

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
INSTITUTO DE SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

Modulação comportamental: música, estresse e cognição

Amanda Corrêa dos Santos

Passo Fundo

2023

Amanda Corrêa dos Santos

Modulação comportamental: música, estresse e cognição

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Saúde da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador:

Ana Cristina Vendrametto Varrone Giacomini

Coorientador:

Murilo Sander de Abreu

Passo Fundo

2023

CIP – Catalogação na Publicação

S237m Santos, Amanda Corrêa dos
Modulação comportamental [recurso eletrônico] :
música, estresse e cognição / Amanda Corrêa dos Santos.
– 2023.
6.7 MB ; PDF.

Orientador: Prof. Dr. Ana Cristina Vendrametto
Varrone Giacomini.
Coorientador: Prof. Dr. Murilo Sander de Abreu.
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) –
Universidade de Passo Fundo, 2023.

1. Zebrafish (Zebra danio). 2. Música. 3. Modulação
comportamental. 4. Cortisol. 5. Cognição. I. Giacomini, Ana
Cristina Vendrametto Varrone, orientadora. II. Abreu, Murilo
Sander de, coorientador. III. Título.

CDU: 504.03

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO



PPGCIamb
Programa de Pós-Graduação
em Ciências Ambientais

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação:

“Modulação comportamental: música, estresse e cognição”

Elaborada por

AMANDA CORRÊA DOS SANTOS

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
“Mestre em Ciências Ambientais”

Aprovado em: 24/04/2023
Pela Banca Examinadora

Profa. Dra. Ana Cristina V. V. Giacomini
Presidente da Comissão Examinadora – UPF/PPGCIamb

Prof. Dr. Leonardo Jose Gil Barcellos
Universidade de Passo Fundo – UPF/PPGBioexp

Prof. Dr. José HABA-RUBIO
Universidade de Lausanne Suíça (UNIL)

CHUV
Dr José HABA RUBIO
Centre d'investigation et de
recherche sur le sommeil
BH06-204 1011 Lausanne
Tél 021 314 67 48 Fax 021 314 67 52

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho primeiramente aos meus amados pais. Que honra e grandeza ser filha de Luciane Corrêa dos Santos e Leomar Antônio Ribeiro dos Santos. Dedico esta conquista, todas as passadas e as futuras a vocês, sempre para vocês e por vocês.

Dedico aos meus avós Orides Ribeiro dos Santos, João Pedro Alves dos Santos, Artis Maria Corrêa e José Corrêa Filho. Levo o amor e calor dos abraços de vocês para toda a minha vida, materializo aqui a vontade e saudade de tê-los comigo. Benção, Vô! Benção, Vô! Eu amo vocês para todo sempre.

Dedico a minha família Addams, tão grande, multicolorida e essencial! Nenhuma conquista é boa sem termos uma grande junção para dividir e comemorar.

Dedico ainda, ao meu companheiro Leonardo da Silva dos Santos. Cada página escrita aqui tem um pouco do teu apoio e amparo.

Dedico a mim, como prova física da minha dedicação e amor pela ciência. Dedico ao meu esforço e doação. Dedico minhas tantas decisões e sacrifícios para que tudo seja sempre feito com o melhor de mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ser tão bom e generoso comigo. Obrigada por me atender, responder aos meus pedidos.

Agradeço aos meus pais (Luciane e Leomar), meu irmão (Michel) e minha irmã (Luana), por me proporcionarem a melhor rede de apoio que poderia ter.

Agradeço a minha família Corrêa e Santos, por serem a maior e melhor demonstração de grande amor da minha vida.

Agradeço ao meu noivo Leonardo pelo grande socorro que sempre prestou a mim nos piores momentos da minha vida. Obrigada por tanto zelo e amparo! Obrigada pela nossa vida e nossa família.

Agradeço Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio durante estes dois anos de formação. Muito mais do que uma bolsa, o PROSUC possibilitou um sonho que somente com meus pés não alcançaria. A CAPES foi a base e chão para caminhar nessa jornada.

Agradeço a Fapergs (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) pelo incentivo financeiro.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, ao Instituto de Saúde da Universidade de Passo Fundo, incluindo funcionários e colaboradores que não hesitam em sempre dispor ajuda.

Agradeço à funcionária laboratorista Sirlei Cazarotto, pela extrema disposição, alegria e apoio.

Agradeço, incontestavelmente, ao auxílio e todo suporte de Gabriel, Nicoli, Alex, Vanusa, Júlia e Vitor. Fui abençoada com o trabalho de vocês, obrigada de todo meu coração por terem muitas vezes me salvado, ensinado, contribuído, compreendido e compartilhado tantos dias comigo. Em vocês depus toda segurança e esperança como quem entrega algo valioso nas mãos para outra pessoa cuidar. Obrigada por terem zelado pelo nosso projeto! Isso é nosso! Levo vocês sempre no coração.

Agradeço à orientadora Ana Cristina Vendrametto Varrone Giacomini e ao coorientador Murilo Sander Abreu. Obrigada pelo incentivo, orientação e apoio.

Agradeço, de forma única e especial, à minha melhor amiga Gabriela de Mello Tagliari. Obrigada por me acalmar, apoiar e amar. Sem você não teria sentido, obrigada por trilharmos a vida pessoal e profissional construindo tudo lado a lado. Cada vitória minha será sempre parte tua, cada vitória tua eu celebrarei como se fosse minha. Eu amo você, obrigada por estar aqui na minha vida.

Por fim, agradeço a mim, pela minha inteligência emocional desenvolvida nesses anos. Agradeço por toda fortaleza que construí na minha saúde, por ter aprendido a ouvir mais e falar menos, por ter insistido. Principalmente, agradeço à minha força de vontade em ter proposto e realizado um belo trabalho de pesquisa.

EPIGRAFE

“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas”. (Claude Lévi-Strauss)

RESUMO

A música tem sido explorada como forma de tratamento alternativo para melhora da qualidade de vida, funções cognitivas, estresse, ansiedade e indução de sono. Alguns agentes estressores, agravados em período de pandemia da COVID-19, como poluição acústica, isolamento social, depressão, exposição a longas jornadas de trabalho, evocam má qualidade do sono. Distúrbios psicológicos, uso abusivo de medicamentos para indução de sono, má alimentação, níveis de estresse elevado, são exemplos de problemas acarretados da falta de sono. Para isso, estudos comprovam benefício e impacto do uso da música na qualificação cognitiva de animais, como exemplo dos roedores. O zebrafish (*Danio rerio*) tem sido amplamente utilizado em pesquisas devido à homologia genética com seres humanos. No presente estudo, por meio de revisão bibliográfica, consolidamos o uso de estímulos musicais como forma de melhoria em sintomas de dor, ansiedade, estresse e qualidade do sono; promovendo benefícios físicos e psicológicos aos indivíduos. Ainda, comprovamos experimentalmente que sessões de frequência de Solfeggio 963Hz reverte o dano cognitivo e nível de estresse induzido pela exposição à luz 24 horas em zebrafish, corroborando com os estudos que demonstram os benefícios em humanos. O experimento foi realizado utilizando sessões intermitentes (2 horas ou 6 horas duas vezes ao dia) ou contínua (24 horas) à música de frequência Solfeggio (963Hz) em zebrafish adultos submetidos à alteração do ritmo circadiano (exposição à luz por 24 horas). Enquanto a exposição à luz de 24 horas evoca déficits cognitivos e eleva os níveis de cortisol, esses efeitos foram revertidos pela exposição às sessões de música. Esses achados sugerem uma modulação positiva das respostas cognitivas e endócrinas em zebrafish adultos à música e reforçam o zebrafish como um organismo modelo robusto e sensível para pesquisas neurocognitivas e neuroendócrinas.

Palavras-chave: 1. *Zebrafish*. 2. Música. 3. Cortisol. 4. Cognição. 5. Modulação comportamental.

ABSTRACT

Music has been explored as a form of alternative treatment to improve quality of life, cognitive functions, stress, anxiety, and sleep induction. Some stressors, aggravated in the pandemic period of COVID-19, such as noise pollution, social isolation, depression, exposure to long working hours, evoke poor sleep quality. Psychological disorders, abuse of sleep-inducing drugs, poor diet, high stress levels, are examples of problems caused by lack of sleep. For this, studies prove the benefit and impact of the use of music on the cognitive skills of animals, such as rodents. The zebrafish (*Danio rerio*) has been widely used in research due to its genetic homology with humans. In the present study, by means of a literature review, we consolidate the use of musical stimuli as a way to improve pain symptoms, anxiety, stress, and sleep quality; promoting physical and psychological benefits to the individuals. Furthermore, we experimentally proved that sessions of Solfeggio frequency 963Hz reverses cognitive damage and stress level induced by 24-hour light exposure in zebrafish, corroborating with studies that demonstrate benefits in humans. The experiment was conducted using intermittent (2 hours or 6 hours twice a day) or continuous (24 hours) sessions to Solfeggio frequency music (963Hz) in adult zebrafish subjected to circadian rhythm alteration (24-hour light exposure). While 24-hour light exposure evokes cognitive deficits and elevates cortisol levels, these effects were reversed by exposure to the music sessions. These findings suggest a positive modulation of cognitive and endocrine responses in adult zebrafish to music and reinforce the zebrafish as a robust and sensitive model organism for neurocognitive and neuroendocrine research.

Key words: 1. Zebrafish. 2. Music. 3. Cortisol. 4. Cognition. 5. Behavioral modulation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Schematic diagram illustrating the study experimental design 38
- Figura 2** - Effects of music exposure on adult zebrafish cognitive performance in the inhibitory avoidance test. Data are expressed as mean \pm SEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$, Wilcoxon matched-pairs test (latency time) or Kruskal-Wallis test (retention index data; $n = 24$ per group). Effects of normal (A, 14-h light/10-h dark) and disturbed (B, 24-h light) circadian cycle and music exposure on adult zebrafish cognitive performance in the shock avoidance assay. (C) Cognitive retention index was calculated here as the difference between the testing latency time (T2) and the respective training latency time (T1) to enter the black (shock) compartment of the apparatus.....39
- Figura 3** - Effects of the light cycle and music exposure on whole-body cortisol of adult zebrafish. Data are expressed as mean \pm SEM, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$, two-way ANOVA test (factors: light cycle and music exposure), followed by Tukey pos-hoc test for significant ANOVA data ($n = 5$ per group, 3 fish pooled per sample). Interaction (F 3,32 = 12.4; $p < 0.0001$); light cycle (F 1,32 = 5.105; $p = 0.0308$); and music treatment (F 3,32 = 15.6; $p < 0.0001$)..... 40

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACTH	=	Hormônio	min = Minutos
Adrenocorticotrófico			ng = Nanograma
ANOVA	=	Análise de variância	p = valor estatístico
C	=	Celsius	pH = Potência de Hidrogênio
CaCO ₃	=	Carbonato de Cálcio	POMC = Pró-opiomelanocortina
CAPES	=	Coordenação de	PROSUC = Programa de Suporte à Pós-
Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior			Graduação de Instituições Comunitárias de Educação Superior
Cm	=	Centímetros	REM = <i>Rapid Eyes Movement</i> (Sono com movimento rápido dos olhos)
CRH	=	Hormônio Liberador de Corticotrofina	s = Segundos
dB	=	Decibéis	SAN = Síndrome Alimentar Noturna
DNA	=	Ácido Desoxirribonucleico	SNA = Sistema nervoso autônomo
DPOC	=	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica	SNC = Sistema nervoso central
FAPERGS	=	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul	TCC = Terapia Cognitivo Comportamental
g	=	Gramas	UPF = Universidade de Passo Fundo
h	=	hora	UV = Radiação ultravioleta
Hz	=	Hertz	v = Volts
L	=	Litro	Vs. = Versus
mA			
mg	=	Miligrama	

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA: QUALIDADE DO SONO E O USO DAS FREQUÊNCIAS DE SOLFEGGIO	17
2.1	<i>Sono: Aspectos fisiológicos</i>	17
2.2	<i>Formas de tratamento</i>	19
2.3	<i>Neurociência da música</i>	21
2.4	<i>Zebrafish como modelo de estudo</i>	24
3	CAPÍTULO 2 – SOLFEGGIO FREQUENCY MUSIC EXPOSURE REVERSES COGNITIVE AND ENDOCRINE DEFICITS EVOKED BY A 24-H LIGHT EXPOSURE IN ADULT ZEBRAFISH	31
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
	ANEXOS	48

1 INTRODUÇÃO

A qualidade do sono contribui para a regulação da homeostasia do organismo. Por outro lado, a privação de sono compromete diferentes funções fisiológicas desencadeando problemas relacionados aos diversos distúrbios do sono, estresse, ansiedade e depressão (BARROS et al., 2020; FORCELINI; WANNMACHER, 2017; WITTE et al., 2022), além de outras comorbidades. A higiene do sono (uma das formas de tratamento não medicamentosa) é feita por medidas como redução da luminosidade e uso de telas (ARANTES-JÚNIOR et al., 2021), meditação (PEREIRA, 2017), exercícios físicos (ANDRADE; PEDROSA, 2016; OLIVEIRA, 2016) e terapia cognitivo comportamental (RAMOS; ALMEIDA; CARDOSO, 2020; TEIXEIRA, 2015;). O tratamento medicamentoso envolve, em grande maioria, fármacos ansiolíticos (FÁVERO; SATO; SANTIAGO, 2017) e hipnóticos (MORAIS, 2020), agonistas melatoninérgicos (GLANZMANN et al., 2019), antipsicóticos (CARDOSO; LOPES, 2021). Com isso, a fim de proporcionar uma melhora na qualidade de vida e higiene do sono, a música se apresenta como fator importante de enriquecimento ambiental, capaz de proporcionar modulações comportamentais positivas em casos de estresse e perturbação da cognição (DICKSON; SCHUBERT, 2019; VUUST et al., 2022). Desta forma, os sons podem auxiliar na recuperação da qualidade do sono, contribuindo na efetivação dos tratamentos de disfunções relacionadas à privação do sono (DICKSON; SCHUBERT, 2019). Algumas mídias digitais indicam que modulações de 963Hz de Solfeggio agem como método de indução para ativação da glândula pineal, reconexão e despertar do sistema ao estado original e perfeito, como as frequências para meditação disponíveis pelo canal Meditative Mind (2018). Estudos relatam os efeitos fisiológicos e psicológicos positivos de diferentes frequências de Solfeggio, entretanto, não há relatos sobre estudos utilizando essa frequência.

