

NEUROPLASTICIDADE E BEM-ESTAR DE LEITÕES EXPOSTOS À MUSICOTERAPIA

Isabella Cristina de Castro Lippi*¹, Fabiana Ribeiro Caldara², Larissa Braganholo Vargas², Henrique Biasotto Moraes², Agnês Markiy Odakura², Luan Sousa dos Santos³

1 Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Botucatu, SP

2 Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Dourados, MS

3 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Zootecnia, Seropédica, Rio de Janeiro

Isa_lippi@hotmail.com

RESUMO: O objetivo da pesquisa foi avaliar os efeitos da exposição de porcas ao enriquecimento ambiental auditivo no pré e pós-parto sobre a neuroplasticidade dos descendentes destas fêmeas. Foram utilizadas 48 porcas distribuídas de acordo com a ordem de parto em dois tratamentos (Controle e Exposição a 6 horas diárias de música clássica). Aos 110 dias de gestação, as fêmeas foram alojadas em salas de maternidade e distribuídas em DIC em 4 tratamentos: Controle – Controle (CC): não ouviram música durante a gestação e maternidade; Controle – Música (CM): não ouviram música durante a gestação, mas ouviram durante a maternidade; Música – Controle (MC): ouviram música durante a gestação e não ouviram durante a maternidade; Música – Música (MM): ouviram música durante a gestação e maternidade. Foi realizada mensuração no soro sanguíneo do fator neurotrófico derivado do cérebro dos leitões (BDNF) ao nascimento e ao desmame. Apesar de não haver diferenças na concentração de BDNF ao nascer, a manutenção do fator neurotrófico no grupo MM, pode indicar que a música atua como um inibidor da redução natural que ocorre na concentração do BDNF com o envelhecimento. O fator neurotrófico pode ser associado a resiliência ao estresse. A exposição à musicoterapia no pré e pós-parto pode melhorar a neuroplasticidade dos leitões, sendo uma forma simples e viável para melhorar o bem-estar.

Palavras-chave: BDNF, resiliência, suínos, estresse

ABSTRACT The aim of the research was to evaluate the effects of exposing sows to auditory environmental enrichment in the pre and postpartum period on the neuroplasticity of the offspring of these females. Forty-eight sows were distributed according to the calving order in two treatments (Control and Exposure to 6 hours of classical music daily). At 110 days of gestation, the females were housed in maternity rooms and distributed in completely randomized design in 4 treatments: Control - Control (CC): they did not listen to music during and during pregnancy and lactation; Control - Music (CM): they did not listen to music during pregnancy, but they did during lactation; Music - Control (MC): listened to music during pregnancy and did not listen during lactation; Music - Music (MM): they heard music during pregnancy and lactation. The blood serum measurement of the neurotrophic factor derived from the piglet brain (BDNF) was performed at birth and at weaning. Although there are no differences in the concentration of BDNF at birth, the maintenance of the neurotrophic factor in the MM group, may indicate that music acts as an inhibitor of the natural reduction that occurs in the concentration of BDNF with aging. The neurotrophic factor can be associated with resilience to stress. Exposure to music therapy in the pre- and postpartum period can improve the neuroplasticity of piglets, being a simple and viable way to improve well-being.

Keywords: BDNF, resilience, pigs, stress

INTRODUÇÃO: Apesar do crescente interesse em implementar programas de enriquecimento ambiental, há poucas medidas científicas válidas para avaliar a intervenção do enriquecimento e analisar seus efeitos (Rault et al., 2018). Diversos estudos em bem-estar animal focam nos

