

THIAGO AMORIM DE SOUZA LIMA

**Participação do receptor 1 do fator de necrose tumoral nos
processos de memória e aprendizado de camundongos submetidos
ao modelo de diabetes mellitus tipo 1**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

São Paulo
2024

RESUMO

LIMA, T.A.S. Participação do receptor 1 do fator de necrose tumoral nos processos de memória e aprendizado de camundongos submetidos ao modelo de diabetes mellitus tipo 1. 2024. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

O Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) ocorre por conta da destruição das células β -pancreáticas, gerando deficiência de insulina. O DM1 em humanos tem sido associado a redução de diversas funções cognitivas, como nos escores de inteligência fluída e cristalizada, velocidade de processamento, flexibilidade cognitiva, eficiência psicomotora, atenção e percepção visual. Com a administração de estreptozotocina (STZ), é possível estabelecer um modelo de DM1 em camundongos que, a longo prazo, gera redução de memória e aprendizado. O fator de necrose tumoral (TNF- α) é uma citocina que regula processos de plasticidade sináptica pela ativação do seu receptor tipo 1 (TNFR1), estando diretamente ligado a processos de aprendizado e memória. Em situações de desafio imune, a ativação de TNFR1 pode desregular a plasticidade sináptica e induzir prejuízo das funções de aprendizado e memória, que podem ser revertidos pela deleção do receptor. Portanto, o presente estudo teve como objetivo investigar se o modelo de DM1 provoca prejuízo de aprendizado e memória a curto prazo e se esses possíveis efeitos são protegidos pela deleção de TNFR1. Para isto, foram utilizados ao todo 120 camundongos machos nocautes para TNFR1^{Tnfr1^{tm1}Mak} (TNFR1 KO) e suas contrapartes selvagens (WT). Os animais foram submetidos ao modelo de DM1 induzido por uma única dose alta de STZ (200 mg/kg) via intraperitoneal. Os animais em que a glicemia em jejum ultrapassou 250 mg/dL três dias pós STZ foram incluídos no estudo. Foram realizados dois experimentos separados para acompanhar o perfil comportamental dos animais ao longo de uma semana (experimento 1) e ao longo de duas semanas (experimento 2). No experimento 1 foram realizados uma bateria de testes comportamentais (alternância espontânea, labirinto em cruz elevado, campo aberto, reconhecimento de objetos e esquiva passiva), enquanto no experimento 2 apenas dois testes foram realizados (alternância espontânea e teste de procura por novidade). No experimento 1 foi observado prejuízo de memória associativa nos animais TNFR1 KO em comparação com o grupo WT, porém sem diferença significativa entre os grupos diabéticos em nenhum dos testes de aprendizado e memória. Alterações no teste de campo aberto apontam para um aumento do comportamento tipo-ansioso nos grupos diabéticos, contudo não houve alterações significativas no labirinto em cruz elevado. Além disso, os grupos diabéticos tiveram comportamento locomotor reduzido em todos os testes. No experimento 2 houve redução da memória de trabalho no grupo TNFR1 KO em comparação com o WT, porém sem diferenças entre os grupos diabéticos. O teste de procura por novidade não demonstrou alteração dos parâmetros relacionados à ansiedade, porém demonstrou que prejuízo locomotor observado no experimento 1 ocorreu por conta de danos motores e não por uma redução da motivação para exploração de novos estímulos. Conjuntamente, o DM1 a curto prazo não provoca redução das funções de aprendizado e memória, porém aponta para uma elevação do comportamento tipo-ansioso que precisa ser melhor investigada em futuros trabalhos. Por outro lado, os danos motores surgem nos primeiros dias pós STZ e não são protegidos pela ausência do TNFR1.

Palavras-chave: TNFR1. Diabetes mellitus tipo 1. Memória e aprendizado.

ABSTRACT

LIMA, T.A.S. Role of tumor necrosis factor receptor 1 in memory and learning processes of mouse model of diabetes mellitus type 1. 2024. Dissertation (Masters thesis in Pharmacology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Type 1 diabetes mellitus (T1DM) occurs due to the destruction of pancreatic β -cells, leading to insulin deficiency. T1DM in humans has been associated with reduced cognitive functions, such as fluid and crystallized intelligence scores, processing speed, cognitive flexibility, psychomotor efficiency, attention, and visual perception. With the administration of streptozotocin (STZ), it is possible to establish a T1DM model in mice that, in the long term, results in reduced memory and learning. Tumor necrosis factor (TNF- α) is a cytokine that regulates synaptic plasticity processes by activating type 1 receptor (TNFR1), being directly linked to learning and memory processes. Under immune challenge situations, TNFR1 activation dysregulates synaptic plasticity and induces impairment of learning and memory functions, which are reversed by receptor deletion. Therefore, this work aimed to investigate whether the T1DM model causes short-term impairment of learning and memory and whether these potential effects are protected by TNFR1 knockout. For this purpose, a total of 120 male knockout for TNFR1^{Tnfr1^{tm1}Mak} (TNFR1 KO) and their wild-type counterparts (WT) were used. The animals were subjected to the T1DM model induced by a single high dose of STZ (200 mg/kg) intraperitoneally. Animals with fasting blood glucose levels exceeding 250 mg/dL three days post-STZ were included in the study. Two separate experiments were conducted to monitor the behavioral profile of the animals over one week (experiment 1) and two weeks (experiment 2). In experiment 1, a battery of behavioral tests was performed (spontaneous alternation, elevated plus maze, open field, object recognition memory test, and passive avoidance), while in experiment 2, only two tests were conducted (spontaneous alternation and novelty seeking test). In experiment 1, associative memory impairment was observed in TNFR1 KO animals compared to the WT group, but without significant differences between diabetic groups in any of the learning and memory tests. Changes in the open field test indicate an increase in anxiety-like behavior in diabetic groups, however there were no significant alterations in the elevated plus maze. Additionally, diabetic groups exhibited reduced locomotor activity in all tests. In experiment 2, there was a reduction in working memory in the TNFR1 KO group compared to WT, but no differences were observed between diabetic groups. The modified open field test did not show alterations in anxiety-related parameters but demonstrated that locomotor impairment observed in experiment 1 occurred due to motor impairments and not due to a reduction in motivation for exploring new stimuli. Collectively, short-term T1DM does not result in a reduction in learning and memory functions, however, it indicates an elevation in anxiety-like behavior that needs further investigation in future studies. On the other hand, motor impairments emerge in the early days post-STZ administration and are not protected by TNFR1 absence.

Keywords: TNFR1. Type 1 diabetes mellitus. Memory and learning.

1 INTRODUÇÃO

O diabetes *mellitus* (DM) é definido pela Sociedade Brasileira de Diabetes (2019, p. 19) como um “distúrbio metabólico caracterizado por hiperglicemia persistente, decorrente de deficiência na produção de insulina ou na sua ação, ou em ambos os mecanismos”.

Dados da Organização Mundial da Saúde (2019) mostram que o número de pessoas com DM aumenta constantemente a nível mundial. Em 1980 houve estimativa de que 4,7% dos adultos possuíam a doença, valor que subiu para 8,5% (422 milhões de adultos) em 2014 (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al., 2019). Em 2021, a estimativa subiu para 537 milhões, com projeção para 647 milhões em 2030. Desses valores, estima-se que 3 a cada 4 adultos com diabetes são de países com baixa ou média renda (MAGLIANO et al., 2022). As estimativas da epidemiologia são feitas contemplando o DM no geral. Contudo, a doença possui subtipos, dos quais se destacam o DM tipo 1 (DM1) e DM tipo 2 (DM2).