Com relação aos fatos mencionados até aqui, o modelo animal *zebrafish* (*Danio rerio*) tem sido utilizado como referência em pesquisa translacional por apresentar homologia genética (~70%) comparada aos humanos (HOWE et al., 2013). Giacomini et

al. (2020) evidenciaram que a privação de sono (24 horas de luz) promove dano cognitivo e níveis elevados de cortisol em *zebrafish* os quais foram revertidos pela melatonina. Com isso, o objetivo do presente estudo consistiu em verificar se a frequência 963Hz de Solfeggio, como forma de enriquecimento ambiental, pode melhorar estresse e cognição em modelo de privação de sono em *zebrafish*. Os resultados obtidos, considerações, discussões, trabalhos produzidos e apresentados durante o período de formação, estão dispostos da forma que segue: revisão bibliográfica que fundamenta o estudo experimental, bem como a produção científica “*Solfeggio-frequency music exposure reverses cognitive and endocrine deficits evoked by a 24-h light exposure in adult zebrafish*” publicada na revista *Behavioural Brain Research*, anexos de participações e publicação de resumo em eventos.

Referências

- ANDRADE, F. M. D. de; PEDROSA, R. P. The role of physical exercise in obstructive sleep apnea. **Jornal Brasileiro de Pneumologia** [online]. 2016, v. 42, n. 06 DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-37562016000000156>. ISSN 1806-3756.
- ARANTES JÚNIOR, A. F. et al. Association between sleep quality and screen time in adolescents. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. e43810716714, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i7.16714.
- BARROS, M. B. de A. et al. Relato de tristeza/depressão, nervosismo/ansiedade e problemas de sono na população adulta brasileira durante a pandemia de COVID-19. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, n. 4, p. e2020427, 24 ago. 2020.
- CARDOSO, L. M.; LOPES, I. M. R. S. **Projeto de intervenção: transtornos sociais e uso de benzodiazepínicos**. 2017.
- DICKSON, G. T., SCHUBERT, E. “How does music aid sleep? literature review.” *Sleep medicine* vol. 63 (2019): 142-150. doi:10.1016/j.sleep.2019.05.016
- FÁVERO, V. R.; SATO, M. del O.; SANTIAGO, R. M.. USO DE ANSIOLÍTICOS: ABUSO OU NECESSIDADE?. **Visão Acadêmica**, [S.l.], v. 18, n. 4, fev. 2018. ISSN 1518-8361. doi:http://dx.doi.org/10.5380/acd.v18i4.57820.
- FORCELINI, C. M.; WANNMACHER, L. Transtornos do sono e ansiedade. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. (Org.). **Farmacologia clínica e terapêutica**. 5ª ed. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, 2017. p. 438-455.

- GIACOMINI, A. C. V. V. et al. Melatonin treatment reverses cognitive and endocrine deficits evoked by a 24-h light exposure in adult *zebrafish*. **Neuroscience letters**, v. 733, 10 ago. 2020.
- GLANZMANN, R. et al. O uso da melatonina como indutor do sono – uma revisão bibliográfica. **Revista uningá**, [S.l.], v. 56, n. 1, p. 157-167, mar. 2019. ISSN 2318-0579.
- HOWE, Kerstin et al. “The *zebrafish* reference genome sequence and its relationship to the human genome.” **Nature** vol. 496,7446 (2013): 498-503. doi:10.1038/nature12111
- MORAIS, T. C. **Insônia em idosos: um desafio na atenção básica**. Disponível em: <<https://ares.unasus.gov.br/acervo/handle/ARES/20250>>. Acesso em: 8 mar. 2023.
- OLIVEIRA, S. J. R de. **Sono, melatonina e exercício físico**. 2016. Tese de Doutorado.
- PEREIRA, C. M. B. de P. **Distúrbios do sono: Como resolver esse problema sem o uso de benzodiazepínicos**. 2017.
- RAMOS, C.; ALMEIDA, T.; CARDOSO, J. Eficácia das intervenções psicológicas nas perturbações do sono: Uma revisão de literatura. **Revista Psicologia, Saúde & Doenças**, v. 21, p. 112, 2020.
- TEIXEIRA, Camila de Masi. **Terapia cognitivo-comportamental para insônia: revisão**. v. 21, p. 112, 2020.
- VUUST, Peter et al. “Music in the brain.” **Nature reviews. Neuroscience** vol. 23,5 (2022): 287-305. doi:10.1038/s41583-022-00578-5
- WITTE de, Martina et al. “Music therapy for stress reduction: a systematic review and meta-analysis.” **Health psychology review** vol. 16,1 (2022): 134-159. doi:10.1080/17437199.2020.1846580

2 CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA: QUALIDADE DO SONO E O USO DAS FREQUÊNCIAS DE SOLFEGGIO

2.1 Sono: Aspectos fisiológicos

O sono é um processo imprescindível e insubstituível para o bem estar físico e mental. Se caracteriza pela diminuição dos processos estímulo/resposta e, através disto, possibilita a homeostasia de todo organismo (FORCELINI; WANNMACHER, 2017). Dados recentes em estudo revelam que a má qualidade do sono atinge cerca de 65,5% da população brasileira (DRAGER et al., 2022), sendo que 55,1% alega piora da qualidade do sono durante o cenário de quarentena da pandemia COVID-19 (Instituto do Sono, 2021).

A qualidade do sono está ligada à boa execução de diferentes funções fisiológicas como a recuperação de energia, manutenção do sistema imunológico (SANTANA et al., 2021) endócrino e cognitivo (LUCENA et al., 2020; ZIMBERG et al., 2017;). Em contrapartida, a má qualidade do sono se relaciona com a elevação do nível de estresse (GIACOMINI et al., 2020; SANTOS et al., 2021), transtornos de ansiedade (FUSCO et al., 2020; VALE, 2019), depressão (SANTOS et al., 2021), desordens psíquicas (BAGLIONI et al., 2016; ROSA et al., 2018), obesidade (ST-ONGE, 2017; ZIMBERG et al., 2017), déficit cognitivo (OLAITHE et al., 2018; GIACOMINI et al., 2020) entre outras comorbidades.

Para compreender a influência da qualidade do sono no funcionamento do corpo humano, vale identificar as diferentes classificações do sono que é dividido em duas fases: sono de ondas lentas e sono REM (*rapid eye movements*). O sono de ondas lentas é caracterizado como restaurador e profundo, tendo em seu processo a diminuição da pressão arterial, da frequência respiratória e metabolismo basal (GUYTON; HALL, 2011). Nessa fase, os sonhos geralmente são raros e, quando ocorrem, não são lembrados, pois nesta etapa não há solidificação de memória (GUYTON; HALL, 2011). A segunda fase é conhecida como o sono REM (*rapid eye movements*) ou sono com

movimentos rápidos dos olhos. A fase do sono dos sonhos, como é conhecida, se caracteriza por ser a forma ativa do sono e possuir movimentos corporais ativos. Os ciclos do REM se repetem, na maioria das pessoas, durante toda noite de sono em média a cada 90 minutos (FORCELINI; WANNMACHER, 2017; GUYTON; HALL, 2011). Durante o REM, o metabolismo encefálico fica aumentado em até 20%, o que faz com que o ciclo também seja conhecido como paradoxal, neste quadro as ondas cerebrais ficam muito próximas a um estado de vigília (GUYTON; HALL, 2011).

“[...] o sono é causado por processo inibitório ativo: descobriu-se que a transecção do tronco cerebral, a nível médio da ponte, cria um cérebro cujo córtex nunca dorme. Em outras palavras, centros localizados abaixo da região médio-pontina do tronco cerebral parecem ser necessários para causar sono pela inibição de outras partes do encéfalo (GUYTON; HALL, 2011, p. 762)”.

Por outro lado, a privação do sono compromete a funcionalidade do sistema nervoso central (GUYTON; HALL, 2011). Segundo Guyton e Hall (2011, p. 763), “A vigília prolongada está em geral associada ao funcionamento anormal do processo do pensamento e, algumas vezes, pode causar atividades comportamentais anormais”. Ademais, a exposição a agentes estressores, tais como a exposição a ruídos sonoros (CARNEVALI; SILVA, 2017), jornadas de trabalho de turno noturno (FERNANDES et al., 2019), desgaste e pressão psicológica acadêmica (SIMÕES; PINTO, 2019), ansiedade (ANDRADE et al., 2017), isolamento social (RAMOS; ARAGÃO, 2021), falta de atividade física (ROPKE et al., 2018) e má alimentação (CORREIA; FERREIRA-JUNIOR, 2020), influenciam na indução e na qualidade do sono. Atualmente, torna-se cada vez mais comum o relato de problemas com distúrbios de sono nas sociedades, indicando que fatores estressores estão tomando maior dimensão sobre as vidas das pessoas (LIMA et al., 2020) e, ao associar agentes estressores à falta de sono, leva-se à maior elevação do nível de estresse (GIACOMINI et al., 2020; LIMA et al., 2020; SANTOS et al., 2020), transtornos de ansiedade (FUSCO et al., 2020; VALE, 2019), depressão (SANTOS et al., 2021), desordens psíquicas (BAGLIONI et al., 2016; ROSA et al., 2020), obesidade (ST-ONGE, 2017; ZIMBERG et al., 2017), déficit cognitivo (GIACOMINI et al., 2020; OLAITHE et al., 2018) entre outras comorbidades. Destarte,

com finalidade de promover a saúde pública e bem estar das pessoas afetadas por distúrbios do sono, novas metodologias de tratamentos farmacológicos e alternativos tomam frente das pesquisas.

2.2 *Formas de tratamento*

Os principais distúrbios do sono são classificados em sete categorias, sendo eles: insônia, distúrbios respiratórios relacionados ao sono, distúrbios centrais causadores de hipersonolência, distúrbios do ritmo circadiano de sono-vigília, parassonias, distúrbios do movimento relacionados ao sono, outros distúrbios do sono (FORCELINI; WANNMACHER, 2017). Os indicativos de problemas com sono mencionados, alertam para a elevação do consumo de medicamentos para dormir (AZEVEDO et al., 2022; CAVALCANTI, 2021). Pensando na melhoria da qualidade de vida da população, terapias alternativas podem ser utilizadas como métodos complementares na abordagem dos tratamentos, possibilitando minimizar o uso medicamentoso como no caso da insônia (FENG et al., 2018).

A ausência de um sono reparador, a longo prazo, reflete ainda em comorbidades físicas e mentais, como por exemplo, “lesões em centros promotores do sono podem causar vigília intensa” (GUYTON; HALL, 2011, p. 762). A ausência de um sono de qualidade também aumenta a predisposição à ansiedade e depressão (BARROS et al., 2020), compulsão alimentar (FUSCO et al., 2020) e causa prejuízos cognitivos (DIAS, 2017).

De maneira farmacológica, os benzodiazepínicos são amplamente utilizados e divulgados, sendo frequentemente prescritos para tratar transtornos do espectro de ansiedade e de sono, bem como suas comorbidades relacionadas (ASNIS; THOMAS; HENDERSON, 2015; FARACH et al., 2012). Todavia, o consumo desses fármacos promove efeitos colaterais como tolerância, abstinência e dependência do medicamento (PINHEIRO-DA-SILVA et al., 2016). Outro âmbito envolve a poluição do meio

ambiente através do descarte incorreto de tais substâncias e via excreção urinária de metabólitos ativos (OLIVEIRA, 2015).

A melatonina é um hormônio que atualmente também tem sido utilizado como medicamento ansiolítico alternativo (IMPELLIZZERI et al., 2017; MARSEGLIA et al., 2015). Também conhecida como hormônio do sono, a melatonina possui forte ligação com a alimentação por apresentar como seu precursor o aminoácido triptofano, um aminoácido essencial (TAN et al., 2015). De acordo com os hábitos alimentares, a melatonina plasmática pode sofrer alterações, tanto pela oferta de triptofano como também pela presença da própria melatonina em alguns alimentos, como frutas, lácteos e oleaginosas (MENG et al., 2017). Além disso, a melatonina é amplamente estudada em distúrbios alimentares, como sua relação com a Síndrome Alimentar Noturna (SAN), um distúrbio alimentar caracterizado pelo consumo calórico excessivo noturno, ao mesmo tempo em que apresenta baixos níveis de melatonina em seus acometidos (O'REARDON et al., 2004).

Ainda, dentre os diferentes distúrbios resultantes da má qualidade do sono, a Terapia-Cognitivo-Comportamental (TCC) é uma importante forma de tratamento (FORCELINI; WANNMACHER, 2017). A TCC se trata de um conjunto de práticas de comportamento que visam a reestruturação da homeostasia do corpo, mente e espírito humano. Através da terapia, diferentes metodologias podem ser aplicadas respeitando as individualidades dos pacientes. Nesta perspectiva, a musicoterapia vem sendo utilizada para minimizar o uso de fármacos e melhorar a qualidade de vida da população, como forma de enriquecimento ambiental. A música vem se qualificando como ferramenta de enriquecimento ambiental no auxílio do resgate da qualidade do sono, sendo utilizada a fim de promover a meditação, calma, tranquilidade e evocando respostas do sistema nervoso autônomo (SNA) (FERREIRA; VANDERLEI; VALENTI, 2015) como ativação do parassimpático e redução da atividade simpática (IWANAGA; KOBAYASHI; KAWASAKI, 2005), os quais proporcionam uma melhoria da indução e na qualidade do sono (FENG et al., 2018), fazendo assim, parte do processo de terapia cognitiva, relaxamento e higiene do sono.