mecanismos associados às alterações no comportamento. No entanto, poucos estudos focam nos benefícios funcionais do enriquecimento por meio de variáveis como resiliência ao estresse. O efeito do enriquecimento ambiental no desenvolvimento neurobiológico e processos neurais é particularmente pouco elucidado nos animais domésticos (van de Weerd & Day, 2009). O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) representa a principal neurotrofina do cérebro (Shimizu et al., 2003) e, possui papel fundamental na regulação de diversas atividades sinápticas e plasticidade, possuindo capacidade de gerar mudanças funcionais e estruturais nos neurônios a fim de manter sua integridade (Lu et al., 2014). Roedores que ouviram Mozart como enriquecimento ambiental auditivo no período perinatal melhoraram o desempenho no aprendizado e seus descendentes obtiveram maior sinalização cerebral do BDNF quando adultos (Chikahisa et al., 2006). O estresse crônico leva a redução dos níveis de BDNF (Phillips, 2017). Maiores concentrações de BDNF no tecido cerebral têm sido associadas à melhora de funções cognitivas e maior resiliência ao estresse (Mosaferi et al., 2015) em pesquisas que utilizaram o enriquecimento ambiental com sucesso.

MATERIAL E MÉTODOS: O experimento foi conduzido entre os meses de fevereiro e março de 2019, em granja comercial, localizada no município de Dourados, MS, Brasil. Foram utilizadas 48 porcas da linhagem DanBred 90, entre 3ª e 6ª ordem de parto, com cerca de 90 dias de gestação, oriundas de um sistema de gestação em gaiola individual, que foram divididas igualmente em DIC e instaladas em dois barracões distintos com duas baias de gestação coletiva em cada. Os tratamentos durante a gestação foram controle (C) e música (M). Com cerca de 110 dias de gestação, as fêmeas foram transferidas para quatro salas de maternidade, onde foram alojadas em celas parideiras convencionais. Foram então subdivididas em 4 tratamentos: Controle – Controle (CC): Porcas que não ouviram música durante as fases de gestação e maternidade; Controle – Música (CM): Porcas que não ouviram música durante a fase de gestação, mas ouviram durante a fase de maternidade; Música – Controle (MC): Porcas que ouviram música durante a fase de gestação, mas não ouviram durante a fase de maternidade; Música – Música (MM): Porcas que ouviram música durante as fases de gestação e maternidade. música foi reproduzida em três momentos ao longo do dia, durante duas horas seguidas, apresentando intervalo de duas horas entre cada sequência de reprodução. Sendo assim, das 9h até as 19h, os animais foram expostos ao total de 6h de música durante todos os dias da semana. Foram selecionados ao acaso dez leitões de quatro porcas por tratamento, dos quais foram coletados 2 mL de sangue do cordão umbilical imediatamente após o nascimento, por meio de uma seringa descartável de 3mL e agulha hipodérmica. Após colheita do sangue umbilical as amostras foram transferidas para tubos com ativador de coágulo de 2 mL (BD Vacutainer® Hemogard) e homogeneizadas. A colheita sanguínea dos leitões aos 21 dias de idade foi realizada nos mesmos dez leitões, sendo o animal posicionado em decúbito dorsal, sobre uma calha veterinária, para punção de 4 mL de sangue da veia cava anterior utilizando uma seringa descartável de 5mL e agulha hipodérmica, e as amostras foram transferidas para tubos com ativador de coágulo de 4mL (Labor Import) e homogeneizadas. Em ambas as ocasiões os tubos foram deixados em temperatura ambiente durante 1 hora para retração do coágulo. Posteriormente, as amostras foram submetidas ao processo de centrifugação a 1.000 x g durante 15 minutos utilizando a centrífuga CELM modelo LS3 Plus. Após centrifugação, o soro foi coletado com auxílio de uma pipeta e acondicionado em tubo eppendorf, sendo congelado até análise em freezer com temperatura de -80°C. A mensuração dos níveis séricos de BDNF foi obtida por meio do kit biosensis® Mature BDNF Rapid™ ELISA kit: Human, Mouse, Rat e o processamento do sangue está de acordo com as instruções encontradas no manual do fabricante. Ao analisar o BDNF, foi realizada estatística descritiva e outliers foram retirados, em seguida os resultados foram testados quanto a normalidade dos resíduos utilizando-se o teste de Lilliefors - Kolmogorov-Smirnov ($P \geq 0,05$) e homogeneidade de

