



MASTERARBEIT | MASTER'S THESIS

Titel | Title

Der Einfluss von Octansäure auf die elektrophysiologischen
Eigenschaften von GABAA-Rezeptoren

verfasst von | submitted by

Julia Li BSc

angestrebter akademischer Grad | in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra pharmaciae (Mag. pharm.)

Wien | Vienna, 2025

Studienkennzahl lt. Studienblatt | Degree
programme code as it appears on the
student record sheet:

UA 066 605

Studienrichtung lt. Studienblatt | Degree
programme as it appears on the student
record sheet:

Masterstudium Pharmazie

Betreut von | Supervisor:

Klaus Schicker

Abstract

GABA_A-receptors are ligand-gated chloride channels that are essential for inhibitory neurotransmission in the central nervous system. The receptor's functional, pharmacological and physiological characteristics are highly determined by the composition of its five subunits. GABA_A receptors may consist of α , β , γ , δ , ρ , ϵ or π subunits. δ -containing receptors are extrasynaptically located and mediate tonic inhibition. By contrast γ 2-containing receptors are mainly synaptic and mediate rapid, phasic inhibition.

Essential tremor is one of the most prevalent movement disorders and it is increasingly linked to GABAergic system dysfunction, especially in the cerebellum. As a result, substances that positively alter GABA_A-receptor function are thought to be therapeutic candidates. Ethanol is known to alleviate tremor symptoms. However, it has addictive properties and has been linked to harmful effects on various organs. Octanoic acid, a medium-chain fatty acid, represents a potential alternative that may offer a more favorable safety profile.

The aim of this study was to determine how octanoic acid affects different types of GABA_A-receptor subtypes using the whole-cell patch-clamp technique. For this reason, α 6 β 3 γ 2, α 4 β 3 γ 2, α 6 β 3 δ and α 1 β 3 γ 2 receptors were heterologously expressed in tSA201 cells. First, the effects of five concentrations of GABA (0,03, 0,03, 3, 30 and 300 μ M) were recorded in the absence of octanoic acid and then in the presence of 200 μ M octanoic acid. There was no evidence of potentiation of GABA-induced currents, which was contrary to the original hypothesis. In fact, most receptors showed a significant reduction of both the peak current amplitudes and the area under the curve. The only exception was the α 6 β 3 δ receptor composition, where currents remained relatively stable. Another aim was to investigate whether receptors containing the γ 2s subunit and those with the δ subunit differ functionally. There was a significant difference: γ 2s subunit-containing receptors showed greater current amplitudes and showed greater desensitization than δ -containing receptors.

These results suggest that, in the experimental setup used in this study, octanoic acid does not cause positive allosterism on different GABA_A-receptor compositions. Poor water-solubility, lipophilic aggregate formation, membrane disruption or a lack of metabolic activation in vitro are some possible explanations. Given its possible significance in the context of essential tremor, the α 6 β 3 δ receptor, which was unaffected, requires additional research. To better evaluate the pharmacological potential of octanoic acid, future research should also consider different formulations like sodium caprylate, lower concentrations, and more physiologically relevant cellular models.

Zusammenfassung

Der GABA_A-Rezeptor ist ein ligandengesteuerter Chloridkanal und ist maßgeblich für die inhibitorische Signalübertragung im zentralen Nervensystem zuständig. Er ist ein Pentamer und kann aus fünf Untereinheiten bestehend aus α , β , γ , δ , ρ , ϵ oder π -Untereinheiten aufgebaut sein. Diese Untereinheiten bestimmen nicht nur physiologische und pharmakologische Eigenschaften, sondern auch die Lokalisation der Rezeptoren. Während γ 2-haltige Rezeptoren vorwiegend an synaptischen Membranen lokalisiert sind und eine schnelle, phasische Inhibition vermitteln, findet man δ -haltige Rezeptoren extrasynaptisch, wo sie eine tonische Inhibition vermitteln.

Der essentielle Tremor zählt zu den häufigsten Bewegungsstörungen weltweit und betrifft etwa 1% der Bevölkerung. Im Rahmen der Pathophysiologie dieser Erkrankung werden Störungen im GABAergen System diskutiert. Dabei hat das Kleinhirn in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen.

Ethanol verursacht bei etwa 75% der Patient:innen mit essentiellen Tremor eine vorübergehende Linderung der Symptome, die wahrscheinlich auf eine Verstärkung der GABAergen Transmission zurückzuführen ist. Ethanol wirkt jedoch berauschend, ist mit einem Abhängigkeitspotenzial verbunden und kann zu Organschäden führen. Als Alternative wird Octansäure diskutiert, da sie dem tremorlindernden 1-Octanol strukturell ähnelt und im Körper aus 1-Octanol metabolisiert wird. Octansäure zählt zu den mittelkettigen Fettsäuren.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung von Octansäure auf GABA_A-Kanälen menschlichen elektrophysiologisch zu untersuchen. Hierzu wurden in tsA201-Zellen, einer Unterlinie der embryonalen Nierenzellen, fünf verschiedene Rezeptorkombinationen (α 6 β 3 γ 2, α 4 β 3 γ 2, α 6 β 3 δ , α 4 β 3 δ und α 1 β 3 γ 2) mittels des Patch-Clamp-Verfahrens analysiert. Dieses Verfahren erlaubt die gezielte Messung von Ionenströmen durch einzelne Ionenkanäle oder ganze Zellmembranen. Eine GABA-Konzentrationsreihe wurde in ansteigender Reihenfolge in Abwesenheit von Octansäure und eine in Anwesenheit von 200 Mikromolar Octansäure aufgenommen. Das Ziel bestand darin, zu untersuchen, ob und wie Octansäure die Ströme verändert. Die Ergebnisse zeigten keine Verstärkung der GABA-vermittelten Ströme. In den meisten Fällen kam es sogar zu einer Reduktion der Stromamplituden und -flächen. Nur beim α 6 β 3 δ -Rezeptor kam es nicht zu einer statistisch signifikanten Reduktion. Diese Befunde widersprechen der ursprünglichen Hypothese, die postuliert, dass Octansäure die GABA-vermittelten Ströme verstärkt. Mögliche Erklärungen sind eine unzureichende Löslichkeit von Octansäure, die zur Bildung öligter Aggregate und einer Beeinflussung der Zellmembran führt. Auch könnte das Fehlen von aktiven Metaboliten in vitro eine Rolle spielen.

Inhaltsverzeichnis

Abstract	iii
Zusammenfassung	iv
1 Einleitung	1
1.1 <i>GABA_A-Rezeptoren</i>	1
1.1.1 γ -Aminobuttersäure (GABA).....	2
1.1.2 GABA _B -Rezeptoren	4
1.1.3 Struktur von GABA _A -Rezeptoren.....	7
1.1.4 Funktion des GABA _A -Rezeptors.....	10
1.1.5 GABA _A -Rezeptoren als therapeutische Zielstruktur.....	17
1.2 <i>Der essentielle Tremor</i>	25
1.2.1 Definition und Abgrenzung von Tremorformen.....	25
1.2.2 Definition und klinisches Bild des essentiellen Tremors	26
1.2.3 Komorbiditäten.....	26
1.2.4 Epidemiologie und Ätiologie	27
1.2.5 Pathophysiologie des essentiellen Tremors	28
1.2.6 Nicht-pharmakologische Behandlungsmöglichkeiten.....	32
1.2.7 Pharmakologische Behandlungsmöglichkeiten.....	33
1.3 <i>Octansäure</i>	36
1.3.1 Chemische Struktur und physikochemische Eigenschaften	36
1.3.2 Vorkommen.....	36
1.3.3 Metabolismus.....	37
1.3.4 Physiologische Relevanz.....	37
1.3.5 Nebenwirkungen.....	38
1.3.6 Relevanz von Octansäure für die Pathophysiologie des essentiellen Tremors	39
1.4 <i>Zielsetzung der Studie</i>	41
2 Methoden	42
2.1 <i>Zellkultur</i>	42
2.2 <i>Elektrophysiologische Untersuchungen</i>	42
2.2.1 Die Patch-Clamp-Technik	42
2.2.2 Patch-Clamp Vorgehen	43
2.3 <i>Statistik und Auswertung</i>	44
3 Results	46

3.1	<i>GABA-Konzentrations-Wirkungskurven: γ2s- und δ-haltige Rezeptoren im Vergleich.....</i>	46
3.2	<i>GABA-Konzentrations-Wirkungskurven: mit und ohne Octansäure</i>	49
4	Diskussion	55
	Literaturverzeichnis	61
	Abbildungsverzeichnis	77
	Tabellenverzeichnis.....	82

1 Einleitung

1.1 GABA_A-Rezeptoren

GABA_A-Rezeptoren sind ligandengesteuerte Ionenkanäle, die hauptsächlich als Chloridkanäle fungieren und die zentralen inhibitorischen Neurotransmitterrezeptoren im Zentralnervensystem (ZNS) darstellen. Sie spielen eine maßgebliche Rolle bei der Aufrechterhaltung des Gleichgewichts zwischen neuronaler Erregung und Hemmung und sind essenziell für die physiologische Hirnaktivität (Olsen & Sieghart, 2009).

Ihr natürlicher Ligand, die γ -Aminobuttersäure (GABA), wurde 1950 von Roberts und Frankel erstmals als Substanz identifiziert, die im Gehirn in hohen Mengen vorkommt, während in anderen Geweben nur geringe Konzentrationen nachweisbar sind. Diese Ergebnisse deuteten auf eine spezielle Funktion von GABA im Zusammenhang mit der neuronalen Aktivität hin (ROBERTS & FRANKEL, 1950). Die hemmende Wirkung einer damals noch unbekanntes Substanz war bereits zuvor beschrieben und als „Faktor I“ bezeichnet worden. In Experimenten an Kriebtieren konnte gezeigt werden, dass diese Substanz bereits in geringen Konzentrationen die Impulsfrequenz des Dehnungsrezeptororgans der Tiere hemmt (Florey, 1954). Den ersten Hinweis, dass es sich bei „Faktor I“ um GABA handelt, lieferten Bazemore et al. im Jahr 1956. In ihren elektrophysiologischen Untersuchungen konnten sie zeigen, dass GABA eine hemmende Wirkung auf die neuronale Aktivität ausübt und ordneten „Faktor I“ GABA zu. Sie postulierten, dass GABA im ZNS als hemmender Neurotransmitter fungiert. Diese Hypothese war zunächst sehr umstritten, da zu diesem Zeitpunkt noch kaum Beweise vorlagen, die sie unterstützte (BAZEMORE et al., 1956). Eine spätere Studie zeigte mithilfe von radioaktiv markierten GABA, dass sich die Substanz spezifisch an synaptische Membranfragmente bindet. Diese Ergebnisse unterstützten die Rolle von GABA als Neurotransmitter (Enna & Snyder, 1975). In den 1960er Jahren konnte GABA mittels elektrophysiologischer Untersuchungen zunehmend als hemmender Neurotransmitter etabliert werden (Krnjević & Schwartz, 1967).

Neben den GABA_A-Rezeptoren unterscheidet man auch GABA_B-Rezeptoren, die metabotrope, G-Protein-gekoppelte Rezeptoren darstellen (siehe Kapitel 1.1.2). In der Literatur ist zudem oft die Rede von GABA_C-Rezeptoren, die wie die GABA_A-Rezeptoren ionotrop sind. Aufgrund ihrer Ähnlichkeiten werden sie heutzutage nicht mehr als eingeständige Rezeptorklasse gesehen, sondern als eine Untergruppe der GABA_A-Rezeptoren (Bryson et al., 2023). Alle Rezeptor-Typen werden durch GABA aktiviert, unterscheiden sich jedoch in ihrer Funktion. Ionotrope Rezeptoren vermitteln in der Regel eine

schnelle inhibitorische Neurotransmission, während metabotrope GABA_B-Rezeptoren eine langsamere, langanhaltende Wirkung erzeugen (Qian et al., 2023).

GABA_A-Rezeptoren sind vorwiegend an Neuronen des ZNS lokalisiert: sie kommen sowohl synaptisch als auch extrasynaptisch vor, können jedoch auch außerhalb des ZNS oder in nicht-neuronalen Stellen zu finden sein (Sallard et al., 2021).

Neben GABA wird der GABA_A-Rezeptor durch den Agonisten Muscimol aktiviert und durch die Antagonisten Bicucullin sowie Picrotoxin gehemmt (Olsen & Sieghart, 2009).

1.1.1 γ -Aminobuttersäure (GABA)

1.1.1.1 Allgemeines

GABA liegt im Gehirn überwiegend in freier, nicht protein-gebundener Form vor und entsteht durch die Decarboxylierung aus Glutamat (AWAPARA et al., 1950; ROBERTS & FRANKEL, 1950). Mithilfe von radioaktiv markierter Glutaminsäure (C¹⁴) konnte der direkte Einbau des Kohlenstoffgerüsts der Glutaminsäure in GABA nachgewiesen werden. Dieser Befund belegte den biosynthetischen Ursprung von GABA (ROBERTS & FRANKEL, 1950) und legte den Grundstein für die spätere Charakterisierung und Identifikation des Schlüsselenzyms, der Glutamat-Decarboxylase (GAD). Es wurde beobachtet, dass Hirnareale mit hoher GAD-Aktivität auch hohe GABA-Konzentrationen aufwiesen, was auf eine räumliche und funktionelle Kopplung zwischen GAD-Aktivität und GABAerge Transmission hindeutet (Albers & Brady, 1959).

GABA ist ein Aminosäurederivat mit einer Summenformel von C₄H₉NO₂ (s. Abb. 1.1) und besitzt eine molare Masse von 103,1 g/mol. Es stellt eine weißlich kristalline Substanz dar, die bei physiologischem pH-Wert als Zwitterion vorliegt. GABA ist sehr gut wasserlöslich und nicht flüchtig (Zhang et al., 2024).

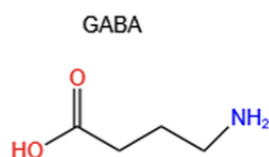


Abbildung 1.1 Strukturformel von GABA. Bei der γ -Aminobuttersäure handelt es sich um eine wasserlösliche Aminosäure und eine Monocarbonsäure. Die Aminogruppe befindet sich am γ -Kohlenstoffatom (Zhang et al., 2024). Abbildunglizenz: CC BY

1.1.1.2 Die Synthese von GABA: GABA-Shunt

Der Stoffwechselkreislauf, der sowohl die Synthese als auch den Abbau von GABA inkludiert wird „GABA shunt“ genannt und stellt einen alternativen Stoffwechselweg dar, der mit dem

Energiesystem der Zelle über den Citratzyklus verknüpft ist (s. Abb. 1.2). Dabei wird Glucose über Glykolyse und Citratzyklus zu α -Ketoglutarat metabolisiert, welches im nächsten Schritt über das Enzym Glutamat-Dehydrogenase (GDH) zu Glutamat umgewandelt wird. Anschließend katalysiert die Glutamat-Decarboxylase (GAD) die Reaktion von Glutamat zu GABA (s. Abb. 1.3) (Zhang et al., 2024).

