

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: BIOQUÍMICA

**VULNERABILIDADE SELETIVA DO SISTEMA GABAÉRGICO
NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Giovanna Carello Collar

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Rigon Zimmer

Porto Alegre

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: BIOQUÍMICA

**VULNERABILIDADE SELETIVA DO SISTEMA GABAÉRGICO
NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Giovanna Carello Collar

Orientador: Prof. Dr. Eduardo R. Zimmer

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de mestra em Bioquímica.

Porto Alegre

2022

CIP - Catalogação na Publicação

Carello-Collar, Giovanna
Vulnerabilidade seletiva do sistema GABAérgico na
doença de Alzheimer / Giovanna Carello-Collar. --
2022.
78 f.
Orientador: Eduardo R. Zimmer.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas: Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Doença de Alzheimer. 2. Sistema GABAérgico. 3.
Revisão sistemática com meta-análise. I. R. Zimmer,
Eduardo, orient. II. Título.

Às minhas avós Carmela di Gesu Carello e Lenira Maria Martins Collar.

SUMÁRIO

PARTE I	01
RESUMO	02
ABSTRACT	03
LISTA DE ABREVIATURAS	04
1 INTRODUÇÃO	06
1.1 UM BREVE PANORAMA DA HISTÓRIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	06
1.2 CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS DA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	06
1.3 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	07
1.4 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	08
1.5 ALGUMAS HIPÓTESES SOBRE A ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	09
1.5.1 As hipóteses dos sistemas de neurotransmissores	09
1.5.1.1 A hipótese colinérgica.....	09
1.5.1.2 A hipótese glutamatérgica.....	11
1.5.1.3 A hipótese GABAérgica.....	12
1.6 O SISTEMA GABAÉRGICO.....	13
1.6.1 A importância da sinalização GABAérgica para o funcionamento adequado do encéfalo	13
1.6.2 GABA	14
1.6.3 GABA_AR	15
1.6.4 GABA_BR	16
1.6.5 Transportadores de GABA	18
1.6.6 O ciclo glutamato/GABA-glutamina	20
1.7 A NECESSIDADE DE UM CONSENSO A RESPEITO DO SISTEMA GABAÉRGICO NA DOENÇA DE ALZHEIMER.....	20
2 OBJETIVOS DO TRABALHO	22
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
PARTE II.....	23
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	24
3.2 FONTES DE INFORMAÇÃO.....	24
3.3 PROCESSO DE SELEÇÃO.....	25
3.4 CRITÉRIOS DE ELIGIBILIDADE.....	25
3.5 PROCESSO DE COLETA DE DADOS.....	27
3.6 PARÂMETROS AVALIADOS.....	28
3.7 ANÁLISE DE RISCO DE VIÉS.....	29
3.8 MÉTODO DE SÍNTESE.....	30
3.9 MEDIDA DE EFEITO.....	32
3.10 PROTOCOLO E REGISTRO.....	32
4 RESULTADOS.....	33
4.1 SELEÇÃO DOS ESTUDOS.....	33
4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS.....	34
4.3 RESULTADOS DE ESTUDOS INDIVIDUAIS E RESULTADOS DAS SÍNTESES.....	35
4.4 RISCO DE VIÉS NOS ESTUDOS.....	42
PARTE III.....	43
5 DISCUSSÃO.....	44
5.1 REPERCUSSÃO CLÍNICA DOS RESULTADOS DESTA META-ANÁLISE.....	49
5.2 LIMITAÇÕES DOS RESULTADOS OBTIDOS COM A META-ANÁLISE.....	50
5.3 LIMITAÇÕES NO PROCESSO DE REVISÃO.....	51
5.4 IMPLICAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS E PARA A PESQUISA.....	52
6 CONCLUSÕES.....	52
7 APOIO E FOMENTO.....	53

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
LISTA DE FIGURAS.....	70
LISTA DE TABELAS.....	71

RESUMO

Disfunções colinérgicas e glutamatérgicas têm sido amplamente descritas na doença de Alzheimer. Entretanto, o papel de outros sistemas de neurotransmissores, como o GABAérgico, permanece pouco entendido. De fato, estudos avaliando a neurotransmissão GABAérgica em pacientes com doença de Alzheimer têm resultados contraditórios. Por isso, é necessário um consenso na literatura a respeito do sistema GABAérgico nessa doença. O objetivo da presente dissertação foi avaliar se o sistema GABAérgico está alterado em pacientes com doença de Alzheimer. Nós realizamos uma revisão sistemática com meta-análise de acordo com o guia do PRISMA 2020 (PROSPERO #CRD42021264148). Nós buscamos nas bases de dados PubMed e Web of Science por estudos que reportassem de forma quantitativa e/ou semi-quantitativa o neurotransmissor, os transportadores, os receptores e as enzimas de síntese do sistema GABAérgico. Os participantes incluídos foram pacientes com doença de Alzheimer e indivíduos cognitivamente saudáveis. A medida de efeito foi determinada por meio da diferença média padronizada usando o método de Hedge com efeitos aleatórios. A porcentagem de heterogeneidade entre os estudos foi estimada com o teste I^2 . Os resultados estão apresentados como diferença média padronizada [95% intervalo de confiança], valor de p ajustado, I^2 %. A busca identificou 3.223 artigos. Dentre eles, 48 se enquadraram nos critérios de inclusão (um total de 606 pacientes com doença de Alzheimer, média de idade de 75,6 anos, e 521 indivíduos cognitivamente saudáveis, média de idade de 72,2 anos). Os níveis de GABA estavam diminuídos no cerebelo (-1,21 [-1,83; -0,59], $p < 0,001$; 0%) e córtex temporal (-0,84 [-1,17; -0,5], $p < 0,001$; 0%), mas não no sangue (-0,64 [-1,39; 0,11], $p = 0,28$; 64,2%) e líquido (-0,42 [-0,74; -0,1], $p = 0,06$; 0%); além disso, a disponibilidade do receptor GABA_A estava diminuída no córtex temporal (-0,75 [-1,12; -0,38], $p < 0,001$; 0%). Nós identificamos níveis diminuídos da subunidade $\alpha 2$ (-1,55 [-2,6; -0,5], $p = 0,03$; 17,9%), $\alpha 3$ (-1,54 [-2,48; -0,61], $p = 0,01$; 0%), $\alpha 5$ (-1,99 [-3; -0,98], $p < 0,001$; 0%) e $\beta 2$ (-1,63 [-2,59; -0,66], $p = 0,01$; 1,2%) no giro temporal. GAD65 (-1,44 [-2,4; -0,49], $p = 0,02$; 26,6%) e os transportadores de GABA (-1,82 [-2,69; -0,95], $p < 0,001$; 0%) estavam diminuídos no cerebelo e no córtex parietal, respectivamente. Nós encontramos uma diminuição dos componentes do sistema GABAérgico somente em determinadas regiões encefálicas dos pacientes com doença de Alzheimer, sugerindo uma vulnerabilidade GABAérgica região-específica, mas um funcionamento relativamente conservado da neurotransmissão GABAérgica.

Palavras-chave: sistema GABAérgico, meta-análise, doença de Alzheimer.

ABSTRACT

Cholinergic and glutamatergic dysfunctions have been widely described in Alzheimer's disease. However, the role of other neurotransmitter systems, such as the GABAergic, remains poorly understood. In fact, studies evaluating the GABAergic neurotransmission in Alzheimer's disease patients have provided contradictory results. Thus, there is a need for a consensus in the literature regarding the GABAergic system in Alzheimer's disease. We aimed at examining whether the GABAergic system is altered in Alzheimer's disease patients. We systematically reviewed and meta-analysed the literature following the PRISMA 2020 guidelines (PROSPERO #CRD42021264148). We searched in the PubMed and Web of Science databases for studies reporting quantitative and/or semi-quantitative data of GABAergic neurotransmitter, transporters, receptors, and synthesis enzymes. The participants included were Alzheimer's disease patients and age-matched cognitively unimpaired individuals. The effect sizes were determined via the standardised mean difference using Hedge's g method with random effects. The percentage of heterogeneity between studies was estimated with I^2 test. Data are presented as standardised mean difference [95% confidence interval], adjusted p -value, I^2 %. The search identified 3,223 articles. Forty-eight records met the inclusion criteria (a total of 606 Alzheimer's disease patients, mean age 75.6, and 521 cognitively unimpaired individuals, mean age 72.2). GABA levels were decreased in the cerebellum (-1.21 [-1.83; -0.59], $p < 0.001$; 0%) and temporal cortex (-0.84 [-1.17; -0.5], $p < 0.001$; 0%), but not in the blood (-0.64 [-1.39; 0.11], $p = 0.28$; 64.2%) and cerebrospinal fluid (-0.42 [-0.74; -0.1], $p = 0.06$; 0%); in addition, GABA_A receptor availability was decreased in the temporal cortex (-0.75 [-1.12; -0.38], $p < 0.001$; 0%). We identified diminished levels of GABA_A receptor $\alpha 2$ (-1.55 [-2.6; -0.5], $p = 0.03$; 17.9%), $\alpha 3$ (-1.54, [-2.48; -0.61], $p = 0.01$; 0%), $\alpha 5$ (-1.99 [-3; -0.98], $p < 0.001$; 0%), and $\beta 2$ (-1.63 [-2.59; -0.66], $p = 0.01$; 1.2%) subunits in the temporal gyrus. GAD65 (-1.44 [-2.4; -0.49], $p = 0.02$; 26.6%) and GABA transporters (-1.82 [-2.69; -0.95], $p < 0.001$; 0%) were diminished in the cerebellum and parietal cortex, respectively. We found a decrease of GABAergic system components only in a few brain regions of Alzheimer's disease patients, suggesting a region-specific GABAergic vulnerability, but a relatively conserved functioning of GABAergic neurotransmission in Alzheimer's disease.

Keywords: GABAergic system, meta-analysis, Alzheimer's disease.

LISTA DE ABREVIATURAS

A β – β -amiloide
 ABCA7 – Membro 7 Subfamília A de Cassete de Ligação de ATP
 AD – Doença de Alzheimer
 APOE – Apolipoproteína E
 APP – Proteína Precursora Amiloide
 ASD – Transtorno do Espectro Autista
 BACE1 – Enzima 1 de Clivagem de Proteína Precursora Amiloide do Local β
 BGT-1 – Transportador de GABA/Betaína 1
 cAMP – Monofosfato Cíclico de Adenosina
 CaV – Canal de Cálcio Dependente de Voltagem
 CERAD – Consórcio para Estabelecer um Registro para a Doença de Alzheimer
 CNS – Sistema Nervoso Central
 CSF – Líquido Cefalorraquidiano
 CU – Cognitivamente Saudável
 EAAT2 – Transportador de Aminoácido Excitatório 2
 ELISA – Ensaio Imunossorvente Ligado à Enzima
 EOAD – Doença de Alzheimer de Início Precoce
 EUA – Estados Unidos da América
 FDR – Taxa de Falsa Descoberta
 GAD – Ácido-Glutâmico Descarboxilase
 GABA – Ácido- γ -aminobutírico
 GABA_AR – Receptor GABA_A
 GABA_BR – Receptor GABA_B
 GABA_{B1} – Receptor GABA_{B1}
 GABA_{B2} – Receptor GABA_{B2}
 GABA_C – Receptor GABA_C
 GABAR – Receptor GABA
 GABA-T – GABA-Transaminase
 GAT – Transportador de GABA
 GIRK – Canal de Potássio Retificador Interno Acoplado à Proteína G
 HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Performance
 IHC – Imunohistoquímica
 IUPHAR – União Internacional de Farmacologia Básica e Clínica
 IWG – Grupo de Trabalho Internacional
 JBI – Instituto Joanna Briggs
 MCI – Comprometimento Cognitivo Leve
 MRS – Espectroscopia de Ressonância Magnética
 NIA-AA – Instituto Nacional do Envelhecimento-Associação de Alzheimer
 NINCDS-ADRDA – Instituto Nacional de Doenças Neurológicas e Comunicativas e Acidente Vascular Cerebral/Associação da Doença de Alzheimer e Desordens Relacionadas
 NFT – do inglês, *Neurofibrillary Tangles*
 NMR – Ressonância Magnética Nuclear
 NMDA – N-metil-D-aspartato
 NMDAR – Receptor NMDA
 PAG – Glutaminase-Ativada-por-Fosfato
 PET – Tomografia por Emissão de Pósitrons
 PICALM – Proteína de Montagem de Clatrina de Ligação a Fosfatidilinositol
 PKA – Proteína Cinase A

PKC – Proteína Cinase C

PMI – Intervalo Post-mortem

PMID – Identificador Único do PubMed

PP2B – Proteína-Fosfatase-2B

RT-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

SLC6A – Família de Portadores de Solutos 6

SMD – Diferença Média Padronizada

SNARE – Receptor de Proteína de Fixação de Fator Sensível de N-etilmaleimida Solúvel

SPECT – Tomografia Computadorizada de Emissão de Fóton Único

SSADH – Semialdeído-Sucínico-Desidrogenase

TCA – Ciclo do Ácido Tricarboxílico

TREM2 – Receptor de Disparo Expresso em Células Mieloides 2

vGAT – Transportador Vesicular de GABA

vGLUT – Transportador Vesicular de Glutamato

1 INTRODUÇÃO

1.1 UM BREVE PANORAMA DA HISTÓRIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Em 1765, o filósofo francês Denis Diderot definiu o termo “demência” como “uma doença que consiste em uma paralisia do espírito caracterizada pela abolição da faculdade de raciocínio” (Diderot, 1765). Mais de um século depois, em 1898, o psiquiatra e neuropatologista alemão Alois Alzheimer descreveu um caso de “demência pré-senil” com “graves alterações atróficas das células nervosas” – provavelmente o primeiro relato de uma doença até então desconhecida (Alzheimer, 1898). No entanto, o caso mais famoso do Dr. Alzheimer foi relatado alguns anos depois, em 1906: Auguste Deter, uma mulher de 51 anos de idade com perda de memória, comprometimento cognitivo progressivo, desorientação, afasia, alucinações, delírios e disfunção psicossocial que morreu depois de mais de quatro anos de doença. No exame post-mortem, seu encéfalo apresentou o que Alois Alzheimer chamou de “uma alteração química na substância fibrilar” (Alzheimer, 1906, 1907, 1995). Esta condição agora famosa foi nomeada quatro anos depois, em 1910, pelo colega de Alzheimer, Emil Kraepelin, como “doença de Alzheimer” (DA) (Kraepelin, 1910).

1.2 CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Alois Alzheimer descreveu no encéfalo de Auguste Deter a presença de substâncias peculiares – “neurofibrilas” e “focos miliares”. Atualmente, essas observações histológicas são conhecidas como emaranhados neurofibrilares (NFT) e placas β -amiloide ($A\beta$), respectivamente, e constituem as características neuropatológicas da DA (Masters et al., 2015; Serrano-Pozo et al., 2011). Os NFT são compostos pela proteína tau hiperfosforilada associada a microtúbulos, depositada intracelularmente nos neurônios. Em 1991, Braak e Braak estagiaram a deposição de NFT no encéfalo (Braak & Braak, 1991), sendo isso amplamente adotado pela literatura; por outro lado, os depósitos extracelulares de $A\beta$ originam-se do

acúmulo de monômeros A β 40 e A β 42 na forma de oligômeros e fibrilas, como resultado do processamento proteolítico da proteína precursora de amiloide (APP) na via amiloidogênica (O'Brien & Wong, 2011). Mais especificamente, a APP é clivada sequencialmente por β - e γ -secretases para gerar A β 40 e A β 42 (Murphy & Levine, 2010), e esses monômeros de A β agregam-se rapidamente em oligômeros, protofibrilas e fibrilas amiloides (Chen et al., 2017). As fibrilas são insolúveis e se agregam em placas A β , enquanto os oligômeros são solúveis e se espalham por todo o encéfalo à medida que a doença progride (Thal et al., 2002).

1.3 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER

A presença de placas A β e NFT é essencial para o diagnóstico neuropatológico da DA no tecido encefálico post-mortem. Os primeiros critérios foram definidos por Khachaturian e colegas em 1985 (Khachaturian, 1985) e foram atualizados nas últimas décadas (Hyman & Trojanowski, 1997). Atualmente, o consenso para a avaliação neuropatológica da DA é baseado no *National Institute on Aging and the Alzheimer's Association* (NIA-AA) (Hyman et al., 2012; Montine et al., 2012). Nesse guia mais atual, as características de DA são classificadas por meio da pontuação “ABC” de acordo com três parâmetros:

- a) placas A β , modificadas de (Thal et al., 2002);
- b) NFT, modificado de (Braak & Braak, 1991);
- c) escore de placa neurítica, modificado do Consórcio para Estabelecer um Registro para a doença de Alzheimer (CERAD) (Mirra et al., 1991).

Essa pontuação é convertida em graus de alterações neuropatológicas da DA, em que “intermediário” e “alto” são considerados explicação suficiente para a patologia da DA.

Por outro lado, o desafio atual é desenvolver um diagnóstico preciso da DA em vida. A primeira tentativa foi feita em 1984 pelo *National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA) (McKhann et al., 1984). Foi estabelecido que a DA poderia ser clinicamente

diagnosticada como “provável” ou “possível”, mas a confirmação desse diagnóstico deveria ser feita post-mortem por meio de evidências neuropatológicas. Quase 30 anos depois, grupos europeu (*International Working Group – IWG*) (Dubois et al., 2007) e norte-americano (NIA-AA) (Jack et al., 2011) desenvolveram novos critérios: um diagnóstico definitivo poderia ser alcançado usando apenas evidências clínicas e biológicas, independentemente da confirmação neuropatológica. No entanto, a mudança mais marcante foi a introdução de biomarcadores de imagem e biofluidos para ajudar a orientar o diagnóstico. Na década de 2010, ambos os grupos atualizaram seus critérios (Dubois et al., 2014) (Jack et al., 2018), e o sistema “AT(N)” foi criado pelo NIA-AA. Esse sistema reforçou o conceito de uma categorização da DA baseada em biomarcadores – [deposição de A β – A, tau patológica – T e lesão neuronal e neurodegeneração – (N)]; em 2021, uma atualização foi criada em um esforço coletivo (Hampel, Cummings, et al., 2021): afirmou-se que além de A β , tau e neurodegeneração, múltiplos eventos celulares e moleculares também poderiam ocorrer no encéfalo de pacientes com DA, como disfunção sináptica e neuroinflamação – sendo fortes candidatos a biomarcadores confiáveis de DA, e constituindo o “X” no novo sistema denominado “ATX(N)”.

1.4 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Enquanto não há consenso sobre o diagnóstico clínico da DA, a prevalência da doença vem aumentando. De fato, a DA é a causa mais comum de demência no mundo: a estimativa de incidência anual nos Estados Unidos da América (EUA) indica que quatro em cada 1.000 pessoas com 65 a 74 anos desenvolveram demência de Alzheimer em 2011. Esse número de novos casos aumenta à medida que a população envelhece, atingindo 76 em cada 1.000 pessoas com 85 anos ou mais (2021 Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2021). Infelizmente, os números absolutos também são alarmantes – em 2021, a prevalência de DA nos EUA foi estimada em 6,2 milhões de pessoas (1 em 9) com 65 anos ou mais (quase 2 em cada 3 são

mulheres). No Brasil, a prevalência chega a 0,75%, segundo o estudo ELSI-Brasil (Feter et al., 2021). Nos últimos anos, a chamada “geração baby-boom” de 1946-1964 vem atingindo a idade de 65 anos ou mais e seu impacto será visto até 2060, quando se projeta que o número de pessoas nessa faixa etária com demência de Alzheimer seja de 13,8 milhões (2021 Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2021).

Até recentemente, todos os medicamentos aprovados para a DA não modificavam o curso da doença, focando apenas nos sintomas (Cummings, 2021). Em 2021, uma abordagem promissora para retardar a progressão da DA foi aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA): o aducanumabe (Dunn et al., 2021). Este anticorpo monoclonal humano mostrou se ligar e remover placas A β do encéfalo (Sevigny et al., 2016). No entanto, seu papel na modificação do curso clínico da doença ainda é controverso (Tagliavini et al., 2021). Assim, é imprescindível o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e, para isso, é preciso haver um melhor entendimento das características fisiopatológicas da doença. Muitas hipóteses que tentam explicar a etiologia e a fisiopatologia da DA têm sido propostas desde sua descoberta por Alois Alzheimer, e algumas delas serão brevemente explicadas na próxima seção.

1.5 ALGUMAS HIPÓTESES SOBRE A ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE ALZHEIMER

1.5.1 As hipóteses dos sistemas de neurotransmissores

Um conjunto de hipóteses importantes tentando explicar as bases etiológicas e fisiopatológicas da DA diz respeito aos principais sistemas de neurotransmissores no encéfalo: colinérgico, glutamatérgico e GABAérgico.

1.5.1.1 A hipótese colinérgica

Na década de 70, três grupos relataram independentemente uma diminuição específica na atividade da colina-acetiltransferase, enzima que sintetiza a acetilcolina, em várias regiões

encefálicas da DA em estágio final em análise post-mortem (Bowen et al., 1976; Davies & Maloney, 1976; Perry et al., 1977). Nos anos seguintes, estudos sugeriram uma redução não apenas na síntese, mas também na captação e liberação de acetilcolina (Nilsson et al., 1986; Rylett et al., 1983; Sims et al., 1983; Struble et al., 1982). Além desses achados, Whitehouse e colegas demonstraram que os neurônios colinérgicos no Núcleo Basal de Meynert estavam degenerados na DA (Whitehouse et al., 1982). Ainda, o grau de prejuízo colinérgico foi correlacionado com a gravidade de demência, densidade de NFT e placas neuríticas (Wilcock et al., 1982). Todas essas evidências – além do papel da acetilcolina no aprendizado e na memória (Drachman & Leavitt, 1974; Hasselmo, 2006) – foram as principais contribuintes para a “hipótese colinérgica” da DA. Bartus e colegas compilaram essa hipótese no início e meados dos anos 80 (Bartus et al., 1982; Bartus et al., 1985), postulando que uma ruptura no sistema colinérgico poderia desempenhar um papel importante na DA, principalmente nos sintomas relacionados à memória. A hipótese foi reforçada quando os inibidores da colinesterase começaram a melhorar os sintomas de memória em pacientes com DA (Summers et al., 1986). Por outro lado, no mesmo artigo onde se sustenta a hipótese colinérgica, admite-se que “não está implícito nenhum envolvimento exclusivo ou solitário do sistema colinérgico na perda de memória relacionada à idade, pois é comumente reconhecido que outros sistemas de neurotransmissores também estão, muito provavelmente, envolvidos”. De fato, durante as décadas seguintes, muitos estudos têm desafiado a hipótese colinérgica, como revisado por Terry e Buccafusco (Terry & Buccafusco, 2003). Por exemplo, Davies e colaboradores demonstraram em 1999 que pacientes com comprometimento cognitivo leve (MCI) e nos estágios iniciais de DA não apresentavam deficiências colinérgicas (Davies, 1999). Além disso, apesar de ainda serem os principais tratamentos aprovados para a DA leve a moderada, os inibidores da colinesterase não interrompem a progressão da doença (Craig et al., 2011). Assim,

todos esses achados indicam que o sistema colinérgico não é o único contribuinte para a etiologia e fisiopatologia da DA.