variâncias pelo teste de Levene ($P \geq 0,05$). Após constatação de atendimento às premissas foi realizada uma análise de variância (ANOVA) e no caso de resultado significativo, foi realizado teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparação de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A concentração de BDNF sérico ao nascimento não diferiu entre os tratamentos. Por outro lado, ao desmame a concentração sérica de BDNF foi significativamente maior ($P < 0,01$) nos leitões provenientes do tratamento MM, em que os animais foram expostos à música clássica nas fases de gestação e lactação (Tabela 1). Os tratamentos CC, CM e MC apresentaram valores significativamente maiores na concentração do BDNF ao nascimento quando comparado ao desmame. Esse fato não foi verificado no tratamento MM, o qual não apresentou diferença estatística entre estes dois momentos de coleta

Tabela 1. Concentração de BDNF sérico (pg/ml) dos leitões no momento do nascimento e ao desmame, provenientes de porcas submetidas aos tratamentos CC: Controle-Controle; CM: Controle Música; MC: Música-Controle; MM: Música-Música.

Tratamento	Fase		EPM	Valor de P
	Nascimento	Desmame		
MM	59,84	56,90 A	2,78	0,5516
MC	61,57	42,75 B	3,18	0,0010
CM	56,67	38,61 B	4,11	0,0176
CC	55,08	38,25 B	3,12	0,0050
EPM	3,24	1,51		
Valor de P	0,82700	0,00047		

* Médias acompanhadas letras maiúsculas distintas na mesma coluna apresentam valores estatisticamente diferentes. O teste para comparação de médias utilizado foi o Tukey a 5% de significância. EPM = Erro padrão da média

Nossos resultados diferem dos encontrados por Kim et al. (2013), em que foi evidenciado o aumento na neuroplasticidade de filhotes de ratos nascidos de mães expostas à musicoterapia. Tais conclusões foram feitas com base em análises de tecido cerebral, diferentemente da presente pesquisa, em que a mensuração do fator neurotrófico derivado do cérebro ocorreu por meio da análise do soro sanguíneo. Apesar da alta correlação dos níveis de BDNF no soro com o BDNF no líquido cefalorraquidiano em ratos e suínos (Klein et al., 2011); a diferença de metodologia para determinação de concentração do BDNF e a não consideração do tamanho de determinadas áreas cerebrais que poderiam ter sido afetadas pela música, pode justificar discordância dos nossos resultados com literaturas encontradas. Utilizando amostragens repetidas nos mesmos indivíduos, os resultados mostram que a concentração de BDNF diminuiu com a idade nos tratamentos CC, CM e MC. Este resultado é esperado uma vez que o desenvolvimento cerebral mais intenso está relacionado ao início da vida e ao papel neurotrófico do BDNF. A plasticidade cerebral diminui com o envelhecimento, assim como o BDNF plasmático (Lommatzsch et al., 2005). Uma diminuição na expressão do BDNF está associada a atrofia ou morte neuronal que ocorre, por exemplo, com o envelhecimento ou em alguns distúrbios neurológicos (Murer et al., 2001). Por outro lado, o tratamento MM não diferiu entre as duas fases de coleta do experimento, e apresentou maior média de concentração ao desmame quando comparado aos outros grupos nesta mesma fase. Chaudhury & Wadhwa (2009) apontam que grupos estimulados pelo som em fase pré-natal, ao serem expostos novamente ao som em período pós-natal possivelmente apresentem uma resposta aprimorada, com um aumento no mRNA que regula a ativação transcricional do gene BDNF. Essa hipótese é ainda confirmada por um estudo demonstrando que a exposição à música no período perinatal melhora o desempenho do aprendizado e altera a sinalização de BDNF em camundongos adultos (Chikahisa et al., 2006). Estes resultados sugerem a facilitação da plasticidade sináptica pós-natal após estimulação pré-natal com música (Roy et al., 2014), o que poderia explicar a maior concentração de BDNF no grupo MM quando comparado aos restantes. Apesar de o fator

neurotrófico não apresentar aumento entre o nascimento e o desmame no grupo MM, a musicoterapia pode ter inibido a redução natural da expressão do BDNF, levando à manutenção de sua concentração e maior média em relação aos leitões dos outros tratamentos na mesma idade, que por sua vez apresentaram médias estatisticamente menores ao desmame.