2.3 Neurociência da música

O receptor primário do estímulo musical é o ouvido e, por meio dessa via, é possível o recebimento e envio das ondas sonoras até o córtex auditivo, convertendo e traduzindo os ruídos por ele recebidos (CHANDA; LEVITIN, 2013). As ondas sonoras musicais modulam sistemas de neurotransmissão via dopamina e ocitocina em áreas relacionadas ao prazer e recompensa como o córtex cingulado, córtex orbitofrontal, núcleo accumbens (CHANDA; LEVITIN, 2013). Ainda o hipocampo realiza função nas emoções ativadas pela música resultantes no apego e necessidade de socialização. Enquanto o córtex auditivo possui funções diretamente emocionais e relacionadas com sistema límbico, paralímbico e neurocortical (KOELSCH, 2015).

“A música pode ser utilizada como uma modalidade alternativa para acessar funções indisponíveis por meio de estímulos não musicais. Processos no cérebro ativados pela influência da música podem ser generalizados e transferidos para funções não musicais. Portanto, na prática clínica, é realizada a tradução de exercícios terapêuticos não musicais em exercícios musicais análogos e isomórficos (GALINSKA, 2015, p. 835).”

Dentro do contexto apresentado, pesquisas tem evidenciado os benefícios do uso da música em humanos e em modelo animal. Estudos clínicos demonstram redução de scores de dor e ansiedade e melhora na qualidade do sono em pacientes com osteosarcoma expostos a sessões de musicoterapia associada às técnicas de *mindfulness* o sono (LIU; GAO; HOU, 2019). A utilização de música diminui dor em pacientes durante procedimento de anestesia geral (KÜHLMANN et al., 2018). Um levantamento de revisão sistemática sobre uso da música em condições de dor crônica provinda de depressão, foi constatado melhora no quadro de dor e ainda, resultados mais promissores quando o paciente realizava a escolha da música (GARZA-VIRELLA et al., 2017). Estudo de Galinska (2015) diagnostica a importância do uso da música na reabilitação neurológica, dando ênfase que o uso de um som repetitivo é capaz de regular as funções fisiológicas e comportamentais através do que é chamado de sincronização dos ritmos biológicos. Enquanto os ritmos regulares auxiliam na estruturação da memória, potencializando processos de percepção, cognição linguagem e aprendizagem motora (GALINSKA, 2015). Em pessoas com Alzheimer, a musicoterapia auxiliou na melhoria

de algumas alterações cognitivas, psicológicas e comportamentais dos pacientes (GALLEGO; GARCIA, 2017).

Ainda, uma pesquisa em humanos evidenciou a música como auxiliar no processo de troca de curativos de queimaduras, diminuindo sensação de dor (ROHILLA et al., 2018). Estudo de Kavurmaci, Dayapoğlu, Tan (2020), conclui que alunos de enfermagem expostos a musicoterapia obtiveram melhoria na qualidade do sono, afirmando que “a musicoterapia é um método de tratamento sem dor, seguro e acessível, sem qualquer efeito colateral que pode ser usado em todas as áreas da saúde” (KAVURMACI; DAYAPOĞLU; TAN, 2020). Em idosos, a música sedativa melhorou a qualidade de sono quando utilizada por pelo menos quatro semanas (CHEN et al., 2021). Em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) a musicoterapia auxiliou na redução de dispneia e ansiedade dos pacientes, melhorando a qualidade do sono, pressão arterial sistólica e diastólica (HUANG et al., 2021). A música também vem sendo caracterizada por amenizar sintomas de depressão, diminuindo dor crônica relacionada aos sintomas da doença (AALBERS et al., 2017; GARZA-VIRELLA et al., 2017); colaborar em casos de recuperação de pós operatórios (NOGUEIRA, 2021); promover a sociabilidade em casos de autismo (SOUZA, 2017); como forma de relaxamento, indução de sono, alívio de sintomas de estresse, ansiedade (CÂMARA; CAMPOS; CÂMARA, 2013) transtornos psicoemocionais e sociabilização (GOMES; AMARAL, 2012).

Sons de diferentes vibrações e frequências, remetendo a ancestralidade, sons de cura física e mental. Nessa perspectiva, uma publicação da rede Better Sleep (2020), descreve sobre as frequências de Solfeggio e suas origens, descrevendo tratar-se de tons e sons que auxiliam na promoção da saúde mental e física. Dr. Joseph Puleo é um dos grandes nomes da ciência do Solfeggio, responsável por redescobrir (1970) as frequências e realizar pesquisa que identificou seis sons que estimulam a cura e a vitalidade. Dr. Glen Rein testou (1988) a influência da música sobre o DNA humano, relacionando com taxas de absorção de luz UV. Os resultados dos testes de DNA resultaram em diferentes sons para uso terapêutico, onde cada sinfonia alterou ou diminuiu de forma diferente a absorção de luz UV (Better Sleep, 2020). Por fim, Winfried Otto Schumann realizou pesquisas de ressonância, possibilitado que Herbert Konig pudesse realizar importante descoberta:

“As frequências de Solfeggio causam esses efeitos positivos porque ressonam harmonicamente com a ressonância Schumann de 8Hz. Musicalmente falando, as frequências são extraídas a partir dos 8Hz e sobem a escala musical a cada oitava, até que a nota dó vibre na frequência de 256Hz e o lá na de 432Hz. Quando a música é afinada harmonicamente com essa frequência, ela está na que passou a ser conhecida como afinação científica (Better Sleep, 2020).”

Estudos recentes relatam o uso de frequências de Solfeggio como metodologia de percepção e aprendizagem musical (CUI; WANG, 2022; OUYANG, 2022; WANG, 2022; ZHANG, 2022), como teste em pacientes com Alzheimer (ARROYO-ANLLO, 2019) e como modelo de estudo sobre o efeito terapêutico da música sobre as emoções (MODRAN et al., 2023). Diferentes frequências de Solfeggio podem ter efeitos benéficos fisiológicos (redução da frequência cardíaca, redução de estresse) e psicológicos positivos (eliminação de sentimentos de medo, culpa e tristeza; aumento de consciência, empatia e harmonia; auto-realização espiritual (CALAMASSI; POMPONI, 2019; MODRAN et al., 2023; NAKAJIMA et al., 2016). Ainda, em estudo da frequência 528Hz, Akimoto et al. (2018) evidenciaram que a música reduz níveis de estresse após alguns minutos de exposição.

Algumas mídias digitais indicam que modulações de 963Hz de Solfeggio agem como método de indução para ativação da glândula pineal, reconexão e despertar do sistema ao estado original e perfeito, como as frequências para meditação disponíveis pelo canal Meditative Mind (2018), entretanto não há relatos sobre estudos utilizando essa frequência.

Uma revisão de Dickson e Schubert (2019, p. 142), relata seis principais formas de ação da música na indução do sono:

“[...] (1) relaxamento: onde a música estimula o relaxamento fisiológico ou psicológico; (2) distração: onde a música atua como um ponto focal para distrair dos pensamentos estressantes internos; (3) arrastamento: sincronização de ritmos biológicos para bater estruturas na música; (4) mascaramento: obscurecendo o ruído de fundo nocivo com música; (5) prazer: ouvir preferido; música emocionalmente relacionável ou agradável e (6) expectativa: crenças culturais individuais em torno da música (DICKSON; SCHUBERT, 2019, p. 142)”.

Essas formas de ação estão inter-relacionadas com a fisiologia de sistemas neuroquímico que envolve dopamina e opioides, cortisol, hormônio liberador de corticotrofina (CRH – ver Glossário), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH); serotonina e os derivados peptídicos de proopiomelanocortina (POMC), incluindo hormônio estimulador de alfa-melanócitos e beta-endorfina; e oxitocina (CHANDA, LEVITIN, 2013). Em conclusão, há numerosos estudos com resultados positivos que enriquecem a ciência da musicoterapia e solidificam as evidências das alterações neuroquímicas acarretadas ao uso da música (CHANDA, LEVITIN, 2013). Ao condicionar a música como ferramenta terapêutica, entrega-se à sociedade uma possibilidade de fácil acesso para auxílio da recuperação de casos de privação do sono bem como traz perspectivas para o uso em outros casos de reabilitação, auxiliando na regularização das funções neurobiológicas acometidas por enfermidades psíquicas, psicológicas e fisiológicas.

2.4 *Zebrafish* como modelo de estudo

Na perspectiva do cenário apresentado até aqui, os modelos animais são utilizados para avaliar os impactos negativos da insônia, bem como desenvolver novas terapias para essas desordens. Nessa linha, o modelo animal *zebrafish* (*Danio rerio*, conhecido como paulistinha) vem sendo amplamente utilizado em pesquisas sobre os mecanismos de doenças humanas, devido à sua facilitada manutenção e, principalmente, por apresentarem elevada homologia genética (~70%) comparada aos humanos (HOWE et al., 2013). Ainda, o paulistinha tem sido utilizado em estudos sobre o sono (ALTENHOFEN; BONAN, 2021; CHIU; PROBER, 2013; GIACOMINI et al., 2020; LEUNG et al., 2019), e desordens associadas (LEVITAS-DJERBI; APPELBAUM, 2017; ZHDANOVA, 2011); bem como, em estudos que avaliam os efeitos comportamentais e neuroendócrinos de estímulos auditivos e vibratórios (WANG et al., 2021).

Em *zebrafish*, a exposição à música de Vivaldi por 2 horas diminuiu os níveis de citocinas e aumentou a atividade de alguns genes do SNC, reduzindo o estresse (BARCELLOS et al., 2018). Em roedores, Costa (2019), verificou que ratas com lesão hipocampal expostas agudamente à música Sonata de Mozart, apresentaram redução do

comprometimento neuronal, funcionando como estímulo de neuroplasticidade. Em estudo de Marchetto et al., (2021) observou-se que o enriquecimento ambiental com música favoreceu o bem-estar dos animais reduzindo comportamentos de ansiedade em *zebrafish*.

Existem estudos que trabalham a relevância da atuação do *zebrafish* em pesquisas com estímulos musicais, explorando a capacidade auditiva da espécie e sua eficácia na ciência (BARCELLOS et al., 2018; FAVRE-BULLE et al., 2020; LEITNER, 2014; MARCHETTO et al., 2021; PRIVAT et al., 2019; WANG et al., 2021). No entanto, de um modo geral, são limitados os dados em relação a serem recentes a maioria dos estudos. Assim, se faz ainda mais necessária a introdução da espécie frente à linha de pesquisas que estudem os efeitos dos estímulos sonoros musicais na promoção da qualidade de sono, para que seja possível contribuir na qualificação dos tratamentos de disfunções relacionadas à privação do sono.

Referências

- 963 Hz ABERTURA DO 3º OLHO | ATIVAÇÃO, ABERTURA, CURA CHAKRA & GLÂNDULA PINEAL| VIBRAÇÕES POSITIVAS.** Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=UkgSbK_PjXw>. Acesso em: 8 mar. 2023.
- A ciência das frequências Solfeggio | BetterSleep.** Disponível em: <<https://www.bettersleep.com/pt/blog/the-science-behind-solfeggio-frequencies/#:~:text=As%20frequ%C3%AAs%20de%20Solfeggio%20causam%20esses%20efeitos%20positivos%20porque%20ressonam>>. Acesso em: 8 mar. 2023.
- AALBERS, S. et al. Music therapy for depression. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 11, n. 11, 16 nov. 2017.
- AKIMOTO, K. et al. Effect of 528 Hz Music on the Endocrine System and Autonomic Nervous System. **Health**, v. 10, n. 09, p. 1159–1170, 2018.
- ALTENHOFEN, S.; BONAN, C. D. *Zebrafish* as a Tool in the Study of Sleep and Memory-related Disorders. **Current Neuropharmacology**, v. 20, n. 3, p. 540–549, 4 mar. 2022.
- ANDRADE, L. P. de. et al. Ansiedade Versus Alterações do Padrão de Sono-Vigília em Estudantes de Medicina. **Revista de Ensino, Educação e Ciências Humanas**, v. 18, n. 3, p. 232–238, 14 dez. 2017.
- ARROYO-ANLLÓ, E. M. et al. Music and emotion in Alzheimer’s disease. **Alzheimer’s Research & Therapy**, v. 11, n. 1, 7 ago. 2019.
- ASNIS, G.; THOMAS, M.; HENDERSON, M. Pharmacotherapy Treatment Options for Insomnia: A Primer for Clinicians. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 1, p. 50, 30 dez. 2015.