1.5.1.2 A hipótese glutamatérgica

A primeira sugestão de que disfunções no sistema glutamatérgico poderiam ser centrais para a fisiopatologia da DA pode ter começado com um artigo publicado por Maragos e colegas em 1987 (Maragos et al., 1987). No ano seguinte, Greenamyre e colaboradores sugeriram que o sistema glutamatérgico poderia estar envolvido em alguns dos sintomas clínicos da DA e a excitotoxicidade glutamatérgica poderia ter um papel importante na fisiopatologia da doença – a chamada “hipótese excitotóxica do glutamato” (Greenamyre et al., 1988). Ao longo dos anos, vários autores reforçaram essa ideia (Danysz et al., 2000; Palmer & Gershon, 1990; Wang & Reddy, 2017; Wenk, 2006) e muitos achados forneceram mais suporte para essa hipótese. De fato, a disfunção glutamatérgica é classicamente encontrada em pacientes com DA: os receptores NMDA, um tipo de receptor glutamatérgico, estão diminuídos no neocórtex (Greenamyre et al., 1985, 1988) e no hipocampo (Greenamyre et al., 1988); a concentração de glutamato está reduzida no hipocampo (Hyman et al., 1987); há um encolhimento dendrítico nas células piramidais do córtex e hipocampo (Llorens-Martín et al., 2014); o transportador de glutamato 2 (EAAT2) (Kirvell et al., 2006; Li et al., 1997) e o transportador de glutamato vesicular (vGLUT) (Kashani et al., 2008) estão diminuídos nos córtices frontal e parietal. Além disso, os receptores NMDA foram implicados na memória (Morris, 2013; Nakazawa et al., 2004), um processo que está prejudicado em pacientes com DA (Jahn, 2013). De acordo com essa hipótese, o FDA aprovou o bloqueador de canais NMDA memantina em 2003 para o tratamento sintomatológico da DA moderada a grave (Reisberg et al., 2003). No entanto, a memantina também não interrompe a progressão da doença (Matsunaga et al., 2015) e fármacos direcionados a outros sistemas de neurotransmissores, como o GABAérgico, podem ser promissores para o tratamento da DA.

1.5.1.3 A hipótese GABAérgica

Ao contrário dos sistemas colinérgico e glutamatérgico, as hipóteses a respeito da neurotransmissão GABAérgica e DA são escassas. Em 1995, Marczyński propôs a chamada “hipótese de desaferentação GABAérgica da DA” (Marczyński, 1995), a qual postula que o aumento do tônus do sistema GABAérgico poderia afetar o transporte axonal induzindo inibição excessiva dos sistemas colinérgico e peptidérgico. Isso, por sua vez, prejudicaria a interação glia-neurônio e, conseqüentemente, causaria estados hipometabólicos, desencadeando uma cascata de neurodegeneração (Marczyński, 1995). Em 1998, o mesmo autor revisitou essa hipótese (Marczyński, 1998); entretanto, concentrou-se principalmente nas alterações relacionadas à idade.

A área permaneceu em silêncio por quase 30 anos. Foi apenas recentemente, em 2020, que Bi e colaboradores elaboraram uma nova hipótese GABAérgica na DA (Bi et al., 2020). Eles postularam uma hipótese de patogênese da DA com base no fato de que existem alterações GABAérgicas no encéfalo de pacientes com DA e que a disfunção GABAérgica é um elemento chave para o desequilíbrio excitatório/inibitório (E/I) que ocorre na doença (Bi et al., 2020). De fato, foi demonstrado que A β causa o desequilíbrio E/I ao prejudicar o sistema GABAérgico (Garcia-Marin et al., 2009; H. Zhang et al., 2017). Além disso, estudos sugerem que BACE1, uma enzima chave envolvida na produção de A β , afeta a função GABAérgica ao prejudicar a atividade neuronal (Hampel, Vassar, et al., 2021). Por fim, o alelo APOE ϵ 4, um fator de risco bem conhecido na DA de início tardio, induz neurodegeneração GABAérgica (Knöferle et al., 2014).

Desse modo, o sistema GABAérgico pode emergir como alvo terapêutico para a DA. No entanto, a maioria dos dados disponíveis sobre agonistas e antagonistas do receptor GABA_A (GABA_AR) vem de estudos *in vitro* e pré-clínicos (Calvo-Flores Guzmán et al., 2018); ainda, alguns ensaios clínicos usando agonistas GABA_AR, como o tramiprosato, falharam (Aisen et

al., 2011). Além disso, o uso à longo prazo de moduladores alostéricos de GABA_AR, como benzodiazepínicos, está associado a deficiências de memória e aumento do risco de desenvolver DA (Bierman et al., 2007; Islam et al., 2016).

Parece intuitivo que o sistema GABAérgico tenha um papel importante na patogênese da DA. No entanto, por que esse sistema de neurotransmissor foi esquecido por muitos anos nessa doença? A resposta pode ser encontrada no fato de que o sistema GABAérgico era tradicionalmente considerado não vulnerável na DA. Atualmente, sabemos que existem alterações na neurotransmissão GABAérgica em pacientes com DA, porém, os resultados ainda são contraditórios. Essas descobertas serão exploradas com mais detalhes nas seções a seguir, mas primeiro devemos entender a importância e os componentes desse sistema de neurotransmissor.

1.6 O SISTEMA GABAÉRGICO

O sistema GABAérgico é constituído pelo neurotransmissor ácido γ -aminobutírico (GABA), as enzimas de síntese ácido glutâmico descarboxilase (GAD) 65 e 67 (GAD65 e GAD67, respectivamente), o transportador vesicular de GABA (vGAT), os receptores GABA_A e GABA_B, os transportadores de GABA 1, 2 e 3 (GAT-1, GAT-2 e GAT-3, respectivamente) e transportador de betaína-GABA (BGT-1), a enzima de metabolização GABA transaminase (GABA-T) e os interneurônios GABAérgicos. Apesar de fazerem parte do sistema GABAérgico, em termos do objetivo desta dissertação, os interneurônios GABAérgicos não serão descritos aqui.

1.6.1 A importância da sinalização GABAérgica para o funcionamento adequado do encéfalo

Uma sinfonia sincronizada entre a neurotransmissão excitatória e inibitória é essencial para o funcionamento adequado do encéfalo. De fato, a sinalização GABAérgica é crucial para

regular a atividade encefálica e moldar as respostas excitatórias. A neurotransmissão GABAérgica é essencial para a interação social e atenção (Paine et al., 2020), aprendizado (Lissek et al., 2017), controle sobre pensamentos intrusivos/indesejados (Schmitz et al., 2017), humor (Brambilla et al. al., 2003), sono (Gottesmann, 2002), ingestão alimentar (Olgiati et al., 1980) e memória de trabalho (Bañuelos & Wołoszynowska-Fraser, 2017). Além disso, a sinalização GABAérgica é crucial para inibir ações motoras no estriado, integrando sinais sensoriais e ações de movimento na medula espinhal, e também tem uma função importante no sistema imunológico (Barragan et al., 2015; Gilardi et al., 2022; B. Zhang et al., 2021). Por último, o sistema GABAérgico desempenha um papel importante na maturação neuronal e apoptose, crescimento de neuritos durante o neurodesenvolvimento (Sernagor et al., 2010) e neurogênese na idade adulta (Sernagor et al., 2010), e está envolvido em condições patológicas, como ansiedade (Babaev et al., 2018), transtorno do espectro autista (TEA) (Horder et al., 2018), esquizofrenia (Schmidt & Mirnics, 2015), transtorno depressivo maior (Luscher et al., 2011) e DA (Bi et al., 2011; Govindpani et al., 2017; Xu et al., 2020).

1.6.2 GABA

O GABA é o principal neurotransmissor inibitório no encéfalo dos mamíferos (Bear, 2015). Sua síntese ocorre no neurônio pré-sináptico através da α -descarboxilação do L-glutamato pela enzima GAD em uma reação irreversível de etapa única. O controle da síntese de GABA é regulado pela atividade da GAD e pela disponibilidade de seu cofator, piridoxal fosfato (Nelson, 2021). Existem duas isoformas principais de GAD: GA65 (65 kDa) e GAD67 (67 kDa). GAD65 é a isoforma mais abundante no encéfalo de mamíferos (Kaufman et al., 1991) e está localizada principalmente nos terminais axonais (Esclapez et al., 1994); já a GAD67 está distribuída no citosol dos neurônios (Esclapez et al., 1994). O *pool* de GABA sintetizado pela GAD65 é armazenado nas vesículas sinápticas pela ação do vGAT (Jin et al., 2003), enquanto o segundo *pool* produzido pela GAD67 é encontrado no citosol (Soghomonian

& Martin, 1998). Tem sido sugerido que o *pool* citosólico é produzido para fins metabólicos, pois o GABA também alimenta o TCA (Nelson, 2021), enquanto o *pool* vesicular é usado para a neurotransmissão. De fato, a despolarização do neurônio pré-sináptico (neste caso, um interneurônio GABAérgico) ativa os canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem que desencadeiam a exocitose das vesículas sinápticas contendo GABA (Bear, 2015). Após sua liberação, o GABA se ligará e ativará os receptores GABA (GABAR) nos neurônios pré e pós-sinápticos (Bear, 2015). Existem duas classes de GABAR: $\text{GABA}_{\text{A}}\text{R}$ e $\text{GABA}_{\text{B}}\text{R}$:

1.6.3 $\text{GABA}_{\text{A}}\text{R}$

Os $\text{GABA}_{\text{A}}\text{Rs}$ são canais de cloreto controlados por ligantes (receptores ionotrópicos) da família *Cys-loop* formados por cinco subunidades de proteínas (heteropentâmeros) (Bear, 2015). Em humanos, as subunidades podem ser divididas em oito famílias com 19 isoformas principais: α 1-6, β 1-3, γ 1-3, ρ 1-3, δ , ϵ , θ e π (Sieghart & Savic, 2018) cujos genes estão localizados nos cromossomos 4, 5, 15 e X (Darlison et al., 2005). Além disso, existe uma suposta subunidade β 4 que inicialmente se pensava não estar presente em humanos (Sieghart & Savic, 2018). Apesar dessa alta diversidade de subunidades, a maioria dos $\text{GABA}_{\text{A}}\text{Rs}$ é composta por subunidades α 1, β 2 e γ 2, em uma configuração γ 2- β 2- α 1- β 2- α 1 (Sieghart & Savic, 2018). No entanto, outras combinações de subunidades também ocorrem. De fato, a subunidade θ pode substituir a subunidade β ($\alpha\theta\gamma$), enquanto a subunidade γ pode ser substituída pelas subunidades δ , ϵ e π ($\alpha\beta\delta$, $\alpha\beta\epsilon$ e $\alpha\beta\pi$) (Sieghart et al., 1999). Conjuntos binários compostos de subunidades α e β (como $3\alpha 2\beta$ ou $2\alpha 3\beta$) também são arranjos possíveis (Sieghart et al., 1999). Curiosamente, as subunidades ρ 1-3 constituem os chamados receptores “ GABA_{C} ”, que se tornaram parte dos $\text{GABA}_{\text{A}}\text{Rs}$ na última década (Olsen & Sieghart, 2008).

$\text{GABA}_{\text{A}}\text{Rs}$ estão localizados fora e dentro do encéfalo: são encontrados no fígado, pâncreas, pulmões e células do sistema imunológico (Adeghate & Ponery, 2002; Alam et al., 2006; Bjurstöm et al., 2008). No encéfalo, cada subunidade está localizada em diferentes

regiões. Por exemplo, a subunidade ρ é expressa principalmente na retina, enquanto a subunidade $\alpha 6$ está presente exclusivamente no cerebelo (Sieghart & Sperk, 2002). Além disso, muitos arranjos de subunidades diferentes podem ser encontrados na mesma célula e cada subunidade tem uma distribuição subcelular específica. De fato, os GABA_ARs podem ser encontrados tanto em pós-sinapses quanto em locais extrassinápticos no neurônio. As principais subunidades encontradas pós-sinapticamente são as $\alpha 1-3$, $\beta 1-3$ e $\gamma 2$ (Sieghart & Savic, 2018), onde são responsáveis pela chamada inibição fásica. Este tipo de inibição refere-se à abertura transitória do canal de cloreto do receptor, resultando em um breve aumento da condutância do ânion e consequente hiperpolarização do neurônio (Farrant & Nusser, 2005). Em contraste, as subunidades $\alpha 4-6$, $\beta 2/3$, δ e ϵ estão localizadas principalmente em locais extrassinápticos em regiões específicas do encéfalo (por exemplo, amígdala, neocórtex, hipocampo e cerebelo) (Sieghart & Savic, 2018) e medeiam a inibição tônica (baixos níveis de GABA no espaço extracelular resultando na abertura prolongada de GABA_ARs) (Farrant & Nusser, 2005) – regulando assim a excitação através de hiperpolarização prolongada. O neurotransmissor GABA se liga às duas interfaces α - β dos GABA_ARs (Sieghart & Savic, 2018) no domínio extracelular e a proteína *scaffolding* gefirina recruta e ancora a maioria desses receptores nas membranas pós-sinápticas (Choi & Ko, 2015).

1.6.4 GABA_BR

Os GABA_BRs foram primeiramente descritos pelo Dr. Norman Bowery em 1979 (Bowery et al., 1980; Bowery, 1979) e são amplamente distribuídos no sistema nervoso central (SNC). De fato, os GABA_BRs são encontrados tanto em neurônios glutamatérgicos (Gerrard et al., 2018; Lacey et al., 2005; Manz et al., 2019) quanto em neurônios GABAérgicos (Booker et al., 2020), e também em células gliais (Charles et al., 2020). al., 2003). Além disso, eles são expressos nas membranas pré e pós-sinápticas (Gerrard et al., 2018; Kulik et al., 2003; Yamada et al., 1999). Como heterodímeros obrigatórios, a dimerização de suas duas subunidades é

necessária para o funcionamento do receptor (Kaupmann et al., 1998; White et al., 1998). Curiosamente, a parte extracelular do receptor tem uma configuração heterodimérica constitutiva, independentemente do estado da porção intracelular (Geng et al., 2012). Além disso, foi demonstrado que ambas as subunidades podem se configurar em tetrâmeros e oligômeros (Geng et al., 2012; Schwenk et al., 2010), embora a relevância fisiológica dessas conformações não seja bem compreendida.

O heterodímero GABA_BR é composto pelas subunidades GABA_{B1} e GABA_{B2} (Jones et al., 1998), que têm diferentes funções: GABA_{B1} possui um sítio de ligação agonista (Galvez et al., 1999, 2000), enquanto GABA_{B2} é responsável pela mobilização de proteínas G (Margeta-Mitrovic et al., 2001; Robbins et al., 2001) e se liga a ligantes alostéricos (Binet et al., 2004). Curiosamente, nove subtipos da subunidade GABA_{B1} foram identificados, como o GABA_{B1c}, GABA_{B1e} e GABA_{B1k} (Lee et al., 2010). No entanto, as duas principais isoformas de GABA_{B1} no SNC humano são GABA_{B1a} e GABA_{B1b} (Kaupmann et al., 1997). Esses subtipos estão localizados em lados distintos da sinapse (GABA_{B1a} preferencialmente no neurônio pré-sináptico e GABA_{B1b} na membrana pós-sináptica (Vigot et al., 2006)). Os GABA_BRs pré-sinápticos (GABA_{B1a,B2}) são denominados auto receptores quando autoinibem a liberação de GABA no neurônio GABAérgico e heterorreceptores quando inibem a liberação de outros neurotransmissores, como o glutamato, em células não GABAérgicas (Yu et al., 1999).

Ao contrário dos GABA_ARs, os GABA_BRs são receptores acoplados à proteína G (Bowery et al., 2002). Devido à sua natureza metabotrópica, o GABA_BR provoca respostas lentas e prolongadas, mantendo o tom inibitório (Mann et al., 2009; Otis et al., 1993; Tian & Zhu, 2018). A ligação de um agonista (por exemplo, GABA) na subunidade GABA_{B1} desencadeia uma via de transdução de sinal; mais especificamente, a subunidade α da proteína Gi/o dissocia-se das subunidades $\beta\gamma$, o que culmina com o recrutamento de uma das três proteínas efetoras:

- a) canais de K^+ retificadores (GIRK) ativados por proteína G;
- b) canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem (CaV);
- c) segundos mensageiros, como proteína cinase A (PKA) e adenilil ciclase (Shen et al., 2021).

No neurônio pré-sináptico, a subunidade $G\alpha$ é responsável pela inibição da adenilil ciclase, reduzindo assim os níveis de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC). Como resultado, as membranas vesicular e celular não se fundem e o neurotransmissor não é liberado. Por outro lado, as subunidades $\beta\gamma$ inibem a abertura dos canais CaV, reprimindo o influxo de Ca^{2+} (Delaney & Crane, 2016; Kajikawa et al., 2001) – também bloqueando a liberação do neurotransmissor. Curiosamente, outro mecanismo de inibição da fusão vesicular à membrana celular é pela ligação direta das subunidades $\beta\gamma$ a receptores que medeiam esse processo, como as proteínas SNAP/SNARE (Zurawski et al., 2019). Além disso, foi demonstrado que a subunidade $\beta\gamma$ pode estimular alguns subtipos de adenilil ciclase (Olianas & Onali, 1999); pós-sinápticamente, a inibição da liberação do neurotransmissor ocorre pela ativação das subunidades $\beta\gamma$ dos canais GIRK, promovendo efluxo de K^+ e consequentemente hiperpolarizando a célula (Sodickson & Bean, 1996). A via de sinalização PKA também é recrutada: a inibição da adenilil ciclase reduz a permeabilidade dos canais ionotrópicos (por exemplo, receptores NMDA) que medeiam o influxo de Ca^{2+} (Chalifoux & Carter, 2010; Couve et al., 2002; Nugent et al., 2009).

1.6.5 Transportadores de GABA

Depois de sua liberação e ligação aos seus receptores, o GABA deve ser captado do espaço extracelular de volta para o neurônio pré-sináptico ou astrócitos circundantes, pois não é enzimaticamente degradado na fenda sináptica (Bear, 2015). A captação de GABA facilita a terminação da sinalização GABAérgica e a reciclagem do neurotransmissor. Além disso, regula a ativação dos receptores GABAérgicos e limita o escape do GABA da sinapse. Assim, é

imperativo que os níveis extracelulares de GABA sejam mantidos baixos para uma transmissão sináptica eficiente.

A captação de GABA é mediada por transportadores de GABA (GATs), que são proteínas de membrana que pertencem à subfamília dos transportadores de soluto 6 (SLC6A) (Scimemi, 2014). Em humanos e ratos, existem quatro subtipos de GATs: GAT-1, BGT-1, GAT-2 e GAT-3, classificados de acordo com sua sequência de aminoácidos e propriedades farmacológicas (nomenclatura IUPHAR). O GAT-1 compartilha apenas cerca de 50% da identidade de sequência com os outros GATs (Wellendorph et al., 2017). Além disso, a afinidade pelo GABA varia entre os subtipos de GAT, sendo a do BGT-1 três vezes menor quando comparada aos outros tipos (Kickinger et al., 2019). Os GATs são amplamente expressos no encéfalo (Scimemi, 2014), mas diferem quanto aos tipos de células (principalmente neurônios e, em menor grau, astrócitos e outras células da glia) e regiões onde são mais abundantes (Scimemi, 2014).

O transporte de GABA é um processo ativo: requer especificamente um gradiente eletroquímico de Na^+ e K^+ – que é mantido pela bomba Na^+/K^+ ATPase – e o cotransporte de um íon Cl^- junto com Na^+ e GABA (Scimemi, 2014). Como resultado, uma molécula de GABA é principalmente cotransportada para o citosol com dois íons Na^+ e um Cl^- (Scimemi, 2014). A regulação dos GATs é mediada pelo pH, cinases e fosfatases, ácido araquidônico e proteínas sinápticas (Scimemi, 2014). Mais especificamente, a ativação da proteína cinase C (PKC) aumenta a captação de GABA (Beckman et al., 1998; Cupello et al., 1993). Por outro lado, a inibição da calcineurina (fosfatase PP2B) também aumenta o transporte de GABA (Scimemi, 2014). Além disso, sugere-se que tanto PKC quanto PP2B podem atuar alterando o tráfego de GAT-1 para a membrana celular. Por último, a fosforilação por outras cinases, como as tirosina cinases, aumenta a captação de GABA, reduzindo a internalização do transportador (Law et al.,

2000). Após sua captação por neurônios ou astrócitos, o GABA terá destinos diferentes em ambas as células.

1.6.6 O ciclo glutamato/GABA-glutamina

Como mencionado acima, o GABA é principalmente captado pelo neurônio pré-sináptico, onde a maioria do GABA é reempacotada nas vesículas para ser reutilizada na neurotransmissão, enquanto uma pequena porção alimenta as vias metabólicas. Em menor grau, o GABA é captado pelas células gliais (especialmente astrócitos). De fato, a captação astrocítica representa apenas 10-20% de toda a captação de GABA (Schousboe et al., 2013). No entanto, os astrócitos desempenham um papel importante na neurotransmissão GABAérgica. O GABA é transaminado em succinato semialdeído pela GABA-transaminase (GABA-T) e depois convertido em succinato por SSADH (Nelson, 2021), o qual terá dois destinos distintos: metabolismo oxidativo ou síntese *de novo* de GABA.

Está claro que precisa haver um funcionamento orquestrado de todos os componentes do sistema GABAérgico para uma homeostase inibitória. De fato, muitas doenças apresentam alterações no sistema GABAérgico, como esquizofrenia (Schmidt & Mirnics, 2015), TEA (Horder et al., 2018) e DA (Bi et al., 2020; Govindpani et al., 2017; Xu et al., 2020).

1.7 A NECESSIDADE DE UM CONSENSO A RESPEITO DO SISTEMA GABAÉRGICO NA DOENÇA DE ALZHEIMER

Por muitos anos, o sistema GABAérgico foi esquecido na DA. De fato, a maioria dos artigos data dos anos 70, 80 e 90, com menos artigos publicados no século XXI. Este cenário pode ser devido ao fato de que inicialmente se pensava que o sistema GABAérgico não era afetado na DA. No entanto, vários artigos de revisão têm demonstrado alterações neste sistema de neurotransmissor em pacientes com DA (Giovannetti & Fuhrmann, 2019; Govindpani et al., 2017; Jiménez-Balado & Eich, 2021), mas os resultados ainda são contraditórios. Portanto, fica

clara a necessidade de um consenso na literatura sobre o sistema GABAérgico na DA. É necessário minimizar o viés e os fatores de confusão na seleção e no desenho experimental e revisar todos os artigos elegíveis na área. No entanto, um estudo tão abrangente sobre o sistema GABAérgico na DA não foi realizado até o momento. Assim, aqui nós revisamos sistematicamente e meta-analisamos o sistema GABAérgico na DA.