CONCLUSÕES: A redução de ansiedade e estresse que a musicoterapia pode trazer aos animais evidencia o enriquecimento ambiental auditivo como uma forma viável e simples de melhorar a qualidade de vida do animal, podendo trazer reflexos positivos na produção.

AGRADECIMENTOS: À CAPES pela bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS:

CHAUDHURY, S., WADHWA, S. Prenatal auditory stimulation alters the levels of CREB mRNA, p-CREB and BDNF expression in chick hippocampus. *International Journal of Developmental Neuroscience*, v. 27, n. 6, p. 583-590, 2009.

CHIKAHISA, S., SEI, H., MORISHIMA, M., SANO, A., KITAOKA, K., NAKAYA, Y., & MORITA, Y. Exposure to music in the perinatal period enhances learning performance and alters BDNF/TrkB signaling in mice as adults. *Behavioural brain research*, v. 169, n. 2, p. 312-319, 2006.

KIM, C. H., LEE, S. C., SHIN, J. W., CHUNG, K. J., LEE, S. H., SHIN, M. S., & KIM, K. H. Exposure to music and noise during pregnancy influences neurogenesis and thickness in motor and somatosensory cortex of rat pups. *International neurology journal*, v. 17, n. 3, p. 107, 2013.

KLEIN, A. B., WILLIAMSON, R., SANTINI, M. A., CLEMMENSEN, C., ETTRUP, A., RIOS, M., & AZNAR, S. Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, v. 14, n. 3, p. 347-353, 2011.

LOMMATZSCH, M., ZINGLER, D., SCHUHBAECK, K., SCHLOETCKE, K., ZINGLER, C., SCHUFF-WERNER, P., & VIRCHOW, J. C. The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. *Neurobiology of aging*, v. 26, n. 1, p. 115-123, 2005.

LU, B., NAGAPPAN, G., LU, Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction. *Neurotrophic factors*, p. 223-250, 2014.

MOSAFERI, B., BABRI, S., MOHADDES, G., KHAMNEI, S., & MESGARI, M. Post-weaning environmental enrichment improves BDNF response of adult male rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, v. 46, p. 108-114, 2015.

MURER, M.G., YAN, Q., RAISMAN-VOZARI, R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Progress in neurobiology*, v. 63, n. 1, p. 71-124, 2001.

PHILLIPS, C. Brain-derived neurotrophic factor, depression, and physical activity: making the neuroplastic connection. *Neural plasticity*, v. 2017, 2017.

RAULT, J.-L.; LAWRENCE, A. J.; RALPH, C. R. Brain-derived neurotrophic factor in serum as an animal welfare indicator of environmental enrichment in pigs. *Domestic animal endocrinology*, v. 65, p. 67-70, 2018.

ROY C., LIPPENS L., KYEIWAA V., SEDDON Y.M., CONNOR L.M. & BROWN J.A. Effects of Enrichment Type, Presentation and Social Status on Enrichment Use and Behaviour of Sows with Electronic Sow Feeding. *Animals*, v. 9, n. 6, p. 369, 2019

SHIMIZU, E., HASHIMOTO, K., OKAMURA, N., KOIKE, K., KOMATSU, N., KUMAKIRI, C., & IYO, M. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biological psychiatry*, v. 54, n. 1, p. 70-75, 2003

VAN DE WEERD, H.A.; DAY, J.EL. A review of environmental enrichment for pigs housed in intensive housing systems. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 116, n. 1, p. 1-20, 2009.