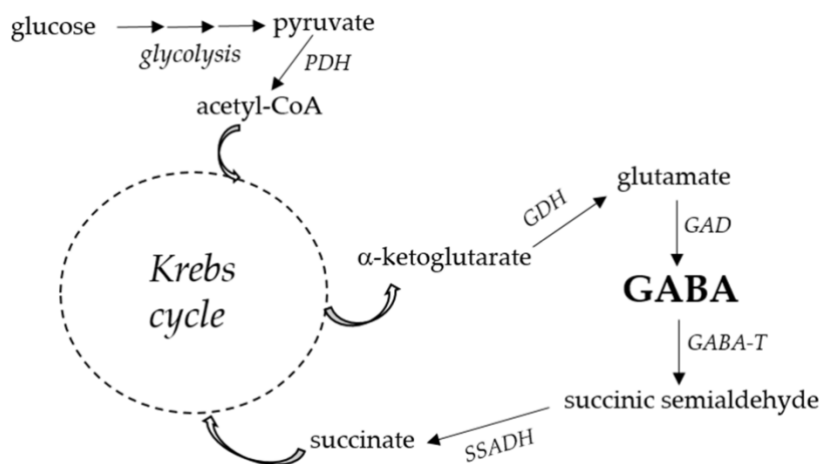


Abbildung 1.2 Schematische Darstellung des GABA-Shunts. Ein Stoffwechselkreislauf, der die Synthese und den Abbau des inhibitorischen Neurotransmitters γ -Aminobuttersäure mit dem Citratzyklus, auch Krebszyklus (engl. Krebs cycle) genannt, verknüpft. Er ermöglicht nicht nur die Bildung von GABA, sondern auch den Einschluss von Intermediaten in den Energiestoffwechsel (Zhang et al., 2024). Abkürzungen: PDH – Pyruvat-Dehydrogenase, GDH – Glutamat-Dehydrogenase, GAD – Glutamat-Decarboxylase, GABA-T – GABA-Transaminase, SSADH – Succinylsemialdehyd-Dehydrogenase. Abbildunglizenz: CC BY, (Iorizzo et al., 2023)

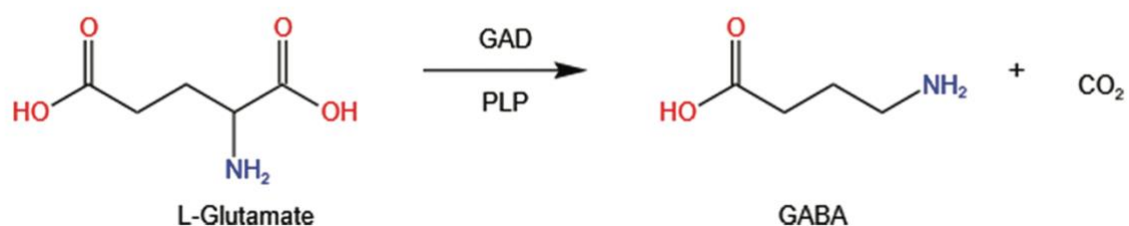


Abbildung 1.3 Schlüsselreaktion der GABA-Synthese: L-Glutamat (engl. L-Glutamate) wird durch das Enzym Glutamat-Decarboxylase (GAD) unter Mitwirkung von Pyridoxal-5-phosphat (PLP) decarboxyliert und es entsteht GABA und CO_2 (Zhang et al., 2024). Bildlizenz: CC BY

Das Enzym GAD liegt in den zwei Isoformen GAD67 und GAD65 vor. GAD67 ist in allen Teilen des Neurons gleichmäßig verteilt und liegt überwiegend in aktiver gesättigter Form vor, da der Cofaktor Pyridoxalphosphat nahezu vollständig gebunden ist. Diese Isoform ist wichtig für eine konstante GABA-Produktion. Im Gegensatz dazu findet sich die Isoform GAD65 hauptsächlich in den präsynaptischen Endigungen und ist nur teilweise mit Pyridoxalphosphat gesättigt. Sie

kann abhängig von der neuronalen Aktivität in die aktive Form überführt werden. Das Zusammenspiel der beiden Isoformen ermöglicht sowohl eine konstante als auch aktivitätsabhängige Regulation der GABA-Synthese (Kaufman et al., 1991).

Beim Abbau katalysiert das GABA-Transaminase Enzym die Reaktion von GABA zu Succinatsemialdehyd. α -Ketoglutarat dient dabei als Aminogruppenakzeptor und wird in diesem Prozess zu Glutamat umgewandelt. Im nächsten Schritt wird das entstandene Succinatsemialdehyd durch die Succinatsemialdehyd-Dehydrogenase (SSADH) zu Succinat oxidiert, welches wiederum in den Citratzyklus eingeschleust werden kann (s. Abb. 3). Dort kann es zur Energiegewinnung verwertet werden. Im weiteren Verlauf des Citratzyklus wird Succinat in mehreren Schritten wieder zu α -Ketoglutarat metabolisiert (Zhang et al., 2024). Diese Reaktion wurde erstmals 1953 nachgewiesen: einerseits indirekt durch die Messung von CO_2 , welches bei der Decarboxylierung von GABA zu Glutamat entsteht und andererseits direkt durch den chromatografischen Nachweis von Succinylsemialdehyd-Hydrazonen. Diese entstehen bei der Nachweisreaktion mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) und können chromatographisch sichtbar gemacht werden (Bessman et al., 1953).

Obwohl der „GABA-Shunt“ mit dem Citratzyklus verbunden ist, ist er energetisch weniger effizient. Es dient als Abwehrstrategie bei Störungen der Atmungskette oder bei geringer Effizienz des Citratzyklus. Im Rahmen des „GABA-Shunts“ entstehen Succinat und NADH, welches in der Elektronentransportkette zur ATP-Produktion beitragen kann. Die Hauptfunktion dieses alternativen Stoffwechselwegs liegt der Bereitstellung für GABA und nicht in der Energiegewinnung. Nur schätzungsweise 8-10% des Citratzyklus laufen über diesen alternativen Weg (Zhang et al., 2024).

1.1.2 GABA_B-Rezeptoren

Im Jahr 1980 konnte eine Forschungsgruppe erstmals zeigen, dass Rezeptoren existieren, die sowohl durch GABA als auch durch das GABA-Derivat Baclofen aktiviert werden können. Anders als GABA_A-Rezeptoren reagierten diese jedoch nicht auf Bicucullin. Das war ein Hinweis auf einen damals noch unbekanntem, neuen GABA-Rezeptor. Dieser wurde später als GABA_B-Rezeptor klassifiziert (Bowery et al., 2002; Hill & Bowery, 1981). Im Gegensatz zu GABA_A-Rezeptoren handelt es sich bei GABA_B-Rezeptoren um metabotrope, G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Sie modulieren Calcium- sowie Kaliumkanäle und entfalten ihre Wirkung über intrazelluläre Signalwege, indem sie Second-Messenger-Systeme aktivieren und die Aktivität der Adenylylcyclase hemmen (Bowery et al., 2002; Evenseth et al., 2020). GABA_B-Rezeptoren gehören zur Klasse C der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Zu dieser Gruppe zählen auch die metabotropen Glutamat-Rezeptoren oder Geschmacksrezeptoren vom Typ 1 (Evenseth et al., 2020).

Die Aktivierung der Rezeptoren führt zur präsynaptischen Hemmung von spannungsabhängigen Calciumkanälen, wodurch der Calcium-Einstrom und die Vesikelfusion verringert werden. In weiterer Folge wird die Freisetzung von Neurotransmittern wie z.B. Glutamat gehemmt. Postsynaptisch werden GIRK-Kaliumkanäle (G-Protein-gekoppelte, einwärts gleichrichtende Kaliumkanäle) geöffnet. Der resultierende Kaliumausstrom führt und in den meisten Fällen zu einer Hyperpolarisation der postsynaptischen Membran und bewirkt eine verminderte Erregbarkeit der Zelle (Evenseth et al., 2020).

GABA_B-Rezeptoren sind Heterodimere, die sich aus den zwei Untereinheiten GABA_{B1} und GABA_{B2} zusammensetzen (Jones et al., 1998). Der GABA_{B1} Teil lässt sich wiederum in mehrere Isoformen unterteilen, wobei GABA_{BR1a} und GABA_{BR1b} am häufigsten vorkommen. Beide Untereinheiten besitzen an der Außenseite eine sogenannte VFT-Domäne (engl. venus fly trap), die für Venusfliegenfallen-Domäne steht. Diese VFT-Domäne ist mit einem Abschnitt verbunden, der die Zellmembran siebenmal durchspannt. Die orthosterische Bindungsstelle wurde ausschließlich auf der VFT-Domäne von GABA_{B1} gefunden (Evenseth et al., 2020). Der allgemeine Aufbau eines GABA_B-Rezeptors wird in Abbildung 1.4 veranschaulicht.

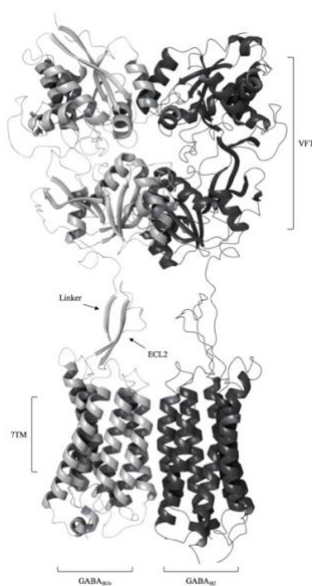


Abbildung 1.4 Der allgemeine Aufbau eines GABA_B-Rezeptors. Er besteht aus der VFT-Domäne, an die GABA bindet und der 7TM-Domäne der GABA_{B1b}- (grau) und GABA_{B2}- (schwarz) Untereinheit, welche die Plasmamembran durchspannen. Beide Domänen sind durch einen Linker verbunden, der mit der extrazellulären Schleife 2 (ECL2) in Verbindung steht (Evenseth et al., 2020). ELC2 wirkt wie eine Brücke und verbindet die äußere und innere Domäne innerhalb einer Untereinheit (Mao et al., 2020). Bildlizenz: CC BY, (Evenseth et al., 2020)

Im inaktiven Zustand ist die VFT-Domäne geöffnet und die beiden Hälften, GABA_{B1} und GABA_{B2} halten Abstand voneinander (Mao et al., 2020).

Wenn GABA oder ein anderer Agonist an der orthosterischen Bindungsstelle von GABA_{B1} bindet, schließt sich die VFT-Domäne wie eine Venusfliegenfalle. Dabei kommen die beiden VFT-Enden der zwei Untereinheiten näher zusammen (Mao et al., 2020). Dadurch rücken auch die Transmembrandomänen beider Untereinheiten entlang des Transmembranhelix sechs (TM6) enger zusammen und (Shaye et al., 2020) es entsteht eine neue Kontaktstelle zwischen den TM6-Helices, die durch hydrophobe Wechselwirkungen stabilisiert wird (Mao et al., 2020). Es folgt ein hebelartiger Mechanismus, der eine Konformationsänderung in der Transmembrandomäne auslöst und die Kopplung an die G-Proteine in Gang bringt. Die Signalweiterleitung wird eingeleitet. Dieser aktivierte Zustand des GABA_B-Rezeptors kann durch die Bindung von positive allosterischen Modulatoren, die an G_{B2} binden, stabilisiert werden (Shaye et al., 2020) Als positiver allosterischer Modulator werden Strukturen bezeichnet, die an eine Stelle binden, die sich von der Agonistenstelle räumlich unterscheidet und die Wirkung des Agonisten verstärkt (Kim & Hibbs, 2021). Der Übergang zwischen inaktiver zur aktiven Form wird in Abbildung 1.5 veranschaulicht.

Die Transmembrandomänen sechs von GABA_{B2} ist somit für die Rekrutierung von G-Proteinen verantwortlich und besitzt zudem eine allosterische Bindungsstelle für Modulatoren (Evenseth et al., 2020). GABA_{B1} bindet den Liganden, ohne dabei Kontakt mit dem G-Protein aufzubauen (Margeta-Mitrovic et al., 2001). Für eine funktionierenden Rezeptor und eine intrazelluläre Signalübertragung müssen beide Untereinheiten vorhanden sein (Jones et al., 1998).

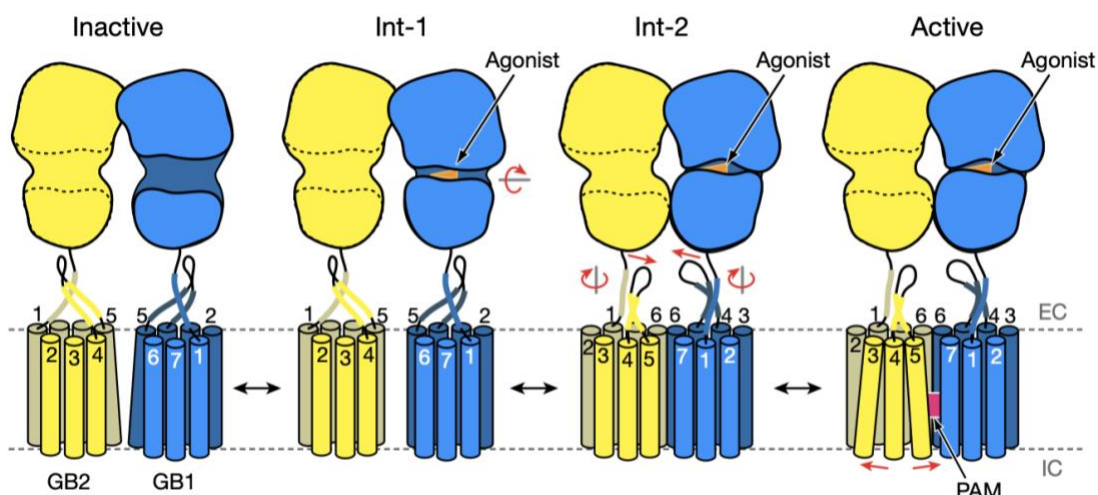


Abbildung 1.5 Der Übergang des GABA_B-Rezeptors vom inaktiven zum aktiven Zustand. Im inaktiven Zustand (eng. inactive, ganz links) ist die VFT-Domäne vollständig geöffnet. Wenn der Agonist bindet, schließt sie sich, wobei sich auch die Konformation der TM-Domänen ändert. Es bildet sich eine Kontaktfläche entlang der TM6 aus. Die zusätzliche Bindung eines positiven allosterischen Modulators (PAM) stabilisiert diesen aktiven Zustand (engl. active, ganz rechts) zusätzlich. Int-1 und In-2 stellen

Übergangszustände dar, bevor der aktivierte Zustand erreicht wird. Abkürzungen: EC = extrazellulär, IC = intrazellulär (Shaye et al., 2020). Bildlizenznummer: 6045850249074

Die Störung der GABA_B-Rezeptor-vermittelten Signalwege wird mit einer Vielzahl neuropsychiatrischen Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Als Beispiele sind Depression, Schizophrenie oder Epilepsie zu nennen. Die gezielte Modulation der GABA_B-Rezeptoren gilt als vielversprechender therapeutischer Ansatz dieser Erkrankungen. Allerdings stellt die Entwicklung von Medikamenten mit günstiger Pharmakokinetik, gutem Sicherheitsprofil und guter Wirksamkeit eine große Herausforderung dar. Das einzige zugelassene Medikament ist Baclofen, welches als Muskelrelaxans verwendet wird. Auch Baclofen besitzt gewisse Einschränkungen, zu denen eine rasche Toleranzentwicklung oder eine kurze Wirkungsdauer zählen (Evenseth et al., 2020).

1.1.3 Struktur von GABA_A-Rezeptoren

GABA_A-Rezeptoren zählen zu der Superfamilie der Cys-Loop-Rezeptoren und setzen sich aus fünf Untereinheiten zusammen, die unterschiedlichen Klassen zugeordnet werden können. Die Mitglieder der Cys-Loop-Superfamilie teilen sich ca. 30% Sequenzidentität, wobei sie die höchsten Ähnlichkeiten auf der Ebene der Sekundär- und Tertiärstruktur teilen. Charakteristisch für diese Familie ist eine pentamere Organisation der Untereinheiten, die einen Ionenkanal bilden, der die Zellmembran durchspannt (Olsen & Sieghart, 2009). Jede Untereinheit besteht aus einem N-terminalen, großen, hydrophilen Bereich, gefolgt von vier Transmembranhelices, die sich M1–M4 nennen (Schofield et al., 1987). Unter den Transmembranhelices ist die M2-Region hervorzuheben, da diese Innenwand der Kanalpore bildet. Zwischen M3 und M4 findet man eine große intrazelluläre Schleife, die für Modulation und Interaktion mit zellulären Proteinen, wie Proteinkinasen von Bedeutung ist (Olsen & Sieghart, 2009). In Abbildung 1.6 ist der allgemeine Aufbau einer Untereinheit des GABA_A-Rezeptors veranschaulicht.

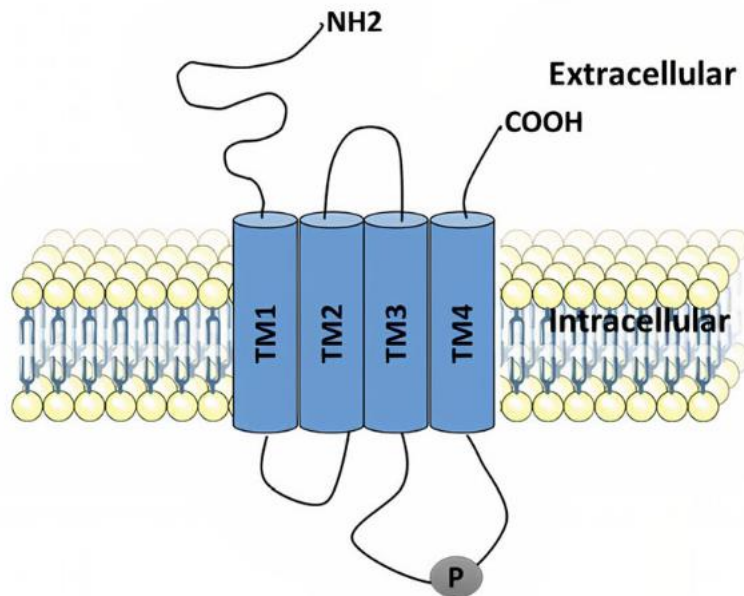


Abbildung 1.6 Aufbau der Untereinheit eines GABA_A-Rezeptors. Jede Untereinheit setzt sich aus einem großen N-Terminus, vier Transdomänen (TM1-TM4) und einem kleinen C-Terminus zusammen. Während TM1 und TM2 durch eine intrazelluläre Schleife verbunden sind, sind TM2 und TM3 durch eine extrazelluläre Schleife verbunden (Ghit et al., 2021). Bildlizenz: CC BY

Im Rahmen von molekulargenetischen Untersuchungen konnten 19 verschiedene GABA_A-Rezeptor-Untereinheiten identifiziert werden. Sie lassen sich basierend auf Sequenzähnlichkeiten in 8 Gruppen unterteilen: α 1 bis α 6, β 1 bis β 3, γ 1 bis γ 3, sowie die Einzeltypen δ , ϵ , π , θ und ρ 1 bis ρ 3 (Olsen & Sieghart, 2009). Die Untereinheiten besitzen eine Molekülmasse von ca. 50 kDa (Sallard et al., 2021). Diese Vielzahl an Untereinheiten bedingt theoretisch unzählige Rezeptorkombinationen, von denen jedoch nur eine begrenzte Anzahl tatsächlich im Gehirn vorkommt (Olsen & Sieghart, 2009). Die häufigste Untereinheitenkombination im Gehirn von Wirbeltieren ist der tri-heteromere Rezeptor, bestehend aus zwei α -, zwei β - und einer γ -Untereinheit, der in Abbildung 1.7 veranschaulicht wird (Sieghart, 2015).