2 OBJETIVOS DO TRABALHO

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desta dissertação foi avaliar se os componentes do sistema GABAérgico estão alterados em regiões encefálicas e nos compartimentos sanguíneo e líquórico de indivíduos com DA por meio de uma revisão sistemática com meta-análise.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos desta dissertação foram os seguintes:

- a) revisar sistematicamente a literatura sobre o sistema GABAérgico (neurotransmissor GABA, enzimas de síntese GAD65 e GAD67, transportadores vGAT e GAT1-3 e receptores GABA_A, GABA_B e GABA_C) em regiões encefálicas e nos compartimentos sanguíneo e líquórico de pacientes com DA;
- b) meta-analisar componentes do sistema GABAérgico (neurotransmissor GABA, enzimas de síntese GAD65 e GAD67, transportadores vGAT e GAT1-3 e receptores GABA_A, GABA_B e GABA_C) em regiões encefálicas e nos compartimentos sanguíneo e líquórico de pacientes com DA.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA

Os termos de busca foram escolhidos analisando artigos de revisão sobre o sistema GABAérgico publicados na literatura nos últimos cinco anos (Giovannetti & Fuhrmann, 2019; Calvo-Flores Guzmán et al., 2018; Govindpani et al., 2017; Jiménez-Balado & Eich, 2021). Sinônimos, abreviaturas e variações no nome do termo de busca também foram selecionados usando esses artigos de revisão como padrão. Foi desenvolvido um rascunho com a estratégia de busca e as modificações foram discutidas até a versão final (**arquivo indisponível até a publicação do artigo**). A estratégia de busca foi validada testando se os termos identificariam os seguintes estudos relevantes na área: Fuhrer et al., 2017; Iwakiri et al., 2005, 2009; Luchetti et al., 2011; Nägga et al., 1999; Rossor et al., 1982, 1984; Sasaki et al., 1986a; Schwab et al., 2013, previamente escolhidos nos artigos de revisão acima mencionados sobre o sistema GABAérgico na DA. A sintaxe, ortografia e estrutura geral da estratégia de busca final foi revisada por um pesquisador com experiência em revisões sistemáticas em nosso grupo. Não houve restrições de idioma ou período de publicação; assim, os artigos escritos em inglês foram filtrados apenas na fase de *screening* de título e resumo.

3.2 FONTES DE INFORMAÇÃO

Realizamos a busca nas bases de dados PubMed e Web of Science (coleção principal), e nas listas de referência dos artigos incluídos na fase de síntese dos dados e em artigos de revisão sobre o sistema GABAérgico na DA publicados nos últimos cinco anos (Giovannetti & Fuhrmann, 2019; Calvo-Flores Guzmán et al., 2018; Govindpani et al., 2017; Jiménez-Balado & Eich, 2021). A última busca nas bases de dados foi realizada em 20 de julho de 2021. As listas de referências foram consultadas pela última vez em 22 de novembro de 2021. As datas de cobertura nas plataformas foram de 1976 até o presente no PubMed e de 1945 até o presente no Web of Science. Estudos não publicados não foram procurados.

3.3 PROCESSO DE SELEÇÃO

Após a busca no PubMed e Web of Science, o arquivo com os artigos foi baixado das bases de dados e carregado no site *Rayyan QCRI* (<https://www.rayyan.ai/>). Os artigos foram classificados por ordem alfabética usando as ferramentas do site e as duplicatas foram removidas manualmente. Após, foi feito o *screening* do título e resumo de cada artigo, e este foi classificado como incluído ou excluído. Em caso de exclusão, aplicou-se um critério de exclusão específico de acordo com o previamente determinado para o *screening* de título e resumo (vide seção “Critérios de elegibilidade”). Em seguida, a lista de artigos incluídos e excluídos foi exportada para uma planilha Excel e o texto completo dos artigos incluídos foi avaliado quanto à elegibilidade. O artigo foi classificado como incluído ou excluído (se excluído, foi aplicado um critério de exclusão específico de acordo com o previamente determinado para a fase de avaliação de elegibilidade – ver seção “Critérios de elegibilidade”). Dois revisores examinaram cada artigo independentemente (cegos para as decisões um do outro) no *screening* do título e resumo e na avaliação da elegibilidade do texto completo. As discordâncias foram resolvidas por consenso ou por um terceiro revisor quando necessário. Os pesquisadores do estudo foram contatados por e-mail para obtermos ou confirmarmos informações relevantes para a inclusão ou exclusão do artigo. O processo de seleção foi baseado apenas em decisões humanas.

3.4 CRITÉRIOS DE ELIGIBILIDADE

Na fase de *screening* de título e resumo, o artigo foi excluído, se:

- a) o resumo não estava disponível;
- b) não foi escrito em inglês;
- c) tratava-se de uma revisão bibliográfica ou sistemática, ou meta-análise;
- d) tratava-se de relato de caso, editorial, comentário, *briefing*, parecer, protocolo, hipótese, carta ao editor, resumo de congresso, manuscrito ou capítulo de livro;

- e) não estava relacionado com a DA;
- f) não relatou os desfechos de interesse (parâmetros GABAérgicos);
- g) era um estudo in vitro, in silico ou pré-clínico.

Não tivemos restrições de tipo de artigo (por exemplo, caso-controle, estudos de coorte).

Os critérios aplicados para exclusão na avaliação de elegibilidade foram os seguintes:

- a) artigo não encontrado (após contato sem sucesso com os autores correspondentes);
- b) sem grupo DA e/ou grupo controle;
- c) sem critério de diagnóstico clínico estabelecido para DA [NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 1984) e/ou NIA-AA (Jack et al., 2011, 2018)] ou avaliação neuropatológica post-mortem;
- d) pacientes com DA com outra doença neurodegenerativa ou psiquiátrica concomitante e/ou recebendo medicamentos que pudessem afetar o sistema GABAérgico nos últimos 14 dias anteriores à análise realizada no artigo;
- e) grupo controle com doença inflamatória, psiquiátrica ou neurológica e/ou recebendo medicamentos que pudessem afetar o sistema GABAérgico e/ou indicar doença neurológica ou psiquiátrica;
- f) parâmetro GABAérgico não medido ou relatado;
- g) tamanho amostral menor que três em cada grupo (controle ou DA);
- h) dados quantitativos ou semi-quantitativos que não puderam ser extraídos (após contato sem sucesso com os autores correspondentes) e/ou apenas resultados qualitativos.

Os participantes incluídos foram pacientes com DA diagnosticada de acordo com os critérios clínicos NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 1984) ou NIA-AA (Jack et al., 2011, 2018) e/ou por avaliação neuropatológica post-mortem. É importante notar que aplicamos

critérios de diagnóstico rigorosos para minimizar a heterogeneidade no grupo DA (por exemplo, pacientes com demência não devido a DA ou baixa certeza do diagnóstico de DA). O grupo controle foi composto por indivíduos da mesma idade, sem:

- a) demência de qualquer tipo;
- b) achados neuropatológicos relacionados à doenças neurodegenerativas;
- c) doenças inflamatórias, psiquiátricas ou neurológicas;
- d) receber medicamentos que pudessem afetar o sistema GABAérgico ou qualquer outro que pudesse indicar doença neurológica ou psiquiátrica.

Não houve restrições de idade, sexo, etnia, estágio da doença, região do encéfalo ou biofluido. Foram incluídos os artigos que apresentaram os resultados como média \pm desvio padrão (DP) ou erro padrão da média (EPM). Para atingir o objetivo deste estudo, os resultados quantitativos e/ou semi-quantitativos nos artigos elegíveis para síntese de dados foram agrupados de acordo com a população do estudo (indivíduos controle e pacientes com DA), desfecho (por exemplo, neurotransmissor, receptores) e região encefálica ou biofluido (por exemplo, córtex temporal, líquido, sangue). O número mínimo de artigos para síntese foi de dois e as características dos indivíduos (por exemplo, sexo, idade) não foram consideradas como primordialmente relevantes para fins de síntese.

3.5 PROCESSO DE COLETA DE DADOS

O processo de extração de dados foi feito destacando-se todas as informações relevantes no artigo e, em seguida, transferindo esses dados para uma planilha do Excel. Dois revisores extraíram independentemente os dados de cada artigo (cegos para a extração um do outro). As planilhas foram comparadas por um terceiro autor que também foi responsável por resolver quaisquer discrepâncias entre os dados extraídos, procurando no artigo as informações exatas. O processo de obtenção ou confirmação de dados dos pesquisadores do estudo foi feito via e-mail. Solicitamos informações sobre os resultados, detalhes do estudo e/ou participantes, ou

dados pouco claros. A resposta foi considerada malsucedida se os pesquisadores do estudo não respondessem aos e-mails enviados em um intervalo de tempo de 14 dias entre cada uma das duas tentativas de contato. A taxa de sucesso na obtenção das informações solicitadas foi de aproximadamente 30%. Quando o resultado foi relatado apenas graficamente, o valor numérico foi extraído com a régua digital do *software* Adobe Acrobat Reader DC (versão 2021.007.20099) ou Preview Mac OS X (versão 10.0 [944.4]), ou utilizando a ferramenta WebPlotDigitizer (<https://automeris.io/WebPlotDigitizer/>).

3.6 PARÂMETROS AVALIADOS

Buscamos pelos seguintes parâmetros em pacientes com DA em comparação com indivíduos controle:

- a) neurotransmissor GABAérgico (GABA);
- b) enzimas de síntese de GABA (GAD65 e GAD67);
- c) transportadores GABAérgicos (vGAT e GAT1-3);
- d) receptores GABAérgicos (GABA_A, GABA_B e GABA_C),

Os resultados precisavam ser reportados por técnicas quantitativas e/ou semi-quantitativas [por exemplo, reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qRT-PCR), *Western Blotting* (WB), imunohistoquímica (IHC), tomografia por emissão de pósitrons (PET), tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT), autorradiografia, espectroscopia de ressonância magnética (MRS), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), ressonância magnética nuclear (NMR), ensaio imunossorvente ligado a enzima (ELISA)] em tecido encefálico post-mortem e/ou fluido (líquor e sangue). Todos os resultados foram considerados a priori como “críticos”, pois todos são essenciais para o funcionamento do sistema GABAérgico.

As outras variáveis para as quais os dados foram procurados foram as seguintes:

- a) sobre o artigo: PubMed ID (PMID) (quando aplicável), título, nome do primeiro autor, ano de publicação e periódico de publicação;
- b) sobre o estudo: parâmetro, método utilizado para avaliar o parâmetro, unidade de medida, tecido encefálico e/ou biofluido avaliado, tamanho da amostra de cada grupo (controle e DA) e resultado numérico (média \pm DP ou EPM) do parâmetro;
- c) sobre os participantes: média \pm DP ou EPM da idade de cada grupo (controle e DA), sexo (porcentagem de indivíduos do sexo masculino em cada grupo), média \pm DP ou EPM do intervalo post-mortem (PMI) de cada grupo, critérios de diagnóstico de DA e definição de grupo controle;
- d) informações adicionais e/ou relevantes (por exemplo, início da doença, amostras de biópsia).

Em caso de resposta malsucedida em relação aos dados essenciais (média desconhecida \pm DP ou EPM do parâmetro e/ou tamanho de amostra desconhecido), o artigo foi excluído como “dados não podem ser extraídos”; por outro lado, quando os dados ausentes eram uma informação não essencial (por exemplo, PMI, porcentagem de indivíduos do sexo masculino), registramos os dados como “não informados”. Por último, em caso de informações pouco claras sobre a escolha do uso de DP ou EPM para expressar a idade e/ou PMI, assumimos que as informações foram expressas como nos resultados.

3.7 ANÁLISE DE RISCO DE VIÉS

O risco de viés dos estudos incluídos para extração de dados foi avaliado por meio do *Joanna Briggs Institute (JBI) Critical Appraisal Tools* (<https://jbi.global/critical-appraisal-tools>) para estudos de caso-controle (versão 2020). O principal objetivo desta ferramenta de avaliação é analisar a qualidade metodológica do artigo e o viés no desenho, condução e análise dos resultados à nível do estudo. Como o questionário de caso-controle do JBI é baseado apenas em perguntas sim ou não, julgamos cada pergunta individualmente como tendo “alto risco de

viés”, “baixo risco de viés” ou “risco pouco claro” se a resposta fosse “não”, “sim” ou “não claro”, respectivamente. Além disso, criamos um julgamento geral de risco de viés para resumir os resultados obtidos em cada relatório: classificamos o relatório como tendo “alto risco de viés”, “algumas preocupações” ou “baixo risco de viés”, se tivesse menos de 50% de respostas “sim”, entre 50 e 70% de respostas “sim”, ou mais de 70% de respostas “sim”, respectivamente. No questionário do JBI, as questões 1, 7, 8 e 10 foram omitidas; as questões 2, 4, 5 e 9 foram adaptadas e duas novas questões (número 11 e 12) foram adicionadas (**arquivo indisponível até a publicação do artigo**). Dois autores analisaram independentemente cada artigo (cegos para a avaliação um do outro). As divergências entre os autores foram resolvidas por um terceiro autor. As respostas foram tabuladas em planilha Excel e as citações diretas do artigo ou quaisquer suposições feitas pelos autores foram registradas no questionário.

Para obter um resumo geral do risco de viés entre os resultados sintetizados, também aplicamos os mesmos critérios utilizados para os estudos individuais. Assim, o risco geral de viés em cada síntese foi considerado baixo se a soma das respostas “sim” entre todos os estudos incluídos nessas sínteses atingisse pelo menos 70%.

3.8 MÉTODO DE SÍNTESE

Para determinar quais estudos eram elegíveis para cada síntese, os resultados de cada estudo foram codificados como uma das seguintes categorias: neurotransmissor, síntese, transporte e captação e receptores. Usando uma planilha do Excel, os artigos foram agrupados de acordo com a categoria avaliada (por exemplo, estudos avaliando enzimas de síntese) e, em seguida, cada categoria foi sub-agrupada de acordo com a região do encéfalo ou biofluido analisado (por exemplo, estudos avaliando enzimas de síntese no córtex temporal). Finalmente, os resultados dentro de cada categoria foram ainda sub-agrupados (por exemplo, GAD65 no córtex temporal).

A preparação dos dados para a síntese dos resultados foi a seguinte, quando aplicável:

- a) todos os erros padrão (EP) ou EPM foram convertidos em DP utilizando a fórmula: DP = raiz quadrada do tamanho da amostra x EP (ou EPM);
- b) os dados expressos logaritmicamente foram convertidos para escala linear;
- c) as médias e os DP de diferentes camadas da mesma região do encéfalo (por exemplo, camadas II/III e IV do giro temporal medial) ou diferentes partes da região (por exemplo, córtex frontal esquerdo e direito) foram combinadas utilizando a fórmula disponível em <https://www.statstodo.com/CombineMeansSDs.php>;
- d) as médias e os DP de diferentes subunidades do mesmo parâmetro (por exemplo, subunidades $\alpha 1$ e $\alpha 5$ do receptor GABA_A) foram combinadas utilizando a fórmula disponível em <https://www.statstodo.com/CombineMeansSDs.php>.

Os resultados dos artigos individuais foram dispostos visualmente em uma planilha do Excel. A tabela foi estruturada em abas, e cada aba correspondeu a uma categoria (neurotransmissor, síntese, transporte e captação e receptores). Dentro de cada aba, as regiões encefálicas/biofluidos foram ordenadas alfabeticamente e dentro de cada região encefálica/biofluido, os artigos individuais foram ordenados pelo resultado do risco de viés (do estudo com menor para o maior risco). A ordenação cronológica foi aplicada quando dois ou mais estudos tiveram a mesma avaliação de risco de viés. As seguintes informações de cada artigo foram fornecidas: tamanho da amostra (controle e AD), média \pm DP (controle e AD), conversão para DP (quando aplicável), peso do estudo (%) e tamanho da amostra do estudo. Os resultados da síntese (por exemplo, SMD, heterogeneidade, intervalo de confiança e valor de p) também foram tabulados e apresentados graficamente como gráficos de floresta. Os estudos nos gráficos foram ordenados conforme as tabelas.

Para sintetizar as estimativas de efeito entre os estudos e gerar os resultados desta dissertação, realizamos uma meta-análise por meio do *software* Stata/MP (versão 14.0). Os pacotes utilizados foram o *metan*, *metafunnel* e *metabias*. Analisamos visualmente a

heterogeneidade entre os estudos por meio dos gráficos de funil e, em seguida, quantificamos estatisticamente essa heterogeneidade com o teste de inconsistência (I^2). O valor de p foi ajustado para comparações múltiplas aplicando a taxa de falsa descoberta (FDR), com um valor de q de 5%. Analisamos preliminarmente os resultados e regiões encefálicas/biofluidos de forma “todos contra todos”. Apenas os resultados com valores de p ajustados ao $FDR < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3.9 MEDIDA DE EFEITO

A medida de efeito utilizada na síntese dos resultados de cada parâmetro foi a diferença média padronizada (SMD). O SMD foi escolhido porque os resultados não eram dicotômicos e vários métodos (por exemplo, ELISA, WB) foram usados para medir o mesmo resultado. O efeito da meta-análise foi feito por meio do método DerSimonian-Laird. Os limites e faixas utilizados para interpretar o tamanho do efeito foram os seguintes: 0 (nenhum/trivial), 0,1-0,2 (pequeno), 0,3-0,7 (moderado) e $\geq 0,8$ (grande) efeito, de acordo com o método g de Hedge. Escolhemos este método porque é recomendado sobre o d de Cohen quando o tamanho da amostra em cada grupo é muito pequeno (< 20).

3.10 PROTOCOLO E REGISTRO

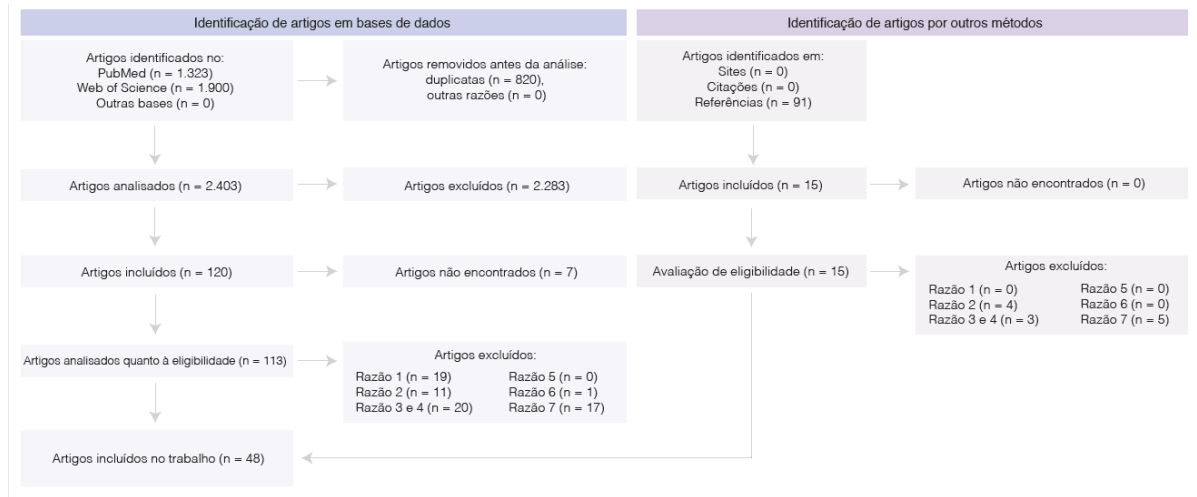
O protocolo desta revisão sistemática com meta-análise foi registrado no registro prospectivo internacional de revisões sistemáticas [(PROSPERO) - www.crd.york.ac.uk/prospero/] sob o número de registro CRD42021264148 (https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42021264148) e não foi publicado em outro lugar. Não houve alteração nas informações fornecidas no registro do protocolo. Seguimos a diretriz “*The Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*” (PRISMA) 2020 (Page et al., 2021) para elaborar o protocolo e realizar a revisão sistemática com meta-análise.

4 RESULTADOS

4.1 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Os resultados do processo de busca e seleção dos estudos está mostrado na **Figura 1**.

Figura 1 – Diagrama de fluxo da seleção dos estudos.



Razão 1: sem grupo DA e/ou grupo controle; razão 2: sem diagnóstico clínico estabelecido de DA ou sem avaliação neuropatológica post-mortem; razão 3 e 4: indivíduos com DA com outra doença neurodegenerativa ou psiquiátrica concomitante e/ou recebendo fármacos que afetam o sistema GABAérgico nos últimos 14 dias anteriores ao estudo; grupo controle com distúrbios inflamatórios, psiquiátricos ou neurológicos e/ou recebendo fármacos que afetam o sistema GABAérgico e/ou possam indicar doença neurológica ou psiquiátrica; razão 5: parâmetro não mensurado/relatado; razão 6: tamanho amostral menor que três em cada grupo (controle ou DA); razão 7: os dados não puderam ser extraídos (dados quantitativos ou semi-quantitativos que não puderam ser extraídos e/ou dados apenas quantitativos). Nem todos os títulos/abstracts incluídos foram analisados quanto à elegibilidade, pois sete títulos/abstracts não tiveram o seu texto completo encontrado. Por isso, de 120 artigos incluídos inicialmente para a análise de elegibilidade, sete não foram encontrados, restando, portanto, 113. Figura elaborada pela autora.

Resumidamente, a busca no banco de dados identificou 3.223 artigos (1.323 do PubMed e 1.900 do Web of Science), enquanto o *screening* das referências forneceu 91 artigos. Ao final, incluímos 48 artigos na revisão sistemática (45 da busca no banco de dados e 3 do *screening* das referências). As duas principais razões para a exclusão na fase de avaliação de elegibilidade foram:

- o estudo não avaliou pacientes com DA e/ou não apresentou grupo controle;
- o grupo DA e/ou controle tinha uma doença concomitante e/ou estava recebendo tratamentos medicamentosos específicos (para mais detalhes, consulte a seção “Critérios de elegibilidade”).

