clinical practice of palliative care, in which music therapy is generally used to improve or maintain patients' quality of life, manage their stress, and control their negative emotions, including anxiety and depression.

### Conclusions

In a more general context, we conclude that music therapy based on Mozart's Sonata for Two Pianos positively interfered with the behavior of rats at different developmental stages. However, it cannot be discarded that these effects might have been due to the animals' adaptation to the tests because the same test was

reapplied at each developmental stage. This repetition may have generated an "adaptive memory" effect involving information retention, which was initially triggered when the animals were tested at 1 month of age and retested at 2, 3, and 4 months of age.

### References

- Aoun, P., Jones, T., Shaw, G. L., & Bodner, M. (2005). Long-term enhancement of maze learning in mice via a generalized Mozart effect. *Neurological Research, 27*, 791-796. <http://dx.doi.org/10.1179/016164105X63647>
- Choi, A. N., Lee, M. S., & Lim, H.-J. (2008). Effects of group music intervention on depression, anxiety, and relationships in psychiatric patients: A pilot study. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 14*, 567-570. <http://dx.doi.org/10.1089/acm.2008.0006>
- Fancourt, D., Ockelford, A., & Belai, A. (2014). The psychoneuroimmunological effects of music: A systematic review and a new model. *Brain, Behavior, and Immunity, 36*, 15-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2013.10.014>
- Fukui, H., Arai, A., & Toyoshima, K. (2012). Efficacy of music therapy in treatment for the patients with Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's Disease, 2012*, 531646. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/531646>
- Guetin, S., Portet, F., Picot, M.-C., Defez, C., Pose, C., Blayac, J. P., & Touchon, J. (2009). Intérêts de la musicothérapie sur l'anxiété, la dépression des patients atteints de la maladie d'Alzheimer et sur la charge ressentie par l'accompagnant principal (étude de faisabilité) [Impact of music therapy on anxiety and depression for patients with Alzheimer's disease and on the burden felt by the main caregiver (feasibility study)]. *L'Encéphale, 35*, 57-65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.encep.2007.10.009>
- Handley, S. L., & Mithani, S. (1984). Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of "fear"-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 327*, 1-5. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00504983>
- Hegde, S. (2014). Music-based cognitive remediation therapy for patients with traumatic brain injury. *Frontiers in Neurology, 5*, 1-7. <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2014.00034>
- Imhof, J. T., Coelho, Z. M., Schmitt, M. L., Morato, G. S., & Carobrez, A. P. (1993). Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus maze apparatus. *Behavioural Brain Research, 56*, 177-180. [http://dx.doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90036-P](http://dx.doi.org/10.1016/0166-4328(93)90036-P)