Como revisado por Biessels et al. (2008), DM1 e DM2 têm em comum a hiperglicemia, porém diferem com relação a alguns aspectos epidemiológicos e pela fisiopatologia. O DM1 é majoritariamente diagnosticado durante a infância até o começo da vida adulta, especialmente em pessoas abaixo de 30 anos. Porém, atualmente existe um aumento dos diagnósticos de DM1 entre adultos que ultrapassam essa idade (LESLIE et al., 2021).

A maior causa do DM1 é a destruição das células β -pancreáticas através de um mecanismo autoimune, com forte componente genético, gerando a característica de deficiência de insulina. Por outro lado, se tratando do DM2, as chances de diagnóstico aumentam progressivamente depois dos 30 anos. A obesidade e um estilo de vida sedentário, além de uma forte influência genética, contribuem para o desenvolvimento da doença. Neste caso, além do organismo diminuir sua sensibilidade à ação da insulina, as células β -pancreáticas diminuem progressivamente sua capacidade de produzir e secretar o hormônio, podendo perder completamente sua função com o passar dos anos (BIESSSELS et al., 2008).

Sem o tratamento adequado, a hiperglicemia gera polidipsia, poliúria e polifagia, três sintomas clássicos associados diretamente à doença em ambos os tipos de DM (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). A longo prazo, pode gerar diversas complicações, como, por exemplo, de ordem macrovascular (doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral) e microvascular (retinopatia e neuropatia) (DESHPANDE et al., 2008).

1.1 Relação do DM1 com danos cognitivos

Uma outra consequência possível do DM relacionada ao sistema nervoso central (SNC) é de ordem cognitiva. A literatura que investiga a cognição de pacientes com DM demonstra que existem danos associados à doença, porém em alguns casos existem muitos outros fatores associados, o que dificulta o entendimento preciso dos principais fatores que levam ao dano cognitivo. A Tabela 1 mostra a definição de algumas funções cognitivas que serão citadas no decorrer do texto, cujo conceito não é compreendido de maneira intuitiva.

Uma metanálise realizada por Brands et al., (2005) demonstrou que adultos com DM1 apresentaram reduções moderadas nos escores de inteligência fluída e cristalizada, velocidade de processamento, flexibilidade cognitiva, eficiência psicomotora, atenção e percepção visual (BRANDS et al., 2005). Outro estudo de metanálise corroborou os achados anteriores, demonstrando que adultos com DM1 possuem menores medidas de quociente de inteligência (QI), velocidade motora, função executiva geral e memória espacial reduzidas quando comparadas com as de adultos sem a doença (TONOLI et al., 2014).

Da mesma forma, crianças com diagnóstico de DM1 tiveram desempenho reduzido das medidas de QI e velocidade motora (GAUDIERI et al., 2008). Crianças com DM1 desempenham pior em tarefas que requerem habilidade visuoespacial, na escrita, leitura e atenção sustentada em comparação com crianças sem a doença. Ademais, o início da doença e o número de episódios de hipoglicemia não tiveram efeitos sobre os resultados (NAGUIB et al., 2009). No entanto, existe evidência mostrando que níveis extremos de glicemia em crianças, sejam episódios de hipoglicemia ou hiperglicemia, agravam os danos cognitivos quando comparadas com crianças em que o controle glicêmico é adequado (HE et al., 2018).

Tabela 1 – Definição de funções cognitivas menos intuitivas.

Função	Definição	Citação
Inteligência fluída	Uso deliberado e controlado das operações mentais para resolver problemas que não poderiam ser resolvidos de maneira automática	McGrew, 2009
Inteligência cristalizada	Conhecimento cultural adquirido que é incorporado pelos indivíduos através de sua experiência cultural	
Quociente de inteligência	Medida psicométrica geral relacionada com diversas funções mentais verbais e não-verbais	Neisser et al., 1996
Velocidade de processamento	Taxa máxima em que processos cognitivos básicos são executados	Kail e Salthouse, 1994
Flexibilidade cognitiva	Prontidão em que o sujeito troca entre processos mentais para gerar a melhor resposta possível para uma tarefa específica	Dajani e Uddin, 2015
Habilidade psicomotora	Processo de captar estímulos sensoriais, processá-los e gerar uma resposta motora	Chaiken et al., 2000

Por outro lado, em outro estudo, pessoas com a doença que tiveram glicemia regulada com insulina foram acompanhadas por 18 anos e suas funções cognitivas medidas não apresentaram reduções significativas (JACOBSON et al., 2007). Ao realizarem uma outra análise mais complexa desse mesmo estudo anos depois, encontraram associações entre as complicações micro e macrovasculares e os níveis de hemoglobina glicada (HbA_{1C}) com a eficiência e velocidade psicomotora desses pacientes (JACOBSON et al., 2011).

De maneira geral, são observados danos na esfera cognitiva e motora, tanto em crianças quanto em adultos. Apesar de algumas complicações do diabetes aparecerem depois de alguns anos de exposição à doença e serem, juntos aos níveis de HbA_{1C}, fatores de risco para o desenvolvimento de danos cognitivos (JACOBSON et al., 2011; LACY et al., 2018), há registro na literatura de crianças sendo afetadas pelos danos cognitivos em poucos anos com a doença (NAGUIB et al., 2009), o que gera dúvidas quanto aos fatores que levam a este desfecho.

1.2 Modelo de diabetes tipo 1 induzido pela estreptozotocina

Existem diversos modelos para o estudo da diabetes. Alguns desses modelos envolvem a influência genética para desenvolvimento da doença (WANG et al., 2013), desenvolvimento

da doença associado a obesidade (KARASAWA et al., 2011) ou indução por agentes químicos (LENZEN, 2008), como é o caso da estreptozotocina (STZ).

A STZ é um análogo da glicose que possui propriedades alquilantes e tóxicas. Por isso, pode ser transportada pelo transportador de glicose tipo 2 (GLUT2) para dentro das células β pancreáticas e gerar citotoxicidade (SCHNEDL et al., 1994), reduzindo quase completamente o número de células quando administrada em uma única alta dose (150-200 mg/kg) (DEEDS et a., 2011). Isso ocorre porque a STZ gera alquilação do DNA e quebra de seus filamentos, induzindo aumento da enzima poli-ADP-ribose (PARP-1) para reparo. A grande demanda de PARP-1 gera depleção das reservas de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD)⁺ e adenosina trifosfato (ATP), podendo induzir as células à apoptose ou necrose (GAUTHIER, 2014; WU e YAN, 2015).

Pelo seu efeito, a STZ é eficiente em gerar hiperglicemia em roedores, ocasionada pela deficiência de insulina que pode durar diversas semanas. Durante esse período, os animais possuem níveis de glicemia em jejum aumentados consideravelmente, exibem poliúria, polidipsia, polifagia, perda de peso e, com tempo suficiente, também apresentam as complicações de longo prazo observadas no diabetes em humanos, como doenças cardiovasculares, neuropatia e retinopatia diabéticas (GOYAL et al., 2016).

A administração de STZ via intraperitoneal em camundongos é capaz de gerar esses efeitos mencionados, além de destruir praticamente todas as células β pancreáticas, gerando deficiência de insulina nos animais (DEEDS et a., 2011). Por esta razão, o uso da STZ é considerado como modelo de DM1. Embora não seja uma droga totalmente eficiente em modelar o desenvolvimento inicial da doença, é um modelo bastante estabelecido dentro da literatura para estudar os sintomas relacionados ao DM1 (GRAHAM e SCHUURMAN, 2015).