Vários estudos provenientes da busca nos banco de dados (Adams et al., 2018; España et al., 2010; Fuhrer et al., 2017; Gluck et al., 2002; Iwakiri et al., 2009; Jo et al., 2014; Klunk et al. al., 1992, 1994, 1996; Lloyd et al., 1991; Mizukami et al., 1998; Mountjoy et al., 1984; Rothstein et al., 1992; Snowden et al., 2019; Wu et al., 2014 ; Yeung et al., 2010; Zheng et al., 2020) e alguns do *screening* das referências (Berchtold et al., 2013; Mochizuki, 1996; Perry et al., 1977; Procter et al., 1988; Reinikainen et al., 1990) pareciam atender aos critérios de inclusão, mas foram excluídos devido aos seguintes critérios de exclusão:

- a) resultados apenas qualitativos;
- b) dados estatísticos ausentes (sem DP ou EPM);
- c) sem acesso a resultados quantitativos (não relatados no artigo e/ou sem resposta dos autores correspondentes do estudo).

Além disso, sete artigos potencialmente elegíveis provenientes da busca nas bases de dados (Chu et al., 1987; Corrigan, 1991; Cruz-Aguilar et al., 2021; Kuroda, 1983; Pascual, 2011; Sedvall, 1987; Zilles, 1995) não puderam ser avaliados porque o texto completo não estava disponível, mesmo depois de tentar entrar em contato com os autores correspondentes do estudo.

4.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS

Resumidamente, todos os artigos incluídos na revisão sistemática eram estudos de caso-controle. Houve um total de 606 pacientes com DA, média de idade de 75,6 anos, e 521 indivíduos controle, média de idade de 72,2. O percentual de indivíduos do sexo masculino nos grupos DA e controle foi de 43,9 e 50,8, respectivamente. Interessantemente, 18 dos 48 estudos usaram apenas avaliação post-mortem (analisando placas A β e NFT no córtex e hipocampo) como critério diagnóstico para DA, enquanto 10/48 diagnosticaram a DA através de critérios clínicos (NINCDS-ADRDA); por outro lado, 9/48 estudos classificaram a doença usando tanto avaliação clínica (NINCDS-ADRDA) quanto neuropatológica. Curiosamente, 29/48 estudos

foram desenvolvidos no Reino Unido e/ou EUA. As informações detalhadas de cada estudo incluído e suas características são apresentadas na **Tabela 1** abaixo (**tabela indisponível até a publicação do artigo**).

Tabela 1 – Características dos estudos incluídos.

DA = doença de Alzheimer; EUA = Estados Unidos da América; GABA = ácido γ -aminobutírico. GAD = glutamato decarboxilase; GAT = transportador de GABA; HPLC = cromatografia líquida de alta performance; IHC = imunohistoquímica; ISH = hibridização in situ; MRS = espectroscopia por ressonância magnética; PET = tomografia por emissão de pósitrons; RMN = ressonância magnética nuclear; SPET = tomografia por emissão de fóton único; vGAT = transportador vesicular de GABA; WB = *western blotting*.

4.3 RESULTADOS DE ESTUDOS INDIVIDUAIS E RESULTADOS DAS SÍNTESES

Oito regiões corticais (córtices cingulado, frontal, occipital, temporal, entorrinal, visual e parietal, e giro temporal), 11 subcorticais (caudado, hipocampo, hipocampo – CA1, hipocampo – CA2, hipocampo – CA3, subículo, putâmen, tálamo, estriado, giro denteado e globo pálido), cerebelo, líquido, plasma e sangue foram agrupados porque tinham dois ou mais estudos avaliando parâmetros GABAérgicos. Seis regiões corticais (córtices angular, insular, orbital, temporoparietal posterior, convexo e calcarino), nove regiões subcorticais (hipotálamo, corpo mamilar, núcleo accumbens, núcleo da rafe, substância *nigra*, núcleo amigdalóide, núcleo basal de Meynert, ponte e substância perfurada anterior), mesencéfalo, giro pré- e pós-central e giro frontal superior, não puderam ser agrupados porque havia apenas um artigo avaliando os parâmetros GABAérgicos em cada região.

Nove sínteses (destacadas em negrito na Tabela 2) apresentaram diminuição significativa nos níveis dos parâmetros avaliados no grupo DA em relação ao grupo controle (**Tabela 2**). Os gráficos de floresta para os resultados com diferenças estatisticamente significativas são fornecidos nas **Figuras 2-6**. Um resumo de todos os resultados em cada região encefálica/biofluido pode ser encontrado na **Figura 7**.

Tabela 2 – Resultados das sínteses.

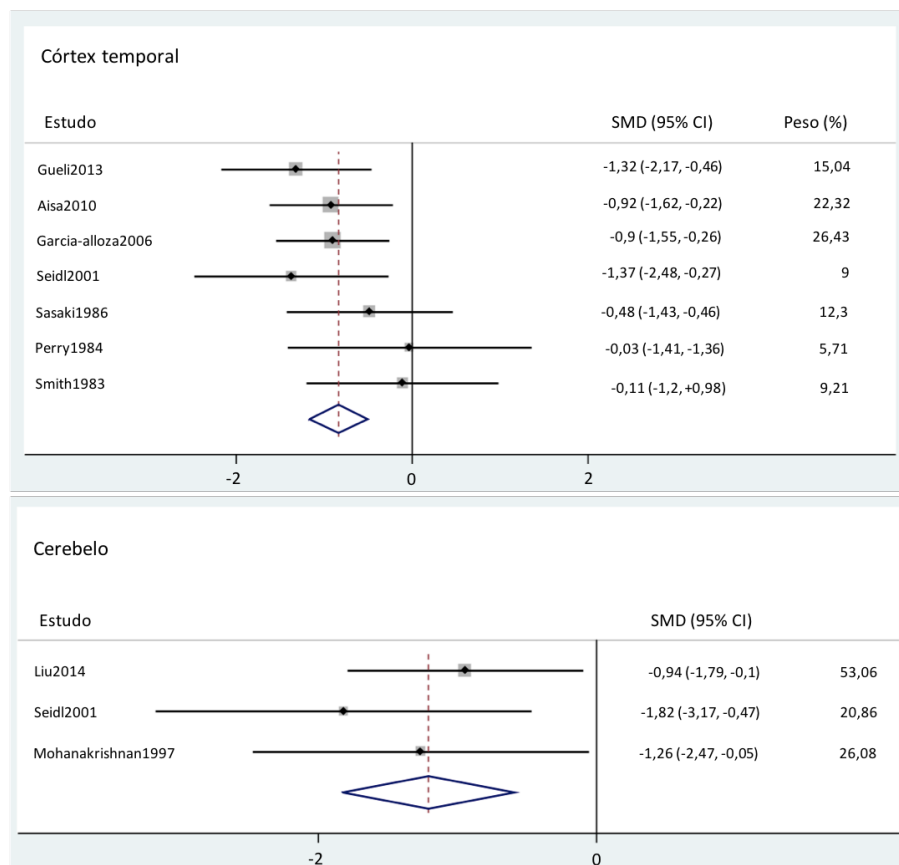
Parâmetro	Região/biofluido	SMD [95% CI]	Valor de p ajustado	I ² %
GABA	Sangue	-0,641[-1,387; 0,105]	0,28	64,2
GABA	Caudado	-0,19 [-3,4; 3,02]	0,94	90,8
GABA	Cerebelo	-1,21 [-1,83; -0,59]	0	0
GABA	Córtex cingulado	-0,41 [-1,03; 0,21]	0,37	16
GABA	Líquor	-0,42 [-0,74; -0,1]	0,06	0
GABA	Córtex frontal	-0,48 [-0,83; -0,13]	0,06	0
GABA	Hipocampo	-0,39 [-0,86; 0,09]	0,28	33,2
GABA	Córtex occipital	-0,75 [-1,63; 0,13]	0,28	51,7
GABA	Plasma	-0,39 [-1,47; 0,69]	0,64	77,5
GABA	Putâmen	0,08 [-1,15; 1,32]	0,94	75,3
GABA	Córtex temporal	-0,84 [-1,17; -0,5]	0	0,7
GABA	Tálamo	-0,69 [-1,49; 0,11]	0,29	22,3
GAD	Caudado	0,91 [-0,81; 2,63]	0,52	78,4
GAD	Cerebelo	-0,73 [-1,56; 0,11]	0,28	48,4
GAD	Hipocampo	-1 [-1,78; -0,22]	0,08	0
GAD	Giro temporal medial	-0,94 [-1,95; 0,07]	0,22	63,1
GAD	Córtex parietal	-0,52 [-1,16; 0,12]	0,28	0
GAD	Putâmen	-0,17 [-5,21; 4,86]	0,97	95,2
GAD65	Cerebelo	-1,44 [-2,4, -0,49]	0,02	32,5
GAD65	Giro temporal medial	-1,16 [-2,37; 0,06]	0,22	57,9
Receptor GABA _A	Caudado	-0,49 [-1,11; 0,12]	0,28	0
Receptor GABA _A	Cerebelo	0,01 [-0,9; 0,91]	0,99	36,8
Receptor GABA _A	Giro denteado	-0,1 [-0,66; 0,45]	0,59	0
Receptor GABA _A	Córtex entorhinal	-0,93 [-3,04; 1,18]	0,59	84,8
Receptor GABA _A	Córtex frontal	-0,68 [-1,36; 0]	0,22	48,2
Receptor GABA _A	Córtex visual	-0,07 [-0,68; 0,53]	0,66	0
Receptor GABA _A	Giro temporal	-0,38 [-1,19; 0,43]	0,14	0
Receptor GABA _A	Córtex occipital	-0,17 [-0,96; 0,61]	0,77	0
Receptor GABA _A	Córtex parietal	-0,84 [-1,84; 0,15]	0,28	48,8
Receptor GABA _A	Putâmen	-0,28 [-1,43; 0,88]	0,69	52,7
Receptor GABA_A	Córtex temporal	-0,75 [-1,12; -0,38]	0	0
Receptor GABA _A	Tálamo	-0,24 [-0,97; 0,49]	0,66	0
Receptor GABA _A	Hipocampo	-0,47 [-1,08; 0,14]	0,29	48,7
Receptor GABA _A	Hipocampo – CA1	-0,06 [-0,62; 0,49]	0,67	0

Receptor GABA _A	Hipocampo – CA2	-0,15 [-0,83; 0,53]	0,63	0
Receptor GABA _A	Hipocampo – CA3	-0,14 [-0,81; 0,53]	0,7	27,8
Receptor GABA _A	Subículo	-0,22 [-1,03; 0,59]	0,64	0
Receptor GABA _A subunidade α	Giro denteado	-0,24 [-0,92; 0,45]	0,59	0
Receptor GABA _A subunidade α	Giro temporal	-0,56 [-1,38; 0,26]	0,13	0
Receptor GABA _A subunidade α	Hipocampo	-0,29 [-0,98; 0,39]	0,59	0
Receptor GABA _A subunidade α	Hipocampo – CA1	-0,26 [-0,94; 0,42]	0,54	0
Receptor GABA _A subunidade α	Hipocampo – CA2	-0,18 [-0,86; 0,49]	0,59	0
Receptor GABA _A subunidade α	Hipocampo – CA3	-0,36 [-1,2; 0,48]	0,66	30,5
Receptor GABA _A subunidade α	Subículo	-0,37 [-1,18; 0,44]	0,33	0
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 1$	Giro denteado	-0,3 [-2,41; 1,81]	0,94	82,9
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 1$	Hipocampo – CA1	-0,6 [-1,43; 0,23]	0,22	0
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 1$	Hipocampo – CA2	-0,72 [-2,5; 1,05]	0,64	75,4
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 1$	Hipocampo – CA3	0,36 [-2,96; 3,67]	0,83	91,6
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 1$	Hipocampo	-0,45 [-2,06; 1,16]	0,85	72
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 1$	Subículo	-0,62 [-1,45; 0,2]	0,31	0
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 1$	Giro temporal	-1,79 [-5,34; 1,77]	0,54	89,8
Receptor GABA_A subunidade $\alpha 2$	Giro temporal	-1,55 [-2,6; -0,5]	0,03	17,9
Receptor GABA_A subunidade $\alpha 3$	Giro temporal	-1,54 [-2,48; -0,61]	0,01	0
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 5$	Giro denteado	-0,81 [-2,31; 0,7]	0,5	74,6
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 5$	Hipocampo	-0,77 [-2,13; 0,6]	0,52	70,1
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 5$	Hipocampo – CA1	-0,34 [-1,99; 1,3]	0,88	79,5
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 5$	Hipocampo – CA2	-0,92 [-2,23; 0,39]	0,33	66,6
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 5$	Hipocampo – CA3	-0,93 [-1,9; 0,04]	0,22	42,1
Receptor GABA _A subunidade $\alpha 5$	Subículo	0,01 [-3,62; 3,63]	0,99	92,6
Receptor GABA_A subunidade $\alpha 5$	Giro temporal	-1,99 [-3; -0,98]	0	0
Receptor GABA _A subunidade β	Giro temporal	-0,54 [-1,37; 0,28]	0,37	0
Receptor GABA _A subunidade $\beta 1$	Giro temporal	-0,68 [-2,61; 1,24]	0,64	78,9
Receptor GABA_A subunidade $\beta 2$	Giro temporal	-1,63 [-2,59; -0,66]	0,01	1,2
Receptor GABA _A subunidade $\beta 3$	Giro temporal	-1,12 [-2,75; 0,51]	0,36	68,4
Receptor GABA _A subunidade γ	Giro temporal	-0,33 [-1,15; 0,48]	0,66	0
Receptor GABA _A subunidade $\gamma 2$	Giro temporal	-1,24 [-2,32; -0,16]	0,13	29,7
Transportadores de GABA	Caudado	-0,43 [-0,9; 0,04]	0,26	0
Transportadores de GABA	Córtex frontal	-0,46 [-1,12; 0,21]	0,49	71,1
Transportadores de GABA	Globo pálido	-0,59 [-1,34; 0,16]	0,29	0

Transportadores de GABA	Hipocampo	-1,42 [-3,08; 0,24]	0,28	57,1
Transportadores de GABA	Giro temporal medial	0,02 [-0,53; 0,56]	0,83	0
Transportadores de GABA	Córtex parietal	-1,82 [-2,69; -0,96]	0	0
Transportadores de GABA	Putâmen	-0,3 [-1,05; 0,44]	0,62	2,7
Transportadores de GABA	Córtex temporal	-1,2 [-2,67; 0,28]	0,28	83,3
GAT1	Giro temporal medial	-0,1 [-0,65; 0,44]	0,81	0

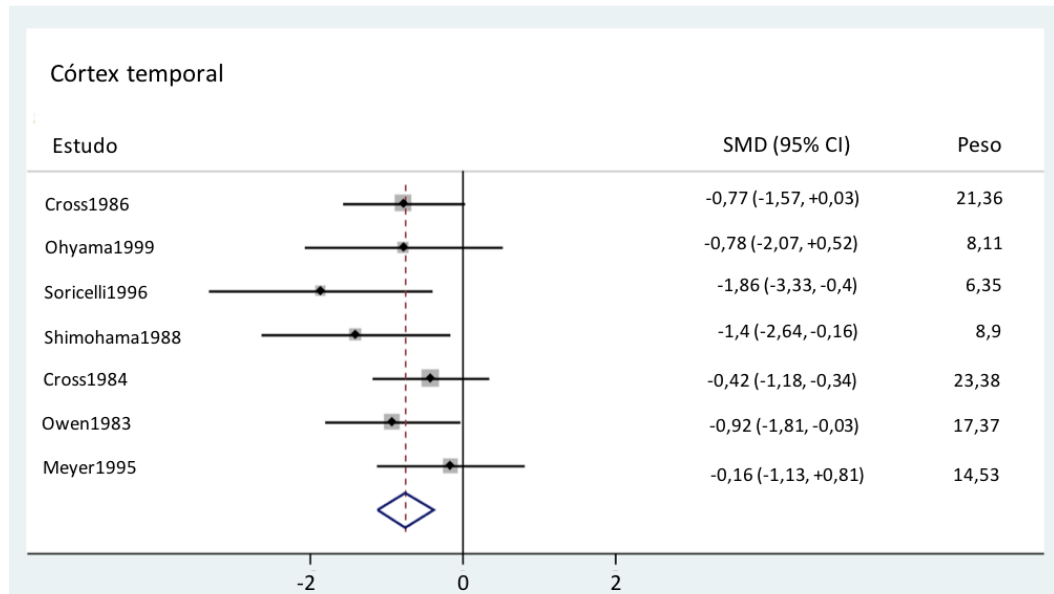
SMD = diferença média padronizada; CI = intervalo de confiança; I^2 = teste de heterogeneidade; GABA = ácido γ -aminobutírico; GAD = ácido glutâmico descarboxilase. GAT1 = transportador de GABA 1. Figura elaborada pela autora.

Figura 2 – Resultados das sínteses do parâmetro GABA.



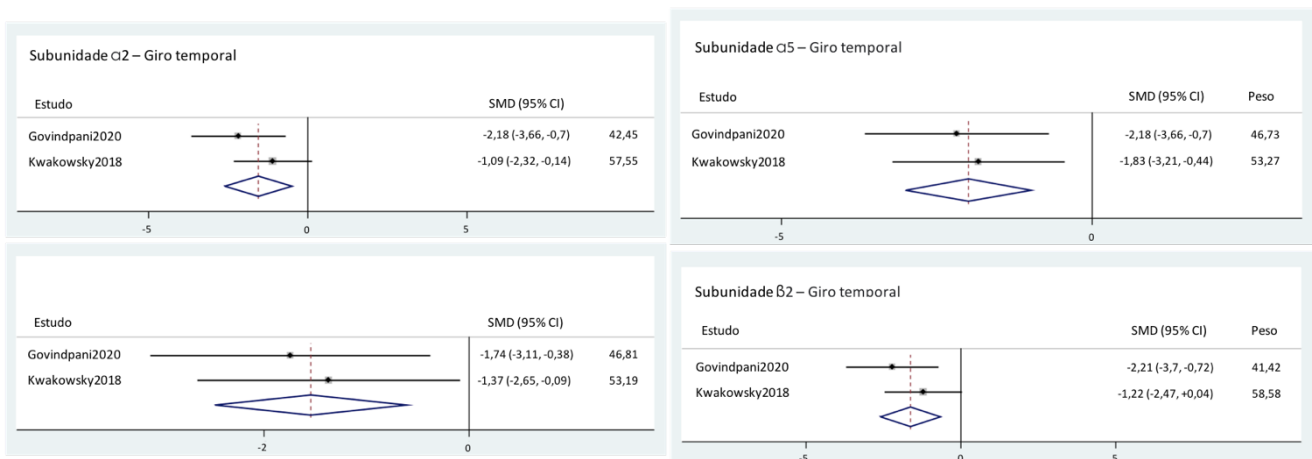
CI = intervalo de confiança; SMD = diferença média padronizada. Figura elaborada pela autora utilizando os gráficos de Floresta gerados pelo *software* Stata MP. Os resultados mostrados apresentaram diferença estatisticamente significativa (valor de p ajustado $< 0,05$).

Figura 3 – Resultados das sínteses do parâmetro receptor GABA_A.



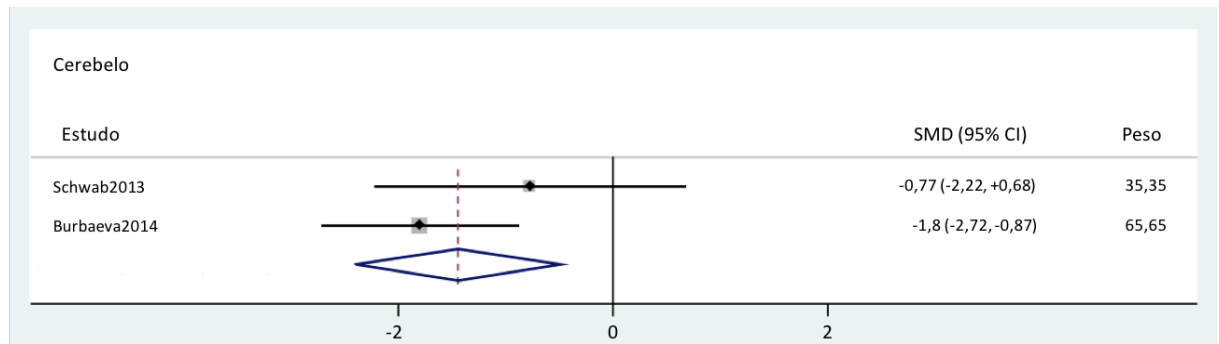
CI = interval de confiança; SMD = diferença média padronizada. Figura elaborada pela autora utilizando os gráficos de Floresta gerados pelo *software* Stata MP. O resultado mostrado apresentou diferença estatisticamente significativa (valor de p ajustado < 0,05).

Figura 4 – Resultados das sínteses do parâmetro receptor GABA_A (subunidades).



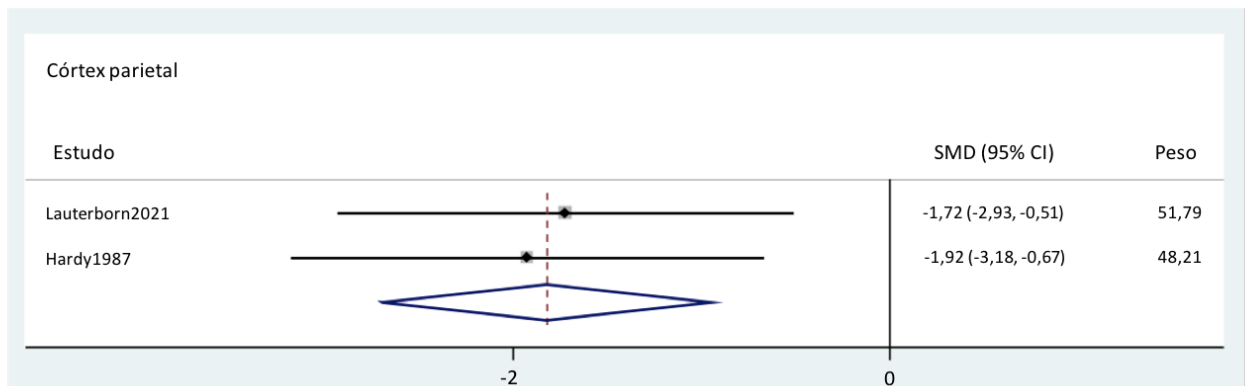
CI = interval de confiança; SMD = diferença média padronizada. Figura elaborada pela autora utilizando os gráficos de Floresta gerados pelo *software* Stata MP. Os resultados mostrados apresentaram diferença estatisticamente significativa (valor de p ajustado < 0,05).

Figura 5 - Resultados das sínteses do parâmetro GAD65.