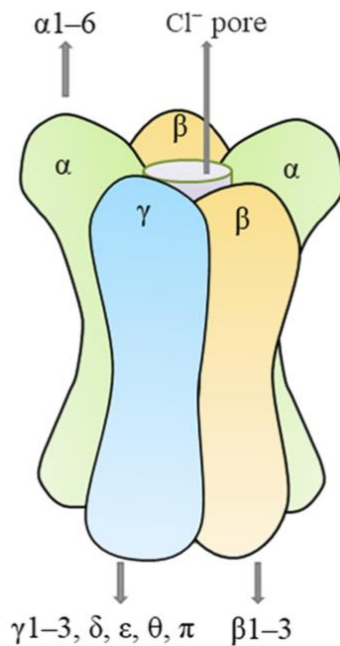


Abbildung 1.7 Der schematische Aufbau eines GABA_A-Rezeptors. Er besteht aus fünf Untereinheiten, die sich zu einem Chloridkanal zusammenlagern. Diese sind in einer bestimmten Anordnung organisiert: β - α - β - γ - α (Zhang et al., 2024). Bildlizenz: CC BY

Zusätzlich wird die Diversität vergrößert durch alternatives Spleißen auf der Ebenen der prä-mRNA. Als Beispiel ist die γ 2-Untereinheit zu nennen, welches in zwei Speißvarianten existiert, die beide aus dem gleichen Gen hervorgehen (Bryson et al., 2023). Als Ergebnis gibt es zwei Formen der γ 2-Untereinheit, die entsprechend ihrer Länge mit „l“ (long) und „s“ (short) bezeichnet werden (Sallard et al., 2021). Sie unterscheiden sich durch das Fehlen einer acht Aminosäuren langen Sequenz, die sich in der „l“ Variante zwischen TM3 und TM4 befindet (Belelli et al., 2023).

Die ρ -Untereinheiten unterscheidet sich von den restlichen Untereinheiten, da sie bevorzugt in der Retina exprimiert wird (Olsen & Sieghart, 2009) und sich funktionell zu eigenständigen Rezeptoren zusammenlagern kann. Hierbei handelt es sich um die oben bereits erwähnten Rezeptoren, die ehemals GABA_C-Rezeptoren genannt wurden. Es kann auch vorkommen, dass verschiedene Isoformen der gleichen Untereinheit gemeinsam in einem Rezeptorkomplex zu finden sind (Bryson et al., 2023).

Neben den GABA_A-Rezeptoren gehören Rezeptoren wie nikotinische Acetylcholin-, Glycin- und 5-HT₃-Rezeptoren zur Gruppe der Cys-Loop-Rezeptoren (Olsen & Sieghart, 2009). Die strukturelle Verwandtschaft zwischen GABA_A-Rezeptoren und Acetylcholin-Rezeptoren wurde 1987 durch Sequenzvergleiche nachgewiesen (Schofield et al., 1987). Aus dem nikotinischen Acetylcholin-Rezeptor wurden zudem die ersten hochauflösende Modelle gewonnen, die diesen Aufbau veranschaulichen (Unwin, 2005).

Mittels Kryo-Elektronenmikroskope konnten N-Glykosylierungen im extrazellulären Vestibül, dem „Eingangsbereich“ auf der Außenseite der Zelle sichtbar gemacht werden. Zwei dieser Zuckerreste ragen in den zentralen Kanal hinein und könnten für die Assemblierung sowie die Steuerung der Ionendurchlässigkeit von Bedeutung sein. Es wurden außerdem dichte Bereiche zwischen den TM-Domänen entdeckt, deren Struktur gut zu Cholesterin bzw. CHS (Cholesterylhemisuccinat), einem Cholesterin Analog, passt. Diese lipophilen Moleküle sitzen dort, wo auch viele allosterische Modulatoren binden und könnten daher die Empfindlichkeit der Rezeptoren auf diese Substanzen direkt beeinflussen (Zhu et al., 2018).

1.1.4 Funktion des GABA_A-Rezeptors

Im neuronalen Netzwerk besteht ein Gleichgewicht zwischen exzitatorischer und inhibitorischer synaptischer Aktivität, das für eine gesunde Hirnfunktion maßgeblich ist. GABA_A Rezeptoren vermitteln die primäre neuronale Hemmung und sorgen dafür, dass dieses Gleichgewicht aufrechterhalten wird (Bryson et al., 2023). Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei GABA_A-Rezeptoren um ligandengesteuerte Chloridkanäle, die durch ihren physiologischen Liganden GABA, sowie dem selektiven Agonisten Muscimol aktiviert werden können. Die Bindung dieser Substanzen führt im ZNS zu einer Öffnung der Kanäle, wodurch sie permeabel für negativ geladene Ionen werden, wobei der Chlorideinstrom vorherrschend ist. Das hat eine Hyperpolarisation der Zellmembran zur Folge und hemmt die neuronale Erregbarkeit (Olsen & Sieghart, 2009).

Die Rezeptoren sind im gesamten ZNS weit verbreitet und spielen eine Rolle bei nahezu allen Funktionen des Gehirns. Aufgrund ihrer wichtigen Aufgaben im neuronalen Netzwerk, dienen sie als Zielstruktur zahlreicher Arzneimittelklassen (Olsen & Sieghart, 2009). Zudem sind sie an einer Vielzahl anderer physiologischer Prozesse beteiligt, wie dem Schlaf-Wach-Rhythmus oder der Regulation des motorischen Systems (Oishi et al., 2023).

1.1.4.1 Die GABA-Bindungsstelle

Im extrazellulären Bereich existieren insgesamt fünf Bindungstaschen, die sich an den Schnittstellen der fünf Untereinheiten des GABA_A-Rezeptors befinden. Zwei der fünf Taschen stellen Bindungsstellen für GABA dar und sind an der Schnittstelle zwischen β - und einer α -Untereinheit lokalisiert. Sie setzen sich jeweils aus sechs sogenannten „Loops“ zusammen: A, B und C Loops der β -Untereinheit auf der "Hauptseite" (β +) und den komplementären Loops D, E und F der α -Untereinheit (α -) (Olsen & Sieghart, 2009). Diese Bindung wird in Abbildung 1.8 veranschaulicht.

Frühere Erkenntnisse zur Struktur des Rezeptors stützten sich auf Homologie-Modellen, die auf verwandten Cys-Loop-Rezeptoren wie dem nikotinischen Acetylcholin-Rezeptor basierten. (Unwin, 2005). Diese theoretischen Modelle legten die Grundlage für die strukturellen

Charakterisierung der GABA_A-Rezeptoren und zeigten zudem die Existenz von zusätzlichen Hohlräumen in der Transmembrandomäne, die mögliche Bindungsstelle für Modulatoren darstellen (Ernst et al., 2005).

Mit dem Fortschritt der Kryo-Elektronenmikroskopie konnten diese theoretischen Modelle bestätigt und wesentlich detaillierter dargestellt werden. Im Rahmen der Analyse des physiologisch relevantesten Rezeptor $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ konnten Zhu et al. eine exakte Visualisierung der GABA-Bindungsstelle erstellen. Innerhalb der Bindungstasche konnte eine klar abgegrenzte Dichte identifiziert werden, die in Form und Größe mit dem GABA-Molekül übereinstimmt (Zhu et al., 2018).

Auf der $\beta+$ Seite spielen eine Reihe aromatischer Aminosäuren eine wichtige Rolle bei Bindung des Liganden: Tyrosin 97 (Loop A), Tyrosin 157 (Loop B), Phenylalanin 200 und Tyrosin 205 (beide Loop C) umgeben das Aminoende von GABA und stabilisieren die Bindung über Kation- π -Wechselwirkungen. Zudem bildet Threonin 202 eine Wasserstoffbrücke mit der Carboxylgruppe von GABA, während Glutamat 155 eine verankernde Funktion ausübt. Auf der $\alpha 1$ -Untereinheit tragen die Aminosäuren Phenylalanin 65 und Arginin 67 durch hydrophobe bzw. elektrostatische Interaktionen wesentlich zur Bindung bei (Zhu et al., 2018).

Die gleichzeitige Besetzung von zwei GABA-Molekülen an beiden Rezeptorseiten erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass sich der Ionenkanal öffnet, erheblich. Somit sind die Aminosäuren auf beiden $\beta+$ Seiten für eine effiziente Kanalöffnung notwendig (Sieghart, 2015).

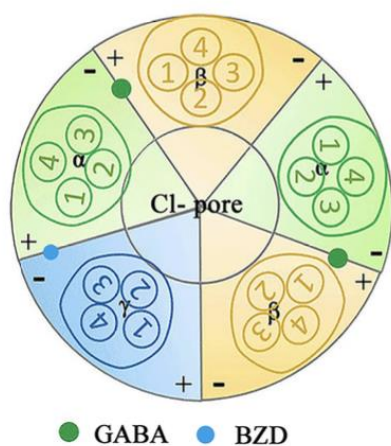


Abbildung 1.8 GABA und Benzodiazepin-(BZD)-Bindungsstelle im GABA_A-Rezeptor. Die zwei Bindungsstellen für GABA befinden sich an den β/α -Schnittstellen und die Benzodiazepin-Bindungsstelle ist an der α/γ -Schnittstelle lokalisiert (Zhang et al., 2024). Bildlizenz: CC BY

1.1.4.2 GABAerge Transmission: Mechanismen synaptischer Inhibition

Grundsätzlich führt der durch GABA vermittelte Ionenstrom im ZNS im Erwachsenenalter zu einer Verschiebung des Membranpotentials in Richtung negativerer Werte, wodurch die charakteristische hemmende Wirkung erklärt wird. GABA_A-Rezeptoren können auch eine depolarisierende Wirkung entfalten und somit exzitatorisch wirken. Dies betrifft im ZNS insbesondere die frühen Entwicklungsstadien, in denen sich die Expression bestimmter Ionenporter deutlich von der im Erwachsenenalter unterscheidet (Michałowski et al., 2025). Im peripheren Nervensystem wirkt GABA auch im Erwachsenenalter exzitatorisch (Qian et al., 2023).

Es werden zwei Formen der GABA-vermittelten Inhibition unterschieden: die phasische und tonische Inhibition. Postsynaptische GABA_A-Rezeptoren zeigen vorwiegend eine phasische Aktivität. Im Zuge der phasischen Hemmung wird der GABA_A-Rezeptor infolge einer kurzzeitigen, synaptischen GABA-Freisetzung aktiviert. Die GABA-Freisetzung erfolgt schnell und führt zu hohen GABA-Konzentrationen von 2–5 mM im synaptischen Spalt. Die Öffnung des Ionenkanals erlaubt das Einströmen von negativ geladenen Chloridionen in die postsynaptische Nervenzelle, die eine Hyperpolarisation der Membran auslösen. Das Membranpotenzial wird negativer und die Entstehung von Aktionspotenzialen wird dadurch erschwert (Sallard et al., 2021).

Die Permeabilität des GABA_A-Rezeptors wird durch den Durchmesser des Kanals sowie von elektrostatischen Eigenschaften beeinflusst (Bryson et al., 2023). Unter normalen Bedingungen ist der Rezeptor durchlässig für Chloridionen und in geringerem Maße für Biokarbonationen. Der Stromfluss hängt von den Konzentrationsunterschieden dieser Ionen auf beiden Seiten der Membran ab, wobei schon kleine Änderungen der intrazellulären Chloridkonzentration die Erregbarkeit maßgeblich beeinflussen können (Kaila et al., 1993). Der Chloridgradient, der transmembran vorherrscht, wird hauptsächlich durch die Expression zweier Transporter, die zur Familie der SLC12-Familie von Kationen-Chlorid-Kotransportern gehören, aufrechterhalten: dem Natrium-Kalium-Chlorid-Kotransporter 1 (NKCC1) und dem Kalium-Chlorid-Kotransporter 2 (KCC2) (Bryson et al., 2023).

Während die Aktivierung des Rezeptors sehr schnell erfolgt, schließt er sich langsamer, wodurch der inhibitorischer postsynaptischer Strom über mehrere zehn Millisekunden anhält und einen nachhaltigen hemmenden Effekt auf die postsynaptische Membran ausübt (Sallard et al., 2021).

Rezeptoren mit den Untereinheiten $\alpha 1-3$, $\beta 1-3$ und $\gamma 2$ kommen typischerweise an postsynaptischen Membranen vor (Fu et al., 2022). $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ und $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ sind die häufigsten Rezeptorkombinationen, die synaptisch vorkommen. Manche Rezeptoren befinden sich nicht direkt an Synapsen, sondern in unmittelbarer Nähe und können durch „Spillover“ (engl. für

Überlauf oder Übertritt) aktiviert werden. Der Begriff „Spillover“ beschreibt das Entweichen von GABA aus dem synaptischen Spalt (Sallard et al., 2021). Dies betrifft beispielsweise bestimmte GABA_A-Rezeptoren im Hippocampus, die die $\alpha 5$ Untereinheit enthalten und unter diesen Bedingungen auch eine phasisch wirkende Komponente vermitteln können (Prenosil, 2006).

Neuronen werden vor einer übermäßigen Hemmung durch ein Phänomen, welches sich „Rundown“ (engl. für Abnahme) bezeichnet, geschützt. Es beschreibt die schnelle Desensitivierung bei hochfrequenten Reizen, wodurch die Stärke der inhibitorischen postsynaptischen Ströme abnimmt, etwa bei gestörter GABA-Clearance oder überhöhter GABA-Freisetzung. Wenn der Rezeptor desensitiviert ist, blockieren bestimmte Aminosäurereste der TM2-Domäne die Kanalpore, wodurch der Ionenfluss gestoppt wird (Sallard et al., 2021) (s. Abb. 1.9).

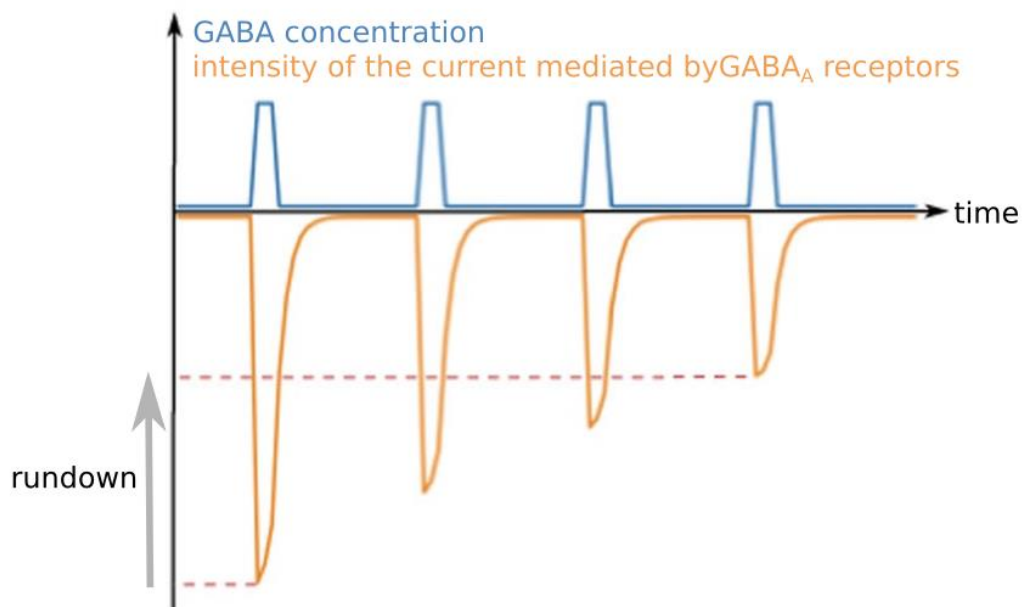


Abbildung 1.9 "Rundown"- Desensibilisierung des GABA_A-Rezeptors. Wenn der Rezeptor wiederholt GABA-Reizen ausgesetzt ist, gelangt ein Teil der Rezeptoren bei jedem Reiz in einen desensibilisierten Zustand. Da sich diese Rezeptoren nicht vollständig regenerieren, kommt es zu einer fortschreitenden Abschwächung der maximalen Stromamplitude. Die GABA-Konzentration wird in der Abbildung in blau dargestellt (engl. GABA concentration) und ist immer dieselbe, während der GABA-vermittelte Strom mit jedem GABA-Reiz weiter sinkt (engl. intensity of the current mediated by GABA_A receptors“ (Sallard et al., 2021). Bildlizenz: CC BY

Die tonische Inhibition tritt vorwiegend extrasynaptisch auf und wird im folgenden Unterkapitel erklärt.