1.3 Transporte da glicose para o sistema nervoso central

O aumento periférico da glicemia no DM1 induzido pela STZ rapidamente chega ao SNC. Para isso, a glicose precisa atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), uma camada de células que reveste o encéfalo e regula a passagem de moléculas. A BHE é composta por células endoteliais, murais (células do músculo liso vascular e pericitos), imunes, glias e por células neuronais que interagem na unidade neurovascular. Basicamente, as células endoteliais são intimamente ligadas por junções oclusivas, compostas por moléculas de adesão ligadas a proteínas que formam uma barreira entre as células, dificultando a passagem

livre de moléculas (Figura 1). Por isso, a BHE consegue regular quais moléculas passam para o SNC através de diversos tipos de transportadores (DANEMAN e PRAT, 2015).

Figura 1 – Representação da barreira hematoencefálica.

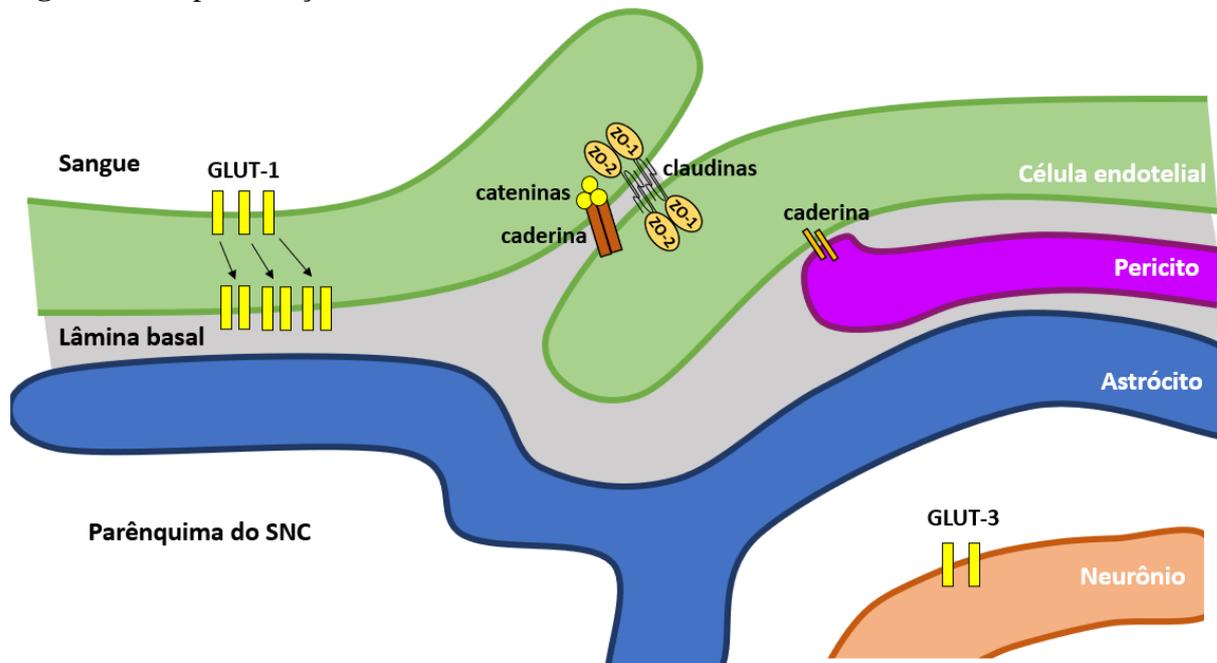


Figura 1. Representação esquemática da barreira hematoencefálica. Em verde, células endoteliais ligadas por moléculas de adesão em complexo com proteínas, como as cateninas e ZO-1. Em roxo, um pericito ligado a uma célula endotelial por uma caderina. Em cinza uma porção da lâmina basal, em azul um pé vascular de um astrócito e em laranja um neurônio. Os GLUT-1 são expressos na porção luminal da célula endotelial, onde a glicose transportada é captada pelos astrócitos e levada aos neurônios, cuja glicose é transportada pelo GLUT-3. Zonula occludens (ZO); Transportador de glicose tipo 1 (GLUT-1); Sistema Nervoso Central (SNC). Adaptado de Daneman e Prat (2015).

Duas famílias de transportadores de glicose foram identificadas na BHE e participam do transporte da molécula. A família dos co-transportadores de sódio-glicose (SGLT) podem transportar glicose em algumas situações específicas, como no caso de isquemia ou ausência de oxigênio, no entanto a família dos transportadores de glicose (GLUT) são as mais relevantes. A glicose atravessa a BHE através do GLUT-1, principal subtipo expresso em células endoteliais, sendo levada ao SNC e captada pelos neurônios através do GLUT-3, que é amplamente expresso em neurônios e células gliais (PRASAD et al., 2014).

Algumas alterações provocadas pelo diabetes foram revisadas por Bogush et al. (2017), que mostra, em diversos estudos, achados no sentido do aumento da permeabilidade, remodelamento e disfunção no funcionamento da BHE. É possível que essas alterações no decorrer do tempo provoquem danos ao SNC por conta do aumento da passagem de glicose

pela BHE sem a necessidade dos transportadores, gerando os prejuízos cognitivos discutidos anteriormente.

1.4 Efeito da hiperglicemia no sistema nervoso central

De fato, em modelos animais, a hiperglicemia está relacionada com algumas disfunções no regulamento da atividade neuronal e glial que estão diretamente ligadas ao desempenho de algumas funções cognitivas, como a memória e o aprendizado. A plasticidade sináptica é um conceito que abrange algumas funções dentro do SNC de regulação da atividade neuronal, modulando a atividade das sinapses em situações de aprendizado (STACHO e MANAHAN-VAUGHAN, 2022). Dois conceitos fundamentais são os de potenciação de longa duração (LTP) e depressão de longa duração (LTD) que, brevemente, descrevem processos de fortalecimento conjunto entre sinapses que se ativam juntas (HEBB, 2005).

O LTP ocorre quando há simultaneamente grande liberação de neurotransmissores no terminal pré-sináptico e ativação dos receptores do terminal pós-sináptico, despolarizando a célula e gerando o potencial de ação, essa ação conjunta fortalece a eficácia da sinapse. O LTD, por sua vez, ocorre quando há ativação do terminal pré-sináptico em frequências baixas, sem a ativação do terminal pós-sináptico, enfraquecendo a ativação da sinapse. A ação coordenada de LTP e LTD resultam em um substrato neurobiológico dos processos de aprendizado e memória (LÜSCHER e MALENKA, 2012).

A hiperglicemia no SNC está associada com a indução de neuroinflamação, resultando na desregulação da plasticidade sináptica de neurônios hipocámpais por conta do aumento da concentração de mediadores inflamatórios, dificultando a indução e manutenção de LTP e LTD, que são refletidos em uma maior dificuldade de aprendizado no labirinto aquático de Morris (BIESSELS et al., 1996; KAMAL et al., 2000; AHMED et al., 2019). Este prejuízo de aprendizado também se estende às memórias de trabalho e de longo prazo, que são diminuídas nos animais com DM crônica (POPOVIČ et al., 2001).

A hiperglicemia é um dos principais fatores associados ao declínio da memória e aprendizado, especialmente quando se submete animais ao modelo de DM durante períodos crônicos, sendo possível observar que, além dos danos de aprendizado e memória, há ocorrência de neuroinflamação, redução da liberação de dopamina e da ativação da proteína de ligação responsiva ao AMPc (CREB), fator de transcrição associado a respostas de proliferação, sobrevivência e diferenciação (AHMED et al., 2019).