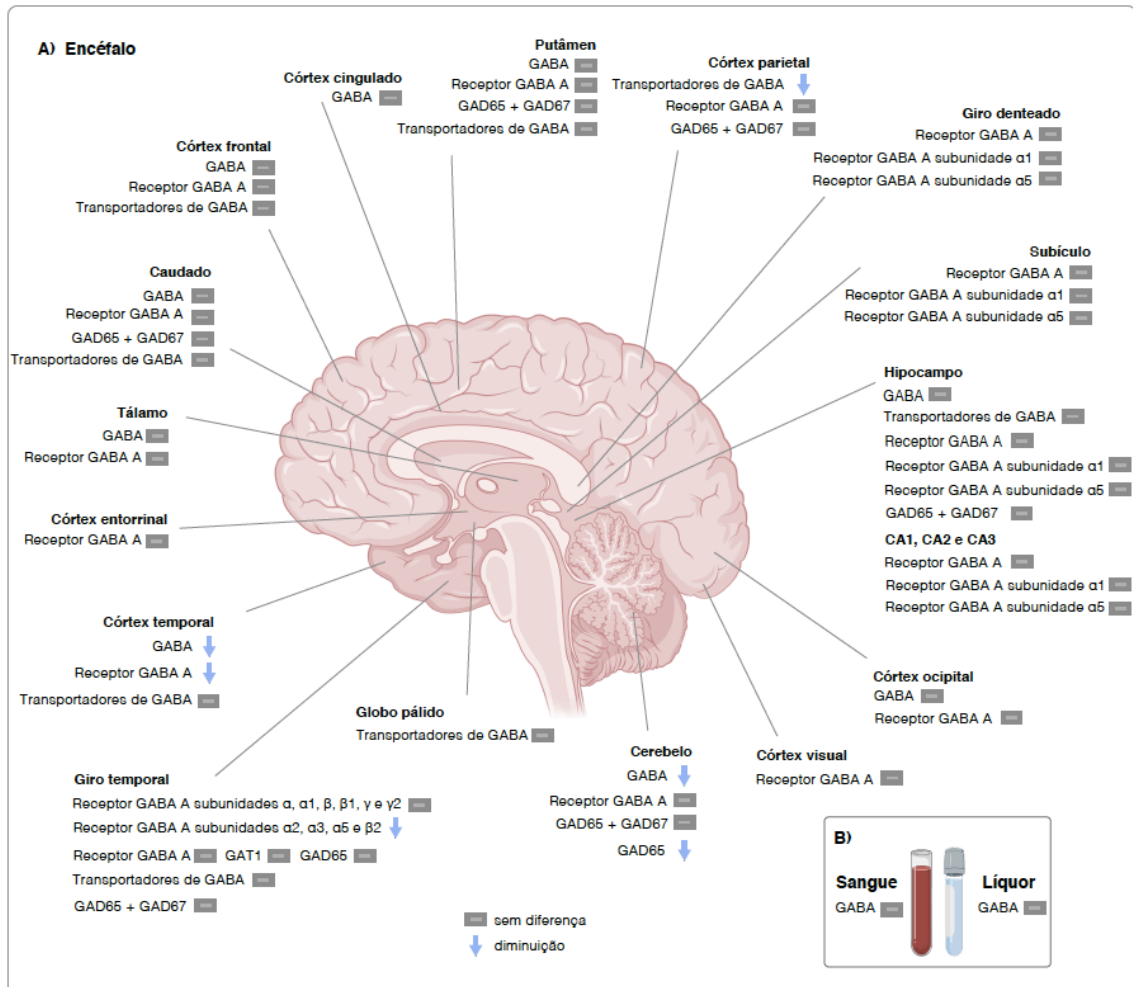
CI = intervalo de confiança; SMD = diferença média padronizada. Figura elaborada pela autora utilizando os gráficos de Floresta gerados pelo *software* Stata MP. O resultado mostrado apresentou diferença estatisticamente significativa (valor de p ajustado < 0,05).

Figura 6 - Resultados das sínteses do parâmetro transportadores de GABA.



CI = intervalo de confiança; SMD = diferença média padronizada. Figura elaborada pela autora utilizando os gráficos de Floresta gerados pelo *software* Stata MP. O resultado mostrado apresentou diferença estatisticamente significativa (valor de p ajustado < 0,05).

Figura 7 – Resumo dos resultados.



O resultado da meta-análise para cada parâmetro em indivíduos com DA em comparação com indivíduos controle da mesma idade é ilustrado para cada região do encéfalo (A) e biofluido (líquor e sangue) (B). GABA = ácido γ -aminobutírico; GAD65/67 = glutamato descarboxilase 65/67; GAT1 = transportador 1 de GABA; O quadrado cinza significa que não houve diferença estatisticamente significativa (valor de p ajustado $> 0,05$) entre os grupos DA e controle. A seta azul apontada para baixo demonstra uma diminuição do parâmetro analisado (valor de p ajustado $< 0,05$) no grupo DA quando comparado com o grupo controle. Figura elaborada pela autora com imagens do BioRender.

Por exemplo, sete estudos compararam os níveis de GABA entre os grupos DA e controle no córtex temporal (Aisa et al., 2010; Garcia-Alloza et al., 2006; Gueli & Taibi, 2013; Perry et al., 1984; Sasaki et al., 1986b; Seidl et al., 2001; Smith et al., 1983), envolvendo 157 indivíduos (80 DA e 77 controle). Apesar de quatro estudos apresentarem baixo risco de viés (Aisa et al., 2010; Garcia-Alloza et al., 2006; Gueli & Taibi, 2013; Seidl et al., 2001) e três apresentarem algumas preocupações (Perry et al., 1984; Sasaki et al., 1986b; Smith et al., 1983), esta síntese apresentou um resumo geral de baixo risco de viés. Dos sete estudos, quatro

avaliaram os níveis de GABA por HPLC (Aisa et al., 2010; Garcia-Alloza et al., 2006; Gueli & Taibi, 2013; Seidl et al., 2001), e três avaliaram este resultado por um ensaio enzimático (Perry et al., 1984; Sasaki et al., 1986b; Smith et al., 1983).

4.4 RISCO DE VIÉS NOS ESTUDOS

A **Figura 8** mostra o risco de viés para cada estudo incluído no grupo “GABA córtex temporal”. Curiosamente, apenas 18,75% (9/48) dos estudos apresentaram alto risco de viés, 20 estudos apresentaram algumas preocupações e 19 foram de baixo risco.

Figura 8 – Risco de viés na síntese do grupo “GABA córtex temporal”.

Artigo/pergunta	1	2	3	4	5	6	7	8	Risco por pergunta
Gueli2013	●	●	●	●	●	●	●	●	Baixo
Aisa2010	●	●	●	●	●	●	●	●	Baixo
Garcia-alloza2006	●	●	●	●	●	●	●	●	Baixo
Seidl2001	●	●	●	●	●	●	●	●	Baixo
Sasaki1986	●	●	●	●	●	●	●	●	Preocupações
Perry1984	●	●	●	●	●	●	●	●	Preocupações
Smith1983	●	●	●	●	●	●	●	●	Preocupações
Risco geral	●	●	●	●	●	●	●	●	Baixo

Figura elaborada pela autora.

5 DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstram uma degeneração seletiva dos componentes do sistema GABAérgico em pacientes com DA. De fato, esse sistema de neurotransmissor parece permanecer inalterado na DA nos compartimentos sanguíneo e líquorico e apresentar alterações região-específicas no encéfalo. Apenas algumas regiões tiveram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos: há diminuição do neurotransmissor GABAérgico, receptores, enzimas de síntese e transportadores nos córtices parietal e temporal, giro temporal e cerebelo dos pacientes com DA em comparação com indivíduos controle.

Os córtices parietal e temporal são duas regiões encefálicas que apresentam precocemente depósitos de A β na DA (Thal et al., 2002). Além disso, a formação de NFT começa no lobo temporal medial e se espalha para outras regiões corticais, como o córtex parietal (Braak & Braak, 1991). Assim, ambas as regiões são classicamente descritas como vulneráveis na DA e essa vulnerabilidade ocorre nas fases iniciais da doença. Por outro lado, pouca atenção tem sido dada ao cerebelo, pois foi inicialmente pensado como uma região resistente na DA (Hoxha et al., 2018; Jacobs et al., 2018). No entanto, estudos têm demonstrado uma infinidade de alterações cerebelares em alguns casos de DA familiar e esporádica, como atrofia cerebelar posterior (perda de substância cinzenta) (Gellersen et al., 2017, 2021), perda de células de Purkinje (Fukutani et al., 1996; Mavroudis et al., 2019), menor peso médio cerebelar (Fukutani et al., 1997) e sintomas motores como ataxia (Anheim et al., 2007; Filla et al., 2002; Testi et al., 2014). Além disso, as placas A β são um achado frequente no cerebelo de pacientes com DA de início precoce (EOAD), mas relatadas em menor grau em casos de início tardio (Braak et al., 1989; Cole et al., 1993).

Nossos resultados estão de acordo com o que foi postulado inicialmente: o sistema GABAérgico não é muito afetado na DA. No entanto, no caso dos níveis de GABA no líquor, nossos resultados diferem de outra meta-análise que avaliou marcadores líquóricos na DA

(Manyevitch et al., 2018). De fato, Manyevitch e colegas em 2018 encontraram níveis reduzidos de GABA no líquor de pacientes com DA em comparação com indivíduos controle. No entanto, os critérios de exclusão aplicados em seu trabalho diferem da nossa meta-análise. Aplicamos critérios rigorosos para evitar a inclusão de estudos cujos pacientes estivessem recebendo fármacos que pudessem afetar o sistema GABAérgico ou tivessem outro distúrbio neurodegenerativo ou psiquiátrico. Além disso, incluímos apenas estudos que usaram NINCDS-ADRDA ou NIA-AA como critérios diagnósticos de DA. Por outro lado, Manyevitch et al incluiu pacientes com DA diagnosticados com demência pelo DSM-III, além do NINCDS-ADRDA, e não mencionou se pacientes com DA que estivessem usando fármacos que afetam o sistema GABAérgico ou tivessem outros distúrbios neurodegenerativos ou psiquiátricos foram excluídos. Além disso, eles excluíram artigos com resultados quantitativos mostrados apenas graficamente, enquanto em nosso estudo nós extraímos dados de gráficos usando uma régua digital. Como resultado, incluímos apenas cinco estudos (Jiménez-Jiménez et al., 1998; Oishi, 1996; Pomara et al., 1989; Tohgi et al., 1992; Weiner et al., 1996), enquanto eles incluíram 12 artigos. Três deles (Jiménez-Jiménez et al., 1998; Oishi, 1996; Weiner et al., 1996) também foram incluídos em nosso trabalho. Outros seis artigos incluídos foram excluídos em nosso trabalho porque não apresentavam critérios diagnósticos clínicos estabelecidos para DA (Bareggi et al., 1982; Zimmer et al., 1984), o artigo não foi encontrado (Kuroda, 1983), os dados não puderam ser extraídos (Mochizuki, 1996), o artigo não relatou o parâmetro de interesse (Smith et al., 1985) ou não estava relacionado à DA (Tosca et al., 1992). Os outros três artigos incluídos não apareceram em nossa busca. Por último, eles não incluíram dois artigos incluídos em nosso trabalho (Pomara et al., 1989; Tohgi et al., 1992). Outro fator importante é que eles agruparam os dados usando razão de médias, enquanto nós usamos a diferença de média padronizada. Tudo isso combinado pode contribuir para os resultados controversos obtidos

entre nosso trabalho e a meta-análise publicada anteriormente sobre os níveis de GABA no líquido.

Além disso, nosso trabalho auxiliou na compreensão de alguns resultados contraditórios sobre o sistema GABAérgico na DA. A **Tabela 3** mostra uma comparação dos resultados obtidos nesta meta-análise com os resultados reportados individualmente pelos artigos que foram incluídos. Ressalta-se que os dados mostrados na tabela se referem às regiões encefálicas nas quais obtivemos diferenças estatisticamente significativas, aos compartimentos sanguíneo e liquorico e às regiões meta-analisadas no parâmetro GABA (pois este parâmetro teve o maior número de regiões encefálicas analisadas). Os outros resultados não são mostrados.

Tabela 3 – Comparação dos resultados obtidos nesta meta-análise com os resultados individuais dos estudos na literatura.

Parâmetro	Região encefálica/ biofluido	Resultado reportado nos estudos	Resultado obtido com esta meta-análise
GABA	Caudado	Seidl2001 = Sasaki1986 ↑	=
GABA	Cerebelo	Seidl2001 ↓ Liu2014 = Mohanakrishnan1997 ↓	↓
GABA	Córtex cingulado	Huang2016 = Sasaki1986 ↓	=
GABA	Líquor	Tohgi1992 = Weiner1996 = Pomara1989 = Oishi1996 = Jiménez-jiménez1998 =	=
GABA	Córtex frontal	Zhang2019 ↓ Aisa2010 ↓ Yew1999 = Garcia-alloza2006 ↓ Sasaki1986 =	=
GABA	Hipocampo	Liu2014 = Huang2016 = Yew1999 = Sasaki1986 = Mohanakrishnan1997 = Tarbit1980 =	=

GABA	Córtex occipital	Sasaki1986 ↓ Yew1999 = Seidl2001 ↓	=
GABA	Sangue	Weiner1996 = Jiménez-jiménez1998 ↓ Oishi1996 =	=
GABA	Putâmen	Sasaki1986 = Cross1984 =	=
GABA	Córtex temporal	Sasaki1986 = Gueli2013 ↓ Perry1984 = Aisa2010 ↓ Seidl2001 ↓ Garcia-alloza2006 ↓ Smith1983 =	↓
GABA	Tálamo	Seidl2001 = Sasaki1986 ↓	=
Receptor GABA A	Córtex temporal	Meyer1995 = Ohyama1999 = Cross1986 ↓ Cross1984 = Shimohama1988 ↓ Soricelli1996 ↓ Owen1983 ↓	↓
Receptor GABA A subunidade α2	Giro temporal	Kwakowsky2018 ↓ Govindpani2020 ↓	↓
Receptor GABA A subunidade α3	Giro temporal	Kwakowsky2018 = Govindpani2020 ↓	↓
Receptor GABA A subunidade α5	Giro temporal	Kwakowsky2018 ↓ Govindpani2020 ↓	↓
Receptor GABA A subunidade β2	Giro temporal	Kwakowsky2018 = Govindpani2020 ↓	↓
GAD65	Cerebelo	Burbaeva2014 ↓ Schwab2013 =	↓
Transportadores de GABA	Córtex parietal	Lauterborn2021 ↓ Hardy1987 ↓	↓

O símbolo de igual significa que o estudo individual reportou que não há diferenças estatisticamente significativas entre os grupos DA e controle. A seta para baixo ou para cima demonstra respectivamente uma diminuição ou aumento estatisticamente significativos no grupo DA quando comparado com o grupo controle, determinado pelo estudo. Tabela elaborada pela autora.

Por exemplo, Zhang (Zhang et al., 2019) e outros (Aisa et al., 2010; Garcia-Alloza et al., 2006) mostraram que os níveis de GABA estão diminuídos no córtex frontal de pacientes com DA em comparação com indivíduos controle, enquanto Sasaki et al (Sasaki et al., 1986b) e Yew et al (Yew et al., 1999) demonstraram que não há diferença entre os dois grupos. Além disso, resultados controversos também foram encontrados em outras regiões do encéfalo, como o córtex temporal (diminuição dos níveis de GABA relatados por (Aisa et al., 2010; Garcia-Alloza et al., 2006; Gueli & Taibi, 2013; Seidl et al. , 2001); nenhuma diferença relatada por (Perry et al., 1984; Sasaki et al., 1986a; Smith et al., 1983) e córtex occipital (níveis diminuídos (Sasaki et al., 1986b; Seidl et al., 2001); sem diferenças (Yew et al., 1999)). Com esta meta-análise, demonstramos que não há diferenças significativas em relação aos níveis de GABA nos córtices frontal e occipital entre pacientes com DA e indivíduos controle e que há uma diminuição dos níveis deste neurotransmissor no córtex temporal na DA. Ainda, nós mostramos que os níveis de GABA estão diminuídos no cerebelo dos pacientes com DA; este também era um parâmetro que apresentava resultados controversos nesta região encefálica. Outras regiões como caudado, córtex cingulado, tálamo e o compartimento sanguíneo também tinham contradições em seus resultados, e com esta meta-análise pudemos diminuir as contradições nesses parâmetros. Já os níveis de GABA no hipocampo, putâmen e líquido não tinham resultados contraditórios na literatura e os nossos resultados corroboraram com os achados desses artigos. Em relação aos outros parâmetros que tiveram diferenças estatisticamente significativas nesta meta-análise e que apresentavam contradições, o resultado referente ao receptor GABA_A no córtex temporal foi o mais marcante. De fato, nós meta-analisamos sete estudos neste grupo, e pudemos observar uma diminuição dos níveis deste receptor nos pacientes com DA em relação ao grupo controle.

5.1 REPERCUSSÃO CLÍNICA DOS RESULTADOS DESTA META-ANÁLISE

A DA é a causa mais comum de demência no mundo (2021 Alzheimer's Disease Facts and Figures, 2021) e estratégias terapêuticas que modificam o curso da doença ainda não foram comprovadas (Tagliavini et al., 2021). Por isso, é imprescindível que novos fármacos sejam desenvolvidos e, para isso, a busca por novos alvos terapêuticos é urgente. O sistema GABAérgico é a principal neurotransmissão inibitória no encéfalo humano (Bear, 2015). Assim, alterações no neurotransmissor e em outros componentes, como transportadores, receptores e enzimas de síntese, podem ter consequências críticas, como por exemplo afetar o equilíbrio E/I. De fato, estudos vêm demonstrando que a DA apresenta desequilíbrio E/I, conforme revisado por Varela e colaboradores (Varela et al., 2019), sendo o sistema GABAérgico um forte candidato a ser o que mais contribui para isso na DA (Ren et al., 2018), como sugerido por Bi e colaboradores na hipótese GABAérgica de DA mais recente (Bi et al., 2020). Além disso, 10 a 22% dos pacientes com DA apresenta crises epilépticas (Vossel et al., 2013); essa atividade neuronal desregulada, com bastante influência GABAérgica, pode contribuir para os déficits cognitivos observados na doença. De fato, um fino balanço entre excitação e inibição é fundamental para uma função cognitiva adequada (Lam et al., 2022).

Outro impacto clínico dos nossos resultados é em relação aos biomarcadores. Atualmente, sugere-se que biomarcadores de amiloide, tau e neurodegeneração sejam utilizados para categorizar a DA em vida (Jack et al., 2018). Entretanto, outras alterações que ocorrem em pacientes com DA podem se tornar novos biomarcadores futuramente, como por exemplo neuroinflamação e disfunção em sinapses (Hampel, Cummings, et al., 2021). Caso as alterações GABAérgicas encontradas em nosso trabalho se mostrem específicas da DA, esse sistema de neurotransmissor pode surgir como um potencial alvo para o desenvolvimento de biomarcadores da neurotransmissão GABAérgica na DA. Isso seria possível, por exemplo, por meio de técnicas como o PET, a qual pode avaliar os receptores GABAérgicos em pacientes

com DA ainda em vida (Andersson et al., 2019). Além disso, apesar de não termos observado diferenças estatisticamente significativas nos níveis de GABA nos compartimentos sanguíneo e liquorico, métodos ultrasensíveis como por exemplo espectrometria de massas com imunoprecipitação e *single-molecule array* (SIMOA) podem ser utilizados para a detecção de alterações mais sutis desse neurotransmissor nesses biofluidos, as quais não puderam ser detectadas com os métodos utilizados pelos artigos incluídos em nosso trabalho. Recentemente, esses dois métodos têm sido amplamente utilizados para biomarcadores da DA em sangue e líquor (Ashton et al., 2021; Ding et al., 2021; Karikari et al., 2020) e, portanto, podem ser de rápida aplicação clínica também para o sistema GABAérgico.

5.2 LIMITAÇÕES DOS RESULTADOS OBTIDOS COM A META-ANÁLISE

Os resultados de nosso trabalho devem ser interpretados diante de algumas limitações: ainda não realizamos análises de subgrupos (por exemplo, subdividindo os indivíduos por idade para analisar se há diferenças entre DA precoce e tardia); análises de sensibilidade para verificar se existem estudos que possam ter distorcido a análise principal também não foram realizadas até o momento. Além disso, ainda não realizamos a avaliação da certeza da evidência, portanto não sabemos o nível de certeza de cada resultado da síntese. Outra limitação e fonte de viés em nosso estudo é que não analisamos o risco de viés devido “à falta de resultados”. Assim, não sabemos se todos os resultados foram mostrados pelos pesquisadores dos artigos incluídos ou se apenas os resultados mais adequados foram escolhidos (por exemplo, apenas os estatisticamente significativos foram relatados), embora quando analisarmos os gráficos de funil, teremos alguns *insights*. Além disso, a última busca foi realizada em junho de 2021. Assim, estudos publicados após esta data não foram incluídos e poderiam contribuir para os resultados das sínteses. Por último, a maioria dos estudos (45/48) teve um tamanho de amostra pequeno (< 20 em cada grupo), e a maioria das sínteses (43/78) foi feita com apenas dois resultados agrupados.

Em contrapartida, um ponto positivo é que apenas 18,75% dos estudos incluídos apresentaram alto risco de viés. No entanto, em algumas sínteses, isso pode ter sido determinante para o resultado obtido, principalmente quando houve apenas dois ou três resultados agrupados. Este é o caso do GABA no putâmen, pois apenas dois estudos foram incluídos (um deles era de alto risco de viés e o outro tinha algumas preocupações). Isso também ocorreu em relação ao GABA_AR no cerebelo, caudado, putâmen e tálamo, no córtex caudado e parietal dos resultados do GAD e no hipocampo dos resultados dos transportadores de GABA.

5.3 LIMITAÇÕES NO PROCESSO DE REVISÃO

Para minimizar o viés no processo de revisão, nós:

- a) realizamos todas as etapas da revisão sistemática com dois revisores trabalhando independentemente no mesmo estudo;
- b) discutimos os motivos da inclusão ou exclusão de cada artigo;
- c) entramos em contato com os pesquisadores do estudo para obter informações relevantes;
- d) utilizamos uma ferramenta semiautomática para auxiliar na remoção de duplicatas e *screening* de títulos e resumos;
- e) utilizamos a régua digital para extrair resultados de formatos gráficos;
- f) aplicamos critérios de exclusão rigorosos.

Uma limitação do processo de revisão é que nem todos os estudos podem ter sido selecionados, embora tenhamos realizado a busca em duas bases de dados e olhado as referências dos artigos incluídos e de revisões sobre o sistema GABAérgico na DA. Outra limitação é que não avaliamos a elegibilidade de artigos não publicados em inglês. Assim, podemos ter perdido alguns artigos que poderiam se enquadrar nos critérios de inclusão e não necessariamente ter uma qualidade metodológica ruim apenas por terem sido escritos em outro idioma. A não inclusão de artigos não escritos em inglês pode resultar em uma não

representatividade da população real de DA (por exemplo, artigos publicados por países de baixa e média renda com origens populacionais diversificadas). Por último, não tivemos acesso ao texto completo de sete estudos e, por isso, não pudemos avaliar a elegibilidade desses artigos.