- AZEVEDO, D. S. DA S. DE et al. Consumo de medicamentos para dormir entre trabalhadores da saúde do município de Diamantina, MG, e os fatores associados. **Revista de APS**, v. 25, n. 2, 2022.
- BAGLIONI, C. et al. Sleep and mental disorders: A meta-analysis of polysomnographic research. **Psychological bulletin**, v. 142, n. 9, p. 969–990, 2016.
- BARCELLOS, H. H. A. et al. The effects of auditory enrichment on *zebrafish* behavior and physiology. **PeerJ**, v. 6, p. e5162, 2018.
- BARROS, M. B. de A. et al. Relato de tristeza/depressão, nervosismo/ansiedade e problemas de sono na população adulta brasileira durante a pandemia de COVID-19. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, n. 4, p. e2020427, 24 ago. 2020.
- CALAMASSI, D.; POMPONI, G. P. Music Tuned to 440 Hz Versus 432 Hz and the Health Effects: A Double-blind Cross-over Pilot Study. **Explore (New York, N.Y.)**, v. 15, n. 4, p. 283–290, 2019.
- CÂMARA, Y. M. R.; CAMPOS, M. dos R. M.; CÂMARA, Y. R. Musicoterapia como recurso terapêutico para a saúde mental. **Cadernos Brasileiros de Saúde Mental/Brazilian Journal of Mental Health**, [S. l.], v. 5, n. 12, p. 94-117, 2013.
- CARNEVALI, M. da P.; SILVA, L. F. Ruído e qualidade do sono: estudo entre profissionais de educação física. In: **Tecniacústica 2017: 48º Congreso Español de Acústica; Encuentro Ibérico de Acústica; European Symposium on Underwater Acoustics Applications; European Symposium on Sustainable Building Acoustics: A Coruña 3-6 Octubre 2017**. Sociedad Española de Acústica, 2017. p. 71-77.
- CAVALCANTI, A. M. G. C. S. **Plano de intervenção contra o uso indiscriminado de medicamentos benzodiazepínicos na saúde básica**. Disponível em: <<https://ares.unasus.gov.br/acervo/handle/ARES/23745>>. Acesso em: 8 mar. 2023.
- CHANDA, M. L.; LEVITIN, D. J. The neurochemistry of music. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 17, n. 4, p. 179–193, 2013.
- CHEN, C. et al. Effect of music therapy on improving sleep quality in older adults: A systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Geriatrics Society**, 20 abr. 2021.
- CHIU, C. N.; PROBER, D. Regulation of *zebrafish* sleep and arousal states: current and prospective approaches. **Frontiers in Neural Circuits**, 2013.
- CORREIA, B. G. B.; FERREIRA-JUNIOR, E. de S. Prevalência da síndrome do comer noturno e da má qualidade subjetiva do sono em estudantes do curso de nutrição. 11 jun. 2020.
- COSTA, L. F. Efeitos da estimulação musical nos déficits de memória decorrentes da hipóxia isquêmica encefálica em ratos (*Rattus norvegicus*). **repositorio.unb.br**, 31 jan. 2019.
- CUI, Y.; WANG, F. Research on Audio Recognition Based on the Deep Neural Network in Music Teaching. **Computational Intelligence and Neuroscience**, v. 2022, p. 1–8, 27 maio 2022.
- DIAS, I. F. T. Efeito dos benzodiazepínicos diazepam e midazolam na memória espacial e morfologia de hipocampo de ratos wistar submetidos à privação de sono. **acervodigital.ufpr.br**, 2017.
- DICKSON, G. T.; SCHUBERT, E. How does music aid sleep? literature review. **Sleep Medicine**, v. 63, p. 142–150, nov. 2019.

- DRAGER, L. F. et al. Sleep quality in the Brazilian general population: A cross-sectional study. **Sleep Epidemiology**, v. 2, p. 100020, dez. 2022.
- FARACH, F. J. et al. Pharmacological treatment of anxiety disorders: Current treatments and future directions. **Journal of Anxiety Disorders**, v. 26, n. 8, p. 833–843, dez. 2012.
- FAVRE-BULLE, I. A. et al. Sound generation in *zebrafish* with Bio-Opto-Acoustics. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, 30 nov. 2020.
- FENG, F. et al. Can music improve sleep quality in adults with primary insomnia? A systematic review and network meta-analysis. **International Journal of Nursing Studies**, v. 77, p. 189–196, jan. 2018.
- FERNANDES, B. K. C. et al. Influências do trabalho noturno no sono dos trabalhadores de enfermagem: revisão integrativa. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, v. 81, n. 19, 8 abr. 2019.
- FERREIRA, L. L.; VANDERLEI, C. M.; VALENTI, V. E. Resposta aguda do sistema nervoso autônomo a diferentes estímulos auditivos musicais em mulheres. **Revista Neurociências**, v. 23, n. 3, p. 420–426, 30 set. 2015.
- FORCELINI, C. M.; WANNMACHER, L. **Transtornos do sono e ansiedade**. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. (Org.). Farmacologia clínica e terapêutica. 5ª ed. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, 2017. p. 438-455.
- FUSCO, S. de F. B. et al. Ansiedade, qualidade do sono e compulsão alimentar em adultos com sobrepeso ou obesidade. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 54, p. 1–8, 11 dez. 2020.
- GALIŃSKA, E. Music therapy in neurological rehabilitation settings. **Psychiatria Polska**, v. 49, p. 835–846, 2015.
- GALLEGO, M. G.; GARCÍA, J. G. Musicoterapia en la enfermedad de Alzheimer: efectos cognitivos, psicológicos y conductuales. **Neurología**, v. 32, n. 5, p. 300–308, jun. 2017.
- GARZA-VILLARREAL, E. A. et al. Music-Induced Analgesia in Chronic Pain Conditions: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Pain Physician**, v. 20, n. 7, p. 597–610, 1 nov. 2017.
- GIACOMINI, A. C. V. V. et al. Melatonin treatment reverses cognitive and endocrine deficits evoked by a 24-h light exposure in adult *zebrafish*. **Neuroscience Letters**, v. 733, p. 135073, 10 ago. 2020.
- GOMES, L.; AMARAL, J. B. DO. OS EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DA MÚSICA PARA OS IDOSOS: REVISÃO SISTEMÁTICA. **Revista Enfermagem Contemporânea**, v. 1, n. 1, 3 dez. 2012.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- HOWE, K. et al. The *zebrafish* reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 498–503, abr. 2013.
- HUANG, J. et al. Music Therapy in Adults With COPD. **Respiratory Care**, v. 66, n. 3, p. 501–509, 3 nov. 2020.
- IMPELLIZZERI, P. et al. Premedication with melatonin vs midazolam: efficacy on anxiety and compliance in paediatric surgical patients. **European Journal of Pediatrics**, v. 176, n. 7, p. 947–953, 24 maio 2017.
- IWANAGA, M.; KOBAYASHI, A.; KAWASAKI, C. Heart rate variability with repetitive exposure to music. **Biological Psychology**, v. 70, n. 1, p. 61–66, set. 2005.

- KAVURMACI, M.; DAYAPOĞLU, N.; TAN, M. Effect of Music Therapy on Sleep Quality. **Alternative Therapies in Health and Medicine**, v. 26, n. 4, p. 22–26, 1 jul. 2020.
- KOELSCH, S. Brain correlates of music-evoked emotions. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 15, n. 3, p. 170–180, 20 fev. 2014.
- KOELSCH, S. Investigating the Neural Encoding of Emotion with Music. **Neuron**, v. 98, n. 6, p. 1075–1079, jun. 2018.
- KÜHLMANN, A. Y. R. et al. Meta-analysis evaluating music interventions for anxiety and pain in surgery. **British Journal of Surgery**, v. 105, n. 7, p. 773–783, 17 abr. 2018.
- LEITNER, M. G. *Zebrafish* in auditory research: are fish better than mice? **The Journal of Physiology**, v. 592, n. 21, p. 4611–4612, 31 out. 2014.
- LEUNG, L. C. et al. Neural signatures of sleep in *zebrafish*. **Nature**, v. 571, n. 7764, p. 198–204, 1 jul. 2019.
- LEVITAS-DJERBI, T.; APPELBAUM, L. Modeling sleep and neuropsychiatric disorders in *zebrafish*. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 44, p. 89–93, jun. 2017.
- LIMA, D. A. et al. Fatores de estresse associados à sintomatologia depressiva e qualidade do sono de acadêmicos de enfermagem. **Revista de Divulgação Científica Sena Aires**, v. 9, n. 4, p. 834–845, 28 out. 2020.
- LIU, H.; GAO, X.; HOU, Y. Effects of mindfulness-based stress reduction combined with music therapy on pain, anxiety, and sleep quality in patients with osteosarcoma. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 41, n. 6, 16 maio 2019.
- LUCENA, L. S. DE et al. DISTÚRBIOS DO SONO NA PANDEMIA DO COVID-19: REVISÃO NARRATIVA. **Estudos Avançados sobre Saúde e Natureza**, v. 1, 30 maio 2021.
- MARCHETTO, L. et al. Auditory environmental enrichment prevents anxiety-like behavior, but not cortisol responses, evoked by 24-h social isolation in *zebrafish*. **Behavioural Brain Research**, v. 404, p. 113169, abr. 2021.
- MARSEGLIA, L. et al. Analgesic, Anxiolytic and Anaesthetic Effects of Melatonin: New Potential Uses in Pediatrics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 1, p. 1209–1220, 6 jan. 2015.
- MENG, X. et al. Dietary Sources and Bioactivities of Melatonin. **Nutrients**, v. 9, n. 4, p. 367, 7 abr. 2017.
- MODRAN, H. A. et al. Using Deep Learning to Recognize Therapeutic Effects of Music Based on Emotions. **Sensors**, v. 23, n. 2, p. 986, 14 jan. 2023.
- NAKAJIMA, Y. et al. Stress Recovery Effects of High- and Low-Frequency Amplified Music on Heart Rate Variability. **Behavioural Neurology**, v. 2016, p. 1–8, 2016.
- NOGUEIRA, C. de M. et al. O significado da música para os pacientes no período pós-operatório. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e27710716359, 21 jun. 2021.
- O'REARDON, J. P. et al. Circadian Eating and Sleeping Patterns in the Night Eating Syndrome. **Obesity Research**, v. 12, n. 11, p. 1789–1796, nov. 2004.
- OLAITHE, M. et al. Cognitive deficits in obstructive sleep apnea: Insights from a meta-review and comparison with deficits observed in COPD, insomnia, and sleep deprivation. **Sleep Medicine Reviews**, v. 38, p. 39–49, abr. 2018.

- OLIVEIRA, J. C. et al. Implantação de postos de coleta para o descarte adequado de medicamentos e subsequente destinação final. **Rev InterFaceHS-Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 10, n. 1, p. 104-116, 2015.
- OUYANG, M. Employing Mobile Learning in Music Education. **Education and Information Technologies**, 29 out. 2022.
- PINHEIRO-DA-SILVA, J. et al. Sleep deprivation effects on object discrimination task in *zebrafish* (*Danio rerio*). **Animal Cognition**, v. 20, n. 2, p. 159–169, 19 set. 2016.
- PRIVAT, M. et al. Sensorimotor Transformations in the *Zebrafish* Auditory System. **Current Biology**, nov. 2019.
- RAMOS, A. DE Q. L.; ARAGÃO, L. N. DOS S. **Análise da condição do sono e o impacto na qualidade de vida de universitários durante o período de isolamento social pela pandemia do Covid- 19**. openrit.grupotiradentes.com, 23 set. 2021.
- ROHILLA, L. et al. Effect of Music Therapy on Pain Perception, Anxiety, and Opioid Use During Dressing Change Among Patients With Burns in India: A Quasi-experimental, Cross-over Pilot Study. **Ostomy/Wound Management**, v. 64, n. 10, p. 40–46, 1 out. 2018.
- ROPKE, L. M. et al. Efeito da atividade física na qualidade do sono e qualidade de vida: revisão sistematizada. **ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION**, v. 6, n. 12, 2017.
- ROSA, A. L. N. et al. Distúrbios do sono e desordens neurológicas em estudantes de medicina. **Revista Interdisciplinar Pensamento Científico**, v. 4, n. 3, 2018.
- SANTANA, T. P. et al. Sono e imunidade: papel do sistema imune, distúrbios do sono e terapêuticas / Sleep and immunity: role of the immune system, sleep disorders and treatment. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 55769–55784, 8 jun. 2021.
- SANTOS, B. M. et al. **Influência do sono na depressão e suas implicações na saúde do indivíduo**. In: Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar (ISSN-2527-2500) & Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar. 2021.
- SIMÕES, A. L. L. C. C.; PINTO, G. **A influência da época de exames na ansiedade e na qualidade do sono dos alunos da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa**. 2019. Tese de Doutorado.
- SOUZA, M. B. et al. Da vibração ao encontro com o outro: psicanálise, música e autismo. **Estilos da Clínica**, v. 22, n. 2, p. 299, 10 out. 2017.
- ST-ONGE, M.-P. Sleep-obesity relation: underlying mechanisms and consequences for treatment. **Obesity Reviews**, v. 18, p. 34–39, fev. 2017.
- SUPERIOR, P. D. E. **Meditação em 963 Hz | Ativação da glândula pineal**. Disponível em: <<https://opoderdoeusuperior.com/2021/11/10/meditacao-em-936-hz-ativacao-da-glandula-pineal/>>.
- TAN, D.-X. et al. Melatonin as a Potent and Inducible Endogenous Antioxidant: Synthesis and Metabolism. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 20, n. 10, p. 18886–18906, 16 out. 2015.
- VALE, E. A. N. do. **Relações entre ocitocina, apego e sono em pessoas com Transtorno de Ansiedade Generalizada**. 2019. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- WANG, J. et al. The role of auditory and vibration stimuli in *zebrafish* neurobehavioral models. **Behavioural Processes**, v. 193, p. 104505, dez. 2021.

WANG, L. The Skill Training of Reading Music in the Teaching of Solfeggio and Ear Training in the New Media Environment. **Applied Bionics and Biomechanics**, v. 2022, p. 1–11, 19 mar. 2022.

ZHANG, W. Practice and Exploration of Music Solfeggio Teaching Based on Data Mining Technology. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2022, p. 1–9, 16 ago. 2022.

ZHDANOVA, I. V. Sleep and its regulation in *zebrafish*. **Reviews in the Neurosciences**, v. 22, n. 1, 1 jan. 2011.