Além disso, parece que nível de hiperglicemia pode ser um fator relevante para a indução de danos ao SNC. Quando se compara animais diabéticos com hiperglicemia moderada (reduzida com dose baixa de insulina) e severa (sem intervenção), os animais com hiperglicemia severa possuem plasticidade sináptica e memória reduzidas em comparação com o controle, enquanto a hiperglicemia moderada não exerceu efeitos negativos aparentes (BIESSELS et al., 1996). Além disso, o aumento dos níveis de glicemia que ocorre com o passar do tempo parece estar diretamente correlacionado com a piora da memória e do aprendizado (AHMED et al., 2019). Deste modo, não apenas o período de tempo expostos à hiperglicemia, mas também o nível de glicemia, são responsáveis por gerarem danos ao SNC.

1.5 TNF- α e seus receptores

A superfamília do fator de necrose tumoral (TNF) é composta por 19 ligantes e 29 receptores. É responsável por diversas funções dentro do organismo, como inflamação, proliferação celular, apoptose e morfogênese (AGGARWAL et al., 2012). O TNF- α é uma das citocinas que compõe esta superfamília, no SNC é produzida primariamente por células microgliais, em resposta a moléculas reconhecedoras de padrões, como os receptores tipo-*Toll* (TLR), que detectam produtos bacterianos como os lipopolissacarídeos (MONTGOMERY et al., 2012).

O TNF- α é produzido, encapsulado em uma vesícula e levado à membrana plasmática, onde é depositado em sua forma transmembrana (TNF_{tm}). Metaloproteinases como as enzimas conversoras de TNF (TACE/ADAM17) clivam o TNF para ser liberado ao meio extracelular em sua forma solúvel (TNF_{sol}), que será levado a ativação de seus alvos. O TNF_{tm} também pode ativar os receptores de TNF (TNFR) estando ligado à membrana plasmática ou através de uma via não canônica de liberação do TNF, que provoca a liberação de vesículas extracelulares (VEs) que carregam o TNF_{tm} até a célula alvo (Figura 2; RAFFAELE et al., 2020).

Figura 2 – Via canônica e não-canônica de liberação do TNF.

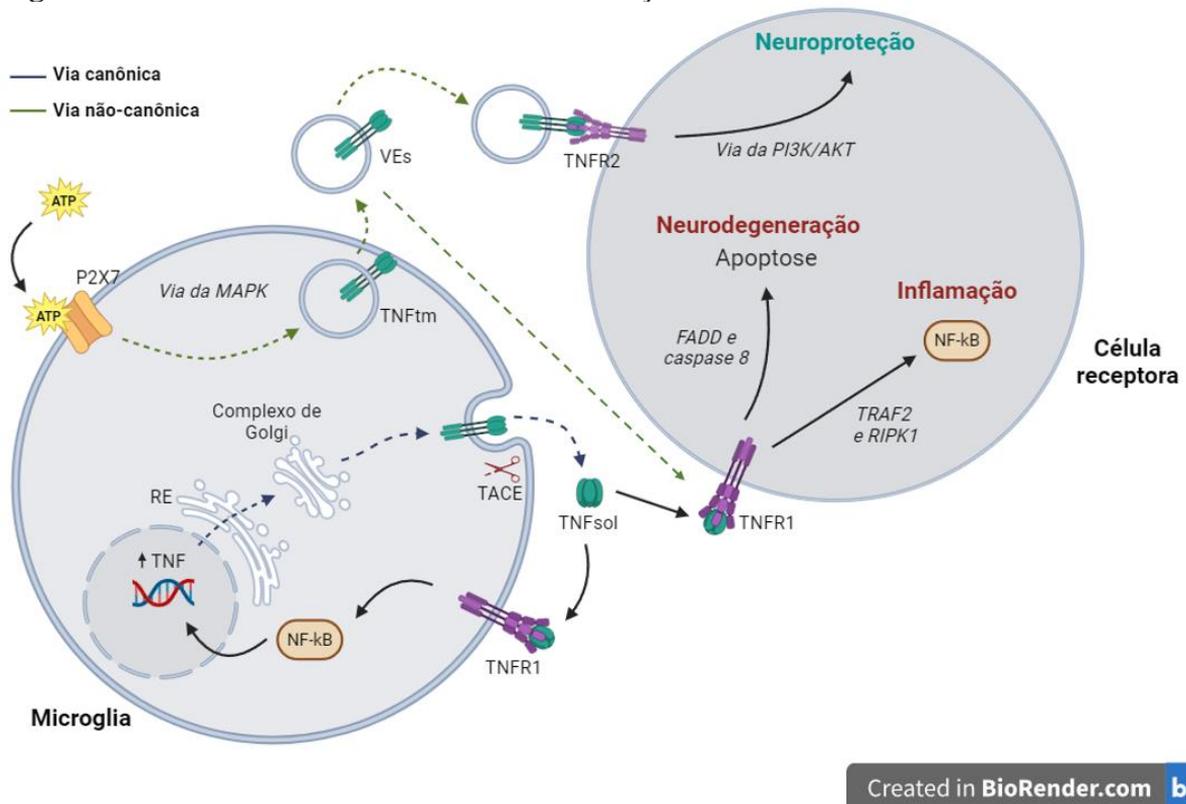


Figura 2. Pela via canônica (setas azuis), o TNFtm é produzido pelos ribossomos, encapsulado pelo complexo de Golgi e levado à membrana plasmática, onde sofre ação da enzima TACE e é convertido em sua forma solúvel. O TNFsol pode ativar o TNFR1 localizado na própria célula que o liberou, gerando retroalimentação positiva. Outra possibilidade é a ativação de TNFR1 em uma célula receptora, que pode ter indução de apoptose pela via da FADD e caspase 8 ou inflamação pela via da TRAF2 e RIPK1, com ativação de NF-κB. Pela via não-canônica (setas verdes), o ATP pode ativar o receptor purinérgico P2X7, estimulando a via de sinalização da MAPK que redireciona as vesículas com TNFtm para uma porção da célula sem a presença de TACE. Deste modo, as VEs são extravasadas pela membrana plasmática, carregando o TNFtm pelo meio extracelular até alcançarem seu alvo, que pode ser tanto TNFR1 como TNFR2. A ativação de TNFR2 em astrócitos gera, pela via da PI3K/AKT, sinais pró-sobrevivência. Enzima conversora de TNF (TACE); TNF solúvel (TNFsol); Receptor do fator de necrose tumoral (TNFR); Proteína do domínio de morte associada ao receptor de TNF (TRADD); Fator 2 associado ao receptor de TNF (TRAF2); Serina/treonina-proteína quinase 1 (RIPK1); Fator nuclear kappa B (NF-κB); Adenosina trifosfato (ATP); Proteína cinase ativada por mitógenos (MAPK); TNF transmembrana (TNFtm); Vesícula extracelular (VE); Fosfatidilinositol 3-quinases (PI3K). Adaptado de RAFFAELE et al. (2020).

Existem dois subtipos de receptores para TNF- α , os receptores tipo 1 (TNFR1) e tipo 2 (TNFR2). As vias de sinalização desses dois receptores são diferentes (Figura 3). O TNFR1 está ligado a proteína de domínio de morte associada ao receptor de TNF (TRADD), portanto está mais associada à morte celular, seja por apoptose ou por necrose. Além disso, possui

outra via possível que leva a ativação de fatores de transcrição, como o NF- κ B e AP-1, que podem estimular a produção de citocinas, quimiocinas e fatores de sobrevivência para as células, contudo no caso do TNFR1 predomina a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. O TNFR2 não possui ligação a uma proteína de domínio de morte, mas com o fator associado ao TNF (TRAF), uma proteína que está ligada à cascata de sinalização que leva a ativação dos fatores de transcrição já mencionados, porém no caso do TNFR2 estão mais ligados a produção de fatores de sobrevivência e citocinas anti-inflamatórias (CHU, 2013).