1.1.4.3 Extrasynaptische GABA_A-Rezeptoren: Vermittler tonischer Inhibition

Extrasynaptisch lokalisierte GABA_A-Rezeptoren vermitteln eine tonische Form der Inhibition, die sich von der phasischen, synaptischen Hemmung unterscheidet (Ghit et al., 2021). Die tonische Hemmung beruht auf einer dauerhaften, niedrigen Konzentration von GABA, auf die extrasynaptischen Rezeptoren besonders sensibel reagieren. Die Rezeptoren reagieren auf GABA aus „Spillover“ oder auf nicht-synaptisch freigesetztes GABA und erzeugen einen dauerhaften Strom mit niedriger Amplitude, der tonischer Strom genannt wird (Sallard et al., 2021). Im Gegensatz zur früheren Annahme, dass die Inhibition der extrasynaptischen Zellen durch eine Hyperpolarisation vermittelt wird, zeigt der heutige Wissensstand, dass der tonische Strom nur eine leichte Hyperpolarisation oder sogar eine leichte Depolarisation bewirkt (Koh et al., 2023). Entscheidend für die hemmende Wirkung ist nicht die Änderung des Membranpotenzials, sondern ein Mechanismus, der sich „Shunting-Mechanismus“ nennt. Dabei führt eine dauerhafte Öffnung der Kanäle zu einer Erhöhung der Membranleitfähigkeit und einer Verringerung des Membranwiderstandes, wodurch die Bildung von Aktionspotenzialen verhindert wird (Brickley et al., 1996). Ob die Membran dabei hyperpolarisiert oder depolarisiert ist, spielt für die Wirkung keine Rolle (Koh et al., 2023).

Bei der tonischen Inhibition erfolgt die Aktivierung der Rezeptoren deutlich langsamer, dafür erreichen sie einen stabilen Zustand und blocken die Rezeptoren für einen längeren Zeitraum und das ohne Stromspitzen. Charakteristisch ist zudem deutlich schwächere Desensitivierung als bei der phasischen Hemmung (Sallard et al., 2021).

Die Untereinheiten $\alpha 4-6$, $\beta 2/3$ und δ sind vermehrt extrasynaptisch zu finden. Es wurde festgestellt, dass die Untereinheiten $\alpha 2$, $\alpha 3$ und $\beta 3$ etwa 100-mal stärker in Synapsen konzentriert sind als extrasynaptisch (Ghit et al., 2021). Wichtige Rezeptorzusammensetzungen, die extrasynaptisch vorkommen sind: $\alpha 4\beta 2\delta$, $\alpha 4\beta 3\delta$, $\alpha 6\beta 2\delta$ und $\alpha 6\beta 3\delta$ (Olsen & Sieghart, 2009).

Die tonische Inhibition ist in Interneuronen stark ausgeprägt. Wird die Wiederaufnahme von GABA gehemmt, lässt sich auch in Pyramidenzellen tonischen Strom nachweisen, obwohl diese unter normalen Bedingungen keinen solchen Strom erzeugen (Semyanov et al., 2003). Pyramidenzellen sind eine verbreitete Klasse von Neuronen, die in der Großhirnrinde von den meisten Säuretiere zu finden sind und typischerweise exzitatorisch wirken (Bekkers, 2011). Das liegt nahe, dass normalerweise nicht genügend GABA im Extrazellularraum vorhanden sind, um die extrasynaptischen Rezeptoren zu aktivieren (Semyanov et al., 2003).

Darüber hinaus wurden $\alpha\beta$ -GABA_A-Rezeptoren, welche binäre Rezeptoren darstellen und ebenfalls bevorzugt extrasynaptisch vorkommen, als Modellsysteme verwendet, um die Grundlagen der tonischen Signalweiterleitung besser zu verstehen. Die $\alpha\beta$ -GABA_A-Rezeptoren besitzen eine geringe Öffnungswahrscheinlichkeit nach der Bindung von GABA

und weisen eine hohe Empfindlichkeit gegenüber der Blockade durch endogenes Zink (Zn^{2+}) auf. Zn^{2+} kann den Ionenkanal nicht-kompetitiv hemmen, indem er den Poreneingang blockiert. Selbst in Abwesenheit von Zink, bleibt die Kanalmitte weitgehend geschlossen. Die Erweiterung des Poreneingangs ist bei $\alpha\beta$ -Rezeptoren eingeschränkt, was ihre geringe Aktivierbarkeit unterstreicht. Diese Eigenschaft macht sie geeignet für die präzise Kontrolle einer andauernden, tonischen Inhibition (Kasaragod et al., 2022).

Sowohl die phasische als auch die tonische Hemmung sind bedeutend für neuronale Balance. Bei Störungen kann es zu einer Entstehung verschiedener psychischer und neurologischer Erkrankungen kommen (Koh et al., 2023). Epilepsie, Schizophrenie und Autismus sind hier als Beispiele zu nennen (Bryson et al., 2023).

1.1.4.4 Bedeutung der α -Untereinheiten für GABAerge Inhibition und Verhalten

Die unterschiedlichen α -Untereinheiten der GABA_A-Rezeptoren vermitteln unterschiedliche Effekte und weisen auch in ihrer anatomischen Verteilung und subzellulären Lokalisation Verschiedenheiten auf (Engin et al., 2018).

Mit etwa 60% aller α -Untereinheiten ist $\alpha 1$ die häufigste Untereinheit. Sie ist überwiegend synaptisch lokalisiert und vermittelt vor allem sedierende und antikonvulsive Effekte. Die $\alpha 2$ -Untereinheit ist zu etwa 15–20% vertreten und kommt ausschließlich synaptisch vor. Sie ist von zentraler Bedeutung bei der Anxiolyse, Stressverarbeitung und bei kognitiven Funktionen. Die $\alpha 3$ -Untereinheit, die etwa 10–15% ausmacht, ist sowohl synaptisch als auch extrasynaptisch lokalisiert, wobei sich die Mehrheit extrasynaptisch befindet. Diese Untereinheit ist wesentlich beteiligt an der Modulation thalamischer Aktivität und an der sensomotorischen Verarbeitung. $\alpha 4$ kommt eher selten vor und tritt meist in Kombination mit der δ -Untereinheit auf. Sie ist eher extrasynaptisch lokalisiert und spielt eine bedeutende Rolle beim Alkoholeffekt und wird mit kognitiven Einschränkungen in Verbindung gebracht, insbesondere im Zusammenhang mit einer erhöhten Expression in Tiermodellen. Die $\alpha 5$ -Untereinheit ist vorwiegend extrasynaptisch lokalisiert und reguliert die Stressverarbeitung und die Anxiolyse. Zudem ist die $\alpha 5$ -Untereinheit bei der Filterung von sensorischen Reizen beteiligt (Engin et al., 2018).

1.1.4.5 GABA als exzitatorischer Transmitter

GABA ist primär als inhibitorischer Transmitter bekannt, der die Reizweiterleitung hemmt (Olsen & Sieghart, 2009). Er wird typischerweise an inhibitorischen Nervenendigungen präsynaptisch freigesetzt und entfaltet so seine typische Wirkung. Dieser Effekt ist aktivitätsabhängig und calciumabhängig, wie es für klassische Neurotransmitter typisch ist. In Experimenten an Hummern wurde 1966 erstmalig gezeigt, dass bei elektrischer Stimulation

inhibitorischer Nerven messbare Mengen an GABA in das umgebene Medium freigesetzt wird. Bei exzitatorischen Nervenstimulation war dies nicht der Fall (Otsuka et al., 1966).

GABA kann jedoch unter bestimmten Bedingungen auch exzitatorisch wirken. Dies ist insbesondere im peripheren Nervensystem der Fall (Qian et al., 2023). Diese erregende Wirkung der GABA_A-Rezeptoren ist ebenfalls in der frühen neuronalen Entwicklung zu beobachten und hängt mit einer entwicklungsabhängigen Veränderung des intrazellulären Chloridhaushalts zusammen. In unreifen Neuronen ist die intrazelluläre Konzentration von Chloridionen erhöht. Aufgrund des elektrochemischen Gradienten wandern die Chloridionen nach der Aktivierung der Rezeptoren aus der Zelle heraus statt in die sie hinein. Dies führt zu einer Depolarisation (Koh et al., 2023). Beispielhaft wurde anhand Studien an Hühnerembryonen gezeigt, dass GABA auf sechs Tage alten embryonale Neuronen eine exzitatorische Wirkung hatten, während ab Tag zehn eine inhibitorische Wirkung festgestellt wurde (Obata et al., 1978).

In unreifen Neuronen ist der Chloridtransporter NKCC1 stark hochreguliert, was zu einer Anreicherung von Chloridionen führt und die exzitatorische Wirkung von GABA verursacht. Studien zeigen, dass dieser Transporter in der Großhirnrinde menschlicher Neugeborener zwischen der 31. und 41. Schwangerschaftswoche dreimal höher exprimiert wird als bei Erwachsenen. Gleichzeitig ist der Chloridtransporter KCC2 in dieser Phase kaum vorhanden. Ein pharmakologischer Ansatzpunkt ist Bumetanid, der einen NKCC1-Hemmer darstellt und in Experimenten an neonatalen Ratten eine Depolarisation umkehren und die Krampfaktivität unterdrücken konnte (Dzhalala et al., 2005).

Im peripheren Nervensystem entfaltet GABA generell exzitatorische Wirkungen. Die Präsenz von GABA in verschiedenen peripheren Geweben deutet darauf hin, dass GABA auch dort eine wichtige Funktion erfüllt. Beispielhaft kann im enterischen Nervensystem der Transmitter erregend auf die Nervenzellen wirken und spielt außerdem eine Rolle bei der Regulation von Immunreaktionen und Entzündungen (Auteri et al., 2015). In Ziliarganglien führt GABA ebenfalls zu einer exzitatorischen Wirkung. Dies wurde sowohl in unreifen als auch in reifen Neuronen festgestellt (Obata et al., 1978).

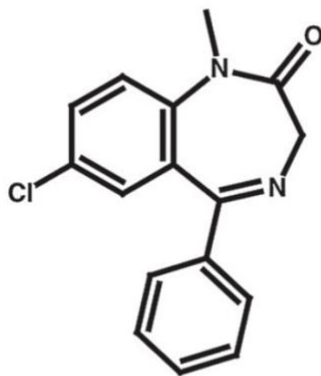
Verletzungen, die mit peripheren Nervenschädigungen einhergehen, können dazu führen, dass die hemmende Wirkung umgekehrt wird und eine Erregung stattfindet. Dies beruht auf einem Anstieg der intrazellulären Chloridkonzentration, der durch eine verminderte Expression von KCC2 infolge der Nervenschädigung bedingt ist (Qian et al., 2023).

1.1.5 GABA_A-Rezeptoren als therapeutische Zielstruktur

Eine gestörte GABAerge Funktion wird mit einer Vielzahl von Erkrankungen in Verbindung gebracht. Dadurch werden GABA_A-Rezeptoren zu wichtigen Zielstrukturen für zahlreiche pharmakologisch und klinisch relevante Wirkstoffe (Ghit et al., 2021).

1.1.5.1 Benzodiazepine

Benzodiazepine sind eine Wirkstoffgruppe, die als Liganden am GABA_A-Rezeptor anxiolytische, sedierende, hypnotische, muskelrelaxierende und antikonvulsive Effekte entfalten (Sigel & Ernst, 2018). Aufgrund dieses breiten Wirkspektrums werden sie bei Erkrankungen wie Angststörungen, Schlaflosigkeit oder Epilepsie oder zur Narkoseeinleitung eingesetzt (Kim et al., 2020; Sigel & Ernst, 2018). Ihre Wirkung ist dosisabhängig: während niedrige Dosierungen beruhigend und angstlösend wirken, können hohe Dosen bis zur Sedierung oder Narkose führen (Walters et al., 2000). Diazepam ist ein Beispiel für einen klassischen Vertreter dieser Wirkstoffgruppe (Sigel & Ernst, 2018) (s. Abb. 1.10).



Diazepam

Abbildung 1.10 Strukturformel von Diazepam, einem klassischen Benzodiazepin. (Sigel & Ernst, 2018). Bildlizenznummer: 6061940880931

1.1.5.1.1 Bindungsstelle und Wirkmechanismus von Benzodiazepinen

Das Vorhandensein eines spezifischen Rezeptors an die Benzodiazepine binden können wurde 1977 durch Möhler und Okada nachgewiesen. Mittels radiomarkierter Liganden konnten sie zeigen, dass die Wirkstoffgruppe an bestimmte synaptische Membranstrukturen binden und legten mit diesen Erkenntnissen den Grundstein für die Aufklärung der Pharmakologie dieser Substanzklasse (Möhler & Okada, 1977).

Benzodiazepine wirken nicht als direkte Agonisten, sondern durch die allosterische Bindung an die Benzodiazepin-Bindungsstelle als positive allosterische Modulatoren (Gavish & Snyder, 1980). Sie verstärken die GABA-induzierte Wirkung am GABA_A-Rezeptor und entfalten auf

diese Art ihre Wirkungen (Zhu et al., 2018). Diese Benzodiazepin-Bindungsstelle befindet sich an der Schnittstelle zwischen einer α - und einer γ -Untereinheit, typischerweise zwischen $\alpha 1$ und $\gamma 2$ (s. Abb. 8). Dabei bildet die Region eine sogenannte „aromatische Tasche“, die aus mehreren aromatischen Aminosäuren besteht: Phenylalanin100 (Phe100), Tyrosin160 (Tyr160) und Tyrosin210 (Tyr210) auf der $\alpha 1$ -Seite sowie Phenylalanin77 (Phe77) und Tyrosin58 (Tyr58) auf der $\gamma 2$ -Seite (Zhu et al., 2018).

Neben dieser hochaffinen Bindungsstelle existieren vermutlich auch eine oder mehrere niedrigaffine Bindungsstellen für Benzodiazepine. Diese könnten an den sedierenden bzw. narkotischen Wirkungen der höheren Dosen eine Rolle spielen (Kim et al., 2020).

Die Aminosäure Histidin an der Position 102 (His102) der $\alpha 1$ -Untereinheit ist essenziell für die Sensitivität von GABA_A-Rezeptoren gegenüber Benzodiazepinen. Wird His102 mit Arginin ausgetauscht, wie es bei den Untereinheiten $\alpha 4$ - und $\alpha 6$ -Untereinheiten der Fall ist, kommt es zu einem Verlust der Bindungsfähigkeit. Rezeptoren, die diese Untereinheiten besitzen, können Benzodiazepine nicht mehr binden und in der Regel keine Wirkung (Wieland et al., 1992; Zhu et al., 2018). Diese Histidinposition wird in älterer Literatur häufig als Position 101 in der $\alpha 1$ -Untereinheit angegeben, da die Untersuchungen auf Tiersequenzen basierten (Wieland et al., 1992). Klassische Benzodiazepine wie Diazepam binden bevorzugt an Rezeptoren, die $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ oder $\alpha 5$ enthalten. Rezeptoren mit $\gamma 1$ - oder $\gamma 3$ -Untereinheit zeigen eine geringe Sensitivität gegenüber Benzodiazepinen (Olsen & Sieghart, 2009).

1.1.5.1.2 Der Antagonist von Benzodiazepinen: Flumazenil

Flumazenil wirkt antagonistisch an der Benzodiazepin-Bindungsstelle (Hunkeler et al., 1981) und wird klinisch als Gegenmittel bei einer durch Benzodiazepine induzierten Überdosierung eingesetzt (Sigel & Ernst, 2018). Mittels Kryo-Elektronenmikroskopie konnte gezeigt werden, dass der Diazepinring von Flumazenil eine hydrophobe Wechselwirkung mit der $\gamma 2$ -Untereinheit eingeht. Das Fluoratom des Liganden bildet zudem eine Wasserstoffbrücke mit H102 (Histidin 102) der $\alpha 1$ -Untereinheit. Tyrosin 210 auf der $\alpha 1$ -Untereinheit stabilisiert die Flumazenilbindung durch π - π -Wechselwirkungen mit dem aromatischen Ring des Liganden (Zhu et al., 2018).