ZIMBERG, I. Z. et al. Relação entre apneia obstrutiva do sono e obesidade: uma revisão sobre aspectos endócrinos, metabólicos e nutricionais. **RBONE - Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 11, n. 64, p. 250–260, 18 jun. 2017.

3 **CAPÍTULO 2 – ARTIGO PUBLICADO**

Behavioural Brain Research

Short communication

Solfeggio frequency music exposure reverses cognitive and endocrine deficits evoked by a 24-h light exposure in adult zebrafish

Amanda C. dos Santos^{1,2}, Murilo S. de Abreu⁴, Gabriel P. de Mello², Vanusa Costella²,

Nicoli R. do Amaral², Alexander Zanella², Júlia Poletto², Elena V. Petersen⁴, Allan V. Kalueff⁴⁻¹⁰, Ana C.V.V. Giacomini^{1,2,3}

¹Postgraduate Program in Environmental Sciences, University of Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brazil

²Health Institute, University of Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brazil

³Medical School, University of Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brazil

⁴Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia

⁵Neuroscience Program, Sirius University of Science and Technology, Sochi, Russia

⁶Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

⁷Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre, Ministry of

Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia

⁸Laboratory of Preclinical Bioscreening, Granov Russian Research Center of Radiology and

⁹Surgical Technologies, Ministry of Healthcare of Russian Federation, Pesochny, Russia
Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia

¹⁰Laboratory of Biopsychiatry, Scientific Research Institute of Neurosciences and
Medicine, Novosibirsk, Russia

***Corresponding author:**

Ana C.V.V. Giacomini, Ph.D., Health Institute, University of Passo Fundo, Passo Fundo,
Brazil. Tel: + 55 54 3316 8312, Fax: +55 54 3316 8317, E-mail: anacvg@upf.br

Abstract

Music therapy has long been used as a non-pharmacological intervention to improve cognitive function and mood in humans. Mounting rodent evidence also supports beneficial impact of music exposure on animal cognitive performance. The zebrafish (*Danio rerio*) is an important emerging aquatic animal model in translational biomedical and neuroscience research. Here, we evaluate the effects of intermittent (2-h or 6-h twice daily) and continuous (24-h) solfeggio-frequency music exposure on behavioral, cognitive and endocrine parameters in adult zebrafish whose circadian rhythm was disturbed by a 24-h light exposure. Overall, a 24-h light exposure stress evokes overt cognitive deficits in the inhibitory avoidance test and elevates zebrafish whole-body cortisol levels. However, these effects were reversed by solfeggio-frequency music exposure for 2 or 6 h twice daily, and by continuous 24-h exposure. Collectively, these findings suggest a positive modulation of cognitive and endocrine responses in adult zebrafish by environmental enrichment via the long-term exposure to music, and reinforces zebrafish as a robust, sensitive model organism for neurocognitive and neuroendocrine research.

Keywords: Cognition; Zebrafish; Cortisol; Music exposure; Circadian rhythm.

Music therapy has long been used to improve cognitive function in humans. For example, patients with Alzheimer disease (AD) show improved categorical word fluency [1], autobiographical memory [2] and memory for lyrics [3] after listening to music. Music, including using its solfeggio frequencies, also reduces stress in students [4], whereas music therapy with singing training improves psychomotor speed in AD patients [5]. Patients with AD and other

neurodegenerative diseases frequently present circadian rhythm disturbances, which can be associated with cognitive deficits [6] and corrected by music therapy [7]. Paralleling clinical data, experimental studies in healthy rodents and in rodent central nervous system (CNS) disease models reveal similar beneficial effects of music [8], such as improved task acquisition, as well as working [9] and spatial memory [10].

In addition to promotive human cognitive performance, music therapy can also improve the quality of sleep [11,12] in both older adults [13] and students [14]. However, while music therapy beneficially affects sleep and cognition, its effects on circadian rhythms and neuroendocrine endpoints have not been examined in-depth [15]. Animal models are a valuable tool for probing behavioral and endocrine effects of environmental enrichment, including music exposure [8] which exerts robust memory-enhancing effects in rodent models (e.g., Morris water maze test for spatial cognition) [16].

With the growing utility of zebrafish (*Danio rerio*) in biomedicine [17–19], this aquatic model organism may complement traditional rodent models in translational neuroscience research. Indeed, in addition to high genetic and physiological homology to humans [20], zebrafish also possess generally conserved neurotransmitter systems, neural circuits and neuromorphology [21,22]. Paralleling rodent evidence, zebrafish have also demonstrated some effects of music exposure on brain and behavior [23]. For example, adult zebrafish exposed for 2 h to Vivaldi music at 65–75 dB twice daily for 15 days, demonstrate reduced anxiety-like behavior in the novel tank test and the light-dark test, and lower peripheral levels of pro-inflammatory cytokines, such as interferon gamma (INF- γ) [24].

Collectively, this raises the possibility of using zebrafish to further probe the effect of music exposure on neurobehavioral processes and their potential interplay with circadian rhythms and cognitive performance. Addressing this problem, here we examine the effects of music exposure on adult zebrafish cognitive performance and whole-body cortisol levels following a 24-h light exposure stress, chosen here as a well-established disruptor of normal behavior and circadian rhythms in zebrafish [25].

Briefly, a total of 192 mature adult zebrafish (at ~1/1 male/female ratio) of the wild-type outbred short-fin strain were obtained from a commercial supplier (Delphys, Porto Alegre, Brazil) and housed 2 fish/L in 50-L tanks equipped with biological filters, under constant aeration and a photoperiod (14-h light/10-h dark cycle). Water temperature was maintained at 27 ± 0.5 °C; pH 7.0 ± 0.2 , with dissolved oxygen kept at 5.9 ± 0.15 mg/L, total ammonia at < 0.01 mg/L, total hardness at 6 mg/ L, and alkalinity at 22 mg/L CaCO₃. Animal experimentation reported here

was approved by the Institutional Animal Care Committee and fully adhered to National and International guidelines on animal experimentation, and the accepted principles of ethical experimentation. The outbred population selection for the present study was based on population validity considerations and their relevance for the present study. Briefly, although genetically controlled models (e.g., inbred zebrafish strains) can be more reproducible and reliable system for neurogenetics research, modeling CNS disorders, such as in the present study, involves 'real' human disorders affecting genetically heterogeneous populations [26]. Thus, using outbred zebrafish strain (such as selected here) was deemed a more populationally valid and translationally relevant approach for the purpose of this study.

The present study assessed the effects of intermittent (2-h or 6-h twice daily) or continuous (24-h solfeggio-frequency) music sessions on zebrafish cognitive responses vs. unexposed controls, using 24 animals per group in 4 music exposure groups (non-exposure, 2-h or 6-h twice daily, and continuous 24-h music exposure) with two circadian cycle groups (14-h light/10-h dark cycle and 24-h light exposure). The fish cognitive retention index was assessed in the inhibitory avoidance test in animals subjected to normal circadian cycle (14-h light/10-h dark cycle) and 24-h light exposure, chosen here as an established sleep deprivation and cognitive deficit models in zebrafish [25,27]. The inhibitory avoidance test is based on the innate response to enter a dark (black) and to avoid a brightly-lit (white) environment, and an avoidance of a shock delivered in the black compartment, already demonstrated as a robust test of zebrafish cognition [18].

The training in the inhibitory avoidance test was performed prior to the light cycle and music treatments. After the training test, fish were kept in isolated tank, with only visual contact with conspecifics, as in [25]. In their respective tanks, fish were kept under either normal or disturbed (24-h light) cycles, as well as exposed to music, in four tanks placed in four large boxes (65 width \times 90 length \times 65 height cm) made of a wooden frame with light beige canvas as walls, floor and ceiling, each with one ceiling-mounted light bulb (4.9 W) as in [25]. From inside, the boxes were coated with two layers of foam and egg crate paper. The fish were subjected to two music sessions (2-h or 6-h) or to 24-h continuous music [28]. The study experimental design is summarized in Fig. 1.

The music sessions were performed using the solfeggio frequency of 963 Hz (available online at www.youtube.com/watch?v=UkgSbK_PjXw). In humans, solfeggio frequencies have been used for studying musical perception and learning [29,30], as well as to explore putative therapeutic effects of music on emotions using the artificial intelligence (e.g., machine learning) model [31]. Music and background noise intensity and frequency in the present study were

assessed outside the water from a distance of 60 cm from the tanks, using a smartphone Sound Level Meter application (www.play.google.com/store/apps/details?id=com.bolshakovdenis.soundanalyzer). The music loudness level was 50–70 dB, with the ambient noise level inside the box of 20 dB.

Zebrafish cognitive phenotypes were assessed in a rectangular glass apparatus (18 length \times 9 width \times 9 height cm), individually recording fish for 5 min using an HD C525 web-camera (Logitech, Inc., Romanel-sur-Morges, Switzerland). The videos were manually analyzed, calculating the latency to enter the black (shock) compartment, and assessing cognitive retention (computed as the difference between the latency to enter the black compartment during the training vs. testing sessions, as in [32]). The inhibitory avoidance test was performed to assess zebrafish cognitive function, according to [32]. Briefly, the rectangular tank was divided into two equal black and white compartments, separated by a manually operated opaque guillotine-type partition (Fig. 1).

The black chamber contained two copper plates one on each side, connected to a 12-V electric generator producing a 100-mA, 3.2 ± 0.2 V AC current at 100 Hz between the copper plate and the center of the black compartment. During the training session, zebrafish were individually placed on the white side of the tank. After a 1-min acclimation, the guillotine door was lifted, allowing zebrafish to enter the black compartment (assessed by the mid-body point crossing the line between the compartments). When fish crossed into the black side of the tank, the sliding partition was closed and a mild electric shock was administered for 5 s using a 12-V electric generator. All fish were individually exposed to the training sessions (only one training session per fish was used in the present study), and then gently removed from the test apparatus and placed in their respective hometanks (1 fish per tank) for acclimation (Fig. 1).

Memory retention was assessed in the same fish 24 h later, similarly to the training session. The cognitive retention index was defined as the difference in the latency to enter the black compartment of the tank between the training vs. testing sessions, as in [32]. In general, the fast entering the black compartment was deemed a cognitive impairment in the inhibitory avoidance test, according to [32].

At the end of behavioral tests, a total of 15 fish from each group were euthanized in ice-cold water, followed by decapitation (after the cessation of opercular movements), and stored at -20 °C for further whole-body cortisol analyses. To assess their cortisol levels, the animals were weighted and pooled 3 bodies per sample ($n = 5$ per group) and homogenized using a Tecnal tissue homogenizer (Piracicaba, Brazil) in 3 mL of phosphate buffered saline for 1 min, prior to

whole-body cortisol extraction with diethyl ether, as described previously in [33]. Cortisol levels were analyzed using a commercially available cortisol enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit from Diagnostic Biochem Canada Inc. (London, Canada). The detection accuracy was tested by calculating the recoveries from standard samples containing 50, 25 and 12.5 ng/mL cortisol), with the mean detection of 90%. All cortisol values were adjusted for recovery (cortisol value = measured value \times 1.1) and normalized based on the weight of the respective whole-body samples, expressed as absolute cortisol concentrations (ng/g body weight).

The data normality and homogeneity of variance were assessed by the Kolmogorov-Smirnov and the Levene tests, respectively. The difference between the training and the testing sessions' latency to enter the black (shock) compartment in each group was compared using the Wilcoxon matched-pairs test, since data were collected from the same individual fish single-housed in their respective hometanks (Fig. 1). The cognitive retention indices between the music treatment groups (unexposed controls and 2-h or 6-h (twice daily) or 24-h music exposure) were compared using the Kruskal-Wallis test. The effect size was calculated using Eta squared (η^2) for Kruskal-Wallis test comparisons. Whole-body cortisol data were normally distributed and therefore compared using the two-way ANOVA test (factors: music treatment and light cycle), followed by the Tukey post-hoc test for significant ANOVA data. P was set as < 0.05 in all analyses. All data were analyzed using GraphPad Prism 8.2.1 statistical software (GraphPad Software, San Diego, USA). The study experimental design and its description here, as well as data analysis and presenting, adhered to the ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines for reporting animal research and the PREPARE (Planning Research and Experimental Procedures on Animals: Recommendations for Excellence) guidelines for planning animal research and testing [34,35].

Under normal 14-h light/10-h dark cycle, both unexposed controls ($p = 0.0001$) and fish exposed to 2-h music ($p = 0.0218$) showed increased latency to enter the black (shock) compartment during the test, compared to their respective initial training, sessions (Fig. 2A). In contrast, fish exposed to 6-h ($p = 0.966$) and 24-h ($p = 0.3781$) music sessions did not differ in the latency to enter the black (shock) compartment during the test, compared to their respective initial training sessions (Fig. 2A).

Under disturbed 24-h light cycle, unexposed control zebrafish shortened the latency to enter the black (shock) compartment during the test, compared to their respective initial training sessions ($p < 0.0001$, Fig. 2B). In contrast, zebrafish exposed to music for 2-h ($p = 0.0131$), 6- h

($p = 0.0003$) or 24-h ($p = 0.0325$) all increased the latency to enter the shock compartment during the test, compared to their respective initial training, sessions (Fig. 2B).

In addition, music exposure for 2-h, 6-h and 24-h evoked higher cognitive retention index in fish housed under a 24-light cycle ($KW = 24.8$, $p < 0.0001$, $\eta^2 = 0.25$ vs. control, Fig. 2 C), but not in fish housed under a 14-h light/10-h dark cycle ($KW = 8.4$, $p = 0.0384$, $\eta^2 = 0.06$ vs. control, Fig. 2C). Overall, these data confirm overt cognitive deficits evoked by 24-h light cycle exposure, whereas music exposure improved cognitive retention index in these fish. Finally, the 24-h light exposure elevated whole-body cortisol levels (interaction ($F_{3,32} = 12.4$; $p < 0.0001$); light cycle ($F_{1,32} = 5.105$; $p = 0.0308$) compared to all 14-h light/10-h dark cycle exposure groups, whereas the 2-h, 6-h, and 24-h music exposure reverted this effect (music treatment ($F_{3,32} = 15.6$; $p < 0.0001$, Fig. 3).