Figura 3 – Vias de sinalização dos TNFR1 e TNFR2.

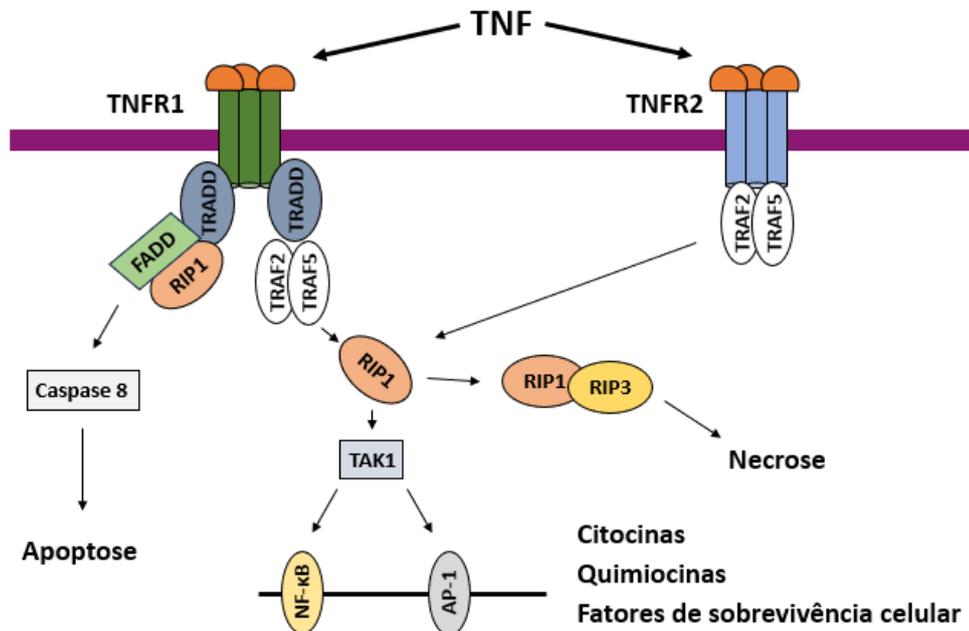


Figura 3. Na esquerda, o TNFR1 é ativado pela ligação de TNF- α , fazendo com que a proteína TRADD recrote FADD junto ao RIP1, gerando ativação da caspase 8 e indução de apoptose. Por outra via, TRADD pode recrutar as proteínas TRAF, que recrutam RIP1, podendo induzir uma via de sinalização pela TAK1 que ativa os fatores de transcrição NF- κ B e AP-1, induzindo a produção de citocinas, quimiocinas pró-inflamatórias. De outro modo, a RIP1 pode formar um complexo com a RIP3 chamado de necrossomo, que induz ativação de necrose. Na direita, O TNFR2 não possui proteínas de domínio de morte ligadas ao receptor, mas proteínas TRAF, por conta disto sua ativação pelo TNF- α está mais associada a via de sinalização responsável pela ativação dos fatores de transcrição, induzindo produção de citocinas e quimiocinas anti-inflamatórias e fatores de sobrevivência celular. Proteína de domínio de morte associada ao receptor de TNF (TRADD); Proteína do domínio de morte associada ao FAS (FADD); Proteína de interação com receptor (RIP); Fator associado ao receptor de TNF (TRAF); Serina/treonina-proteína quinase de interação com receptor (RIPK); Quinase 1 ativada por fator de crescimento transformador β (TAK1); Fator nuclear kappa B (NF- κ B); Proteína ativadora 1 (AP-1). Adaptado de Chu (2013).

Os TNFRs possuem afinidades diferentes para TNF- α . O TNFsol se liga ao TNFR1 com maior afinidade, possuindo pouca ou nenhuma ao TNFR2. Por outro lado, o TNF_{tm} pode ativar tanto TNFR1 como TNFR2 com alta eficácia (WAJANT e SIEGMUND, 2019). Em alguns casos específicos, o TNFR1 pode ser encapsulado e liberado por VEs. Nessas

situações, o receptor consegue competir pela ligação de TNFsol, diminuindo a resposta inflamatória ou se ligar ao TNFtm que está na membrana plasmática. O último caso é pouco compreendido, mas existem hipóteses de que nessas situações o TNFR1 tenha o papel de ligante e produza uma resposta anti-inflamatória em células que expressem o TNFtm (RAFFAELE et al., 2020).

O TNF- α e seus receptores são muito pesquisados por sua complexa modulação da inflamação, porém seu papel no SNC extrapola esta função. Considerando um contexto fisiológico fora da ocorrência de neuroinflamação, o TNF- α possui também a capacidade de regular processos de plasticidade sináptica (ALBENSI e MATTSON, 2000).

1.6 Regulação da plasticidade sináptica pelo TNF- α e TNFRs

A plasticidade sináptica foi mencionada anteriormente com relação aos processos de LTP e LTD. Esse tipo de plasticidade é chamada de Hebbiana por conta do trabalho pioneiro de Donald O. Hebb, que formulou os conceitos na tentativa de compreender a organização funcional do comportamento, especialmente dos processos de memória e aprendizado. No entanto, ao longo do tempo, foi descoberto e formalizado o conceito de plasticidade sináptica homeostática, que descreve a capacidade regulatória das sinapses sempre manterem um nível ótimo de funcionamento (GALANIS e VLACHOS, 2020). Escalonamento sináptico (ES) é uma forma de plasticidade homeostática que aumenta (escalamento positivo) ou diminui (escalamento negativo) a força sináptica em função da atividade. Diferente da plasticidade Hebbiana, o controle da força sináptica pelo ES pode se espalhar para diversas sinapses em um dendrito (TURRIGIANO et al., 1998).

Sua regulação é complexa e ainda com diversas lacunas quanto aos mecanismos, contudo é proposto que o TNF- α consegue regular a força sináptica através da inserção ou retirada de receptores, mantendo um nível ótimo de ativação do terminal pós-sináptico e regulando a liberação de neurotransmissores no terminal pré-sináptico. Quando há baixa ativação sináptica por períodos longos, o TNF- α induz escalamento positivo provocando inserção de receptores AMPA (-amino-3-hidroxi-5-metil-4 isoxazolpropionato) no terminal pós-sináptico e aumentando a probabilidade de liberação de glutamato do terminal pré-sináptico. Ao mesmo tempo, em terminais GABAérgicos provoca uma diminuição da probabilidade de liberação de GABA (ácido gama-aminobutírico), enquanto induz endocitose dos receptores de GABA, facilitando a indução e propagação dos potenciais de ação. Nos casos de intensa ativação sináptica, o escalamento negativo é realizado de forma inversa,

reduzindo a força das sinapses glutamatérgicas e aumentando das GABAérgicas (HEIR e STELLWAGEN, 2020).

As células gliais também auxiliam na regulação da plasticidade sináptica, os astrócitos podem regular a força sináptica através da liberação de glutamato em células do hipocampo. Em condições basais, na ausência de neuroinflamação, a ativação do receptor purinérgico P2Y1R provoca um influxo de cálcio que resulta na exocitose de vesículas contendo glutamato, que auxiliam na regulação da ativação sináptica. Ainda que o mecanismo não seja compreendido completamente, sabe-se que a expressão constitutiva de TNF- α é necessária para que este processo ocorra de maneira adequada (SANTELLO et al., 2011).