- Jausovec, N., Jausovec, K., & Gerlic, I. (2006). The influence of Mozart's music on brain activity in the process of learning. *Clinical Neurophysiology*, *117*, 2703–2714. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinph.2006.08.010>
- Kamioka, H., Tsutani, K., Yamada, M., Park, H., Okuizumi, H., Tsuruoka, K., . . . Mutoh, Y. (2014). Effectiveness of music therapy: A summary of systematic reviews based on randomized controlled trials of music interventions. *Patient Preference and Adherence*, *8*, 727–754. <http://dx.doi.org/10.2147/PPA.S61340>
- Kim, D. S., Park, Y. G., Choi, J. H., Im, S. H., Jung, K. J., Cha, Y. A., . . . Yoon, Y. H. (2011). Effects of music therapy on mood in stroke patients. *Yonsei Medical Journal*, *52*, 977–981. <http://dx.doi.org/10.3349/ymj.2011.52.6.977>
- Krumhansl, C. L. (1997). An exploratory study of musical emotions and psychophysiology. *Canadian Journal of Experimental Psychology/Revue canadienne de psychologie expérimentale*, *51*, 336–353.
- Lai, H. L., Liao, K. W., Huang, C. Y., Chen, P. W., & Peng, T. C. (2013). Effects of music on immunity and physiological responses in healthcare workers: A randomized controlled trial. *Stress and Health: Journal of the International Society for the Investigation of Stress*, *29*, 91–98. <http://dx.doi.org/10.1002/smi.2429>
- Li, C. H., Liu, C. K., Yang, Y. H., Chou, M. C., Chen, C. H., & Lai, C. L. (2015). Adjunct effect of music therapy on cognition in Alzheimer's disease in Taiwan: A pilot study. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *11*, 291–296. <http://dx.doi.org/10.2147/NDT.S73928>
- Lin, L. C., Lee, M. W., Wei, R. C., Mok, H. K., & Yang, R. C. (2014). Mozart K. 448 listening decreased seizure recurrence and epileptiform discharges in children with first unprovoked seizures: A randomized controlled study. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *14*, 17. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6882-14-17>
- Lino-de-Oliveira, C., De Lima, T. C., & de Pádua Carobrez, A. (2005). Structure of the rat behaviour in the forced swimming test. *Behavioural Brain Research*, *158*, 243–250. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2004.09.004>
- Liu, A., Jain, N., Vyas, A., & Lim, L. W. (2015). Ventromedial prefrontal cortex stimulation enhances memory and hippocampal neurogenesis in the middle-aged rats. *eLife*, *4*, 1–21. <http://dx.doi.org/10.7554/eLife.04803>
- Lucena, G. M., Porto, F. A., Campos, E. G., Azevedo, M. S., Cechinel-Filho, V., Prediger, R. D., & Ferreira, V. M. (2010). Cipura paludosa attenuates long-term behavioral deficits in rats exposed to methylmercury during early development. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *73*, 1150–1158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.04.008>
- Lucena, G. M., Prediger, R. D., Silva, M. V., Santos, S. N., Silva, J. F. B., Santos, A. R., . . . Ferreira, V. M. (2013). Ethanolic extract from bulbs of *Cipura paludosa* reduced long-lasting learning and memory deficits induced by prenatal methylmercury exposure in rats. *Developmental Cognitive Neuroscience*, *3*, 1–10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dcn.2012.08.003>
- Lynn, D. A., & Brown, G. R. (2010). The ontogeny of anxiety-like behavior in rats from adolescence to adulthood. *Developmental Psychobiology*, *52*, 731–739. <http://dx.doi.org/10.1002/dev.20468>
- Maia, C. S. F., de Souza Lucena, G. M. R., Corrêa, P. B. F., Serra, R. B., de Melo Matos, R. W., Menezes, F. C., . . . Ferreira, V. M. M. (2009). Interference of ethanol and methylmercury in the developing central nervous system. *Neurotoxicology*, *30*, 23–30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2008.11.008>
- Murrock, C. J., & Bekhet, A. K. (2016). Concept analysis: Music therapy. *Research and Theory for Nursing Practice*, *30*, 44–59. <http://dx.doi.org/10.1891/1541-6577.30.1.44>
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open/closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, *14*, 149–167. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](http://dx.doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)
- Porsolt, R. D., Bertin, A., & Jalfre, M. (1977). Behavioral despair in mice: A primary screening test for antidepressants. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, *229*, 327–336.
- Quinn, R. (2005). Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? *Nutrition*, *21*, 775–777. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2005.04.002>
- Robles Bayón, A., & Gude Sampedro, F. (2015). Behavioural and psychiatric symptoms in cognitive neurology. *Neurologia*, *32*, 81–91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neu.2015.01.003>
- Sakamoto, M., Ando, H., & Tsutou, A. (2013). Comparing the effects of different individualized music interventions for elderly individuals with severe dementia. *International Psychogeriatrics*, *25*, 775–784.
- Satoh, M., Ogawa, J.-I., Tokita, T., Nakaguchi, N., Nakao, K., & Kida, H. (2014). The effects of physical exercise with music on cognitive function of elderly people: Mihama-kiho project. *Plos ONE*, *9*, e95230. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0095230>
- Tasset, I., Quero, I., García-Mayórgaz, A. D., del Río, M. C., Túnez, I., & Montilla, P. (2012). Changes caused by haloperidol are blocked by music in Wistar rat. *Journal of Physiology and*

- Biochemistry*, 68, 175–179. <http://dx.doi.org/10.1007/s13105-011-0129-8>
- Trainor, L. (2008). Science & music: The neural roots of music. *Nature*, 453, 598–599. <http://dx.doi.org/10.1038/453598a>
- Varusio, W., Htonn, E., Vicenzini, F., Vanacore, N., Cacciafesta, M., & Mecarelli, O. (2015). The Mozart Effect: A quantitative EEG study. *Consciousness and Cognition*, 35, 150–155. <http://dx.doi.org/10.1016/j.concog.2015.05.005>
- Vuilleumier, P., & Trost, W. (2015). Music and emotions: From enchantment to entrainment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1337, 212–222. <http://dx.doi.org/10.1111/nyas.12676>
- Yang, E.-J., Lin, E. W., & Hensch, T. K. (2012). Critical period for acoustic preference in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109(Suppl. 2), 17213–17220. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1200705109>

Received February 21, 2017

Revision received April 5, 2017

Accepted April 20, 2017 ■

### Members of Underrepresented Groups: Reviewers for Journal Manuscripts Wanted

If you are interested in reviewing manuscripts for APA journals, the APA Publications and Communications Board would like to invite your participation. Manuscript reviewers are vital to the publications process. As a reviewer, you would gain valuable experience in publishing. The P&C Board is particularly interested in encouraging members of underrepresented groups to participate more in this process.

If you are interested in reviewing manuscripts, please write APA Journals at [Reviewers@apa.org](mailto:Reviewers@apa.org). Please note the following important points:

- To be selected as a reviewer, you must have published articles in peer-reviewed journals. The experience of publishing provides a reviewer with the basis for preparing a thorough, objective review.
- To be selected, it is critical to be a regular reader of the five to six empirical journals that are most central to the area or journal for which you would like to review. Current knowledge of recently published research provides a reviewer with the knowledge base to evaluate a new submission within the context of existing research.
- To select the appropriate reviewers for each manuscript, the editor needs detailed information. Please include with your letter your vita. In the letter, please identify which APA journal(s) you are interested in, and describe your area of expertise. Be as specific as possible. For example, “social psychology” is not sufficient—you would need to specify “social cognition” or “attitude change” as well.
- Reviewing a manuscript takes time (1–4 hours per manuscript reviewed). If you are selected to review a manuscript, be prepared to invest the necessary time to evaluate the manuscript thoroughly.

APA now has an online video course that provides guidance in reviewing manuscripts. To learn more about the course and to access the video, visit <http://www.apa.org/pubs/authors/review-manuscript-cc-video.aspx>.