In general, the present study demonstrated that music exposure improves cognitive performance in fish and normalizes their wholebody cortisol levels disturbed by 24-h light exposure (Figs. 2 and 3). These findings corroborate previous reports on cognitive and neuroendocrine (cortisol) deficits in zebrafish caused by 24-h light exposure [25], but are also in line with mouse data that constant light impairs animal cognitive behavior [36]. Furthermore, our fish results tend to parallel some recent human data, since the executive function declines in older men exposed to 24-h light [37]. Taken together, these findings suggest shared, evolutionary conserved effects of acute light stress on cognitive and neuroendocrine responses.

In contrast, acute music exposure in the present study improved zebrafish cognitive performance (Fig. 3), paralleling rat data on better spatial memory following exposure to classical Mozart vs. minimalistic classical Glass music [38]. Furthermore, music exposure improves spatial cognition by enhancing the brain derived neurotrophic factor levels in dorsal hippocampus of developing rats [16], whereas acute music exposure enhances global efficiency of the brain, local neural efficiency in the prefrontal lobe, and sustained attention in humans [39]. In humans, solfeggio-frequency music also improves students musical memory capacity [39].

Notably, we found here that acute music exposure reverts increased cortisol levels induced by 24-h light exposure (Fig. 3), hence strikingly resembling corticosteroid-reducing effects of acute music in rodents [40] and humans [41,42]. For example, rats exposed to Mozart's Sonata K.448 display reduced serum corticosterone levels [43], and humans exposed to classical music during surgery show lower cortisol levels vs. unexposed controls [44]. Positive effects of music-based environmental enrichment have also been noted in zebrafish models as well [23]. For instance, zebrafish exposed to 2-h of Vivaldi music (65–75 dB) twice daily for 15 days display

reduced anxiety-like behavior [24], and lower anxiogenic-like effects caused by 24-h social isolation [28]. Collectively, these and the present findings support music exposure as a positive modulator of stress-related neuroendocrine responses across taxons.

Clearly, there are some limitations of the present study. For example, here we used the same strain (wild-type outbred short-fin fish), mixedsex (~1/1 male/female ratio) population and a single age (6 month) of zebrafish. Thus, the present study did not assess individual-, sex-, strain- or age differences in zebrafish cognitive responses to music and light exposure (which may affect the translatability into human phenotypes). In addition, we also tested only one type of music, and different music frequencies and exposure lengths can be expected to cause distinct CNS effects on animal behavior. For example, neuroplastic mechanisms may mediate improved cognitive functioning associated with long-term exposure to music, and these mechanisms may differ in musicians compared to non-musicians [45].

Furthermore, we also did not test brain or blood melatonin levels, to probe whether the light exposure for 24 h light modulates the levels of this hormone (and whether music exposure may rescue them), similarly to its effects on cortisol levels reported here (Fig. 3). Finally, the study only applied one assay, the inhibitory avoidance test, to evaluate zebrafish cognitive phenotypes. However, we fully recognize that a more comprehensive evaluation of fish performance in a battery of different cognitive tests (e.g. including both spatial and visual discrimination tasks, such as T-maze) in future studies may provide higher generality of our present findings.

In conclusion, the present zebrafish study generally corroborates rodent and clinical data on pro-cognitive effects of music-based environmental enrichment [46,47] and their link to circadian rhythms [15]. Our findings suggest an evolutionarily conserved, positive modulation of cognitive and endocrine processes in zebrafish and mammals following solfeggio-frequency music exposure. This study also reinforces zebrafish as a robust, sensitive model organism for neurocognitive and neuroendocrine research, and calls for further use of zebrafish models for studying how cognitive and behavioral processes interact with circadian rhythms.

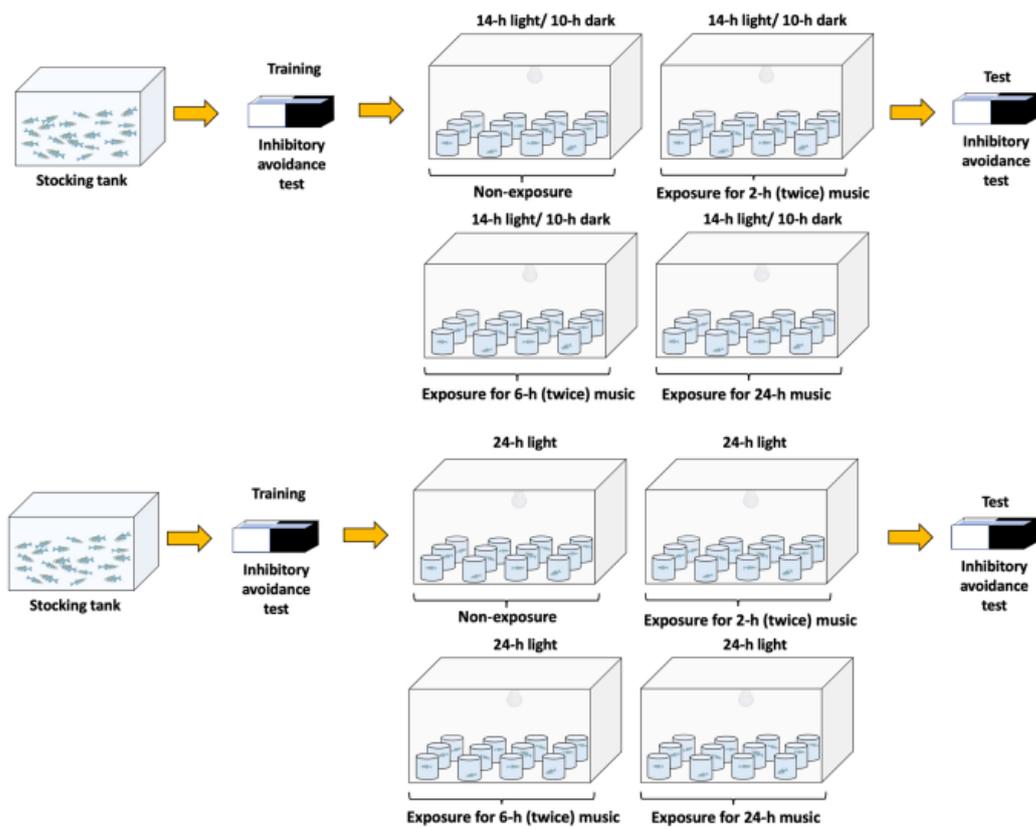


Fig. 1. Schematic diagram illustrating the study experimental design.

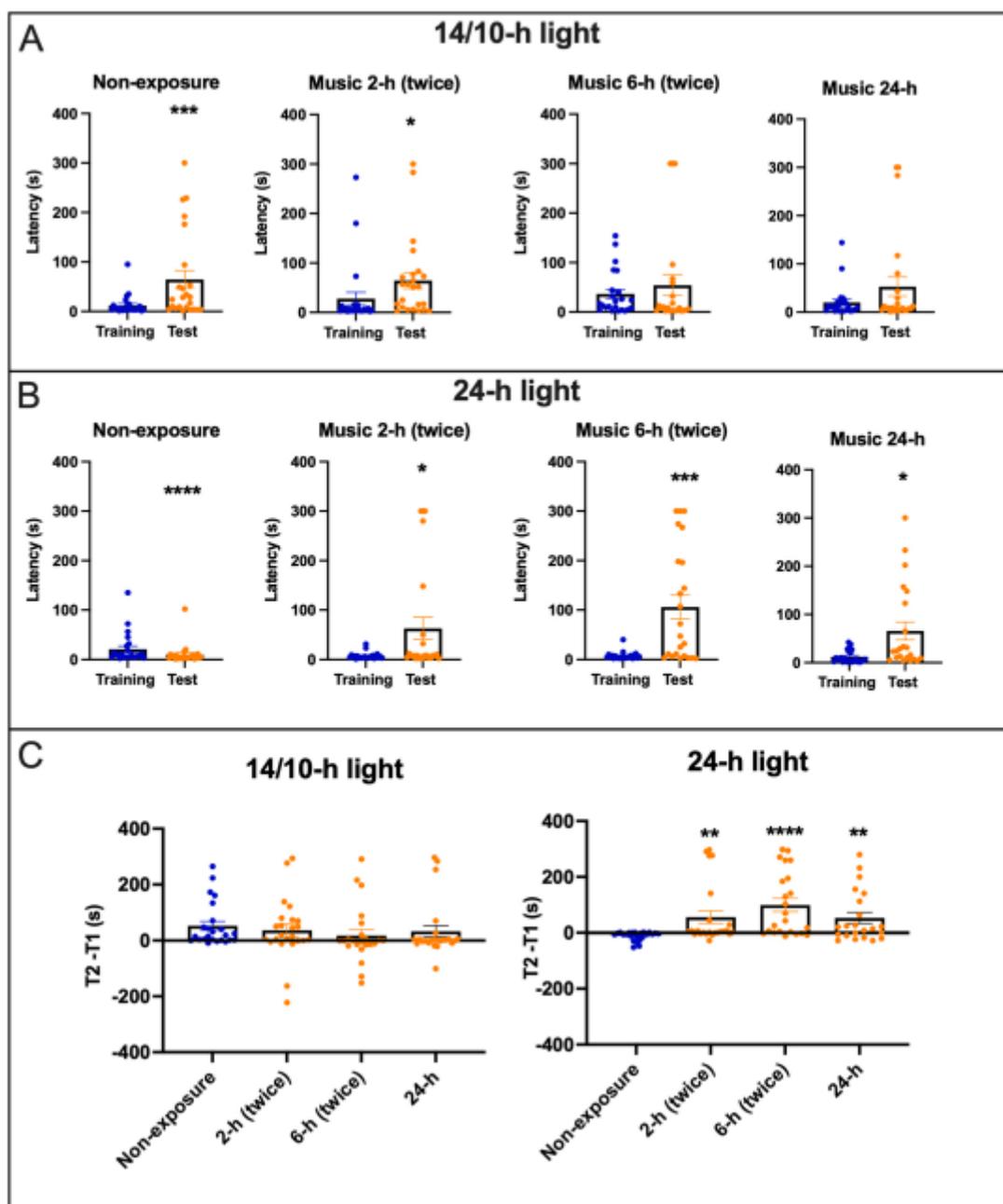


Fig. 2. Effects of music exposure on adult zebrafish cognitive performance in the inhibitory avoidance test. Data are expressed as mean \pm SEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$, Wilcoxon matched-pairs test (latency time) or Kruskal-Wallis test (retention index data; $n = 24$ per group). Effects of normal (A, 14-h light/10-h dark) and disturbed (B, 24-h light) circadian cycle and music exposure on adult zebrafish cognitive performance in the shock avoidance assay. (C) Cognitive retention index was calculated here as the difference between the

testing latency time (T2) and the respective training latency time (T1) to enter the black (shock) compartment of the apparatus.

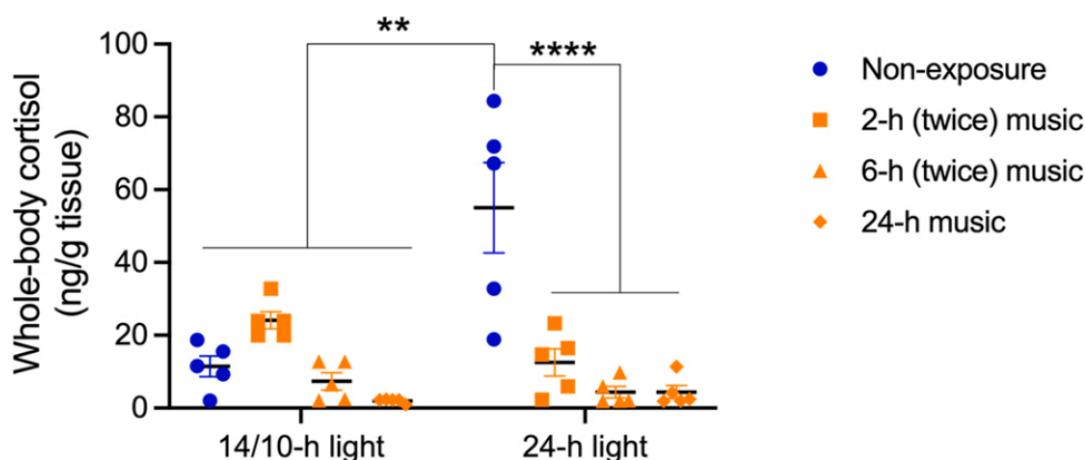


Fig. 3. Effects of the light cycle and music exposure on whole-body cortisol of adult zebrafish. Data are expressed as mean \pm SEM, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$, two-way ANOVA test (factors: light cycle and music exposure), followed by Tukey pos-hoc test for significant ANOVA data ($n = 5$ per group, 3 fish pooled per sample). Interaction ($F_{3,32} = 12.4$; $p < 0.0001$); light cycle ($F_{1,32} = 5.105$; $p = 0.0308$); and music treatment ($F_{3,32} = 15.6$; $p < 0.0001$).