5.4 IMPLICAÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS E PARA A PESQUISA

Ao fornecer esta revisão sistemática abrangente e meta-análise do sistema GABAérgico na DA, esperamos orientar os pesquisadores na decisão de quais resultados são preferíveis para avaliar e em qual região do encéfalo faltam dados. Além disso, por gerar resultados originais que englobam a maioria dos estudos sobre o sistema GABAérgico na DA, esperamos evitar experimentos desnecessários e ajudar os pesquisadores a delinear mais adequadamente o desenho do estudo (descrevendo mais especificamente algumas informações no artigo, usando métodos quantitativos para avaliar o resultado e melhorando a transparência no processo metodológico).

Ainda há a necessidade de entender o sistema GABAérgico na DA em coortes mais diversas. De fato, a maioria dos estudos incluídos foram de países desenvolvidos. Além disso, mais estudos são necessários para fornecer maior robustez dos resultados (por exemplo, casos em que apenas dois ou três estudos foram agrupados para a síntese) e fornecer informações sobre as regiões do encéfalo que não foram meta-analisadas devido à falta de estudos.

6 CONCLUSÕES

Os resultados desta dissertação permitem concluir que:

- a) o sistema GABAérgico em pacientes com DA apresenta prejuízos região-específicos (há diminuição dos níveis do neurotransmissor GABA no cerebelo e no córtex temporal, do receptor GABA_A no córtex temporal, das subunidades $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 5$ e $\beta 2$ do receptor

GABA_A no giro temporal, GAD65 no cerebelo e transportadores de GABA no córtex parietal).

- b) não há alterações nesse sistema de neurotransmissor na DA nos compartimentos sanguíneo e líquórico, nem nas outras regiões encefálicas analisadas (córtices cingulado, frontal, occipital, entorrinal e visual, caudado, hipocampo, hipocampo – CA1, hipocampo – CA2, hipocampo – CA3, subículo, putâmen, tálamo, estriado, giro denteado e globo pálido).
- c) são necessários mais estudos para obter os resultados das regiões encefálicas que não puderam ser meta-analisadas (córtices angular, insular, orbital, temporoparietal posterior, convexo e calcarino, hipotálamo, corpo mamilar, núcleo *accumbens*, núcleo da rafe, substância *nigra*, núcleo amigdalóide, núcleo basal de Meynert, ponte, substância perfurada anterior, mesencéfalo, giro pré- e pós-central e giro frontal superior).

7 APOIO E FOMENTO

Esta dissertação foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), Instituto Serrapilheira, *Alzheimer's Association* e *National Academy of Neuropsychology*, que forneceram o apoio financeiro para que os pesquisadores realizassem este trabalho. Os financiadores não tiveram nenhum papel na dissertação, incluindo a concepção da revisão, coleta e análise de dados e resultados estatísticos obtidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 2021 Alzheimer's disease facts and figures. (2021). *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 17(3), 327–406. <https://doi.org/10.1002/ALZ.12328>
- Adams, S. L., Benayoun, L., Tilton, K., Mellott, T. J., Seshadri, S., Blusztajn, J. K., & Delalle, I. (2018). Immunohistochemical Analysis of Activin Receptor-Like Kinase 1 (ACVRL1/ALK1) Expression in the Rat and Human Hippocampus: Decline in CA3 During Progression of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 63(4), 1433–1443. <https://doi.org/10.3233/JAD-171065>
- Adeghate, E., & Ponery, A. S. (2002). GABA in the endocrine pancreas: cellular localization and function in normal and diabetic rats. *Tissue & Cell*, 34(1), 1–6. <https://doi.org/10.1054/TICE.2002.0217>
- Aisa, B., Gil-Bea, F. J., Solas, M., García-Alloza, M., Chen, C. P., Lai, M. K., Francis, P. T., & Ramírez, M. J. (2010). Altered NCAM expression associated with the cholinergic system in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 20(2), 659–668. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1398>
- Aisen, P. S., Gauthier, S., Ferris, S. H., Saumier, D., Haine, D., Garceau, D., Duong, A., Suhy, J., Oh, J., Lau, W. C., & Sampalis, J. (2011). Tramiprosate in mild-to-moderate Alzheimer's disease - a randomized, double-blind, placebo-controlled, multi-centre study (the Alphase Study). *Archives of Medical Science: AMS*, 7(1), 102–111. <https://doi.org/10.5114/AOMS.2011.20612>
- Alam, S., Laughton, D. L., Walding, A., & Wolstenholme, A. J. (2006). Human peripheral blood mononuclear cells express GABAA receptor subunits. *Molecular Immunology*, 43(9), 1432–1442. <https://doi.org/10.1016/J.MOLIMM.2005.07.025>
- Alzheimer, A. (1898). Neuere Arbeiten über die Dementia senilis und die auf atheromatöser Gefässerkrankung basierenden Hirnkrankheiten. *Monatsschrift Für Psychiatrie Und Neurologie*, 101–115.
- Alzheimer, A. (1906). Über einen eigenartigen schweren Erkrankungsprozeß der Hirnrinde. *Neurologisches Centralblatt*, 1129–1136.
- Alzheimer, A. (1907). Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allg Z Psychiatry*, 146–148.
- Alzheimer, Alois. ; S. R. A. ; S. H. N. ; M. F. R. (1995). An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde." *Clinical Anatomy*, 429–431.
- Ambrad Giovannetti, E., & Fuhrmann, M. (2019). Unsupervised excitation: GABAergic dysfunctions in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1707, 216–226. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2018.11.042>
- Andersson, J. D., Matuskey, D., & Finnema, S. J. (2019). Positron emission tomography imaging of the γ -aminobutyric acid system. *Neuroscience Letters*, 691, 35–43. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2018.08.010>
- Anheim, M., Hannequin, D., Boulay, C., Martin, C., Champion, D., & Tranchant, C. (2007). Ataxic variant of Alzheimer's disease caused by Pro117Ala PSEN1 mutation. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 78(12), 1414–1415. <https://doi.org/10.1136/JNNP.2007.123026>
- Ashton, N. J., Janelidze, S., al Khleifat, A., Leuzy, A., van der Ende, E. L., Karikari, T. K., Benedet, A. L., Pascoal, T. A., Lleó, A., Parnetti, L., Galimberti, D., Bonanni, L., Pilotto, A., Padovani, A., Lycke, J., Novakova, L., Axelsson, M., Velayudhan, L., Rabinovici, G. D., ... Hansson, O. (2021). A multicentre validation study of the diagnostic value of plasma neurofilament light. *Nature Communications 2021 12:1*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23620-z>
- Babaev, O., Piletti Chatain, C., & Krueger-Burg, D. (2018). Inhibition in the amygdala anxiety circuitry. *Experimental & Molecular Medicine*, 50(4). <https://doi.org/10.1038/S12276-018-0063-8>

- Bañuelos, C., & Wołoszynowska-Fraser, M. U. (2017). GABAergic Networks in the Prefrontal Cortex and Working Memory. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 37(15), 3989–3991. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0135-17.2017>
- Bareggi, S. R., Franceschi, M., Bonini, L., Zecca, L., & Smirne, S. (1982). Decreased CSF concentrations of homovanillic acid and gamma-aminobutyric acid in Alzheimer's disease. Age- or disease-related modifications? *Archives of Neurology*, 39(11), 709–712. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.1982.00510230035010>
- Barragan, A., Weidner, J. M., Jin, Z., Korpi, E. R., & Birnir, B. (2015). GABAergic signalling in the immune system. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 213(4), 819–827. <https://doi.org/10.1111/APHA.12467>
- Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B., & Lippa, A. S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science (New York, N.Y.)*, 217(4558), 408–417. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.7046051>
- BARTUS, R. T., DEAN, R. L., PONTECORVO, M. J., & FLICKER, C. (1985). The cholinergic hypothesis: a historical overview, current perspective, and future directions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 444(1), 332–358. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.1985.TB37600.X>
- Bear, M. F., C. B. W., P. M. A. (2015). *Neuroscience: Exploring the Brain* (4th ed.).
- Berchtold, N. C., Coleman, P. D., Cribbs, D. H., Rogers, J., Gillen, D. L., & Cotman, C. W. (2013). Synaptic genes are extensively downregulated across multiple brain regions in normal human aging and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 34(6), 1653–1661. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2012.11.024>
- Bi, D., Wen, L., Wu, Z., & Shen, Y. (2020). GABAergic dysfunction in excitatory and inhibitory (E/I) imbalance drives the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia : The Journal of the Alzheimer's Association*, 16(9), 1312–1329. <https://doi.org/10.1002/ALZ.12088>
- Bierman, E. J. M., Comijs, H. C., Gundy, C. M., Sonnenberg, C., Jonker, C., & Beekman, A. T. F. (2007). The effect of chronic benzodiazepine use on cognitive functioning in older persons: good, bad or indifferent? *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 22(12), 1194–1200. <https://doi.org/10.1002/GPS.1811>
- Binet, V., Brajon, C., le Corre, L., Acher, F., Pin, J. P., & Prézeau, L. (2004). The heptahelical domain of GABA(B2) is activated directly by CGP7930, a positive allosteric modulator of the GABA(B) receptor. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(28), 29085–29091. <https://doi.org/10.1074/JBC.M400930200>
- Bjurstöm, H., Wang, J. Y., Ericsson, I., Bengtsson, M., Liu, Y., Kumar-Mendu, S., Issazadeh-Navikas, S., & Birnir, B. (2008). GABA, a natural immunomodulator of T lymphocytes. *Journal of Neuroimmunology*, 205(1–2), 44–50. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2008.08.017>
- Booker, S. A., Harada, H., Elgueta, C., Bank, J., Bartos, M., Kulik, A., & Vida, I. (2020). Presynaptic GABA B receptors functionally uncouple somatostatin interneurons from the active hippocampal network. *ELife*, 9. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.51156>
- Bowen, D. M., Smith, C. B., White, P., & Davison, A. N. (1976). Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies. *Brain : A Journal of Neurology*, 99(3), 459–496. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/99.3.459>
- Bowery, N. G., Bettler, B., Froestl, W., Gallagher, J. P., Marshall, F., Raiteri, M., Bonner, T. I., & Enna, S. J. (2002). International Union of Pharmacology. XXXIII. Mammalian gamma-aminobutyric acid(B) receptors: structure and function. *Pharmacological Reviews*, 54(2), 247–264. <https://doi.org/10.1124/PR.54.2.247>
- Bowery, N. G.; D. A.; H. D. R.; H. A. L.; S. J. S.; T. M. J. (1979). Baclofen: a selective agonist for a novel type of GABA receptor proceedings. *British Journal of Pharmacology*, 67(3), 444–445. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/227517/>

- Bowery, N. G., Hill, D. R., Hudson, A. L., Doble, A., Middlemiss, D. N., Shaw, J., & Turnbull, M. (1980). (-)Baclofen decreases neurotransmitter release in the mammalian CNS by an action at a novel GABA receptor. *Nature*, 283(5742), 92–94. <https://doi.org/10.1038/283092A0>
- Braak, H., & Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica*, 82(4), 239–259. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>
- Braak, H., Braak, E., Bohl, J., & Lang, W. (1989). Alzheimer's disease: amyloid plaques in the cerebellum. *Journal of the Neurological Sciences*, 93(2–3), 277–287. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(89\)90197-4](https://doi.org/10.1016/0022-510X(89)90197-4)
- Brambilla, P., Perez, J., Barale, F., Schettini, G., & Soares, J. C. (2003). GABAergic dysfunction in mood disorders. *Molecular Psychiatry*, 8(8), 721–737. <https://doi.org/10.1038/SJ.MP.4001362>
- Calvo-Flores Guzmán, B., Vinnakota, C., Govindpani, K., Waldvogel, H. J., Faull, R. L. M., & Kwakowsky, A. (2018). The GABAergic system as a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 146(6), 649–669. <https://doi.org/10.1111/JNC.14345>
- Chalifoux, J. R., & Carter, A. G. (2010). GABAB receptors modulate NMDA receptor calcium signals in dendritic spines. *Neuron*, 66(1), 101–113. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2010.03.012>
- Charles, K. J., Deuchars, J., Davies, C. H., & Pangalos, M. N. (2003). GABA B receptor subunit expression in glia. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 24(1), 214–223. [https://doi.org/10.1016/S1044-7431\(03\)00162-3](https://doi.org/10.1016/S1044-7431(03)00162-3)
- Chen, G. F., Xu, T. H., Yan, Y., Zhou, Y. R., Jiang, Y., Melcher, K., & Xu, H. E. (2017). Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacologica Sinica*, 38(9), 1205–1235. <https://doi.org/10.1038/APS.2017.28>
- Choi, G., & Ko, J. (2015). Gephyrin: a central GABAergic synapse organizer. *Experimental & Molecular Medicine*, 47, e158. <https://doi.org/10.1038/EMM.2015.5>
- Chu, D. C. M., Penney, J. B., & Young, A. B. (1987). Cortical GABAB and GABAA receptors in Alzheimer's disease: a quantitative autoradiographic study. *Neurology*, 37(9), 1454–1459. <https://doi.org/10.1212/WNL.37.9.1454>
- Cole, G., Neal, J. W., Singhrao, S. K., Jasani, B., & Newman, G. R. (1993). The distribution of amyloid plaques in the cerebellum and brain stem in Down's syndrome and Alzheimer's disease: a light microscopical analysis. *Acta Neuropathologica*, 85(5), 542–552. <https://doi.org/10.1007/BF00230495>
- Corrigan, F. M.; R. G. and W. N. (1991). Reductions of zinc and selenium in brain in Alzheimer's disease. *Trace Elements in Medicine*, 8(1).
- Couve, A., Thomas, P., Calver, A. R., Hirst, W. D., Pangalos, M. N., Walsh, F. S., Smart, T. G., & Moss, S. J. (2002). Cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylation facilitates GABA(B) receptor-effector coupling. *Nature Neuroscience*, 5(5), 415–424. <https://doi.org/10.1038/NN833>
- Craig, L. A., Hong, N. S., & McDonald, R. J. (2011). Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(6), 1397–1409. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2011.03.001>
- Cruz-Aguilar, M. A., Ramírez-Salado, I., Hernández-González, M., Guevara, M. A., & Rivera-García, A. P. (2021). EEG coherence and power spectra during REM sleep related to melatonin intake in mild-to-moderate Alzheimer's disease: a pilot study. *The International Journal of Neuroscience*. <https://doi.org/10.1080/00207454.2021.1928115>
- Cummings, J. (2021). New approaches to symptomatic treatments for Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/S13024-021-00424-9>
- Danysz, W., Parsons, C. G., Möbius, H.-J., Stöfler, A., & Quack, G. (2000). Neuroprotective and symptomatological action of memantine relevant for Alzheimer's disease--a unified glutamatergic hypothesis on the mechanism of action. *Neurotoxicity Research*, 2(2–3), 85–97. <https://doi.org/10.1007/BF03033787>

- Darlison, M. G., Pahal, I., & Thode, C. (2005). Consequences of the evolution of the GABA(A) receptor gene family. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 25(3–4), 607–624. <https://doi.org/10.1007/S10571-005-4004-4>
- Davies, P. (1999). Challenging the cholinergic hypothesis in Alzheimer disease. *JAMA*, 281(15), 1433–1434. <https://doi.org/10.1001/JAMA.281.15.1433>
- Davies, P., & Maloney, A. J. F. (1976). Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*, 2(8000), 1403. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(76\)91936-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(76)91936-X)
- Delaney, A. J., & Crane, J. W. (2016). Presynaptic GABAB receptors reduce transmission at parabrachial synapses in the lateral central amygdala by inhibiting N-type calcium channels. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/SREP19255>
- Diderot, Denis.; d'Alembert, J. le Rond. (n.d.). L'Encyclopédie.
- Ding, X., Zhang, S., Jiang, L., Wang, L., Li, T., & Lei, P. (2021). Ultrasensitive assays for detection of plasma tau and phosphorylated tau 181 in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Translational Neurodegeneration*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/S40035-021-00234-5>
- Drachman, D. A., & Leavitt, J. (1974). Human memory and the cholinergic system. A relationship to aging? *Archives of Neurology*, 30(2), 113–121. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.1974.00490320001001>
- Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C., DeKosky, S. T., Barberger-Gateau, P., Cummings, J., Delacourte, A., Galasko, D., Gauthier, S., Jicha, G., Meguro, K., O'Brien, J., Pasquier, F., Robert, P., Rossor, M., Salloway, S., Stern, Y., Visser, P. J., & Scheltens, P. (2007). Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *The Lancet. Neurology*, 6(8), 734–746. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70178-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70178-3)
- Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C., Hampel, H., Molinuevo, J. L., Blennow, K., Dekosky, S. T., Gauthier, S., Selkoe, D., Bateman, R., Cappa, S., Crutch, S., Engelborghs, S., Frisoni, G. B., Fox, N. C., Galasko, D., Habert, M. O., Jicha, G. A., Nordberg, A., ... Cummings, J. L. (2014). Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *The Lancet. Neurology*, 13(6), 614–629. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70090-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70090-0)
- Dunn, B., Stein, P., & Cavazzoni, P. (2021). Approval of Aducanumab for Alzheimer Disease-The FDA's Perspective. *JAMA Internal Medicine*, 181(10), 1277–1278. <https://doi.org/10.1001/JAMAINTERNMED.2021.4607>
- Esclapez, M., Tillakaratne, N. J. K., Kaufman, D. L., Tobin, A. J., & Houser, C. R. (1994). Comparative localization of two forms of glutamic acid decarboxylase and their mRNAs in rat brain supports the concept of functional differences between the forms. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 14(3 Pt 2), 1834–1855. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-03-01834.1994>
- España, J., Giménez-Llort, L., Valero, J., Miñano, A., Rábano, A., Rodriguez-Alvarez, J., LaFerla, F. M., & Saura, C. A. (2010). Intraneuronal beta-amyloid accumulation in the amygdala enhances fear and anxiety in Alzheimer's disease transgenic mice. *Biological Psychiatry*, 67(6), 513–521. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2009.06.015>
- Farrant, M., & Nusser, Z. (2005). Variations on an inhibitory theme: phasic and tonic activation of GABA(A) receptors. *Nature Reviews. Neuroscience*, 6(3), 215–229. <https://doi.org/10.1038/NRN1625>
- Feter, N., Leite, J. S., Caputo, E. L., Cardoso, R. K., & Rombaldi, A. J. (2021). Who are the people with Alzheimer's disease in Brazil? Findings from the Brazilian Longitudinal Study of Aging. *Revista Brasileira de Epidemiologia = Brazilian Journal of Epidemiology*, 24. <https://doi.org/10.1590/1980-549720210018>
- Filla, A., de Michele, G., Coccozza, S., Patrignani, A., Volpe, G., Castaldo, I., Ruggiero, G., Bonavita, V., Masters, C., Casari, G., & Bruni, A. (2002). Early onset autosomal dominant dementia with

- ataxia, extrapyramidal features, and epilepsy. *Neurology*, 58(6), 922–928. <https://doi.org/10.1212/WNL.58.6.922>
- Fuhrer, T. E., Palpagama, T. H., Waldvogel, H. J., Synek, B. J. L., Turner, C., Faull, R. L., & Kwakowsky, A. (2017). Impaired expression of GABA transporters in the human Alzheimer's disease hippocampus, subiculum, entorhinal cortex and superior temporal gyrus. *Neuroscience*, 351, 108–118. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2017.03.041>
- Fukutani, Y., Cairns, N. J., Rossor, M. N., & Lantos, P. L. (1996). Purkinje cell loss and astrocytosis in the cerebellum in familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 214(1), 33–36. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(96\)12875-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(96)12875-5)
- Fukutani, Y., Cairns, N. J., Rossor, M. N., & Lantos, P. L. (1997). Cerebellar pathology in sporadic and familial Alzheimer's disease including APP 717 (Val-->Ile) mutation cases: a morphometric investigation. *Journal of the Neurological Sciences*, 149(2), 177–184. [https://doi.org/10.1016/S0022-510X\(97\)05399-9](https://doi.org/10.1016/S0022-510X(97)05399-9)
- Galvez, T., Parmentier, M. L., Joly, C., Malitschek, B., Kaupmann, K., Kuhn, R., Bittiger, H., Froestl, W., Bettler, B., & Pin, J. P. (1999). Mutagenesis and modeling of the GABAB receptor extracellular domain support a venus flytrap mechanism for ligand binding. *The Journal of Biological Chemistry*, 274(19), 13362–13369. <https://doi.org/10.1074/JBC.274.19.13362>
- Galvez, T., Prézeau, L., Milioti, G., Franek, M., Joly, C., Froestl, W., Bettler, B., Bertrand, H. O., Blahos, J., & Pin, J. P. (2000). Mapping the agonist-binding site of GABAB type 1 subunit sheds light on the activation process of GABAB receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(52), 41166–41174. <https://doi.org/10.1074/JBC.M007848200>
- Garcia-Alloza, M., Tsang, S. W., Gil-Bea, F. J., Francis, P. T., Lai, M. K., Marcos, B., Chen, C. P., & Ramirez, M. J. (2006). Involvement of the GABAergic system in depressive symptoms of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 27(8), 1110–1117. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2005.06.003>
- Garcia-Marin, V., Blazquez-Llorca, L., Rodriguez, J. R., Boluda, S., Muntane, G., Ferrer, I., & DeFelipe, J. (2009). Diminished perisomatic GABAergic terminals on cortical neurons adjacent to amyloid plaques. *Frontiers in Neuroanatomy*, 3(NOV). <https://doi.org/10.3389/NEURO.05.028.2009>
- Gellersen, H. M., Guell, X., & Sami, S. (2021). Differential vulnerability of the cerebellum in healthy ageing and Alzheimer's disease. *NeuroImage. Clinical*, 30. <https://doi.org/10.1016/J.NICL.2021.102605>
- Gellersen, H. M., Guo, C. C., O'callaghan, C., Tan, R. H., Sami, S., & Hornberger, M. (2017). Cerebellar atrophy in neurodegeneration—a meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 88(9), 780–788. <https://doi.org/10.1136/JNNP-2017-315607>
- Geng, Y., Xiong, D., Mosyak, L., Malito, D. L., Kniazeff, J., Chen, Y., Burmakina, S., Quick, M., Bush, M., Javitch, J. A., Pin, J. P., & Fan, Q. R. (2012). Structure and functional interaction of the extracellular domain of human GABA(B) receptor GBR2. *Nature Neuroscience*, 15(7), 970–978. <https://doi.org/10.1038/NN.3133>
- Gerrard, L. B., Tantirigama, M. L. S., & Bekkers, J. M. (2018). Pre- and Postsynaptic Activation of GABA B Receptors Modulates Principal Cell Excitation in the Piriform Cortex. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2018.00028>
- Gilardi, M., Ramos, M., & Hollern, D. (2022). B cells secrete GABA, which provokes a pro-tumor immune microenvironment. *Cancer Cell*, 40(1), 17–19. <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2021.12.007>
- Gluck, M. R., Thomas, R. G., Davis, K. L., & Haroutunian, V. (2002). Implications for altered glutamate and GABA metabolism in the dorsolateral prefrontal cortex of aged schizophrenic patients. *The American Journal of Psychiatry*, 159(7), 1165–1173. <https://doi.org/10.1176/APPI.AJP.159.7.1165>