Flumazenil wurde 1981 unter der Bezeichnung Ro 15-1788 erstmalig charakterisiert. Der Wirkstoff hebt die Wirkung von Benzodiazepinen auf und zeigt gegen andere sedierende Wirkstoffe wie Barbiturate, Ethanol oder Neuroleptika keine Wirkung. Es hebt gezielt Symptome wie Sedierung, Ataxie und Anxiolyse auf und zeichnet sich durch eine geringe Toxizität sowie eine hohe Affinität zum Rezeptor aus. Flumazenil selbst übt keine intrinsische Wirkung aus und führt zu keiner Konformationsänderung des Rezeptors (Hunkeler et al., 1981).

Die Bindungsverhalten ist stereospezifisch. (+) Enantiomere sind pharmakologisch deutlich wirksamer und besitzen gleichzeitig eine höhere Affinität zu dieser Bindungsstelle als (-) Enantiomere (Möhler & Okada, 1977).

1.1.5.1.3 Nebenwirkungen und Gefahren

Trotz der breiten Anwendung dieser Wirkstoffgruppe kann besonders die Langzeitanwendung zu einer Reihe unerwünschten Nebenwirkungen wie Toleranzwirkung, Suchtpotenzial oder kognitiven Beeinträchtigungen führen (Bryson et al., 2023). Beim Absetzen dieser Medikamente entwickelt der Großteil der Patienten Entzugssymptome. Ein Entzug von Wirkstoffen mit einer kurzen Halbwertszeit ist generell mit höheren Rückfallquoten verbunden. Zudem führt eine höhere Dosis beim Entzug generell zu stärkeren Symptomen. Unter die häufigsten Beschwerden zählen Schlafstörungen, Kopfschmerzen, psychische Symptome sowie vegetative Reaktionen wie Nervosität oder Übelkeit. Persönliche Risikofaktoren wie eine Depressionserkrankung dürfen bei einem Entzug nicht vernachlässigt werden, weil diese die Symptomatik verstärken können (Rickels et al., 1990).

Neben diesen bekannten Risiken steht die Langzeiteinnahme außerdem in Verbindung mit einem erhöhten Demenzrisiko. Eine große prospektive Studie aus 2012 zeigte, dass die neue Einnahme von Benzodiazepinen bei Personen ab 65 Jahren mit einem 50% erhöhten Demenzrisiko assoziiert ist. Die Ergebnisse blieben auch nach Adjustierung mit Störfaktoren wie Depressionen robust. Diese Studie zeigt, dass Benzodiazepinen mit Vorsicht verschrieben sollten. Dies trifft besonders bei der älteren Bevölkerungsgruppe zu, die ohnehin ein erhöhtes Risiko für schwerwiegende Nebenwirkungen besitzen (Billioti de Gage et al., 2012).

Eine weitere Studie untersuchte, ob sich das Fahrverhalten bei Langzeitnutzern von Benzodiazepinen verschlechtert. Die Ergebnisse zeigten, dass die Fahrleistung bei Hypnotika-Nutzern insgesamt schlechter war als bei der gesunden Kontrollgruppe. Das traf besonders bei denen zu, die die Medikamente weniger als drei Jahre einnahmen. Bei diesen entsprach der Einfluss der Medikamente einem Alkoholspiegel von 0,8 mg/ml. Bei der Anwendung von mehr als drei Jahren war die Fahrleistung kaum beeinträchtigt, was mit einer Toleranzwirkung zusammenhängen könnte (van der Sluiszen et al., 2019).

1.1.5.2 Barbiturate

Barbiturate entfalten ein breites Spektrum GABA_A-Rezeptor-vermittelter Wirkungen, darunter sedative, hypnotische und antikonvulsive Effekte (Olsen et al., 2024). Sie gehören zu den ersten intravenösen eingesetzten Anästhetika und wurden ursprünglich als Antikonvulsiva entwickelt. In Industrieländern ist die Verwendung von Barbituraten stark rückläufig, was vor allem auf ihre unerwünschten Nebenwirkungen und die sehr geringe therapeutische Breite zurückzuführen ist (Trinka, 2023). Barbiturate wurden daher in vielen Anwendungsbereichen

weitgehend durch Propofol und Etomidat ersetzt, zwei Wirkstoffe mit höherer Selektivität und besseren Nebenwirkungsprofil, die heute zu den am häufigsten verwendeten intravenösen Anästhetika zählen (Olsen et al., 2024).

1.1.5.2.1 Bindungsstelle und Wirkmechanismus von Barbituraten

Für die Aktivierung des Rezeptors durch GABA sind spezifische Aminosäurereste an zwei β -Untereinheit nötig. Diese sind entscheidend für die Kanalöffnung. Im Gegensatz dazu aktivieren Barbiturate den Rezeptor unabhängig von diesen spezifischen Aminosäuren (Amin & Weiss, 1993). Sie beeinflussen GABA_A -Rezeptoren durch eine verlängerte Öffnungsdauer der Chloridkanäle, ohne dabei die Öffnungswahrscheinlichkeit oder die Einzelkanalleitfähigkeit zu beeinflussen. In höheren Konzentrationen öffnen sie die GABA_A -Kanäle sogar ohne Anwesenheit von GABA. Das unterscheidet Sie grundlegend von den Benzodiazepinen und kennzeichnet sie in höheren Konzentrationen als Agonisten des GABA_A -Kanals (MacDonald et al., 1989).

Mittels Kryo-Elektronenmikroskopie konnte das Verständnis der pharmakologischen Wirkweise von Barbituraten weiter vertieft werden. In einer Studie wurde ein Komplex des $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ mit GABA und dem Barbiturat Phenobarbital untersucht. Im Rahmen dieser Untersuchungen zeigte sich, dass Phenobarbital an zwei Schnittstellen im Transmembranbereich bindet. Diese stellen die Schnittstellen zwischen α - und β -Untereinheit und γ - und β -Untereinheit dar (s. Abb. 1.11). Die Bindung von Phenobarbital an beiden Stellen ist vergleichbar, da an beiden Stellen die Barbitursäure-Gruppe tief in der Schnittstelle zwischen M3- und M1-Helix liegt. Die Phenylgruppe (s. Abb. 1.12) des Liganden zeigt von der Kanalmitte weg, während die Ethylgruppe zum Kanal zeigt. Die Bindung wird durch van-der-Waals-Kräfte und elektrostatische Wechselwirkungen stabilisiert (Kim et al., 2020).

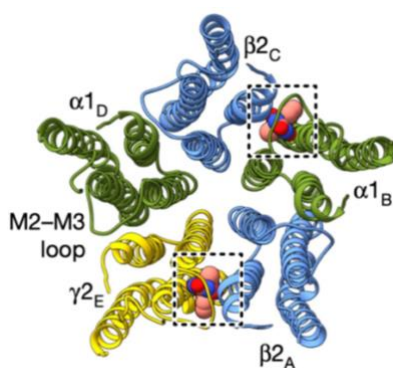


Abbildung 1.11 Phenobarbital Bindung an den GABA_A -Rezeptor. Hochauflösende Kryo-Elektronenmikroskopieaufnahmen zeigen, dass Phenobarbital an zwei Schnittstellen der Transmembrandomänen des GABA_A -Rezeptors bindet (Kim et al., 2020). Bildlizenznummer: 6050820557347

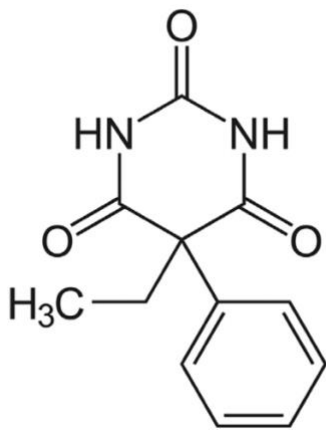


Abbildung 1.12 Strukturformel eines klassischen Barbiturats: *Phenobarbital (5-Ethyl-5-phenylbarbitursäure)*(Trinka, 2023). Bildlizenz: CC BY

1.1.5.2.2 Risiken und Nebenwirkungen von Barbituraten

Barbiturate entfalten dosisabhängig dämpfende Wirkungen auf das ZNS und können bei hohen Dosen zu Bewusstseinsstörungen bis hin zum Koma führen (Trinka, 2023).

Klinisch besonders relevant sind Nebenwirkungen wie Atemdepression, Hypotonie sowie eine negativ inotrope Wirkung auf das Myokard. Diese Effekte treten besonders in der ersten Phase der Behandlung auf und können lebensbedrohlich sein. Daher ist die engmaschige und kontinuierliche Überwachung der Atmung, Blutdruck und Puls zwingend notwendig (Trinka, 2023).

1.1.5.3 Neurosteroide

Steroidhormone spielen eine wichtige Rolle in zahlreichen physiologischen Prozessen. Neurosteroide sind Steroide, die hauptsächlich im Gehirn synthetisiert werden und die neuronale Erregbarkeit modulieren können. Im Gegensatz zu klassischen Steroiden binden Neurosteroide nicht an klassische Steroidhormonrezeptoren, sondern interagieren direkt mit Ionenkanälen oder Membranrezeptoren und verändern so deren Aktivität. Die Synthese der Neurosteroide erfolgt aus Cholesterin (Reddy, 2022).

Neurosteroide verstärken die GABAerge Hemmung und entfalten auf diese Weise anxiolytische, sedierende, hypnotische und anästhetische Effekte. Hochauflösende Strukturstudien geben einen umfassenden Einblick in die Wirkmechanismen von Neurosteroiden. Das Neurosteroid Allopreganon ist ein positiver allosterischer Modulator, der an die Transmembran-Region zwischen α - und β -Untereinheit bindet. Es kommt dabei zu einer Weitung des Kanals, die zu einer verstärkten neuronalen Inhibition führt. Der Rezeptor erfährt dabei eine Konformationsänderung, die von der Pore bis die extrazelluläre Domäne reicht. Dabei kommt es zu einer Rotation sowie zu einer Kippung der Transmembranhelices, wodurch

die Erweiterung des Kanals erreicht wird. Im Zuge dieser Konformationsänderung werden die Seitenketten der 9'-Leucinreste aus dem Zentrum gedreht, wodurch mehr Chloridionen durch den Kanal fließen können. Studien zeigen, dass Allopreganon auch ohne externe Zugabe an den Rezeptoren vorhanden ist, was einen klaren Hinweis auf seine bedeutende Funktion als physiologischer Modulator darstellt. Das Neurosteroid ist dabei von Lipiden umgeben. Dies erklärt die lange Wirkung des Neurosteroids, da es nur langsam abdissoziiert und sich von der Bindungstasche entfernen kann. Zusätzlich bleibt GABA in Anwesenheit von Allopreganon länger gebunden, was die hemmende Signalübertragung zusätzlich verlängert (Sun et al., 2023).

Insbesondere bei der Behandlung von postpartaler Depression haben sich Neurosteroiden als wirksam erwiesen. In höheren Konzentrationen ($>100\text{nM}$) können manche Neurosteroiden direkt GABA_A -Rezeptoren aktivieren (Sun et al., 2023). In einer Studie wurde Brexanolon, eine synthetische Form von Allopregnanolon gesunden Frauen verabreicht, bei denen die Laktation medikamentös eingeleitet wurde, um den Plasmaspiegel zu untersuchen. Es wurden Plasmaspiegel von deutlich über 100 nM gemessen (Wald et al., 2022).

Die sulfatierten Neurosteroiden Pregnenolonsulfat und DHEAS (Dehydroepiandrosteron-Sulfat) stellen negative allosterische Modulatoren dar. Anders als Allopreganon binden diese direkt im Ionenkanal, wodurch der Ionenfluss mechanisch blockiert wird. Dieser Porenblock ist der Grund für die negative Modulation dieser Neurosteroiden. Sie können Angst auslösen und die Krampfneigung erhöhen (Legesse et al., 2023).

1.1.5.4 Ethanol

Ethanol, die psychoaktive Hauptsubstanz in alkoholischen Getränken, entfaltet seine vielseitige Wirkung über unterschiedliche Neurotransmittersysteme wie dem GABAergen System (Dharavath et al., 2023).

1.1.5.4.1 Bindungsstelle und Wirkmechanismus von Ethanol

Ethanol kann aufgrund seiner hydrophilen Struktur biologische Membranen wie die Blut-Hirn-Schranke überwinden und direkt im ZNS wirken. Seine Metabolisierung erfolgt hauptsächlich durch Enzyme in der Leber: Alkoholdehydrogenase (ADH), Katalase und die Cytochrom-P450-Isoform CYP2E1, die insbesondere bei höheren Ethanolkonzentration eine Rolle in der Metabolisierung von Ethanol spielt. Im Gehirn kann durch Einfluss von Ethanol verschiedene Störungen induziert werden, darunter eine reduzierte Glukoseaufnahme sowie Veränderungen im dopaminergen, GABAergen und glutamatergen System (Dharavath et al., 2023).

Die typischen durch Ethanol hervorgerufenen Verhaltensmuster wie Anxiolyse oder Enthemmung werden durch die Modulation von GABA_A -Rezeptoren vermittelt. Ethanol bindet nicht an die GABA-Bindungsstelle, sondern wirkt als positiver allosterischer Modulator, indem

es an eine andere Stelle am Rezeptor bindet (Dharavath et al., 2023) und die Wirkung von GABA verstärkt (Ticku & Burch, 1980). Diese Bindung erfolgt hauptsächlich an α -Untereinheiten (Dharavath et al., 2023). Studien an Ratten zeigen, dass Ethanol bereits in geringen Mengen in der zentralen Amygdala sowohl prä- als auch postsynaptisch die GABA_A-vermittelte Inhibition verstärkt. In manchen Hirnregionen wie dem Kleinhirn oder dem Hippocampus führt Ethanol zu einer vermehrten GABA-Freisetzung und verstärkt auf diese Weise die GABAerge Hemmung indirekt (Santhakumar et al., 2007). Besonders empfindlich wirken $\alpha 4\beta\delta$ -Rezeptoren, denn sie zeigen eine hohe Sensitivität gegenüber niedrigen Ethanolkonzentrationen (Kumar et al., 2009). Im Gegensatz zu anderen Rezeptoren, die erst auf höhere Konzentrationen reagieren, sprechen $\alpha 4/6\beta 3\delta$ -haltige Rezeptoren schon auf Konzentrationen an, die beim sozialen Trinken erreicht werden (Engin et al., 2018). Eine GABAerge Wirkungsverstärkung wird bei diesen Rezeptorkombinationen bereits bei einer Konzentration von 3 mM festgestellt. Das entspricht etwa 0,14 Promille (Wallner et al., 2003).

Es konnte gezeigt werden, dass Ethanol an eine extrazelluläre Bindungsstelle im α^+ - β^- -Interface (engl. für Grenzfläche) von $\alpha 4/6\beta 3\delta$ -Rezeptoren bindet, der klassischen Benzodiazepin-Bindungsstelle ähnelt. Neben dieser Stelle, existieren zusätzliche transmembrane, hydrophobe Bindungstaschen zwischen M1- und M3-Helices zweier Untereinheiten, die ebenfalls Ethanol binden können (Sieghart, 2015).

Die Einnahme von Ethanol kann auch die Expression und Verteilung von bestimmten Subtypen des GABA_A-Rezeptors verändern. So kommt es im Tierversuch nach kurzfristigem Alkoholkonsum zu einer Internalisierung von extrasynaptischen α/δ -haltigen Rezeptoren im Hippocampus. Dies ist mit einer anfänglichen Abnahme der Ethanol-verstärkten tonischen Hemmung verbunden, da diese Rezeptoren maßgeblich für die tonische Hemmung zuständig sind. Innerhalb von 48 Stunden steigt kompensatorisch die Menge an $\alpha 4$ - und $\gamma 2$ -Untereinheiten und parallel sinkt die Expression von $\alpha 1$ -Untereinheiten. Dies führt zu einem vermehrten Einbau $\alpha 4\beta\gamma 2$ Rezeptoren in den Synapsen und einer verminderten tonischen Hemmung (Liang et al., 2007). Diese akuten Veränderungen sind reversibel und ihre Ausprägung ist maßgeblich von der applizierten Dosis abhängig (Dharavath et al., 2023).

In einer verwandten Studie konnte anhand von genetisch veränderten Mäusen gezeigt werden, dass die $\alpha 4$ -Untereinheit eine Schlüsselrolle für die extrasynaptische, tonische Hemmung durch Ethanol spielt. Mäuse ohne diese Untereinheit wiesen nach Ethanol-Exposition eine stark reduzierte tonische Hemmung und ein Fehlen der Verstärkung durch Ethanol auf. Gleichzeitig zeigten die Tiere eine deutlich erhöhte Ethanol-Sensitivität der synaptischen GABA-Ströme, was ebenfalls ein Hinweis auf diese kompensatorische Umstrukturierung des GABAergen Systems ist (Liang et al., 2008).