Credit authorship contribution statement

Amanda C. dos Santos: Conceptualization, Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Murilo S. de Abreu:** Conceptualization, Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Gabriel P. de Mello:** Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Vanusa Costella:** Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Nicoli R. do Amaral:** Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Alexander Zanella:** Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Júlia Poletto:** Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Elena V. Petersen:** Writing – original draft, Writing – review & editing. **Allan V. Kalueff:** Conceptualization, Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Ana C.V.V. Giacomini:** Conceptualization, Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgments

ACVVG is supported by the Research Support Foundation of the State of Rio Grande do Sul (FAPERGS) research fellowships 19/2551-0001- 669-7. ACS is supported by the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel (CAPES-PROSUC I) scholarship. The authors thank Manuela G. Bernardon, Sirlei Cazarotto, and Vítor H. B. Dal Magro (University of Passo Fundo, Brazil) for their assistance with experimental procedures. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. AVK was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Ural Federal University Program of Development within the Priority-2030 Program).

References

- [1] R.G. Thompson, C.J.A. Moulin, S. Hayre, R.W. Jones, Music enhances category fluency in healthy older adults and Alzheimer's disease patients, *Exp. Aging Res.* 31 (1) (2005) 91–99.
- [2] M. Irish, C.J. Cunningham, J.B. Walsh, D. Coakley, B.A. Lawlor, I.H. Robertson, R. F. Coen, Investigating the enhancing effect of music on autobiographical memory in mild Alzheimer's disease, *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 22 (1) (2006) 108–120.
- [3] N.R. Simmons-Stern, A.E. Budson, B.A. Ally, Music as a memory enhancer in patients with Alzheimer's disease, *Neuropsychologia* 48 (10) (2010) 3164–3167.
- [4] P.J. Jayaraj, M. Ghazali, A. Gaber, Relax app: designing mobile brain-computer interface app to reduce stress among students, *Int. J. Innov. Comput.* 11 (2) (2021) 7–13.
- [5] M. Satoh, T. Yuba, K. Tabei, Y. Okubo, H. Kida, H. Sakuma, H. Tomimoto, Music therapy using singing training improves psychomotor speed in patients with alzheimer's disease: a neuropsychological and fMRI Study, *Dement Geriatr. Cogn. Dis. Extra* 5 (3) (2015) 296–308.
- [6] K. Yaffe, C.M. Falvey, T. Hoang, Connections between sleep and cognition in older adults, *Lancet Neurol.* 13 (10) (2014) 1017–1028.
- [7] M. Leggieri, M.H. Thaut, L. Fornazzari, T.A. Schweizer, J. Barfett, D.G. Munoz, C. E. Fischer, Music intervention approaches for Alzheimer's disease: a review of the literature, *Front. Neurosci.* 13 (2019) 132.

- [8] A.Y.R. Kühlmann, A. De Rooij, M.G.M. Hunink, C.I. De Zeeuw, J. Jeekel, Music affects rodents: a systematic review of experimental research, *Front. Behav. Neurosci.* 12 (2018) 301.
- [9] G. Korsos, K. Horváth, A. Lukacs, T. Vezér, R. Glávits, K. Fodor, S.G. Fekete, Effects of accelerated human music on learning and memory performance of rats, *Appl. Anim. Behav. Sci.* 202 (2018) 94–99.
- [10] Y. Xing, Y. Xia, K. Kendrick, X. Liu, M. Wang, D. Wu, H. Yang, W. Jing, D. Guo, D. Yao, Mozart, Mozart rhythm and retrograde Mozart effects: evidences from behaviours and neurobiology bases, *Sci. Rep.* 6 (1) (2016) 18744.
- [11] J. Loewy, Music Therapy as a Potential Intervention for Sleep Improvement, *Nat. Sci. Sleep* 12 (2020) 1–9.
- [12] J. Ding, T. Huang, J. Hu, F. Yuan, Effectiveness and safety of music therapy for insomnia disorder patients: A protocol for systematic review and meta-analysis, *Medicine* 100 (26) (2021).
- [13] C.-T. Chen, H.-H. Tung, C.-J. Fang, J.-L. Wang, N.-Y. Ko, Y.-J. Chang, Y.-C. Chen, Effect of music therapy on improving sleep quality in older adults: A systematic review and meta-analysis, *J. Am. Geriatr. Soc.* 69 (7) (2021) 1925–1932.
- [14] M. Kavurmaci, N. Dayapoglu, M. Tan, Effect of music therapy on sleep quality, *Alter. Ther. Health Med.* 26 (4) (2020) 22–26.
- [15] A. Sharma, E. Moon, G. Kim, S.-U. Kang, Perspectives of circadian-based music therapy for the pathogenesis and symptomatic treatment of neurodegenerative disorders, *frontiers in integrative, Neuroscience* 15 (2022) 70.
- [16] Y. Xing, W. Chen, Y. Wang, W. Jing, S. Gao, D. Guo, Y. Xia, D. Yao, Music exposure improves spatial cognition by enhancing the BDNF level of dorsal hippocampal subregions in the developing rats, *Brain Res. Bull.* 121 (2016) 131–137.
- [17] A.M. Stewart, O. Braubach, J. Spitsbergen, R. Gerlai, A.V. Kalueff, Zebrafish models for translational neuroscience research: from tank to bedside, *Trends Neurosci.* 37 (5) (2014) 264–278.
- [18] D.A. Meshalkina, M.N. Kizlyk, E.V. Kysil, A.D. Collier, D.J. Echevarria, M.S. Abreu, L.J.G. Barcellos, C. Song, A.V. Kalueff, Understanding zebrafish cognition, *Behav. Process.* 141 (2017) 229–241.
- [19] A.A. Bashirzade, K.N. Zabegalov, A.D. Volgin, A.S. Belova, K.A. Demin, M.S. de Abreu, V.Y. Babchenko, K.A. Bashirzade, K.B. Yenkovyan, M.A. Tikhonova, T. G. Amstislavskaya, A.V. Kalueff, Modeling neurodegenerative disorders in zebrafish, *Neurosci. Biobehav. Rev.* 138 (2022), 104679.

- [20] K. Howe, M.D. Clark, C.F. Torroja, J. Torrance, C. Berthelot, M. Muffato, J. E. Collins, S. Humphray, et al., The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome, *Nature* 496 (7446) (2013) 498–503.
- [21] A.V. Kalueff, A.M. Stewart, R. Gerlai, Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders, *Trends Pharmacol. Sci.* 35 (2) (2014) 63–75.
- [22] R. Friedrich, C. Genoud, A. Wanner, Analyzing the structure and function of neuronal circuits in zebrafish, *Front. Neural Circuits* 7 (71) (2013).
- [23] J. Wang, D. Wang, G. Hu, L. Yang, Z. Liu, D. Yan, N. Serikuly, E. Alpyshov, K. A. Demin, T. Strekalova, The role of auditory and vibration stimuli in zebrafish neurobehavioral models, *Behav. Process.* 193 (2021), 104505.
- [24] H.H.A. Barcellos, G. Koakoski, F. Chaulet, K.S. Kirsten, L.C. Kreutz, A.V. Kalueff, L. J.G. Barcellos, The effects of auditory enrichment on zebrafish behavior and physiology, *PeerJ* (2018).
- [25] A.C.V.V. Giacomini, K.H. Teixeira, L. Marcon, N. Scolari, B.W. Bueno, R. Genario, N.S. de Abreu, K.A. Demin, D.S. Galstyan, A.V. Kalueff, M.S. de Abreu, Melatonin treatment reverses cognitive and endocrine deficits evoked by a 24-h light exposure in adult zebrafish, *Neurosci. Lett.* 733 (2020), 135073.
- [26] M.S. de Abreu, A.C.V.V. Giacomini, K.A. Demin, E.V. Petersen, A.V. Kalueff, On the value of zebrafish outbred strains in neurobehavioral research, *Lab. Anim.* 51 (1) (2022) 5–6.
- [27] J. Pinheiro-da-Silva, P.F. Silva, M.B. Nogueira, A.C. Luchiari, Sleep deprivation effects on object discrimination task in zebrafish (*Danio rerio*), *Anim. Cogn.* 20 (2) (2017) 159–169.
- [28] L. Marchetto, L.J.G. Barcellos, G. Koakoski, S.M. Soares, A. Pompermaier, V. C. Maffi, R. Costa, C.G. da Silva, N.R. Zorzi, K.A. Demin, A.V. Kalueff, H.H. de Alcantara, Barcellos, Auditory environmental enrichment prevents anxiety-like behavior, but not cortisol responses, evoked by 24-h social isolation in zebrafish, *Behav. Brain Res.* 404 (2021), 113169.
- [29] L. Wang, The skill training of reading music in the teaching of solfeggio and ear training in the new media environment, *Appl. Bionics Biomech.* 2022 (2022), 8209861-8209861.
- [30] M. Ouyang, Employing mobile learning in music education, *Educ. Inf. Technol.* (2022) 1–17.
- [31] H.A. Modran, T. Chamunorwa, D. Ursuțiu, C. Samoila, ~ H. Hedeșiu, Using deep learning to recognize therapeutic effects of music based on emotions, *Sensors* 23 (2) (2023) 986.
- [32] K.T. Bertoncello, T.E. Müller, B.D. Fontana, F. Franscescon, L.B. Gilvan Filho, D. B. Rosemberg, Taurine prevents memory consolidation deficits in a novel alcohol-induced blackout model in zebrafish, *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 93 (2019) 39–45.

- [33] M.S. de Abreu, G. Koakoski, D. Ferreira, T.A. Oliveira, J.G.S. da Rosa, D. Gusso, A. C.V. Giacomini, A.L. Piato, L.J.G. Barcellos, Diazepam and fluoxetine decrease the stress response in zebrafish, *PLoS One* 9 (7) (2014) 5.
- [34] A.J. Smith, R.E. Clutton, E. Lilley, K.E.A. Hansen, T. Brattelid, PREPARE: guidelines for planning animal research and testing, *Lab. Anim.* 52 (2) (2018) 135–141.
- [35] N. Percie du Sert, V. Hurst, A. Ahluwalia, S. Alam, M.T. Avey, M. Baker, W. J. Browne, A. Clark, I.C. Cuthill, U. Dirnagl, M. Emerson, P. Garner, S.T. Holgate, D.W. Howells, N.A. Karp, S.E. Lazic, K. Lidster, C.J. MacCallum, M. Macleod, E. J. Pearl, O.H. Petersen, F. Rawle, P. Reynolds, K. Rooney, E.S. Sena, S. D. Silberberg, T. Steckler, H. Würbel, The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research, *PLoS Biol.* 18 (7) (2020), e3000410.
- [36] Y. Yang, Y. Feng, Y. Hu, J. Liu, H. Shi, R. Zhao, Exposure to constant light impairs cognition with FTO inhibition and m6A-dependent TrkB repression in mouse hippocampus, *Environ. Pollut.* 283 (2021), 117037.
- [37] T.L. Blackwell, M.G. Figueiro, G.J. Tranah, J.M. Zeitzer, K. Yaffe, S. Ancoli-Israel, D.M. Kado, K.E. Ensrud, N.E. Lane, Y. Leng, Associations of 24-hour light exposure and activity patterns and risk of cognitive impairment and decline in older men: the MrOS sleep study, *J. Gerontol.: Ser. A* (2022).
- [38] F.H. Rauscher, K.D. Robinson, J.J. Jens, Improved maze learning through early music exposure in rats, *Neurol. Res.* 20 (5) (1998) 427–432.
- [39] A. Gupta, B. Bhushan, L. Behera, Short-term enhancement of cognitive functions and music: a three-channel model, *Sci. Rep.* 8 (1) (2018) 15528.
- [40] I. Tasset, I. Quero, A.D. ´ García-Mayorgaz, ´ M.C. Del Río, I. Túnez, P. Montilla, Changes caused by haloperidol are blocked by music in Wistar rat, *J. Physiol. Biochem.* 68 (2012) 175–179.
- [41] U. Nilsson, M. Unosson, N. Rawal, Stress reduction and analgesia in patients exposed to calming music postoperatively: a randomized controlled trial, *Eur. J. Anaesthesiol.* 22 (2) (2005) 96–102.
- [42] S. Khalfa, S.D. Bella, M. Roy, I. Peretz, S.J. Lupien, Effects of relaxing music on salivary cortisol level after psychological stress, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 999 (2003) 374–376.
- [43] Y. Lu, M. Liu, S. Shi, H. Jiang, L. Yang, X. Liu, Q. Zhang, F. Pan, Effects of stress in early life on immune functions in rats with asthma and the effects of music therapy, *J. Asthma* 47 (5) (2010) 526–531.

- [44] S. Koelsch, J. Fuermetz, U. Sack, K. Bauer, M. Hohenadel, M. Wiegel, U.X. Kaisers, W. Heinke, Effects of music listening on cortisol levels and propofol consumption during spinal anesthesia, *Front. Psychol.* 2 (2011), 58-58.
- [45] C.E. Fischer, N. Churchill, M. Leggieri, V. Vuong, M. Tau, L.R. Fornazzari, M. H. Thaut, T.A. Schweizer, Long-known music exposure effects on brain imaging and cognition in early-stage cognitive decline: a pilot study, *J. Alzheimers Dis.* 84 (2) (2021) 819–833.
- [46] V. Diaz Abrahan, F. Shifres, N. Justel, Cognitive benefits from a musical activity in older adults, *Front. Psychol.* 10 (2019) 652.
- [47] E.A. Miendlarzewska, W.J. Trost, How musical training affects cognitive development: rhythm, reward and other modulating variables, *Front. Neurosci.* 7 (2014) 279.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao longo da história a música tem sido utilizada como fonte de recreação, em celebrações religiosas em diferentes culturas, bem como para promover relaxamento em membros da alta casta da sociedade. O presente estudo, por meio da revisão de literatura traz elementos que consolidam o uso de estímulos musicais como forma de amenizar sintomas de dor, ansiedade, estresse, promovendo benefícios físicos e psicológicos.