- Gottesmann, C. (2002). GABA mechanisms and sleep. *Neuroscience*, 111(2), 231–239. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00034-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00034-9)
- Govindpani, K., Guzmán, B. C. F., Vinnakota, C., Waldvogel, H. J., Faull, R. L., & Kwakowsky, A. (2017). Towards a Better Understanding of GABAergic Remodeling in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(8). <https://doi.org/10.3390/IJMS18081813>
- Greenamyre, J. T., Maragos, W. F., Albin, R. L., Penney, J. B., & Young, A. B. (1988). Glutamate transmission and toxicity in Alzheimer's disease. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 12(4). [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(88\)90102-9](https://doi.org/10.1016/0278-5846(88)90102-9)
- Greenamyre, J. T., Penney, J. B., Young, A. B., D'Amato, C. J., Hicks, S. P., & Shoulson, I. (1985). Alterations in L-glutamate binding in Alzheimer's and Huntington's diseases. *Science (New York, N.Y.)*, 227(4693), 1496–1499. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.2858129>
- Gueli, M. C., & Taibi, G. (2013). Alzheimer's disease: amino acid levels and brain metabolic status. *Neurological Sciences : Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 34(9), 1575–1579. <https://doi.org/10.1007/S10072-013-1289-9>
- Hempel, H., Cummings, J., Blennow, K., Gao, P., Jack, C. R., & Vergallo, A. (2021). Developing the ATX(N) classification for use across the Alzheimer disease continuum. *Nature Reviews. Neurology*, 17(9), 580–589. <https://doi.org/10.1038/S41582-021-00520-W>
- Hempel, H., Vassar, R., de Strooper, B., Hardy, J., Willem, M., Singh, N., Zhou, J., Yan, R., Vanmechelen, E., de Vos, A., Nisticò, R., Corbo, M., Imbimbo, B. pietro, Streffer, J., Voytyuk, I., Timmers, M., Tahami Monfared, A. A., Irizarry, M., Albala, B., ... Vergallo, A. (2021). The β -Secretase BACE1 in Alzheimer's Disease. *Biological Psychiatry*, 89(8), 745–756. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2020.02.001>
- Hasselmo, M. E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(6), 710–715. <https://doi.org/10.1016/J.CONB.2006.09.002>
- Horder, J., Petrinovic, M. M., Mendez, M. A., Bruns, A., Takumi, T., Spooren, W., Barker, G. J., Künnecke, B., & Murphy, D. G. (2018). Glutamate and GABA in autism spectrum disorder—a translational magnetic resonance spectroscopy study in man and rodent models. *Translational Psychiatry*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/S41398-018-0155-1>
- Hoxha, E., Lippiello, P., Zurlo, F., Balbo, I., Santamaria, R., Tempia, F., & Miniaci, M. C. (2018). The Emerging Role of Altered Cerebellar Synaptic Processing in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2018.00396>
- Hyman, B. T., Phelps, C. H., Beach, T. G., Bigio, E. H., Cairns, N. J., Carrillo, M. C., Dickson, D. W., Duyckaerts, C., Frosch, M. P., Masliah, E., Mirra, S. S., Nelson, P. T., Schneider, J. A., Thal, D. R., Thies, B., Trojanowski, J. Q., Vinters, H. v., & Montine, T. J. (2012). National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia : The Journal of the Alzheimer's Association*, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2011.10.007>
- Hyman, B. T., & Trojanowski, J. Q. (1997). Consensus recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer disease from the National Institute on Aging and the Reagan Institute Working Group on diagnostic criteria for the neuropathological assessment of Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 56(10), 1095–1097. <https://doi.org/10.1097/00005072-199710000-00002>
- Hyman, B. T., van Hoesen, G. W., & Damasio, A. R. (1987). Alzheimer's disease: glutamate depletion in the hippocampal perforant pathway zone. *Annals of Neurology*, 22(1), 37–40. <https://doi.org/10.1002/ANA.410220110>
- Islam, M. M., Iqbal, U., Walther, B., Atique, S., Dubey, N. K., Nguyen, P. A., Poly, T. N., Masud, J. H. B., Li, Y. C., & Shabbir, S. A. (2016). Benzodiazepine Use and Risk of Dementia in the Elderly Population: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuroepidemiology*, 47(3–4), 181–191. <https://doi.org/10.1159/000454881>

- Iwakiri, M., Mizukami, K., Ikonovic, M. D., Ishikawa, M., Abrahamson, E. E., Dekosky, S. T., & Asada, T. (2009). An immunohistochemical study of GABA A receptor gamma subunits in Alzheimer's disease hippocampus: relationship to neurofibrillary tangle progression. *Neuropathology : Official Journal of the Japanese Society of Neuropathology*, 29(3), 263–269. <https://doi.org/10.1111/J.1440-1789.2008.00978.X>
- Iwakiri, M., Mizukami, K., Ikonovic, M. D., Ishikawa, M., Hidaka, S., Abrahamson, E. E., DeKosky, S. T., & Asada, T. (2005). Changes in hippocampal GABABR1 subunit expression in Alzheimer's patients: association with Braak staging. *Acta Neuropathologica*, 109(5), 467–474. <https://doi.org/10.1007/S00401-005-0985-9>
- Jack, C. R., Albert, M. S., Knopman, D. S., McKhann, G. M., Sperling, R. A., Carrillo, M. C., Thies, B., & Phelps, C. H. (2011). Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 7(3), 257–262. <https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2011.03.004>
- Jack, C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., Haeberlein, S. B., Holtzman, D. M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J. L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K. P., Rowe, C. C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H. M., ... Silverberg, N. (2018). NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 14(4), 535–562. <https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2018.02.018>
- Jacobs, H. I. L., Hopkins, D. A., Mayrhofer, H. C., Bruner, E., van Leeuwen, F. W., Raaijmakers, W., & Schmahmann, J. D. (2018). The cerebellum in Alzheimer's disease: evaluating its role in cognitive decline. *Brain: A Journal of Neurology*, 141(1), 37–47. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/AWX194>
- Jahn, H. (2013). Memory loss in Alzheimer's disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 15(4), 445–454. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2013.15.4/HJAHN>
- Jiménez-Balado, J., & Eich, T. S. (2021). GABAergic dysfunction, neural network hyperactivity and memory impairments in human aging and Alzheimer's disease. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 116, 146–159. <https://doi.org/10.1016/J.SEMCDB.2021.01.005>
- Jiménez-Jiménez, F. J., Molina, J. A., Gómez, P., Vargas, C., de Bustos, F., Benito-León, J., Tallón-Barranco, A., Ortí-Pareja, M., Gasalla, T., & Arenas, J. (1998). Neurotransmitter amino acids in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 105(2–3), 269–277. <https://doi.org/10.1007/S007020050056>
- Jin, H., Wu, H., Osterhaus, G., Wei, J., Davis, K., Sha, D., Floor, E., Hsu, C. C., Kopke, R. D., & Wu, J. Y. (2003). Demonstration of functional coupling between gamma -aminobutyric acid (GABA) synthesis and vesicular GABA transport into synaptic vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(7), 4293–4298. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0730698100>
- Jo, S., Yarishkin, O., Hwang, Y. J., Chun, Y. E., Park, M., Woo, D. H., Bae, J. Y., Kim, T., Lee, J., Chun, H., Park, H. J., Lee, D. Y., Hong, J., Kim, H. Y., Oh, S. J., Park, S. J., Lee, H., Yoon, B. E., Kim, Y., ... Lee, C. J. (2014). GABA from reactive astrocytes impairs memory in mouse models of Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 20(8), 886–896. <https://doi.org/10.1038/NM.3639>
- Jones, K. A., Borowsky, B., Tamm, J. A., Craig, D. A., Durkin, M. M., Dai, M., Yao, W. J., Johnson, M., Gunwaldsen, C., Huang, L. Y., Tang, C., Shen, Q., Salon, J. A., Morse, K., Laz, T., Smith, K. E., Nagarathnam, D., Noble, S. A., Branchek, T. A., & Gerald, C. (1998). GABA(B) receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA(B)R1 and GABA(B)R2. *Nature*, 396(6712), 674–679. <https://doi.org/10.1038/25348>
- Kajikawa, Y., Saitoh, N., & Takahashi, T. (2001). GTP-binding protein beta gamma subunits mediate presynaptic calcium current inhibition by GABA(B) receptor. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America, 98(14), 8054–8058. <https://doi.org/10.1073/PNAS.141031298>
- Karikari, T. K., Pascoal, T. A., Ashton, N. J., Janelidze, S., Benedet, A. L., Rodriguez, J. L., Chamoun, M., Savard, M., Kang, M. S., Therriault, J., Schöll, M., Massarweh, G., Soucy, J. P., Höglund, K., Brinkmalm, G., Mattsson, N., Palmqvist, S., Gauthier, S., Stomrud, E., ... Blennow, K. (2020). Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts. *The Lancet. Neurology*, 19(5), 422–433. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30071-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30071-5)
- Kashani, A., Lepicard, È., Poirel, O., Videau, C., David, J. P., Fallet-Bianco, C., Simon, A., Delacourte, A., Giros, B., Epelbaum, J., Betancur, C., & el Mestikawy, S. (2008). Loss of VGLUT1 and VGLUT2 in the prefrontal cortex is correlated with cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurobiology of Aging*, 29(11), 1619–1630. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2007.04.010>
- Kaufman, D. L., Houser, C. R., & Tobin, A. J. (1991). Two forms of the gamma-aminobutyric acid synthetic enzyme glutamate decarboxylase have distinct intraneuronal distributions and cofactor interactions. *Journal of Neurochemistry*, 56(2), 720–723. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.1991.TB08211.X>
- Kaupmann, K., Huggel, K., Heid, J., Flor, P. J., Bischoff, S., Mickel, S. J., McMaster, G., Angst, C., Bittiger, H., Froestl, W., & Bettler, B. (1997). Expression cloning of GABA(B) receptors uncovers similarity to metabotropic glutamate receptors. *Nature*, 386(6622), 239–246. <https://doi.org/10.1038/386239A0>
- Kaupmann, K., Malitschek, B., Schuler, V., Heid, J., Froestl, W., Beck, P., Mosbacher, J., Bischoff, S., Kulik, A., Shigemoto, R., Karschin, A., & Bettler, B. (1998). GABA(B)-receptor subtypes assemble into functional heteromeric complexes. *Nature*, 396(6712), 683–687. <https://doi.org/10.1038/25360>
- Khachaturian, Z. S. (1985). Diagnosis of Alzheimer's disease. *Archives of Neurology*, 42(11), 1097–1105. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.1985.04060100083029>
- Kickinger, S., Hellsberg, E., Frølund, B., Schousboe, A., Ecker, G. F., & Wellendorph, P. (2019). Structural and molecular aspects of betaine-GABA transporter 1 (BGT1) and its relation to brain function. *Neuropharmacology*, 161. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2019.05.021>
- Kirvell, S. L., Esiri, M., & Francis, P. T. (2006). Down-regulation of vesicular glutamate transporters precedes cell loss and pathology in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 98(3), 939–950. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2006.03935.X>
- Klunk, W. E., Panchalingam, K., Moossy, J., McClure, R. J., & Pettegrew, J. W. (1992). N-acetyl-L-aspartate and other amino acid metabolites in Alzheimer's disease brain: a preliminary proton nuclear magnetic resonance study. *Neurology*, 42(8), 1578–1585. <https://doi.org/10.1212/WNL.42.8.1578>
- Klunk, W. E., Xu, C. J., Panchalingam, K., McClure, R. J., & Pettegrew, J. W. (1994). Analysis of magnetic resonance spectra by mole percent: comparison to absolute units. *Neurobiology of Aging*, 15(1), 133–140. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(94\)90153-8](https://doi.org/10.1016/0197-4580(94)90153-8)
- Klunk, W. E., Xu, C., Panchalingam, K., McClure, R. J., & Pettegrew, J. W. (1996). Quantitative ¹H and ³¹P MRS of PCA extracts of postmortem Alzheimer's disease brain. *Neurobiology of Aging*, 17(3), 349–357. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(96\)00035-8](https://doi.org/10.1016/0197-4580(96)00035-8)
- Knoferle, J., Yoon, S. Y., Walker, D., Leung, L., Gillespie, A. K., Tong, L. M., Bien-Ly, N., & Huang, Y. (2014). Apolipoprotein E4 produced in GABAergic interneurons causes learning and memory deficits in mice. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(42), 14069–14078. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2281-14.2014>
- Kraepelin, E. (1910). *Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. Klinische Psychiatrie.*

- Kulik, Á., Vida, I., Luján, R., Haas, C. A., López-Bendito, G., Shigemoto, R., & Frotscher, M. (2003). Subcellular localization of metabotropic GABA(B) receptor subunits GABA(B1a/b) and GABA(B2) in the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(35), 11026–11035. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-35-11026.2003>
- Kuroda, H. (1983). Gamma-aminobutyric acid (GABA) in cerebrospinal fluid. *Acta Medica Okayama*, 37(3), 167–177. <https://doi.org/10.18926/AMO/32437>
- Lacey, C. J., Boyes, J., Gerlach, O., Chen, L., Magill, P. J., & Bolam, J. P. (2005). GABA(B) receptors at glutamatergic synapses in the rat striatum. *Neuroscience*, 136(4), 1083–1095. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2005.07.013>
- Lam, N. H., Borduqui, T., Hallak, J., Roque, A., Anticevic, A., Krystal, J. H., Wang, X. J., & Murray, J. D. (2022). Effects of Altered Excitation-Inhibition Balance on Decision Making in a Cortical Circuit Model. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 42(6), 1035–1053. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1371-20.2021>
- Lee, C., Dayne Mayfield, R., & Adron Harris, R. (2010). Intron 4 containing novel GABAB1 isoforms impair GABAB receptor function. *PloS One*, 5(11). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0014044>
- Li, S., Mallory, M., Alford, M., Tanaka, S., & Masliah, E. (1997). Glutamate transporter alterations in Alzheimer disease are possibly associated with abnormal APP expression. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 56(8), 901–911. <https://doi.org/10.1097/00005072-199708000-00008>
- Lissek, S., Golisch, A., Glaubitz, B., & Tegenthoff, M. (2017). The GABAergic system in prefrontal cortex and hippocampus modulates context-related extinction learning and renewal in humans. *Brain Imaging and Behavior*, 11(6), 1885–1900. <https://doi.org/10.1007/S11682-016-9662-Y>
- Llorens-Martín, M., Blazquez-Llorca, L., Benavides-Piccione, R., Rabano, A., Hernandez, F., Avila, J., & DeFelipe, J. (2014). Selective alterations of neurons and circuits related to early memory loss in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroanatomy*, 8(MAY). <https://doi.org/10.3389/FNANA.2014.00038>
- Lloyd, G. K., Lowenthal, A., Javoy-Agid, F., & Constantidinis, J. (1991). GABAA receptor complex function in frontal cortex membranes from control and neurological patients. *European Journal of Pharmacology*, 197(1), 33–39. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(91\)90361-S](https://doi.org/10.1016/0014-2999(91)90361-S)
- Luchetti, S., Bossers, K., van de Bilt, S., Agrapart, V., Morales, R. R., Frajese, G. V., & Swaab, D. F. (2011). Neurosteroid biosynthetic pathways changes in prefrontal cortex in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 32(11), 1964–1976. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2009.12.014>
- Luscher, B., Shen, Q., & Sahir, N. (2011). The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. *Molecular Psychiatry*, 16(4), 383–406. <https://doi.org/10.1038/MP.2010.120>
- Mann, E. O., Kohl, M. M., & Paulsen, O. (2009). Distinct roles of GABA(A) and GABA(B) receptors in balancing and terminating persistent cortical activity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(23), 7513–7518. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6162-08.2009>
- Manyevitch, R., Protas, M., Scarpiello, S., Deliso, M., Bass, B., Nanajian, A., Chang, M., Thompson, S. M., Khoury, N., Gonnella, R., Trotz, M., Moore, D. B., Harms, E., Perry, G., Clunes, L., Ortiz, A., Friedrich, J. O., & Murray, I. V. J. (2018). Evaluation of Metabolic and Synaptic Dysfunction Hypotheses of Alzheimer's Disease (AD): A Meta-Analysis of CSF Markers. *Current Alzheimer Research*, 15(2), 164–181. <https://doi.org/10.2174/1567205014666170921122458>
- Manz, K. M., Baxley, A. G., Zurawski, Z., Hamm, H. E., & Grueter, B. A. (2019). Heterosynaptic GABA B Receptor Function within Feedforward Microcircuits Gates Glutamatergic Transmission in the Nucleus Accumbens Core. *The Journal of Neuroscience: The Official*

- Journal of the Society for Neuroscience, 39(47), 9277–9293. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1395-19.2019>
- Maragos, W. F., Greenamyre, J. T., Penney, J. B., & Young, A. B. (1987). Glutamate dysfunction in Alzheimer's disease: an hypothesis. *Trends in Neurosciences*, 10(2), 65–68. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(87\)90025-7](https://doi.org/10.1016/0166-2236(87)90025-7)
- Marczynski, T. J. (1995). GABAergic deafferentation hypothesis of brain aging and Alzheimer's disease; pharmacologic profile of the benzodiazepine antagonist, flumazenil. *Reviews in the Neurosciences*, 6(3), 221–258. <https://doi.org/10.1515/REVNEURO.1995.6.3.221>
- Marczynski, T. J. (1998). GABAergic deafferentation hypothesis of brain aging and Alzheimer's disease revisited. *Brain Research Bulletin*, 45(4), 341–379. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(97\)00347-X](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(97)00347-X)
- Margeta-Mitrovic, M., Jan, Y. N., & Jan, L. Y. (2001). Function of GB1 and GB2 subunits in G protein coupling of GABA(B) receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(25), 14649–14654. <https://doi.org/10.1073/PNAS.251554498>
- Masters, C. L., Bateman, R., Blennow, K., Rowe, C. C., Sperling, R. A., & Cummings, J. L. (2015). Alzheimer's disease. *Nature Reviews. Disease Primers*, 1. <https://doi.org/10.1038/NRDP.2015.56>
- Matsunaga, S., Kishi, T., & Iwata, N. (2015). Memantine monotherapy for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *PloS One*, 10(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0123289>
- Mavroudis, I., Petridis, F., Kazis, D., Njau, S. N., Costa, V., & Baloyannis, S. J. (2019). Purkinje Cells Pathology in Alzheimer's Disease. *American Journal of Alzheimer's Disease and Other Dementias*, 34(7–8), 439–449. <https://doi.org/10.1177/1533317519859200>
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., & Stadlan, E. M. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, 34(7), 939–944. <https://doi.org/10.1212/WNL.34.7.939>
- Mirra, S. S., Heyman, A., McKeel, D., Sumi, S. M., Crain, B. J., Brownlee, L. M., Vogel, F. S., Hughes, J. P., van Belle, G., Berg, L., Ball, M. J., Bierer, L. M., Claasen, D., Hansen, L. R., Hart, M., Hedreen, J., Baltimore, B., Hen Derson, V., Hyman, B. T., ... Terry, R. D. (1991). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*, 41(4), 479–486. <https://doi.org/10.1212/WNL.41.4.479>
- Mizukami, K., Ikonovic, M. D., Grayson, D. R., Sheffield, R., & Armstrong, D. M. (1998). Immunohistochemical study of GABAA receptor alpha1 subunit in the hippocampal formation of aged brains with Alzheimer-related neuropathologic changes. *Brain Research*, 799(1), 148–155. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(98\)00437-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(98)00437-5)
- Mochizuki, Y. ; O. M. ; H. M. ; T. T. (1996). Amino acid concentration in dementia of the Alzheimer type and multi-infarct dementia . *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 26(3), 275–278. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8726221/>
- Montine, T. J., Phelps, C. H., Beach, T. G., Bigio, E. H., Cairns, N. J., Dickson, D. W., Duyckaerts, C., Frosch, M. P., Masliah, E., Mirra, S. S., Nelson, P. T., Schneider, J. A., Thal, D. R., Trojanowski, J. Q., Vinters, H. v., & Hyman, B. T. (2012). National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: a practical approach. *Acta Neuropathologica*, 123(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/S00401-011-0910-3>
- Morris, R. G. M. (2013). NMDA receptors and memory encoding. *Neuropharmacology*, 74, 32–40. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2013.04.014>
- Mountjoy, C. Q., Rossor, M. N., Iversen, L. L., & Roth, M. (1984). Correlation of cortical cholinergic and GABA deficits with quantitative neuropathological findings in senile dementia.