Ethanol beeinflusst auch andere Neurotransmitter: es hemmt glutamaterge Rezeptoren wie NMDA-, AMPA-, Kainat- und mGluR5-Rezeptoren. Die Unterdrückung der Erregung und die Verstärkung der Hemmung führt zu einem weiteren Ungleichgewicht der neuronalen Aktivität. Zudem interagiert Ethanol mit zahlreichen weiteren Proteinen, Rezeptoren und Ionenkanälen. Ethanol interagiert ebenfalls mit GABA_B-Rezeptoren, wobei der genaue Mechanismus noch nicht vollständig geklärt ist (Dharavath et al., 2023).

1.1.5.4.2 Risiken und Nebenwirkungen von Ethanol

Obwohl der Konsum von Ethanol in vielen Kulturen gesellschaftliche Akzeptanz erfährt, ist er mit einem erheblichen Suchtpotential sowie Risiken kurzfristiger und langfristiger gesundheitlichen Auswirkungen assoziiert (Dharavath et al., 2023). Ethanol kann akute Symptome wie Sedierung, motorische Koordinationseinschränkungen und Gedächtnisverlust hervorrufen. Diese Effekte entstehen hauptsächlich durch die Modulation von GABA_A-Rezeptoren im ZNS. Der langfristige Konsum kann zu neurotoxischen Schäden wie einer Hippocampusatrophie führen und die Entstehung von kognitiven Defiziten fördern (Engin et al., 2018). Darüber hinaus kommt es durch Ethanol zu Schädigungen der Leber, da die Metabolisierung überwiegend dort erfolgt. Oxidativer Stress, Entzündungsreaktionen und Störungen des Fettstoffwechsels können dabei auftreten, was zur Entstehung von Krankheitsbildern wie der Leberzirrhose führt (Yan et al., 2023).

Ein weiteres zentrales Risiko ist die Entwicklung einer Abhängigkeit und Toleranz, da sich die Rezeptordichte und Empfindlichkeit bei chronischem Konsum verändern können. Eine höhere Dosis ist erforderlich, um die gleiche Wirkung zu erzielen. Zudem kann Ethanol mit anderen Medikamenten und Nahrungsmitteln wechselwirken. Solche Wechselwirkungen können Wirkungen und Nebenwirkungen sowohl von Ethanol als auch der parallel eingenommenen Substanzen potenzieren und zu schwerwiegenden Komplikationen wie Atemdepression oder Bewusstlosigkeit führen (Engin et al., 2018).

1.2 Der essentielle Tremor

1.2.1 Definition und Abgrenzung von Tremorformen

Als Tremor werden unwillkürliche, rhythmische, oszillierende Bewegungen einzelner Körperteile bezeichnet (Bhatia et al., 2018). Er kann die Lebensqualität der Betroffenen erheblich beeinträchtigen, da die Ausübung alltägliche Aufgaben wie Schreiben, Essen oder Trinken durch das Zittern erschwert werden (Okelberry et al., 2024). Auch bei gesunden Menschen kann ein leichter Tremor auftreten, wenn Gliedmaßen und der Kopf nicht gestützt werden. Dieser sogenannte physiologische Tremor ist in der Regel nicht sichtbar und verursacht keine Beschwerden. Unter bestimmten Bedingungen, wie vermehrter Stress, Angst oder hohem Koffeinkonsum kann er verstärkt auftreten. Typischerweise bildet er sich jedoch nach Beseitigung der auslösenden Ursache wieder zurück (Kosmowska & Wardas, 2021). Der harmlose physiologische Tremor ist klar von pathologischen Tremorformen abzugrenzen, die klinisch relevant sind (Bhatia et al., 2018).

Je nachdem, in welcher Situation das Zittern auftritt, unterscheidet man grundsätzlich zwischen Ruhe- und Aktionstremor. Der Ruhetremor zeigt sich bei entspannter Muskulatur und in Abwesenheit aktiver Bewegung. Im Gegensatz dazu tritt der Aktionstremor bei willkürlicher Muskelaktivität auf. Dieser lässt sich weiter unterteilen in den posturalen Tremor, der beim Halten einer bestimmten Stellung gegen die Schwerkraft auftritt und den kinetischen Tremor, der sich bei willentlicher Bewegung zeigt. Die kinetische Form des Tremors lässt sich in zwei weitere Unterformen unterteilen: den einfachen kinetischen Tremor, bei dem die Ausprägung des Zitterns die gesamte Bewegung lang gleich bleibt und den Intentionstremor, der sich durch eine Verstärkung des Zitterns beim Annähern an ein bestimmtes Ziel kennzeichnet (Bhatia et al., 2018).

Tremor kann in verschiedenen Körperregionen auftreten, wobei Arme und Hände am häufigsten betroffen sind. Je nach Tremorform können jedoch auch andere Körperregionen wie der Kopf, die Stimme, die Beine, das Gesicht, der Rumpf oder die Zunge betroffen sein (Okelberry et al., 2024).

Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal ist die Frequenz des Tremors, die die Anzahl der Oszillationen pro Sekunde beschreibt und in Hertz angegeben wird. Die meisten klinisch relevanten Tremorformen, wie der essentielle Tremor oder der Parkinson-Tremor, besitzen eine Frequenz von vier bis acht Hertz. Der physiologische Tremor zeigt hingegen eine höhere Frequenz zwischen acht und zwölf Hertz (Okelberry et al., 2024).

1.2.2 Definition und klinisches Bild des essentiellen Tremors

Gemäß der aktuellen Klassifikation der International Parkinson and Movement Disorder Society wird der essentielle Tremor als ein isoliertes Tremorsyndrom definiert, das beidseitig auftritt und durch einen Aktionstremor der oberen Extremitäten gekennzeichnet ist. Die Symptomatik des essentiellen Tremors muss mindestens über einen Zeitraum von drei Jahren bestehen und darf nicht von weiteren neurologischen Symptomen und Auffälligkeiten begleitet werden (Bhatia et al., 2018). Der Zeitraum von drei Jahren wurde in die Definition des essentiellen Tremors inkludiert, um vorzeitige Fehldiagnosen zu verhindern. In manchen Fällen entwickeln Betroffene erst nach längerer Zeit zusätzliche neurologische Symptome, die ein Zeichen einer komplexeren Grunderkrankung sind. In diesen Fällen spricht man nicht mehr von einem essentiellen Tremor, der ein isolierter Tremor ist, sondern von einem kombinierten Tremor (Bhatia et al., 2018). Ein Zittern von Stimme, Kopf oder unteren Extremitäten kann beim essentiellen Tremor zusätzlich vorhanden sein, sind aber nicht zwingend (Patel et al., 2024).

Der Aktionstremor kann sich sowohl als posturaler und als auch als kinetischer Tremor zeigen (Lenka & Jankovic, 2021). Obwohl der Tremor beim essentiellen Tremor beidseitig auftritt und die Frequenz an beiden Armen meist ähnlich ist, zeigen Studien, dass die Amplitude unterschiedlich ausgeprägt sein kann. Das bedeutet, dass ein Arm stärker bzw. mit größeren Ausschlägen schwingt als der andere (Lenka & Jankovic, 2021).

Bei manchen Patient:innen treten Begleitsymptome auf, die als „Soft Signs“ bezeichnet werden. Diese sind z.B. leichter Ruhetremor oder leichte kognitive Beeinträchtigungen wie Gedächtnisstörungen. Das Vorhandensein dieser zusätzlichen „Soft Signs“ reicht nicht aus, um eine eigenständige neurologische Erkrankung zu diagnostizieren. Als Reaktion wurde im Jahr 2018 im Rahmen der Klassifikation der Movement Disorder Society die Zusatzkategorie „Essential Tremor plus“ eingeführt. Sie beschreibt Patient:innen, die die diagnostischen Hauptkriterien eines essentiellen Tremors erfüllen, jedoch zusätzlich milde neurologische Auffälligkeiten zeigen (Bhatia et al., 2018).

Typischerweise wird die Erkrankung gekennzeichnet durch einen progredienten Verlauf, also eine schrittweise Verschlechterung der Erkrankung über die Zeit (Patel et al., 2024). Die Stärke des Tremors nimmt im Durchschnitt jährlich um ca. 2–5% zu, wobei der Beginn der Erkrankung schon im Kindesalter stattfinden kann (Siokas et al., 2020).

1.2.3 Komorbiditäten

In der Praxis weisen viele Patient:innen mit essentiellen Tremor Komorbiditäten auf, die für die klinische Versorgung äußerst relevant sind. Vetterick et al. veröffentlichte eine Beobachtungsstudie, die auf Daten großer Versicherungsdatenbanken basiert. Die häufigsten

Begleiterkrankungen waren arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Depressionen und Diabetes mellitus (Vetterick et al., 2022).

Insgesamt hatten bei dieser Studie 96% der Untersuchten eine Begleiterkrankung. Solche Ergebnisse verdeutlichen die Komplexität der Behandlung und Versorgung von Patient:innen mit essentiellen Tremor, denn Komorbiditäten können Einfluss auf die Symptomlast haben und die Diagnosestellung erschweren (Vetterick et al., 2022).

1.2.4 Epidemiologie und Ätiologie

Mit einer geschätzten Gesamtprävalenz von ca. 1% weltweit zählt die Krankheit zu den häufigsten Bewegungsstörungen (Louis & McCreary, 2021). Eine Studie von Song et al. aus dem Jahr 2021 liefert eine Einschätzung zur weltweiten Prävalenz des essentiellen Tremors. In der Metaanalyse, die auf 29 Studien aus 13 Ländern mit über 320.000 Teilnehmenden basierte, zeigte sich, dass die Anzahl der Betroffenen mit dem zunehmenden Alter deutlich ansteigt. Die Gesamtprävalenz des essentiellen Tremors belief sich weltweit auf 0,32%. Bei Personen unter 20 Jahren lag diese bei lediglich 0,04%, während sie bei über 80-Jährigen auf 2,87% anstieg. Männer waren etwas häufiger betroffen als Frauen (Song et al., 2021). In einer weiteren Metaanalyse von Louis und McCreary wurden 42 Studien aus 23 Ländern einbezogen. Die Gesamtprävalenz in allen Altersgruppen lag in dieser Analyse bei ca. 1,33%, wobei auch hier eine deutliche Zunahme mit dem Alter beobachtet wurde. In der Gruppe der über 65-Jährigen betrug die Prävalenz 5,79%. Im Gegensatz zur Studie von Song et al. wurden hier keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern festgestellt (Louis & McCreary, 2021).

Die genetische Komponente scheint eine bedeutende Rolle bei der Entstehung des essentiellen Tremors zu spielen und gilt als der größte Risikofaktor. So wurde beobachtet, dass 30 - 70% der Patient:innen eine positive Familienanamnese aufweisen. Das Risiko erhöht sich um den Faktor 4,7 bei Verwandten ersten Grades. Zwar gibt es Hinweise auf bestimmte Gene, die mit der Entstehung der Erkrankung im Zusammenhang stehen, jedoch liefert die bisherige Forschung keine konsistenten Ergebnisse (Okelberry et al., 2024). Besonders oft wurde das LINGO1-Gen untersucht, welches in zahlreichen Studien als potenzieller Risikofaktor identifiziert wurde. LINGO1 steht für „Leucine-rich repeat and Ig domain containing 1“ und ist ein Transmembranprotein, das vor allem im zentralen Nervensystem zu finden ist. Dieses Gen steuert die Entwicklung der Nervenzellen und ist unter anderem für die Regeneration der Nervenfortsätze und Myelinisierung zuständig. Es wird vermutet, dass eine genetisch bedingte Fehlregulation dieses Proteins die neuronale Signalübertragung stören kann und dadurch die Entstehung von essentiellen Tremor begünstigt wird (Siokas et al., 2020). Gentests sind derzeit noch kein Bestandteil der klinischen Untersuchung des essentiellen Tremors, jedoch stellt die Genforschung weiterhin ein zentrales Feld dar, um die zugrunde liegende Krankheitsentstehung besser zu verstehen (Okelberry et al., 2024).

Bislang wurden nur wenige weitere potenzielle Risikofaktoren identifiziert, darunter der Konsum von β -Carbolin-Alkaloide wie Harmalin, der übermäßige Konsum von Koffein sowie die Exposition gegenüber Pestiziden, Blei und anderen Schwermetallen. Im Gegensatz dazu könnte das Rauchen einen möglichen präventiven Effekt besitzen (Siokas et al., 2020). Studienergebnisse deuten auf einen umgekehrt proportionalen Zusammenhang zwischen Zigarettenkonsum und essentiellen Tremor hin (Benito-León et al., 2008).

1.2.5 Pathophysiologie des essentiellen Tremors

Die Pathophysiologie des essentiellen Tremors ist komplex und bislang nicht vollständig geklärt, was die Entwicklung von gezielten pharmakologischen Therapiemöglichkeiten erschwert (Okelberry et al., 2024). In den letzten Jahrzehnten wurden unterschiedliche Hypothesen entwickelt, die verschiedene Mechanismen der zugrunde liegenden Pathophysiologie betrachten (Patel et al., 2024). Dennoch bleibt die genaue Lokalisation sowie die Charakterisierung der genauen pathologischen Veränderung eine große Herausforderung. In den 1970er Jahren wurde die oliväre Hypothese entwickelt, die den Ursprung der Erkrankung im sogenannten Nucleus olivaris inferior im Hirnstamm sieht (Lenka & Jankovic, 2021). Die aktuelle Forschung konzentriert sich zunehmend auf das Kleinhirn (lat. Cerebellum) sowie auf ein Netzwerk, das als cerebello-thalamo-kortikales Netzwerk bezeichnet wird und neben dem Kleinhirn, den Thalamus und die Großhirnrinde umfasst (Okelberry et al., 2024). Das deutet darauf hin, dass die Quelle der Pathogenese nicht auf eine einzelne Hirnregion zurückzuführen ist, sondern vielmehr eine Störung des neuronalen Netzwerks ist (Lenka & Jankovic, 2021).

1.2.5.1 Die oliväre Hypothese

Beim Nucleus olivaris inferior handelt es sich um ein Kerngebiet im Hirnstamm, das zwischen dem verlängerten Rückenmark und der Pons lokalisiert ist und zum inferioren Olivenkern-Komplex gehört. Dieser Komplex dient unter anderem der Informationsweiterleitung zum Kleinhirn und ist unter anderem wichtig für die Koordination von Bewegungen (Paul & Das, 2025). Dem Nucleus olivaris inferior wird die Fähigkeit zugeschrieben, rhythmische neuronale Aktivität zu erzeugen. Daher wurde er als möglicher „Taktgeber“ des Tremors untersucht (Louis & Lenka, 2017). In einer Studie wurde der Harmalin-induzierte Tremor an Katzen untersucht. In diesem Versuch konnte gezeigt werden, dass nach Verabreichung des pflanzlichen β -Carbolin-Alkaloids Harmalin eine rhythmische Aktivität im Bereich des Nucleus olivaris inferior entsteht. Dies führte zu einem generalisierten Zittern, das im Erscheinungsbild dem essentiellen Tremor beim Menschen ähnelte. Diese Ergebnisse deuten auf eine besondere Rolle dieses Gebiets bei der Entstehung des essentiellen Tremors hin (Llinás & Volkind, 1973).

In einer späteren Studie von Louis et al. wurden erstmals postmortale Untersuchungen des Nucleus olivaris inferior bei Patient:innen mit essentiellen Tremor durchgeführt. Die Strukturen

des Nucleus olivaris inferior wurden anschließend mit denen von altersgleichen Kontrollpersonen ohne essentiellen Tremor verglichen. Ziel war es, strukturelle Unterschiede zu erkennen, die mit der Entstehung von essentiellem Tremor zusammenhängen könnten. Die Ergebnisse zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede in der neuronalen Struktur des Nucleus olivaris inferior zwischen den beiden Gruppen. Dies deutet darauf hin, dass der Nucleus olivaris inferior strukturell unverändert bleibt und somit keine zentrale Rolle in der Pathogenese der Erkrankung spielt (Louis et al., 2013). Auch funktionelle bildgebende Verfahren wie die Positronen-Emissions-Tomographie konnten keine Veränderungen des Nucleus olivaris inferior nachweisen, was die Hypothese weiter abschwächt (Wills et al., 1994). Diese Theorie gilt aufgrund mangelnder Belege als überholt und spielt heutzutage nur noch eine untergeordnete Rolle (Lenka & Jankovic, 2021).