Em 2020, durante a pandemia (COVID 19) as mídias eletrônicas passaram a explorar e disponibilizar sons de diferentes frequências indicando a melhora de inúmeras condições, incluindo a frequência 963Hz de Solfeggio como estimulante da glândula pineal.

Evidenciamos experimentalmente que sessões de frequência de Solfeggio 963Hz reverte o dano cognitivo e nível de estresse induzido pela exposição à luz 24 horas em *zebrafish*, corroborando com os estudos que demonstram os benefícios em humanos.

Por fim, o presente estudo traz algumas ideias para a sequenciação da investigação. Por exemplo, avaliando as diferenças de sexo, estirpe ou idade nas respostas cognitivas do peixe-zebra à exposição à música e diferentes tipos e frequências de música. Novas metodologias podem ser aplicadas e testadas a partir dos nossos resultados, ampliando o uso da música no peixe-zebra em diferentes condições e desvios cognitivos.

ANEXOS

Anexo A. Publicação de resumo e apresentação oral no evento VIII Semana do Conhecimento UPF. Titulado como: “Musicoterapia da recreação à reabilitação”.



A transversalidade da ciência e da tecnologia e inovação na solução dos problemas globais.



Certificamos que o trabalho

Musicoterapia da recreação à reabilitação

de autoria de AMANDA CORRÊA DOS SANTOS, co-autoria de Amanda Corrêa dos Santos; e orientação de Ana Cristina Vendrametto Varrone Giacomini foi aprovado na VIII Semana do Conhecimento UPF - A transversalidade da ciência e da tecnologia e inovação na solução dos problemas globais - promovida pela Vice-Reitoria de Graduação, Vice-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação, Extensão e Assuntos Comunitários, e Vice-Reitoria Administrativa da Universidade de Passo Fundo.

Ata da Câmara de Extensão nº 406.2021, aprovada no Consun em 06.07.2021.

O evento ocorreu de 27 a 30 de setembro de 2021.

Prof. Dr. Antônio Thomé
Vice-Reitor Administrativo

Prof. Dr. Rogerio da Silva
Vice-Reitor de Pesquisa, Pós-Graduação,
Extensão e Assuntos Comunitários

Prof. Dr. Edison Alencar Casagrande
Vice-Reitor de Graduação



A transversalidade da ciência e da tecnologia e inovação na solução dos problemas globais.



Certificamos que

AMANDA CORRÊA DOS SANTOS

participou como ouvinte na VIII Semana do Conhecimento UPF - A transversalidade da ciência e da tecnologia e inovação na solução dos problemas globais - promovida pela Vice-Reitoria de Graduação, Vice-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação, Extensão e Assuntos Comunitários, e Vice-Reitoria Administrativa da Universidade de Passo Fundo. O evento ocorreu de 27 a 30 de setembro de 2021, com carga horária total de 20 horas. Ata da Câmara de Extensão nº 406.2021, aprovada no Consun em 06.07.2021.

Passo Fundo/RS, 30 de setembro de 2021.

Prof. Dr. Antônio Thomé
Vice-Reitor Administrativo

Prof. Dr. Rogerio da Silva
Vice-Reitor de Pesquisa, Pós-Graduação,
Extensão e Assuntos Comunitários

Prof. Dr. Edison Alencar Casagrande
Vice-Reitor de Graduação

Anexo B. Participação do II Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas On-line.

Certificado

Certificamos para os devidos fins que **AMANDA CORRÊA DOS SANTOS**, participou do II Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas On-line, realizado no período de 07 a 10 de junho de 2021, com carga horária total de 30 horas.

Fortaleza, 11 de junho de 2021.



Luiz Henrique Santos Lopes
Instituto Multiprofissional de Ensino
Coordenador do II CONBRACIB



Anexo C. Participação do I Congresso Nacional On-line de Conservação e Educação Ambiental.

Certificado



Certificamos para os devidos fins que **AMANDA CORRÊA DOS SANTOS** participou do I Congresso Nacional On-line de Conservação e Educação Ambiental, realizado no período de 09 a 12 de agosto de 2021, com carga horária total de 30 horas.

Fortaleza, 16 de agosto de 2021.

Prof. Dr. Vandbergue Santos Pereira
Coordenador do evento
Instituto Multiprofissional de Ensino - IME
CNPJ: 36.773.074/0001-08



Anexo D. Participação no I Congresso On-line Brasileiro de Biologia Marinha e Oceanografia.

Certificado



Certificamos para os devidos fins que **AMANDA CORRÊA DOS SANTOS** participou do I Congresso On-line Brasileiro de Biologia Marinha e Oceanografia, realizado no período de 27 a 30 de setembro de 2021, com carga horária total de 30 horas.

Fortaleza, 01 de outubro de 2021.



Prof. Dr. Vandbergue Santos Pereira
Coordenador do evento
Instituto Multiprofissional de Ensino - IME
CNPJ: 36.773.074/0001-08



Anexo E. Participação no I Congresso de Engenharia de Biotecnologia.

Certificado



CONEB 2021
I Congresso de Engenharia de Biotecnologia

Certificamos para os devidos fins que **AMANDA CORRÊA DOS SANTOS**, participou do I Congresso de Engenharia de Biotecnologia, realizado pela Universidade Federal do Oeste da Bahia, no período de 28 de junho a 02 de julho de 2021, com carga horária total de 30 horas.

Luís Eduardo Magalhães, 12 de julho de 2021.

Prof. Dr. Felipe da Silva Figueira
Coordenador do I CONEB
Universidade Federal do Oeste da Bahia

Realização:



Apoio:



Patrocinador:



Anexo F. Participação do Congresso Solidário Transtornos de Aprendizagem.

CERTIFICADO

CONGRESSO
SOLIDÁRIO 

TRANSTORNOS DE APRENDIZAGEM
Interfaces com maternagem/paternagem, carreira e sociedade



Certificamos que

Amanda Corrêa dos Santos

participou do evento

Congresso Solidário Transtornos de Aprendizagem

nos dias 29 e 30/06/2021, com total de 10 horas
e 100% de aproveitamento.

Fernando Lauria



Anexo G. Participação no I Simpósio AMRIGS sobre uso medicinal do Canabidiol.

CERTIFICADO I SIMPÓSIO AMRIGS

SOBRE USO MEDICINAL DO CANABIDIOL

Certificamos que

Amanda Corrêa dos Santos

participou do I Simpósio AMRIGS sobre uso medicinal do Canabidiol

no dia 12 de agosto de 2021, às 19 horas, de forma online,

contabilizando 2 horas.



Dr. Gerson Junqueira Jr.
Presidente AMRIGS



Dr. Guilherme Napp
Diretor Técnico-Científico

Realização:



Apoio:

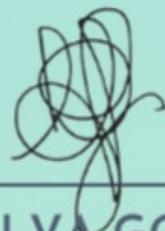


Anexo H. Participação da I Jornada de Esquizofrenia e Transtornos Psicóticos.

Liga de Psiquiatria do Distrito Federal

Certificado

Certificamos que AMANDA CORRÊA DOS SANTOS participou da I Jornada de Esquizofrenia e Transtornos Psicóticos da Liga de Psiquiatria do Distrito Federal, realizada entre os dias 24 e 26 de junho de 2021, com carga horária de 15 horas.



LAIR DA SILVA GONÇALVES

Coordenadora da LIPSI-DF



VINICIUS ULER LAVORATO

Presidente da LIPSI-DF



Anexo I. Participação no Seminário Internacional de Psicopatologia Psicanalítica.

LOGOS UNIVERSITY INTERNATIONAL

CERTIFICADO DE PARTICIPAÇÃO



Certificamos que **Amanda Corrêa dos Santos**,
participou com êxito do **Seminário Internacional
de Psicopatologia Psicanalítica** realizado em
08/06/2021 a 17/06/2021.
Carga horária total de 15 horas.

Miami, FL 17 de junho de 2021

Prof. Dr. Gabriel C. Lopes

Presidente - UniLogos®

Prof. Dra. Pollyanna C. P. Lopes

Vice Presidente - UniLogos®



Anexo J. Participação no Seminário Identidade de Gênero, Orientação Sexual e
Neurociência: escolha acolhedora da diversidade

CERTIFICADO

SEMINÁRIO IDENTIDADE DE GÊNERO,
ORIENTAÇÃO SEXUAL E NEUROCIÊNCIA:
escola acolhedora da diversidade

29 & 30 SETEMBRO / 2021



Certificamos que

Amanda Corrêa dos Santos

participou do evento

Seminário Identidade de Gênero, Orientação Sexual e Neurociência: escola acolhedora da diversidade

nos dias 29 e 30 de setembro de 2021, com total de 10 horas
e aproveitamento de 100%.

Fernando Lauria



OUTBOX

Anexo K. Participação de aula magna “Neuroplasticidade na Reabilitação Auditiva”.



Liga Acadêmica de Audição e Equilíbrio
Dra. Alda Christina Lopes de Carvalho Borges



Amanda Corrêa dos Santos

Participou da aula “Neuroplasticidade na Reabilitação Auditiva” ministrada pela **Dr^a Elaine Soares**, na **Liga Acadêmica de Audição e Equilíbrio da Unifesp – Dra. Alda Christina Lopes de Carvalho Borges**, realizada no dia 10 de junho de 2021 com carga horária total de 2 horas.

São Paulo, 10 de junho de 2021.

Prof.^a Dr.^a Daniela Gil
Preceptora da Liga Acadêmica

Giovanna Agamalian da Silva Tiezzi
Presidente da Liga Acadêmica

1933

Anexo L. Participação como organizadora do I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais.

I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais

CERTIFICADO

Certificamos que **Amanda Corrêa dos Santos** participou como organizadora do **I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais**, realizado nos dias 09, 10 e 11 de novembro de 2021.

Passo Fundo, 29 de novembro de 2021.



Anexo M. Participação como mediadora do I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais.

I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais

CERTIFICADO

Certificamos que **Amanda Corrêa dos Santos** participou como mediadora do **I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais**, no dia 09 de novembro de 2021.

Passo Fundo, 29 de novembro de 2021.



Anexo N. Participação do I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais.

I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais

CERTIFICADO

Certificamos que **Amanda Corrêa dos Santos** participou como ouvinte do **I Webnário Interdisciplinar de Ciências Ambientais**, no dia 10 de novembro de 2021, com carga horária de 02 horas.

Passo Fundo, 29 de novembro de 2021.



Anexo O. Conclusão do curso de “Neurobiologia dos transtornos mentais”.

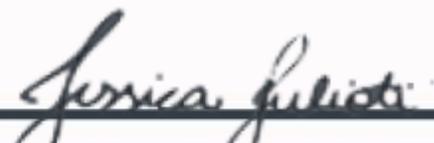


Certificado

O CENTRO EDUCACIONAL SETE DE SETEMBRO
NO USO DE SUAS ATRIBUIÇÕES CERTIFICA QUE

AMANDA CORRÊA DOS SANTOS

PORTADOR(A) DO DOCUMENTO: 036.408.180-59 CONCLUIU COM ÊXITO
O CURSO **“NEUROBIOLOGIA DOS TRANSTORNOS MENTAIS”**
COM UMA CARGA HORÁRIA DE 40 HORAS.


JESSICA JULIOTI

Presidente/CEO

PARTICIPANTE



Anexo P. Palestra “Agentes estressores em período acadêmico” ministrada na XXIII Semana Acadêmica da Biologia: Inovação e Ciência na Construção do Conhecimento.

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

Pró-Reitoria Acadêmica

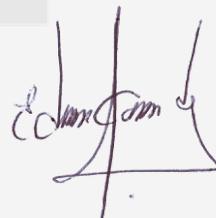
Diretoria de Extensão, Cultura e Assuntos Comunitários

CERTIFICADO

Certificamos que **Amanda Corrêa dos Santos** proferiu a palestra **Agentes estressores em período acadêmico**, ocorrida durante a **XXIII SEMANA ACADÊMICA DA BIOLOGIA: INOVAÇÃO E CIÊNCIA NA CONSTRUÇÃO DO CONHECIMENTO**, promovida pela Universidade de Passo Fundo, ocorrida no período de 21 a 23 de setembro de 2022, com carga horária total de 1 hora.

Ata de Aprovação 02/2022 de 12/12/2022

Passo Fundo - RS, 10 de março de 2023.



Edison Alencar Casagrande
Pró-Reitor Acadêmico

Anexo Q. Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “ **A música como ferramenta para modular estresse e cognição em modelo de privação de sono em zebrafish.**”, registrada com o nº **021/2021** sob a responsabilidade de **Ana Cristina Vendrametto Varrone Giacomini** e que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos) para fins de Pesquisa, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi **aprovada** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO (CEUA-UPF).

Finalidade: Pesquisa

Espécie/linhagem/raça: *Danio rerio* (Peixe Zebra)

Peso/idade: 90dias - 0,5g *Nº de animais:* 192

Sexo: Machos e Fêmeas

Origem: Fornecedor comum.

Resumo do procedimento: Serão utilizados de 192 peixes adultos, machos e fêmeas, da espécie *zebrafish wild type*, obtidos de um fornecedor comercial. Os mesmos serão alojados por 14 dias (densidade 1 peixe / L) em tanques de 50 L equipados com filtros biológicos, sob aeração constante e um fotoperíodo (14 horas de luz: 10 horas de escuro; luzes acesas às 7:00 da manhã) antes do teste. A temperatura da água será mantida em 27°C; pH 7,0 ± 0,2, com oxigênio dissolvido mantido em 5,9 ± 0,1 mg / L, amônia total em <0,01 mg / L, dureza total em 6 mg / L, alcalinidade em 22 mg / L de CaCO₃ e condutividade em 1550 ± 50 µS/ cm.

Passo Fundo, 22 de novembro de 2021.



Prof. Dr. Rafael Frandoloso
Coordenador CEUA /UPF