O TNF- α auxilia na regulação da força sináptica, porém sua ação *per se* não é capaz de gerar estímulo o suficiente para induzir atividade sináptica, tendo em vista que sua função é regulatória. Contudo um aumento de 10x sua concentração basal (60 pM para 600 pM) é capaz de provocar atividade sináptica de neurônios glutamatérgicos. Essa modulação ocorre via TNFR1 expresso nos astrócitos, que quando ativado, devido a elevada concentração de TNF- α em situações de inflamação, induz uma persistente atividade sináptica que pode ser associada a processos patológicos de neuroinflamação, podendo resultar em morte celular (HABBAS et al., 2015).

Além dessa ativação persistente das sinapses, é proposto que o ES se desregula pelo aumento da concentração de TNF- α , podendo provocar ativação do mecanismo de escalamento positivo mesmo sem necessidade (RIZZO et al., 2018). Desta forma, as sinapses aumentam ainda mais sua atividade glutamatérgica, gerando excitotoxicidade pelo aumento do influxo de cálcio, que provoca ativação de proteases que degradam uma variedade de substratos, como proteínas do citoesqueleto, receptores e enzimas. Também gera peroxidação lipídica por conta da ativação de oxigenases, culminando na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem danificar o DNA. Todas essas consequências provocam mecanismos de reparo celular, que gastam muito ATP. O dano persistente no DNA pelos EROs, assim como o esgotamento das reservas de ATP podem provocar morte celular (MATTSON, 2017).

1.7 A função do TNF- α e TNFRs na regulação dos processos de memória e aprendizado

A expressão de TNF- α é necessária para a regulação adequada dos mecanismos de plasticidade homeostática, que se reflete no comportamento de animais submetidos a testes comportamentais que mensuram memória e aprendizado. Isto pode ser observado em

linhagem nocaute para TNF- α (TNF KO), que possuem prejuízo do aprendizado, memória espacial e discriminativa, sugerindo que a ausência da citocina em níveis basais compromete a regulação desses processos (BAUNE et al., 2008).

O aumento de TNF- α ocorre em diversas doenças, podendo ser associado ao declínio cognitivo, por exemplo, em doenças como o Alzheimer (BRUUNSGAARD et al., 1999; FISCHER et al., 2015). O modelo de DM em períodos crônicos também provoca aumento de TNF- α , que está associado ao declínio da memória e aprendizado, porém o tratamento com astaxantina, um carotenóide que possui propriedades anti-oxidantes, anti-inflamatórias e anti-apoptóticas nos camundongos com DM1 gera redução dos prejuízos de memória e aprendizado, associado com os efeitos anti-oxidantes e com a redução de TNF- α (ZHOU et al., 2015).

A nível comportamental, sem a ocorrência de neuroinflamação, já foi observado que o nocaute do TNFR1 não altera de modo significativo funções como memória, aprendizado, coordenação motora e ansiedade. O que não ocorre no caso do TNFR2, em que camundongos nocautes possuem prejuízo de memória, aprendizado, coordenação motora e aumento do comportamento tipo-ansioso quando comparados com seus controles (NAUDE et al., 2014). Estas funções podem estar relacionadas ao período de desenvolvimento do animal, visto que com 3 meses de idade camundongos TNFR1 KO possuem as funções de memória e aprendizado prejudicadas (CAMARA et al., 2013), enquanto com 9 meses a memória e aprendizado não são alterados, mas a flexibilidade cognitiva desses animais é reduzida e há um aumento do comportamento tipo-depressivo (CAMARA et al., 2015)

Por outro lado, mediante um desafio imune, parece que a presença do TNFR1, por conta de sua função pró-inflamatória, gera prejuízo cognitivo. A indução de neuroinflamação através da utilização de um modelo de sepse provocado pela ligadura e perfuração do ceco provoca prejuízos de memória e aprendizado, porém animais TNFR1 KO são protegidos destes danos (CALSAVARA et al., 2015).

De fato, diante de um desafio imune, como administrar TNF- α para induzir comportamento doentio, camundongos controles e TNFR2 KO são suscetíveis às características de redução de peso, da interação social e maior tempo de imobilidade, enquanto os animais TNFR1 KO são protegidos desses sintomas, demonstrando a maior participação do TNFR1 diante de desafios imunes (PALIN et al., 2009). Esses tipos de resultados reforçam a ideia de que o TNFR1 possui maior participação em situações onde há

estímulo inflamatório em decurso, enquanto a ativação de TNFR2 está mais associada à neuroproteção (KASSIOTIS e KOLLIAS, 2001; VERONI et al., 2010).

6 CONCLUSÃO

Os dados obtidos conjuntamente apontam para o prejuízo da memória associativa e memória de trabalho pelo nocaute do TNFR1, sugerindo maior participação do receptor nessas funções. Porém, duas semanas de exposição ao modelo de DM1 não foram capazes de provocar prejuízo cognitivo. Além disso, há modificações no comportamento tipo-ansioso, porém de forma inconsistente entre os testes utilizados, impedindo que uma inferência conclusiva sobre o estado emocional do animal seja afirmada. Por outro lado, os animais diabéticos apresentam danos motores que são manifestados nos primeiros dias pós STZ, contudo o nocaute do TNFR1 não é capaz de proteger desses danos.

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, Bharat B.; GUPTA, Subash C.; KIM, Ji Hye. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 119, n. 3, p. 651-665, 2012.

AHMED, Ayaz et al. Time-dependent impairments in learning and memory in Streptozotocin-induced hyperglycemic rats. **Metabolic brain disease**, v. 34, n. 5, p. 1431-1446, 2019.

ALBAZAL, Ala; DELSHAD, Alireza-Azizzadeh; ROGHANI, Mehrdad. Melatonin reverses cognitive deficits in streptozotocin-induced type 1 diabetes in the rat through attenuation of oxidative stress and inflammation. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 112, p. 101902, 2021.

ALBENSI, Benedict C.; MATTSON, Mark P. Evidence for the involvement of TNF and NF- κ B in hippocampal synaptic plasticity. **Synapse**, v. 35, n. 2, p. 151-159, 2000.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes care**, v. 37, n. Supplement_1, p. S81-S90, 2014.

BAUNE, Bernhard T. et al. Cognitive dysfunction in mice deficient for TNF-and its receptors. American Journal of Medical Genetics Part B: **Neuropsychiatric Genetics**, v. 147, n. 7, p. 1056-1064, 2008.

BENITEZ, Suzana Ulian; CARNEIRO, Everardo Magalhães; DE OLIVEIRA, Alexandre Leite Rodrigues. Synaptic input changes to spinal cord motoneurons correlate with motor control impairments in a type 1 diabetes mellitus model. **Brain and Behavior**, v. 5, n. 10, p. e00372, 2015.

BEVINS, Rick A.; BESHEER, Joyce. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. **Nature protocols**, v. 1, n. 3, p. 1306-1311, 2006.

BIESSELS, Geert Jan; DEARY, Ian J.; RYAN, Christopher M. Cognition and diabetes: a lifespan perspective. **The Lancet Neurology**, v. 7, n. 2, p. 184-190, 2008.

BIESSELS, Geert-Jan et al. Place learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes**, v. 45, n. 9, p. 1259-1266, 1996.

BOGUSH, Marina; HELDT, Nathan A.; PERSIDSKY, Yuri. Blood brain barrier injury in diabetes: unrecognized effects on brain and cognition. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 12, p. 593-601, 2017.

BRANDS, Augustina MA et al. The effects of type 1 diabetes on cognitive performance: a meta-analysis. **Diabetes care**, v. 28, n. 3, p. 726-735, 2005.

BRASIL. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020**. Brasília: Sociedade Brasileira de Diabetes, 2019. 491 p. ISBN: 978-85-93746-02-4.