1.2.5.2 Die zentrale Oszillator-Hypothese

Diese Hypothese postuliert, dass die Pathophysiologie auf einem oszillatorischen Netzwerk verschiedener Hirnareale beruht. Ursprünglich konzentrierte sich die Forschung auf die Suche nach einem einzelnen „Tremorgenerator“, wobei der Nucleus olivaris inferior wie oben beschrieben im Vordergrund stand. Die zentrale Oszillator-Hypothese geht davon aus, dass der Tremor durch das Zusammenspiel verschiedener Strukturen, also durch ein Netzwerk mehrerer Oszillatoren, entsteht. Diese können entweder unabhängig oder funktionell gekoppelt die Tremoraktivität erzeugen. Zu diesem Netzwerk zählen vor allem der Kortex, thalamische Kerne, das Kleinhirn und Hirnstammstrukturen (Kosmowska & Wardas, 2021).

1.2.5.3 Die neurodegenerative Hypothese

Eine weitere Hypothese geht davon aus, dass es sich bei essentiellem Tremor um eine Erkrankung mit Nervenzellschädigung handelt, sprich eine neurodegenerative Erkrankung ist. Diese Annahme stützt sich vor allem darauf, dass die Erkrankung vermehrt im höheren Lebensalter auftritt. Zudem steht sie in Verbindung mit einem erhöhten Risiko für andere neurodegenerative Erkrankungen wie Parkinson oder Demenz (Kosmowska & Wardas, 2021).

Besonderer Fokus liegt dabei auf den Purkinje-Zellen des Kleinhirns (Kosmowska & Wardas, 2021). Purkinje-Zellen sind große, stark verzweigte Nervenzellen in der Kleinhirnrinde, die eine wichtige Rolle bei der Kontrolle von motorischen Bewegungsabläufen spielen. Sie besitzen einen charakteristischen, flaschenförmigen Zellkörper, der durch viele verzweigte Dendriten und ein langes Axon bedingt ist. Der Großteil der Purkinje-Zellen setzt den Neurotransmitter GABA frei, der hemmend auf die Signalweiterleitung wirkt und die Steuerung der motorischen Bewegung ermöglicht (Gironell, 2014). Neuropathologische Untersuchungen konnten zeigen, dass es bei einer Reihe von Patient:innen mit essentiellem Tremor zu Veränderungen dieser Zellen kommt. Dazu zählen Verdickungen der Zellfortsätze und Umbauprozesse in den Dendriten (Louis et al., 2014). Solche Befunde unterstützen die Idee, dass essentieller Tremor

zumindest teilweise eine degenerative Erkrankung ist. Allerdings existieren auch Studien, die keinen Hinweis auf einen Verlust von Purkinje-Zellen oder strukturellen Veränderungen liefern (Symanski et al., 2014).

Auch Bildgebungsuntersuchungen lieferten bislang ebenfalls keine einheitlichen Befunde. Während einige Studien eine Atrophie des Kleinhirns beschreiben, blieben andere ohne Auffälligkeiten (Holtbernd & Shah, 2021).

Molekulare Untersuchungen der Synapsenverbindungen zwischen dem Nucleus olivaris inferior und den Purkinje-Zellen liefern zusätzliche Hinweise auf pathologische Veränderungen. Unter physiologischen Bedingungen bilden die sogenannten Kletterfasern (engl. climbing fibers), die aus dem Nucleus olivaris inferior im Hirnstamm kommen, Synapsen an den dickeren, näher gelegenen Dendriten der Purkinje-Zellen im Kleinhirn. Auf diese Weise wird eine effektive Signalübertragung im olivo-cerebellären System ermöglicht. Bei Patient:innen mit essentiellen Tremor zeigte sich jedoch eine Umorganisation: Die Kletterfasern bildeten die Synapsen nun an dünneren und weiter entfernten Dendriten. Je ausgeprägter die Tremorsymptomatik, desto stärker war diese Umstrukturierung (Lin et al., 2014).

1.2.5.4 Die GABA-Hypothese

Die bedeutendste Hypothese der letzten Jahrzehnte stellt die GABA-Hypothese dar, die auf einer Dysregulation des GABAergen Systems beruht und ebenfalls einen besonderen Fokus auf das Kleinhirn legt (Kosmowska & Wardas, 2021). Im Kleinhirn sind hauptsächlich $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren anzutreffen, die spezifisch für Granulazellen sind und extrasynaptisch vorkommen (Sieghart et al., 2022). Der Rezeptor $\alpha 1\beta 3\gamma 2s$ ist ebenfalls in diesem Bereich zu finden, wobei dieser synaptisch lokalisiert ist (Pirker et al., 2000). Auch die Variante $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ wurde im Kleinhirn nachgewiesen, jedoch kommt sie dort seltener vor (Sieghart et al., 2022). Rezeptoren, die die $\alpha 4$ -Untereinheit besitzen (z. B. $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ oder $\alpha 4\beta 3\delta$) kommen im Kleinhirn nicht vor (Laurie et al., 1992; Pirker et al., 2000).

Die Hypothese postuliert, dass die hemmende Signalübertragung durch GABA gestört ist, was zu einer Dysregulation im cerebello-thalamo-kortikalen Netzwerk führt und die Tremorsymptomatik auslöst. Dabei verläuft die Entwicklung der Symptome in mehreren Schritten: Die Degeneration Purkinje-Zellen in der Kleinhirnrinde führt zu einem Verlust der GABAergen Hemmung. Als Konsequenz werden tiefliegende Kleinhirnkerne, insbesondere der Nucleus dentatus, weniger gehemmt und es kommt zu einer Überaktivität der tiefliegenden Kleinhirnneuronen. Diese Hyperaktivität überträgt sich auf den Thalamus und führt zu einer rhythmischen Aktivierung und einer stärkeren Aktivierung der thalamo-kortikalen-Bahn, was letztlich den Tremor auslöst (Kosmowska & Wardas, 2021).

Es existieren verschiedene Hinweise, die diese Hypothese stützen. Ein wichtiger Befund ist, dass eine Vielzahl von Medikamenten, die die GABAerge Inhibition verstärken, zu einer Verbesserung der Tremorsymptomatik führen. Zu diesen Wirkstoffen zählen Primidon, Topiramate, Gabapentin und auch Ethanol (Kosmowska & Wardas, 2021). Zudem kann Muscimol, der direkte Agonist von GABA_A-Rezeptoren, ebenfalls den Tremor lindern. Im Thalamus von sechs Patient:innen mit essentiellm Tremor wurden Mikroinjektionen mit Muscimol verabreicht, wobei die tremorlindernde Wirkung nach etwa sieben Minuten einsetzte und neun Minuten anhielt. Placeboinjektionen mit Kochsalzlösung zeigten dagegen keinen Effekt (Pahapill et al., 1999). Darüber hinaus wurde in der Gehirn-Rückenmarks-Flüssigkeit (Liquor cerebrospinalis) von essentiellm Tremor-Patient:innen leicht verringerte GABA-Werte identifiziert (Mályy et al., 1996).

Forscher stellten anhand postmortaler Untersuchungen fest, dass insbesondere im Nucleus dentatus, eine signifikante Reduktion der GABA-Rezeptoren vorlag. Im Vergleich zu Kontrollpersonen ohne essentiellen Tremor war die Dichte der GABA_A-Rezeptoren um 35% und die der GABA_B-Rezeptoren um 22–31% reduziert. Interessant war auch, dass die Reduktion der Rezeptoren mit der Dauer der Tremorsymptomatik korrelierte, was auf einen progressiven Krankheitsverlauf hindeutete. Im Kleinhirnkortex konnten solche Veränderungen jedoch nicht nachgewiesen werden (Paris-Robidas et al., 2012).

Eine experimentelle Studie zeigte die potenzielle Bedeutung der GABA_A-Rezeptoren anhand von genetischen Mausmodellen. Die Expression der $\alpha 1$ -Untereinheit wurde gezielt ausgeschaltet und als Folge sank die Zahl der GABA_A-Rezeptoren signifikant. Die Mäuse entwickelten als Folge einen anhaltenden posturalen und kinetischen Tremor, der ähnlich dem menschlichen essentiellen Tremor war. Zudem zeigten die Tiere Koordinationsprobleme. Obwohl die Anzahl der Purkinje-Zellen im Kleinhirn unverändert blieb, zeigten die genetisch veränderten Mäuse keine Reaktion mehr auf GABA. Das spricht für eine funktionelle Störung des GABAergen Systems und nicht für Zellverlust (Kralic et al., 2005).

Es gibt also mehrere Hinweise auf eine Beteiligung von GABA-Rezeptoren bei essentiellm Tremor, jedoch konnte bislang keine genetische Komponente gefunden werden, die eindeutig mit dem GABAergen-System und der Erkrankung in Verbindung steht. Damit bleibt unklar, ob die beobachteten Veränderungen auf genetische Ursachen zurückzuführen sind (Kosmowska & Wardas, 2021).

1.2.6 Nicht-pharmakologische Behandlungsmöglichkeiten

In vielen Fällen können auch nicht-pharmakologische Maßnahmen die Tremor-Symptomatik verbessern (Hopfner & Deuschl, 2020). Im folgenden Kapitel werden verschiedene Ansätze vorgestellt.

1.2.6.1 Allgemeine Maßnahmen und unterstützende Therapien

Einfache Änderungen des Lebensstils können als ergänzende Therapie den Behandlungserfolg und die Lebensqualität verbessern. So kann sich der Verzicht auf bestimmte Nahrungsmittel, ausreichend Schlaf und Ruhe positiv auf die Tremorsymptomatik ausüben. Besonders jüngere Tremor-Patient:innen leiden oft unter einer Verstärkung der Symptome nach körperlicher Anstrengung. Somit sind genügend Schonung und ausgiebige Erholungsphasen empfehlenswert (Hopfner & Deuschl, 2020).

Soziale Beeinträchtigungen sowie Stimmungsschwankungen sind oft Teil der Erkrankung, besonders weil das sichtbare Zittern mit Schamgefühlen und Stigmatisierung verbunden ist. Als Folge kommt es zu sozialer Unsicherheit, zur Vermeidung von Kontakten und zum Rückzug. Im Verlauf kann sich darauf eine psychische Erkrankung entwickeln. In solchen Fällen kann eine Psychotherapie dazu beitragen das Wohlbefinden und die psychische Gesundheit zu stärken, um besser mit der Lebenssituation umgehen zu können (Hopfner & Deuschl, 2020).

Personen, die unter Stimmbandzittern leiden, profitieren in vielen Fällen nicht ausreichend von einer medikamentösen Therapie. Hier hat sich die logopädische Therapie als besonders effektiv erwiesen. Durch gezielte Übungen werden die muskulären Verspannungen zwischen Kopf und Nacken verringert und der Stimmbeginn erleichtert (Hopfner & Deuschl, 2020).

1.2.6.2 Transkutane Afferente Musterstimulation (TAPS)

Eine neuartige, nicht-invasive Behandlungsform des essentiellen Tremors stellt die sogenannte Transkutane Afferente Musterstimulation (TAPS) dar. Dabei handelt es sich um ein Gerät, das am Handgelenk getragen wird und individuell angepasste elektrische Impulse an bestimmte Nerven abgibt. Die Stimulationsfrequenz wird dabei an die individuelle Tremorfrequenz der Patient:innen angepasst. Erste Studien und klinische Beobachtungen deuten darauf hin, dass TAPS eine wirksame und sichere Option zur Kontrolle der Symptome darstellt. In einer großen Studie wurde diese Stimulationstherapie untersucht, bei der das Gerät über einen Zeitraum von drei Monaten regelmäßig zu Hause getragen wird. Es kam zu einer deutlichen Verbesserung der Armfunktion sowie zu einer Reduktion der Tremorintensität. Die Teilnehmer wendeten das Gerät eigenständig an, was die Praxistauglichkeit im häuslichen Umfeld unterstreicht. Die Behandlung erwies sich auch als sehr sicher, da die Teilnehmer nur über leichte Nebenwirkungen klagten (Isaacson et al., 2020).

1.2.6.3 Invasive neurochirurgische Verfahren

Bei Patient:innen mit schwerem oder medikamentös nicht ausreichend behandelbarem essentiellen Tremor kann eine invasive Therapie in Betracht gezogen werden. Am häufigsten wird die sogenannte tiefe Hirnstimulation (engl. Deep Brain Stimulation, DBS) eingesetzt. Dabei kommen Elektroden zum Einsatz, die dauerhaft in bestimmte Zielregionen des Gehirns implantiert werden. In der Regel werden dabei Bewegungszentren im Thalamus oder der angrenzenden Strukturen des Zwischenhirns stimuliert. Die elektrische Stimulation dieser Hirnregionen kann zu einer deutlichen Reduktion des Tremors führen (Patel et al., 2024).

Allerdings kommen nicht alle Patient:innen für solch ein invasives Verfahren infrage, sei es aufgrund medizinischer Kontraindikationen oder wegen Bedenken möglicher Nebenwirkungen. Aus diesem Grund werden sie ausschließlich dann durchgeführt, wenn alle anderen Therapiemöglichkeiten gescheitert sind (Patel et al., 2024).

1.2.7 Pharmakologische Behandlungsmöglichkeiten

Die medikamentöse Therapie von essentiellen Tremor ist begrenzt und stößt auf zwei zentrale Herausforderungen: Entweder ist die Wirksamkeit nicht zufriedenstellend oder die Nebenwirkungen sind zu ausgeprägt. Ungefähr ein Drittel der Patient:innen setzt daher Medikamente aufgrund dieser Probleme ab (Lenka & Jankovic, 2021). Bei milden Verlaufsformen wird in der Regel nicht-medikamentöse therapiert (Patel et al., 2024). Die Mittel der ersten Wahl sind Propranolol, Primidon und Topiramal (Deuschl & Schwingenschuh, 2022).

1.2.7.1 Propranolol

-Rezeptorenblocker (kurz: β -Blocker) wirken als kompetitive Antagonisten an adrenergen β_1 - und β_2 -Rezeptoren. Dadurch hemmen sie die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin, was zu einer Entlastung des Herzens sowie einer Reduktion des Sauerstoffbedarfs führt (Drygała et al., 2024). β_1 -Rezeptoren sind vor allem im Herzen, aber auch in den Nieren und im zentralen Nervensystem zu finden. β_2 -Rezeptoren sind dagegen überwiegend in der glatten Muskulatur lokalisiert, insbesondere in Bronchien und Blutgefäßen, wo sie eine entspannende Wirkung auf die Muskulatur entfalten (Drygała et al., 2024).

Die Substanzen dieser breiten Wirkstoffklasse unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Selektivität an den β -Rezeptoren und ihrer Fähigkeit die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden (Drygała et al., 2024). Für eine maximale Tremorsuppression scheint eine β_2 -Blockade erforderlich zu sein, die nicht kardioselektiv wirkt (Frei & Truong, 2022).

In der Behandlung des essentiellen Tremors hat sich das nicht-selektive Präparat Propranolol als besonders effektiv erwiesen. Der Wirkstoff blockiert sowohl β_1 als auch β_2 -Rezeptoren

(Drygała et al., 2024) und wird gemäß den aktuellen S2k-Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie sowohl bei essentiellen Tremor als auch bei essentiellen Tremor plus stark empfohlen. Diese Leitlinien wurden gemeinsam mit der Österreichischen Gesellschaft für Neurologie (ÖGN) und der Schweizerischen Neurologischen Gesellschaft (SNG) erarbeitet. Propranolol ist das einzige in Österreich zugelassene Medikament der ersten Wahl für die Behandlung des essentiellen Tremors. Alle weiteren empfohlenen Wirkstoffe, wie Primidon oder Topiramate, werden „off-label“ verwendet. Durchschnittlich kann durch die Anwendung von Propranolol eine Tremoreduktion von ca. 41% erzielt werden (Deuschl & Schwingenschuh, 2022).

Es wird angenommen, dass der positive Effekt auf den Tremor vor allem über die Blockade von peripheren, nicht-kardialen β_2 -Rezeptoren in den Muskelspindeln erfolgt. Aufgrund seiner Lipophilie ist Propranolol in der Lage die Blut-Hirn-Schranke leicht zu überwinden. Ein zentraler Effekt im Gehirn ist daher nicht auszuschließen (Kosmowska & Wardas, 2021). Bereits Dosen zwischen 60 bis 120 mg der retardierten Formulierung können die Tremorsymptomatik verbessern. Höhere Dosen sind mit einer zusätzlichen Verbesserung assoziiert, jedoch steigt in diesem Dosierungsbereich auch das Risiko für Nebenwirkungen (Frei & Truong, 2022).