- Brain: A Journal of Neurology, 107 (Pt 2)(2), 507–518. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/107.2.507>
- Murphy, M. P., & Levine, H. (2010). Alzheimer's disease and the amyloid-beta peptide. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 19(1), 311–323. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1221>
- Nägga, K., Bogdanovic, N., & Marcusson, J. (1999). GABA transporters (GAT-1) in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 106(11–12), 1141–1149. <https://doi.org/10.1007/S007020050230>
- Nakazawa, K., McHugh, T. J., Wilson, M. A., & Tonegawa, S. (2004). NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5(5), 361–372. <https://doi.org/10.1038/NRN1385>
- Nelson, D. L.; C. M. M. (2021). *Lehninger Principles of Biochemistry* (8th ed.).
- Nilsson, L., Nordberg, A., Hardy, J., Wester, P., & Winblad, B. (1986). Physostigmine restores 3H-acetylcholine efflux from Alzheimer brain slices to normal level. *Journal of Neural Transmission*, 67(3–4), 275–285. <https://doi.org/10.1007/BF01243353>
- Nugent, F. S., Niehaus, J. L., & Kauer, J. A. (2009). PKG and PKA signaling in LTP at GABAergic synapses. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(7), 1829–1842. <https://doi.org/10.1038/NPP.2009.5>
- O'Brien, R. J., & Wong, P. C. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annual Review of Neuroscience*, 34, 185–204. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-NEURO-061010-113613>
- Oishi, M.; M. Y.; Y. H.; T. T.; N. E. (1996). Laboratory examinations correlated with severity of dementia. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 26(4), 340–345. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8800434/>
- Olgiati, V. R., Netti, C., Guidobono, F., & Pecile, A. (1980). The central GABAergic system and control of food intake under different experimental conditions. *Psychopharmacology*, 68(2), 163–167. <https://doi.org/10.1007/BF00432135>
- Olianas, M. C., & Onali, P. (1999). GABA(B) receptor-mediated stimulation of adenylyl cyclase activity in membranes of rat olfactory bulb. *British Journal of Pharmacology*, 126(3), 657–664. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJP.0702349>
- Olsen, R. W., & Sieghart, W. (2008). International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of gamma-aminobutyric acid(A) receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. *Pharmacological Reviews*, 60(3), 243–260. <https://doi.org/10.1124/PR.108.00505>
- Otis, T. S., de Koninck, Y., & Mody, I. (1993). Characterization of synaptically elicited GABAB responses using patch-clamp recordings in rat hippocampal slices. *The Journal of Physiology*, 463(1), 391–407. <https://doi.org/10.1113/JPHYSIOL.1993.SP019600>
- Page, M. J., Moher, D., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A., Brennan, S. E., Chou, R., Glanville, J., Grimshaw, J. M., Hróbjartsson, A., Lalu, M. M., Li, T., Loder, E. W., Mayo-Wilson, E., Mcdonald, S., ... Mckenzie, J. E. (2021). PRISMA 2020 explanation and elaboration: updated guidance and exemplars for reporting systematic reviews. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 372. <https://doi.org/10.1136/BMJ.N160>
- Paine, T. A., Chang, S., & Poyle, R. (2020). Contribution of GABA A receptor subunits to attention and social behavior. *Behavioural Brain Research*, 378. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2019.112261>
- Palmer, A. M., & Gershon, S. (1990). Is the neuronal basis of Alzheimer's disease cholinergic or glutamatergic? *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 4(10), 2745–2752. <https://doi.org/10.1096/FASEBJ.4.10.2165009>
- Pascual, B.; P. E.; M.-C. J.; L. JA.; Q. G.; P. I.; M. J. (2011). Decreased Medial Temporal GABA-A Binding on C-11-Flumazenil PET in Early Alzheimer Disease. *Neurology*, 76(9), 177–177.

- Perry, E. K., Atack, J. R., Perry, R. H., Hardy, J. A., Dodd, P. R., Edwardson, J. A., Blessed, G., Tomlinson, B. E., & Fairbairn, A. F. (1984). Intralaminar neurochemical distributions in human midtemporal cortex: comparison between Alzheimer's disease and the normal. *Journal of Neurochemistry*, 42(5), 1402–1410. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.1984.TB02801.X>
- Perry, E. K., Gibson, P. H., Blessed, G., Perry, R. H., & Tomlinson, B. E. (1977). Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia. Choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue. *Journal of the Neurological Sciences*, 34(2), 247–265. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(77\)90073-9](https://doi.org/10.1016/0022-510X(77)90073-9)
- Pomara, N., Deptula, D., Galloway, M. P., LeWitt, P. A., & Stanley, M. (1989). CSF GABA in caregiver spouses of Alzheimer patients. *The American Journal of Psychiatry*, 146(6), 787–788. <https://doi.org/10.1176/AJP.146.6.787>
- Procter, A. W., Lowe, S. L., Palmer, A. M., Francis, P. T., Esiri, M. M., Stratmann, G. C., Najlerahim, A., Patel, A. J., Hunt, A., & Bowen, D. M. (1988). Topographical distribution of neurochemical changes in Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 84(2–3), 125–140. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(88\)90118-9](https://doi.org/10.1016/0022-510X(88)90118-9)
- Reinikainen, K. J., Soininen, H., & Riekkinen, P. J. (1990). Neurotransmitter changes in Alzheimer's disease: implications to diagnostics and therapy. *Journal of Neuroscience Research*, 27(4), 576–586. <https://doi.org/10.1002/JNR.490270419>
- Reisberg, B., Doody, R., Stöffler, A., Schmitt, F., Ferris, S., & Möbius, H. J. (2003). Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 348(14), 1333–1341. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA013128>
- Ren, S. Q., Yao, W., Yan, J. Z., Jin, C., Yin, J. J., Yuan, J., Yu, S., & Cheng, Z. (2018). Amyloid β causes excitation/inhibition imbalance through dopamine receptor 1-dependent disruption of fast-spiking GABAergic input in anterior cingulate cortex. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-017-18729-5>
- Robbins, M. J., Calver, A. R., Filippov, A. K., Hirst, W. D., Russell, R. B., Wood, M. D., Nasir, S., Couve, A., Brown, D. A., Moss, S. J., & Pangalos, M. N. (2001). GABA(B2) is essential for g-protein coupling of the GABA(B) receptor heterodimer. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(20), 8043–8052. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-20-08043.2001>
- Rossor, M. N., Garrett, N. J., Johnson, A. L., Mountjoy, C. Q., Roth, M., & Iversen, L. L. (1982). A post-mortem study of the cholinergic and GABA systems in senile dementia. *Brain: A Journal of Neurology*, 105(Pt 2), 313–330. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/105.2.313>
- Rossor, M. N., Iversen, L. L., Reynolds, G. P., Mountjoy, C. Q., & Roth, M. (1984). Neurochemical characteristics of early and late onset types of Alzheimer's disease. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 288(6422), 961–964. <https://doi.org/10.1136/BMJ.288.6422.961>
- Rothstein, J. D., Martin, L. J., & Kuncl, R. W. (1992). Decreased glutamate transport by the brain and spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. *The New England Journal of Medicine*, 326(22), 1464–1468. <https://doi.org/10.1056/NEJM199205283262204>
- Rylett, R. J., Ball, M. J., & Colhoun, E. H. (1983). Evidence for high affinity choline transport in synaptosomes prepared from hippocampus and neocortex of patients with Alzheimer's disease. *Brain Research*, 289(1–2), 169–175. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90017-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90017-3)
- Sasaki, H., Muramoto, O., Kanazawa, I., Arai, H., Kosaka, K., & Iizuka, R. (1986a). Regional distribution of amino acid transmitters in postmortem brains of presenile and senile dementia of Alzheimer type. *Annals of Neurology*, 19(3), 263–269. <https://doi.org/10.1002/ANA.410190307>
- Sasaki, H., Muramoto, O., Kanazawa, I., Arai, H., Kosaka, K., & Iizuka, R. (1986b). Regional distribution of amino acid transmitters in postmortem brains of presenile and senile dementia of Alzheimer type. *Annals of Neurology*, 19(3), 263–269. <https://doi.org/10.1002/ANA.410190307>

- Schmidt, M. J., & Mirnics, K. (2015). Neurodevelopment, GABA system dysfunction, and schizophrenia. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 40(1), 190–206. <https://doi.org/10.1038/NPP.2014.95>
- Schmitz, T. W., Correia, M. M., Ferreira, C. S., Prescott, A. P., & Anderson, M. C. (2017). Hippocampal GABA enables inhibitory control over unwanted thoughts. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-017-00956-Z>
- Schousboe, A., Bak, L. K., & Waagepetersen, H. S. (2013). Astrocytic Control of Biosynthesis and Turnover of the Neurotransmitters Glutamate and GABA. *Frontiers in Endocrinology*, 4(AUG). <https://doi.org/10.3389/FENDO.2013.00102>
- Schwab, C., Yu, S., Wong, W., McGeer, E. G., & McGeer, P. L. (2013). GAD65, GAD67, and GABAT immunostaining in human brain and apparent GAD65 loss in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 33(4), 1073–1088. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-121330>
- Schwenk, J., Metz, M., Zolles, G., Turecek, R., Fritzius, T., Bildl, W., Tarusawa, E., Kulik, A., Unger, A., Ivankova, K., Seddik, R., Tiao, J. Y., Rajalu, M., Trojanova, J., Rohde, V., Gassmann, M., Schulte, U., Fakler, B., & Bettler, B. (2010). Native GABA(B) receptors are heteromultimers with a family of auxiliary subunits. *Nature*, 465(7295), 231–235. <https://doi.org/10.1038/NATURE08964>
- Scimemi, A. (2014). Structure, function, and plasticity of GABA transporters. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8(JUN). <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2014.00161>
- Sedvall, G.; N. H.; F. L.; P. A. (1987). Neurotransmitter receptor imaging in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 24, 43–48. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2824693/>
- Seidl, R., Cairns, N., Singewald, N., Kaehler, S. T., & Lubec, G. (2001). Differences between GABA levels in Alzheimer's disease and Down syndrome with Alzheimer-like neuropathology. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 363(2), 139–145. <https://doi.org/10.1007/S002100000346>
- Sernagor, E., Chabrol, F., Bony, G., & Cancedda, L. (2010). GABAergic control of neurite outgrowth and remodeling during development and adult neurogenesis: general rules and differences in diverse systems. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 4(APR). <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2010.00011>
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E., & Hyman, B. T. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A006189>
- Sevigny, J., Chiao, P., Bussière, T., Weinreb, P. H., Williams, L., Maier, M., Dunstan, R., Salloway, S., Chen, T., Ling, Y., O'Gorman, J., Qian, F., Arastu, M., Li, M., Chollate, S., Brennan, M. S., Quintero-Monzon, O., Scannevin, R. H., Arnold, H. M., ... Sandrock, A. (2016). The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature*, 537(7618), 50–56. <https://doi.org/10.1038/NATURE19323>
- Shen, C., Mao, C., Xu, C., Jin, N., Zhang, H., Shen, D. D., Shen, Q., Wang, X., Hou, T., Chen, Z., Rondard, P., Pin, J. P., Zhang, Y., & Liu, J. (2021). Structural basis of GABA B receptor-G i protein coupling. *Nature*, 594(7864), 594–598. <https://doi.org/10.1038/S41586-021-03507-1>
- Sieghart, W., Fuchs, K., Tretter, V., Ebert, V., Jechlinger, M., Höger, H., & Adamiker, D. (1999). Structure and subunit composition of GABA(A) receptors. *Neurochemistry International*, 34(5), 379–385. [https://doi.org/10.1016/S0197-0186\(99\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S0197-0186(99)00045-5)
- Sieghart, W., & Savic, M. M. (2018). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CVI: GABA A Receptor Subtype- and Function-selective Ligands: Key Issues in Translation to Humans. *Pharmacological Reviews*, 70(4), 836–878. <https://doi.org/10.1124/PR.117.014449>
- Sieghart, W., & Sperk, G. (2002). Subunit composition, distribution and function of GABA(A) receptor subtypes. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2(8), 795–816. <https://doi.org/10.2174/1568026023393507>

- Sims, N. R., Bowen, D. M., Allen, S. J., Smith, C. C. T., Neary, D., Thomas, D. J., & Davison, A. N. (1983). Presynaptic cholinergic dysfunction in patients with dementia. *Journal of Neurochemistry*, 40(2), 503–509. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.1983.TB11311.X>
- Smith, C. C. T., Bowen, D. M., Francis, P. T., Snowden, J. S., & Neary, D. (1985). Putative amino acid transmitters in lumbar cerebrospinal fluid of patients with histologically verified Alzheimer's dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 48(5), 469–471. <https://doi.org/10.1136/JNNP.48.5.469>
- Smith, C. C. T., Bowen, D. M., Sims, N. R., Neary, D., & Davison, A. N. (1983). Amino acid release from biopsy samples of temporal neocortex from patients with Alzheimer's disease. *Brain Research*, 264(1), 138–141. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)91131-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)91131-9)
- Snowden, S. G., Ebshiana, A. A., Hye, A., Pletnikova, O., O'Brien, R., Yang, A., Troncoso, J., Legido-Quigley, C., & Thambisetty, M. (2019). Neurotransmitter Imbalance in the Brain and Alzheimer's Disease Pathology. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 72(1), 35–43. <https://doi.org/10.3233/JAD-190577>
- Sodickson, D. L., & Bean, B. P. (1996). GABAB receptor-activated inwardly rectifying potassium current in dissociated hippocampal CA3 neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(20), 6374–6385. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-20-06374.1996>
- Soghomonian, J. J., & Martin, D. L. (1998). Two isoforms of glutamate decarboxylase: why? *Trends in Pharmacological Sciences*, 19(12), 500–505. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(98\)01270-X](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(98)01270-X)
- Struble, R. G., Cork, L. C., Whitehouse, P. J., & Price, D. L. (1982). Cholinergic innervation in neuritic plaques. *Science (New York, N.Y.)*, 216(4544), 413–415. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.6803359>
- Summers, W. K., Majovski, L. V., Marsh, G. M., Tachiki, K., & Kling, A. (1986). Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia, Alzheimer type. *The New England Journal of Medicine*, 315(20), 1241–1245. <https://doi.org/10.1056/NEJM198611133152001>
- Tagliavini, F., Tiraboschi, P., & Federico, A. (2021). Alzheimer's disease: the controversial approval of Aducanumab. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 42(8), 3069–3070. <https://doi.org/10.1007/S10072-021-05497-4>
- Terry, A. v., & Buccafusco, J. J. (2003). The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306(3), 821–827. <https://doi.org/10.1124/JPET.102.041616>
- Testi, S., Peluso, S., Fabrizi, G. M. aria, Antenora, A., Russo, C. V. aleria, Pappatà, S., Padovani, A., Ferrarini, M., & Filla, A. (2014). A novel PSEN1 mutation in a patient with sporadic early-onset Alzheimer's disease and prominent cerebellar ataxia. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 41(3), 709–714. <https://doi.org/10.3233/JAD-140081>
- Thal, D. R., Rüb, U., Orantes, M., & Braak, H. (2002). Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*, 58(12), 1791–1800. <https://doi.org/10.1212/WNL.58.12.1791>
- Tian, J., & Zhu, M. X. (2018). GABA B Receptors Augment TRPC3-Mediated Slow Excitatory Postsynaptic Current to Regulate Cerebellar Purkinje Neuron Response to Type-1 Metabotropic Glutamate Receptor Activation. *Cells*, 7(8). <https://doi.org/10.3390/CELLS7080090>
- Tohgi, H., Abe, T., Takahashi, S., & Kimura, M. (1992). A selective reduction of excitatory amino acids in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer type dementia compared with vascular dementia of the Binswanger type. *Neuroscience Letters*, 141(1), 5–8. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(92\)90321-W](https://doi.org/10.1016/0304-3940(92)90321-W)

- Tosca, P., Canevari, L., Paolo, E. di, Ferrari, R., Verzé, S., Zerbi, F., & Dagani, F. (1992). Glutamate and GABA levels in CSF from patients affected by dementia and olivo-ponto-cerebellar atrophy. *Acta Neurologica Scandinavica*, 85(6), 430–435. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0404.1992.TB06042.X>
- Vigot, R., Barbieri, S., Bräuner-Osborne, H., Turecek, R., Shigemoto, R., Zhang, Y. P., Luján, R., Jacobson, L. H., Biermann, B., Fritschy, J. M., Vacher, C. M., Müller, M., Sansig, G., Guetg, N., Cryan, J. F., Kaupmann, K., Gassmann, M., Oertner, T. G., & Bettler, B. (2006). Differential compartmentalization and distinct functions of GABAB receptor variants. *Neuron*, 50(4), 589–601. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2006.04.014>
- Varela, E., Etter, G., & Williams, S. (2019). Excitatory-inhibitory imbalance in Alzheimer's disease and therapeutic significance. *Neurobiology of Disease*, 127, 605–615. <https://doi.org/10.1016/J.NBD.2019.04.010>
- Vossel, K. A., Beagle, A. J., Rabinovici, G. D., Shu, H., Lee, S. E., Naasan, G., Hegde, M., Cornes, S. B., Henry, M. L., Nelson, A. B., Seeley, W. W., Geschwind, M. D., Gorno-Tempini, M. L., Shih, T., Kirsch, H. E., Garcia, P. A., Miller, B. L., & Mucke, L. (2013). Seizures and epileptiform activity in the early stages of Alzheimer disease. *JAMA Neurology*, 70(9), 1158–1166. <https://doi.org/10.1001/JAMANEUROL.2013.136>
- Wang, R., & Reddy, P. H. (2017). Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 57(4), 1041–1048. <https://doi.org/10.3233/JAD-160763>
- Weiner, M. F., Speciale, S. G., Risser, R. C., Kramer, G. L., & Petty, F. (1996). Cerebrospinal fluid and plasma gamma-aminobutyric acid in Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*, 40(9), 933–934. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(96\)00305-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(96)00305-8)
- Wellendorph, P., Jacobsen, J., Skovgaard-Petersen, J., Jurik, A., Vogensen, S. B., Ecker, G., Schousboe, A., Krogsgaard-Larsen, P., & Clausen, R. P. (2017). γ -Aminobutyric Acid and Glycine Neurotransmitter Transporters. 69–106. <https://doi.org/10.1002/9783527679430.CH4>
- Wenk, G. L. (2006). Neuropathologic Changes in Alzheimer's Disease: Potential Targets for Treatment. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 3–7. <https://www.psychiatrist.com/pcc/neurologic/dementia/neuropathologic-changes-alzheimers-disease-potential/>
- White, J. H., Wise, A., Main, M. J., Green, A., Fraser, N. J., Disney, G. H., Barnes, A. A., Emson, P., Foord, S. M., & Marshall, F. H. (1998). Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA(B) receptor. *Nature*, 396(6712), 679–682. <https://doi.org/10.1038/25354>
- Whitehouse, P. J., Price, D. L., Struble, R. G., Clark, A. W., Coyle, J. T., & DeLong, M. R. (1982). Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science (New York, N.Y.)*, 215(4537), 1237–1239. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.7058341>
- Wilcock, G. K., Esiri, M. M., Bowen, D. M., & Smith, C. C. T. (1982). Alzheimer's disease. Correlation of cortical choline acetyltransferase activity with the severity of dementia and histological abnormalities. *Journal of the Neurological Sciences*, 57(2–3), 407–417. [https://doi.org/10.1016/0022-510X\(82\)90045-4](https://doi.org/10.1016/0022-510X(82)90045-4)
- Wu, Z., Guo, Z., Gearing, M., & Chen, G. (2014). Tonic inhibition in dentate gyrus impairs long-term potentiation and memory in an Alzheimer's [corrected] disease model. *Nature Communications*, 5. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS5159>
- Xu, Y., Zhao, M., Han, Y., & Zhang, H. (2020). GABAergic Inhibitory Interneuron Deficits in Alzheimer's Disease: Implications for Treatment. *Frontiers in Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2020.00660>
- Yamada, K., Yu, B., & Gallagher, J. P. (1999). Different subtypes of GABAB receptors are present at pre- and postsynaptic sites within the rat dorsolateral septal nucleus. *Journal of Neurophysiology*, 81(6), 2875–2883. <https://doi.org/10.1152/JN.1999.81.6.2875>

- Yeung, L. Y., Kung, H. F., & Yew, D. T. (2010). Localization of 5-HT1A and 5-HT2A positive cells in the brainstems of control age-matched and Alzheimer individuals. *Age* (Dordrecht, Netherlands), 32(4), 483–495. <https://doi.org/10.1007/S11357-010-9152-X>
- Yew, D. T., Li, W. P., Webb, S. E., Lai, H. W. L., & Zhang, L. (1999). Neurotransmitters, peptides, and neural cell adhesion molecules in the cortices of normal elderly humans and Alzheimer patients: a comparison. *Experimental Gerontology*, 34(1), 117–133. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(98\)00017-5](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(98)00017-5)
- Yu, B., Yamada, K., & Gallagher, J. P. (1999). GABA(B) auto- versus hetero-receptor sensitivity: implications for novel pharmacotherapy. *Neuropharmacology*, 38(11), 1805–1809. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(99\)00120-3](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(99)00120-3)
- Zhang, B., Vogelzang, A., Miyajima, M., Sugiura, Y., Wu, Y., Chamoto, K., Nakano, R., Hatae, R., Menzies, R. J., Sonomura, K., Hojo, N., Ogawa, T., Kobayashi, W., Tsutsui, Y., Yamamoto, S., Maruya, M., Narushima, S., Suzuki, K., Sugiya, H., ... Fagarasan, S. (2021). B cell-derived GABA elicits IL-10 + macrophages to limit anti-tumour immunity. *Nature*, 599(7885), 471–476. <https://doi.org/10.1038/S41586-021-04082-1>
- Zhang, H., Zhang, L., Zhou, D., He, X., Wang, D., Pan, H., Zhang, X., Mei, Y., Qian, Q., Zheng, T., Jones, F. E., & Sun, B. (2017). Ablating ErbB4 in PV neurons attenuates synaptic and cognitive deficits in an animal model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 106, 171–180. <https://doi.org/10.1016/J.NBD.2017.07.001>
- Zhang, Y., Liu, Z., Ji, B., Liu, L., Wu, S., Liu, X., Wang, S., & Wang, L. (2019). Metabolite Profile of Alzheimer's Disease in the Frontal Cortex as Analyzed by HRMAS 1 H NMR. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10(JAN). <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2018.00424>
- Zheng, J., Li, H. L., Tian, N., Liu, F., Wang, L., Yin, Y., Yue, L., Ma, L., Wan, Y., & Wang, J. Z. (2020). Interneuron Accumulation of Phosphorylated tau Impairs Adult Hippocampal Neurogenesis by Suppressing GABAergic Transmission. *Cell Stem Cell*, 26(3), 331-345.e6. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2019.12.015>
- Zilles, K. ; Q. M. ; S. A. ; S. M. ; K. M. ; W. O. W. (1995). Plasticity and neurotransmitter receptor changes in Alzheimer's disease and experimental cortical infarcts . *Arzneimittelforschung*, 45(3A), 361–366. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7763327/>
- Zimmer, R., Teelken, A. W., Trieling, W. B., Weber, W., Weihmayr, T., & Lauter, H. (1984). Gamma-aminobutyric acid and homovanillic acid concentration in the CSF of patients with senile dementia of Alzheimer's type. *Archives of Neurology*, 41(6), 602–604. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.1984.04210080010005>
- Zurawski, Z., Yim, Y. Y., Alford, S., & Hamm, H. E. (2019). The expanding roles and mechanisms of G protein-mediated presynaptic inhibition. *The Journal of Biological Chemistry*, 294(5), 1661–1670. <https://doi.org/10.1074/JBC.TM118.004163>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diagrama de fluxo da seleção dos estudos.....	33
Figura 2 – Resultados das sínteses do parâmetro GABA.....	38
Figura 3 – Resultados das sínteses do parâmetro receptor GABA _A	39
Figura 4 – Resultados das sínteses do parâmetro receptor GABA _A (subunidades).....	39
Figura 5 – Resultados das sínteses do parâmetro GAD65.....	40
Figura 6 – Resultados das sínteses do parâmetro transportadores de GABA.....	40
Figura 7 – Resumo dos resultados.....	41
Figura 8 – Risco de viés na síntese do grupo “GABA córtex temporal”.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos estudos.....	35
Tabela 2 – Resultados das sínteses.....	36
Tabela 3 – Comparação dos resultados obtidos nesta meta-análise com os resultados individuais dos estudos na literatura.....	46