BROSIUS, F. High-dose streptozotocin induction protocol (mouse). 2015.

BRUUNSGAARD, Helle et al. A high plasma concentration of TNF- α is associated with dementia in centenarians. **Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences**, v. 54, n. 7, p. M357-M364, 1999.

CALSAVARA, Allan C. et al. TNFR1 absence protects against memory deficit induced by sepsis possibly through over-expression of hippocampal BDNF. **Metabolic brain disease**, v. 30, p. 669-678, 2015.

CAMARA, Marie Lou et al. TNF- α and its receptors modulate complex behaviours and neurotrophins in transgenic mice. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 12, p. 3102-3114, 2013.

CAMARA, Marie Lou et al. Tumor necrosis factor alpha and its receptors in behaviour and neurobiology of adult mice, in the absence of an immune challenge. **Behavioural brain research**, v. 290, p. 51-60, 2015.

CAROLA, Valeria et al. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. **Behavioural brain research**, v. 134, n. 1-2, p. 49-57, 2002.

CHAIKEN, Scott R.; KYLLONEN, Patrick C.; TIRRE, William C. Organization and components of psychomotor ability. **Cognitive Psychology**, v. 40, n. 3, p. 198-226, 2000.

CHAUDHRY, Zunaira Z. et al. Streptozotocin is equally diabetogenic whether administered to fed or fasted mice. **Laboratory animals**, v. 47, n. 4, p. 257-265, 2013.

CHU, Wen-Ming. Tumor necrosis factor. **Cancer letters**, v. 328, n. 2, p. 222-225, 2013.

D'ISA, Raffaele; COMI, Giancarlo; LEOCANI, Letizia. Apparatus design and behavioural testing protocol for the evaluation of spatial working memory in mice through the spontaneous alternation T-maze. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 21177, 2021.

DAJANI, Dina R.; UDDIN, Lucina Q. Demystifying cognitive flexibility: Implications for clinical and developmental neuroscience. **Trends in neurosciences**, v. 38, n. 9, p. 571-578, 2015.

DANEMAN, Richard; PRAT, Alexandre. The blood–brain barrier. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 7, n. 1, p. a020412, 2015.

DEACON, Robert MJ. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments. **Nature protocols**, v. 1, n. 2, p. 936-946, 2006.

DEEDS, M. C. et al. Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. **Laboratory animals**, v. 45, n. 3, p. 131-140, 2011.

DESHPANDE, Anjali D.; HARRIS-HAYES, Marcie; SCHOOTMAN, Mario. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. **Physical therapy**, v. 88, n. 11, p. 1254-1264, 2008.

EAGLE, Andrew L.; WANG, Hongbing; ROBISON, Alfred J. Sensitive assessment of hippocampal learning using temporally dissociated passive avoidance task. **Bio-protocol**, v. 6, n. 11, p. e1821-e1821, 2016.

FERRIS, Jennifer K. et al. Brain and body: a review of central nervous system contributions to movement impairments in diabetes. **Diabetes**, v. 69, n. 1, p. 3-11, 2020.

FISCHER, Roman et al. Interrelation of oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease: role of TNF. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2015, 2015.

FLOOD, James F.; MOORADIAN, Arshag D.; MORLEY, John E. Characteristics of learning and memory in streptozocin-induced diabetic mice. **Diabetes**, v. 39, n. 11, p. 1391-1398, 1990.

GALANIS, Christos; VLACHOS, Andreas. Hebbian and homeostatic synaptic plasticity—Do alterations of one reflect enhancement of the other?. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 14, p. 50, 2020.

GAUDIARI, Patricia A. et al. Cognitive function in children with type 1 diabetes: a meta-analysis. **Diabetes care**, v. 31, n. 9, p. 1892-1897, 2008.

GAUTHIER, Elizabeth L. Streptozotocin: uses, mechanism of action and side effects. **Nova Science Publishers, Incorporated**, 2014.

GUPTA, Deepali; RADHAKRISHNAN, Mahesh; KURHE, Yeshwant. Insulin reverses anxiety-like behavior evoked by streptozotocin-induced diabetes in mice. **Metabolic brain disease**, v. 29, p. 737-746, 2014.

HABBAS, Samia et al. Neuroinflammatory TNF α impairs memory via astrocyte signaling. **Cell**, v. 163, n. 7, p. 1730-1741, 2015.

HAN, Byoung Geun et al. Markers of glycemic control in the mouse: comparisons of 6-h-and overnight-fasted blood glucoses to Hb A1c. **American journal of physiology-endocrinology and metabolism**, v. 295, n. 4, p. E981-E986, 2008.

HE, Jing et al. Glycemic extremes are related to cognitive dysfunction in children with type 1 diabetes: a meta-analysis. **Journal of diabetes investigation**, v. 9, n. 6, p. 1342-1353, 2018.

HE, Ping et al. Deletion of tumor necrosis factor death receptor inhibits amyloid β generation and prevents learning and memory deficits in Alzheimer's mice. **The Journal of cell biology**, v. 178, n. 5, p. 829-841, 2007.

HEBB, Donald Olding. **The organization of behavior: A neuropsychological theory**. Psychology press, 2005.

HEIR, Renu; STELLWAGEN, David. TNF-mediated homeostatic synaptic plasticity: from in vitro to in vivo models. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 14, p. 565841, 2020.

HENDERSON, Lindsay J. et al. Benefits of tunnel handling persist after repeated restraint, injection and anaesthesia. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 14562, 2020.

JACOBSON, A. M. et al. Biomedical risk factors for decreased cognitive functioning in type 1 diabetes: an 18 year follow-up of the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) cohort. **Diabetologia**, v. 54, n. 2, p. 245-255, 2011.

JACOBSON, Alan M. et al. Long-term effect of diabetes and its treatment on cognitive function. **The New England journal of medicine**, v. 356, n. 18, p. 1842-1852, 2007.

KAIL, Robert; SALTHOUSE, Timothy A. Processing speed as a mental capacity. **Acta psychologica**, v. 86, n. 2-3, p. 199-225, 1994.

KAMAL, A. et al. Learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: interaction of diabetes and ageing. **Diabetologia**, v. 43, n. 4, p. 500-506, 2000.

KARASAWA, Hiroshi; TAKAISHI, Kiyosumi; KUMAGAE, Yoshihiro. Obesity-Induced Diabetes in Mouse Strains Treated With Gold Thioglucose: A Novel Animal Model for Studying β -Cell Dysfunction. **Obesity**, v. 19, n. 3, p. 514-521, 2011.

KASSIOTIS, George; KOLLIAS, George. Uncoupling the proinflammatory from the immunosuppressive properties of tumor necrosis factor (TNF) at the p55 TNF receptor level: implications for pathogenesis and therapy of autoimmune demyelination. **The Journal of experimental medicine**, v. 193, n. 4, p. 427-434, 2001.

KATSAROU, Anastasia et al. Type 1 diabetes mellitus. **Nature reviews Disease primers**, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2017.

KAWAMOTO, Elisa M. et al. TLR4-dependent metabolic changes are associated with cognitive impairment in an animal model of type 1 diabetes. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 443, n. 2, p. 731-737, 2014.

KELLEY, Ann E. Locomotor activity and exploration. In: Techniques in the behavioral and neural sciences. **Elsevier**, 1993. p. 499-518.

KUHAD, Anurag et al. Suppression of NF- κ B signaling pathway by tocotrienol can prevent diabetes associated cognitive deficits. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 92, n. 2, p. 251-259, 2009.

LACY, Mary E. et al. Long-term glycemic control and dementia risk in type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v. 41, n. 11, p. 2339-2345, 2018.

LENZEN, Sigurd. The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, v. 51, n. 2, p. 216-226, 2008.

LESLIE, R. David et al. Adult-onset type 1 diabetes: current understanding and challenges. **Diabetes Care**, v. 44, n. 11, p. 2449-2456, 2021.

LI, Chunlu et al. Toll-like receptor 4 deficiency causes reduced exploratory behavior in mice under approach-avoidance conflict. **Neuroscience bulletin**, v. 32, p. 127-136, 2016.

LUEPTOW, Lindsay M. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 126, p. e55718, 2017.

LÜSCHER, Christian; MALENKA, Robert C. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 4, n. 6, p. a005710, 2012.

MAGLIANO, Dianna J. et al. IDF diabetes atlas. 2022.

MATTSON, Mark P. Excitotoxicity. **Neurodegeneration**, p. 37-45, 2017.

MCGREW, Kevin S. CHC theory and the human cognitive abilities project: Standing on the shoulders of the giants of psychometric intelligence research. **Intelligence**, v. 37, n. 1, p. 1-10, 2009.

MILLER, Samara M. et al. Divergent medial amygdala projections regulate approach–avoidance conflict behavior. **Nature neuroscience**, v. 22, n. 4, p. 565-575, 2019.

MONTGOMERY, Sara L.; BOWERS, William J. Tumor necrosis factor-alpha and the roles it plays in homeostatic and degenerative processes within the central nervous system. **Journal of neuroimmune pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 42-59, 2012.

MYGIND, Leda et al. Tumor necrosis factor (TNF) is required for spatial learning and memory in male mice under physiological, but not immune-challenged conditions. **Cells**, v. 10, n. 3, p. 608, 2021.

NAGUIB, Justine M. et al. Neuro-cognitive performance in children with type 1 diabetes—a meta-analysis. **Journal of pediatric psychology**, v. 34, n. 3, p. 271-282, 2009.

NAUDE, Petrus JW et al. Analysis of cognition, motor performance and anxiety in young and aged tumor necrosis factor alpha receptor 1 and 2 deficient mice. **Behavioural brain research**, v. 258, p. 43-51, 2014.

NEISSER, Ulric et al. Intelligence: knowns and unknowns. **American psychologist**, v. 51, n. 2, p. 77, 1996.

ONO, Taisuke et al. Curcumin ameliorates skeletal muscle atrophy in type 1 diabetic mice by inhibiting protein ubiquitination. **Experimental physiology**, v. 100, n. 9, p. 1052-1063, 2015.

ORTÍ-CASAÑ, Natalia et al. The TNFR1 antagonist Atrosimab reduces neuronal loss, glial activation and memory deficits in an acute mouse model of neurodegeneration. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, p. 10622, 2023.

ORTÍ-CASAÑ, Natalia et al. The TNFR1 antagonist Atrosimab reduces neuronal loss, glial activation and memory deficits in an acute mouse model of neurodegeneration. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, p. 10622, 2023.

PALIN, Karine et al. The type 1 TNF receptor and its associated adapter protein, FAN, are required for TNF α -induced sickness behavior. **Psychopharmacology**, v. 201, p. 549-556, 2009.

PAPAZIAN, Irini et al. Fundamentally different roles of neuronal TNF receptors in CNS pathology: TNFR1 and IKK β promote microglial responses and tissue injury in demyelination while TNFR2 protects against excitotoxicity in mice. **Journal of neuroinflammation**, v. 18, p. 1-21, 2021.

PÉREZ-TABOADA, Iara et al. Diabetes causes dysfunctional dopamine neurotransmission favoring nigrostriatal degeneration in mice. **Movement disorders**, v. 35, n. 9, p. 1636-1648, 2020.

POPOVIĆ, Miroljub et al. Learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats in a novel spatial/object discrimination task. **Behavioural brain research**, v. 122, n. 2, p. 201-207, 2001.

PRASAD, Shikha et al. Diabetes mellitus and blood-brain barrier dysfunction: an overview. **Journal of pharmacovigilance**, v. 2, n. 2, p. 125, 2014.

RAFFAELE, Stefano et al. TNF production and release from microglia via extracellular vesicles: impact on brain functions. **Cells**, v. 9, n. 10, p. 2145, 2020.

RIZZO, Francesca Romana et al. Tumor necrosis factor and interleukin-1 β modulate synaptic plasticity during neuroinflammation. **Neural plasticity**, v. 2018, 2018.

ROM, Slava et al. Hyperglycemia-driven neuroinflammation compromises BBB leading to memory loss in both diabetes mellitus (DM) type 1 and type 2 mouse models. **Molecular neurobiology**, v. 56, p. 1883-1896, 2019.

SANTELLO, Mirko; BEZZI, Paola; VOLTERRA, Andrea. TNF α controls glutamatergic gliotransmission in the hippocampal dentate gyrus. **Neuron**, v. 69, n. 5, p. 988-1001, 2011.

SCHNEDL, Wolfgang J. et al. STZ transport and cytotoxicity: specific enhancement in GLUT2-expressing cells. **Diabetes**, v. 43, n. 11, p. 1326-1333, 1994.

SPIELEWOY, Cécile et al. Behavioural disturbances associated with hyperdopaminergia in dopamine-transporter knockout mice. **Behavioural pharmacology**, v. 11, n. 3-4, p. 279, 2000.

STACHO, Martin; MANAHAN-VAUGHAN, Denise. The intriguing contribution of hippocampal long-term depression to spatial learning and long-term memory. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 16, p. 806356, 2022.

STURMAN, Oliver; GERMAIN, Pierre-Luc; BOHACEK, Johannes. Exploratory rearing: a context-and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. **Stress**, v. 21, n. 5, p. 443-452, 2018.

TONOLI, Cajsza et al. Type 1 diabetes-associated cognitive decline: A meta-analysis and update of the current literature 1 型糖尿病相关的认知能力下降: 一项对最新文献的 meta 分析. **Journal of diabetes**, v. 6, n. 6, p. 499-513, 2014.

TURRIGIANO, Gina G. et al. Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. **Nature**, v. 391, n. 6670, p. 892-896, 1998.

VAN WAAS, Martine; SOFFIÉ, Monique. Differential environmental modulations on locomotor activity, exploration and spatial behaviour in young and old rats. **Physiology & behavior**, v. 59, n. 2, p. 265-271, 1996.

VERONI, Caterina et al. Activation of TNF receptor 2 in microglia promotes induction of anti-inflammatory pathways. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 45, n. 3, p. 234-244, 2010.

WAJANT, Harald; SIEGMUND, Daniela. TNFR1 and TNFR2 in the Control of the Life and Death Balance of Macrophages. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 7, p. 91, 2019.

WALF, Alicia A.; FRYE, Cheryl A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature protocols**, v. 2, n. 2, p. 322-328, 2007.

WANG, Jinchun et al. The protective effect of formononetin on cognitive impairment in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1250-1257, 2018.

WANG, Yang-wei et al. Spontaneous type 2 diabetic rodent models. **Journal of diabetes research**, v. 2013, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Classification of diabetes mellitus. 2019.

WU, Jinzi; YAN, Liang-Jun. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy**, p. 181-188, 2015.

YAU, Suk-Yu et al. Adiponectin mediates running-restored hippocampal neurogenesis in streptozotocin-induced type 1 diabetes in mice. **Frontiers in neuroscience**, v. 12, p. 679, 2018.

ZHOU, Xiaoyan et al. Inhibition of inflammation by astaxanthin alleviates cognition deficits in diabetic mice. **Physiology & Behavior**, v. 151, p. 412-420, 2015.