Da Propranolol auch kardiovaskuläre Effekte ausübt, ist es empfehlenswert vor Behandlungsstart ein EKG (Elektrokardiogramm) durchzuführen. Bradykardie sowie ein atrioventrikulärer Block (AV) 2. und 3. Grades stellen Kontraindikationen für die Behandlung dar. Grundsätzlich weist Propranolol in niedrigen Dosen eine gute Verträglichkeit auf. Zu den möglichen Nebenwirkungen zählen: Hypotonie, Müdigkeit, Depressionen und erektile Dysfunktion. Bei der Einnahme in Verbindung mit einer Diabetes mellitus Begleiterkrankung ist Vorsicht geboten, da die Symptome einer potentiellen Hypoglykämie maskiert werden können. Propranolol ist bei Patient:innen mit obstruktiven Lungenerkrankungen wie Asthma bronchiale oder COPD absolut kontraindiziert. Da β_2 -Rezeptoren für eine Entspannung der Bronchien sorgen und diese Rezeptoren durch Propranolol gehemmt werden, kann sich das negativ auf die Atemsituation ausüben (Hopfner & Deuschl, 2020).

Unabhängig vom Dosierungsbereich ist eine regelmäßige Überwachung von Blutdruck und Herzfrequenz erforderlich (Frei & Truong, 2022).

1.2.7.2 Primidon

Primidon ist ein Antikonvulsivum und zählt ebenfalls zu den Medikamenten der ersten Wahl bei der Behandlung von essentiellen Tremor (Deuschl & Schwingenschuh, 2022). Die Wirkung beruht vermutlich auf einer Verstärkung des GABAergen Systems, wobei der Wirkmechanismus noch nicht vollständig geklärt ist (Frei & Truong, 2022). Im Zuge der Metabolisierung wird Primidon in die aktiven Metaboliten Phenobarbital und

Phenylethylmalonamid umgewandelt. Während die antikonvulsive Wirkung sowohl dem Ausgangsstoff als auch den aktiven Metaboliten zugeschrieben wird, zeigt Primidon eine deutlich stärkere Wirkung als Tremosuppressor (Hedera et al., 2013).

Primidon wird seit langer Zeit bei essentiellen Tremor eingesetzt und hat sich insbesondere bei Tremor der Extremitäten als wirksam erwiesen und kann dabei sowohl feinmotorische Leistungen als auch alltägliche Aktivitäten verbessern. In klinischen Studien äußerten viele Patient:innen eine stärkere Präferenz für Primidon gegenüber Propranolol. Trotzdem ist die Behandlung mit Primidon nicht unproblematisch, da bereits mittlere Dosierungen zwischen 150 und 750 mg pro Tag häufig zu Nebenwirkungen führen können. Zu den Nebenwirkungen zählen Benommenheit, allgemeine Schwäche, Übelkeit oder Gleichgewichtsstörungen. Die unerwünschten Effekte sind mitverantwortlich dafür, dass ein erheblicher Anteil die Behandlung vorzeitig abbricht (Patel et al., 2024).

Obwohl die tremorreduzierende Wirksamkeit mit der von Propranolol vergleichbar ist, bedarf die Gabe von Primidon aufgrund des Nebenwirkungsrisikos einer besonders sorgfältigen ärztlichen Begleitung. Primidon kommt vor allem dann zum Einsatz, wenn Propranolol entweder nicht vertragen wird oder keine ausreichende Wirkung erzielt. In der klinischen Praxis gilt Propranolol bei jüngeren Personen ohne relevante Begleiterkrankungen als Mittel der ersten Wahl, während bei der älteren Bevölkerungsgruppe zu Primidon tendiert wird (Patel et al., 2024). Ist keine der beiden Substanzen ausreichend wirksam, kann eine Kombination beider Wirkstoffe erwogen werden, bevor auf alternative, nicht-medikamentöse Therapien zurückgegriffen wird (Patel et al., 2024).

1.2.7.3 Topiramate

Dieser Wirkstoff ist ebenfalls ein Antikonvulsivum und zählt zu den Medikamenten der ersten Wahl für essentiellen Tremor, wobei der Wirkmechanismus auch noch nicht vollständig geklärt ist. Es wird vermutet, dass Topiramate spannungsabhängige Natriumkanäle blockiert und die GABA-Aktivität verstärkt (Hopfner & Deuschl, 2020). Welcher Mechanismus für die Minderung der Tremorsymptomatik zuständig ist, ist noch unklar (Kosmowska & Wardas, 2021). Gemäß den aktuellen Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie gehören Topiramate, Propranolol und Primidon sowohl bei essentiellen Tremor als auch bei essentiellen Tremor plus zu den bevorzugten Behandlungsoptionen (Deuschl & Schwingenschuh, 2022). Die Einnahme von Topiramate ist mit einer Vielzahl an Nebenwirkungen verbunden. Typische Nebenwirkungen sind Konzentrationsschwierigkeiten, Gewichtsverlust und Parästhesien. Die Dosierung scheint für den Therapieerfolg eine bedeutende Rolle zu spielen. Eine tägliche Einnahme von 200 mg scheint notwendig zu sein, um den gewünschten therapeutischen Effekt zu erzielen (Hopfner & Deuschl, 2020). Studien mit reduzierten Dosierungen zeigen hingegen eine geringere Wirksamkeit (Frima & Grünewald, 2006).

1.3 Octansäure

1.3.1 Chemische Struktur und physikochemische Eigenschaften

Die Octansäure, auch bekannt als Caprylsäure, gehört zur Gruppe der gesättigten mittelkettigen Fettsäuren und ist aus acht Kohlenstoffatomen aufgebaut. Als weitere Vertreter dieser Gruppe sind die Capronsäure mit sechs und die Caprinsäure mit zehn Kohlenstoffatomen zu nennen (Lemarié et al., 2018).

Die Caprylsäure ist ein lineares Strukturisomer der antikonvulsiven Valproinsäure, die als Wirkstoff in der Behandlung von Epilepsie eingesetzt wird. In Abbildung 1.13 sind beide Strukturen dargestellt. Während die Struktur der Valproinsäure verzweigt ist (Abb. 1.13, rechts), ist die Octansäure unverzweigt (Abb. 1.13, links), weshalb sie auch als ein lineares Isomer von der Valproinsäure bezeichnet wird. Chemisch handelt es sich bei der Octansäure um eine schwache organische Säure (Altinoz et al., 2020). Die Verbindung (Abb. 1.13, links) ist amphipatisch aufgebaut, da sie eine hydrophobe Alkylkette und eine hydrophile Carboxylgruppe besitzt. Dieser Aufbau ermöglicht es ihr Tensid-artige Wirkungen zu entfalten (Li, 2019).

Die Octansäure liegt bei Raumtemperatur als ölige Flüssigkeit vor, die nur eine geringe Löslichkeit in Wasser aufweist: Bei 18,8 °C lösen sich nur 0,818 g pro Liter Wasser, was rund 5,7 mmol pro Liter entspricht. Das Natriumsalz der Caprylsäure, das Natriumcaprylat, lässt sich dagegen deutlich besser in Wasser lösen. Die Wasserlöslichkeit des Salzes ist pH-abhängig und nimmt mit sinkendem pH-Wert ab (Li, 2019).

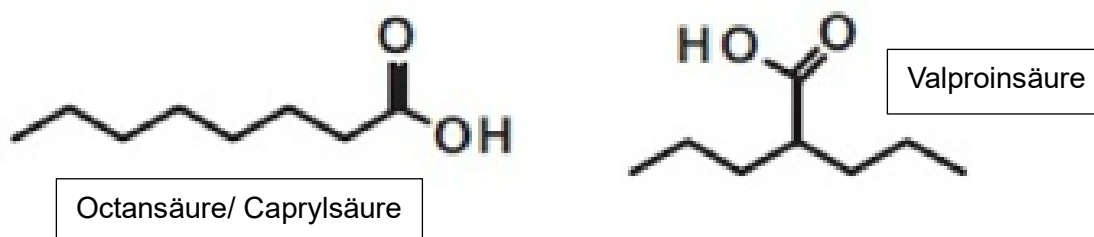


Abbildung 1.13 Strukturformel von Caprylsäure (links) und Valproinsäure (rechts). Beide Verbindungen sind strukturisomere Carbonsäuren, die sich in der Anordnung ihrer Kohlenstoffatome unterscheiden. Während die Valproinsäure eine verzweigte Struktur aufweist, ist die Caprylsäure linear aufgebaut (Altinoz et al., 2020). Bildlizenznummer: 6056010306449.

1.3.2 Vorkommen

Mittelkettigen Fettsäuren, zu denen auch die Octansäure gehört, kommen natürlich sowohl in tierischen als auch in pflanzlichen Quellen vor. Hohe Konzentrationen finden sich in speziellen Ölen, beispielsweise in Kokosöl und Palmkernöl. In Kokosöl beträgt der Anteil von Octansäure ca. 6 bis 10% der Gesamtfettsäuren, in Palmkernöl sind es etwa 2 bis 5%. Milch ist die einzige

tierische Quelle, in der Caprylsäure vorkommt, wobei der Octansäure-Gehalt je nach Tierart stark variiert. So enthält die Milch von Menschen etwa 0,5% Caprylsäure bezogen auf die Gesamtfettsäuren, Kaninchenmilch hingegen deutlich mehr, etwa 18% (Lemarié et al., 2018).

1.3.3 Metabolismus

Mittelkettigen Fettsäuren wie die Caprylsäure weisen einen charakteristischen Stoffwechselweg auf, der sie physiologisch besonders bedeutsam macht. Ein Teil der zugeführten mittelkettigen Triglyceride wird durch die Wirkung präduodenalen Lipasen gespalten. Es entsteht dabei unter anderem freie Caprylsäure, die direkt durch die Magenschleimhaut aufgenommen werden kann. Der Rest der mittelkettigen Triglyceride gelangt in den Dünndarm, wo sie durch Pankreaslipasen gespalten werden. Die dabei freigesetzten mittelkettigen Fettsäuren können nun von den Darmzellen aufgenommen werden. Anders als langkettige Fettsäuren, die zwölf oder mehr Kohlenstoffatome besitzen, werden sie dort nicht wieder zu Triglyceriden verestert und in Chylomikronen eingebaut. Stattdessen gelangen sie in Form von freien Fettsäuren direkt zur Pfortader und werden an das Transportprotein Albumin gebunden. Auf diese Weise werden sie weiter zur Leber transportiert und werden dort weiter verwertet (Lemarié et al., 2018).

In der Leber werden die Fettsäuren einem Prozess namens β -Oxidation unterzogen und dabei schrittweise abgebaut (Lemarié et al., 2018). Im Rahmen der β -Oxidation, welche in den Mitochondrien der hepatischen Zellen stattfindet (Lemarié et al., 2018), entstehen große Mengen Acetyl-CoA. Dieses ist ein bedeutendes Zwischenprodukt der Energiegewinnung (Altinoz et al., 2020). Ein entscheidender Vorteil ist, dass mittelkettige Triglyceride die mitochondriale Membran leicht durchqueren können, was sie von langkettigen Fettsäuren unterscheidet (Lemarié et al., 2018). Anschließend kann das Acetyl-CoA in den Citratzyklus eingeschleust werden, um die Energieeinheit ATP (Adenosintriphosphat) zu bilden (Dieckmann, 2024). Überschüssiges Acetyl-CoA wird in die hepatische Ketogenese eingeführt und zur Ketonproduktion weiterverwendet (Frenser et al., 2024). Diese Ketonkörper stellen eine alternative Energiequelle dar (Altinoz et al., 2020).

1.3.4 Physiologische Relevanz

Obwohl das menschliche Gehirn lediglich etwa 2% des Körpergewichts ausmacht, verbraucht es etwa 22% des gesamten Sauerstoffs. Ein signifikanter Anteil wird dabei für die Verarbeitung von Glucose verwendet, da unter Normbedingungen der Energiebedarf fast ausschließlich durch Glucose gedeckt wird. In Hungerphasen oder bei kohlenhydratloser Ernährung verschiebt sich der Energiestoffwechsel: Der Körper schaltet in einen Stoffwechselzustand der Ketose genannt wird. Statt Glucose wird nun vermehrt auf Ketonkörper zurückgegriffen, die im

Zuge der β -Oxidation aus Fettsäuren wie der Octansäure gebildet werden. Bis zu 80% des Energiebedarfs werden in der Ketose durch Ketonkörper gedeckt (Altinoz et al., 2020).

Das macht Caprylsäure zu einer schnell verfügbaren, gut verträglichen Energiequelle, die vor allem in der klinischen Ernährung Nutzen findet. Sehr kranke Patient:innen, insbesondere welche mit eingeschränkter Verdauung, profitieren von mittelkettigen Fettsäuren. Sie sind leichter verdaulich als langkettige Fettsäuren und können gezielt in die medizinische Diät eingebunden werden (Tang et al., 2025). Mittelkettige Fettsäuren können sowohl oral, enteral als auch parenteral eingesetzt werden, um Energie bereitzustellen (Tang et al., 2025).

Neben ihrer Rolle als Energielieferant ist Octansäure auch an anderen Prozessen im Körper beteiligt. Durch die sogenannte Octanoylierung bildet sie mit dem Hormon Ghrelin einen Ester, wodurch ein Fettsäureester entsteht. Erst nach diesem Vorgang ist Ghrelin in der Lage an seinen spezifischen Rezeptor (GHSR-1a), der in Hypothalamus und Hypophyse lokalisiert ist, zu binden. Durch die Bindung werden vielfältige Wirkungen ausgelöst, wie die Steigerung der Magensäureproduktion, die Regulation der Magenbewegungen und die Auslösung von Hunger (Lemarié et al., 2018).

Darüber hinaus kann β -Hydroxybutyrat, ein Ketonkörper, der aus dem Stoffwechsel von Octansäure entsteht zu einer Erhöhung der GABA-Rezeptorsignalisierung führen. Dies deutet es kommt zu einer Verstärkung der inhibitorischen Wirkung von GABA hin (Altinoz et al., 2020).

Octansäure wirkt außerdem entzündungshemmend und kann potenziell zur Immunmodulation bei Infektionen beitragen. Sie fördert unter anderem die Bildung der antioxidativ und entzündungshemmend wirkenden Substanz α -Liponsäure in den Mitochondrien (Tang et al., 2025). Im Tierversuch zeigte sich, dass genetisch bedingter α -Liponsäure-Mangel zu einer vermehrten Aktivierung des proinflammatorischen Transkriptionsfaktors NF- κ B kommt. Dieser Effekt führte nicht nur zu Gewebstörungen, sondern auch zu erhöhter Sterblichkeit der Tiere (Yi et al., 2009). Weiters wirkt Octansäure antibakteriell und wird aufgrund dieser Eigenschaft in der Lebensmittelindustrie als antimikrobieller Wirkstoff eingesetzt (Altinoz et al., 2020). Sie entfaltet diese Wirkung auf unterschiedliche Mechanismen. Als Tensid-artige Substanz kann sie die bakterielle Zellmembran durchdringen und destabilisieren, was zum Zelltod führt. Darüber hinaus senkt Octansäure den pH-Wert in der bakteriellen Zelle und deaktiviert auf diese Weise Enzyme, die für den Aminosäuretransport wichtig sind (Tang et al., 2025).

1.3.5 Nebenwirkungen

Obwohl sich die Einnahme von Octansäure positiv auf die physiologische Gesundheit zeigen kann, berichten einige Tierstudien auch über mögliche Nebenwirkungen. Insbesondere scheint die Octansäure -Gabe nachteilige Effekte auf die Knochengesundheit zu haben. In Studien mit

Mäusen führte die vierwöchige Verabreichung von Octansäure zu deutlichen Veränderungen der Mikrostruktur und zu einer Verschlechterung der mechanischen Festigkeit der Knochen. Zudem kam es zu einer Veränderung von knochenspezifischer Enzymmarker, was auf eine Störung des Knochenstoffwechsels hindeutet (Jain et al., 2021). Zudem gibt es Hinweise, dass durch hohe Konzentration von Octansäure die mitochondrialer Atmungskomplexe in Leber und Muskulatur gestört wird und es zu oxidativen Zellschäden kommt. Dies ist insbesondere bei Stoffwechselstörungen, die den Abbau von mittelkettigen Fettsäuren erschweren, wie bei MCADD (medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency), von klinischer Relevanz. Diese Störungen können die Entstehung der typischen Symptome bei MCADD wie Hepatopathie und Rhabdomyolyse erklären (Scaini et al., 2012).

Zusätzlich gibt es Hinweise, dass sich die Octansäure negativ auf die embryonale Entwicklung auswirken kann. In Tierexperimenten wurde untersucht, ob die Octansäure schädliche Auswirkungen auf Mäuseembryonen haben könnte. Die Embryonen wurden dazu Konzentrationen von 0 μM (Kontrollgruppe), 400 μM , 800 μM und 1200 μM Octansäure ausgesetzt. Die Ergebnisse zeigten eine verzögerte Zellteilung, eine reduzierte Blastozystenrate sowie eine geringere Zellzahl unter Einfluss von Octansäure. Ab 800 μM war das fetalen und placentaren Gewichts erhöht, was ein Zeichen für mögliche metabolische Langzeitfolgen ist. Die Implatationsrate war bei einer Konzentration von 1200 μM signifikant reduziert (Fredrickson et al., 2015).

1.3.6 Relevanz von Octansäure für die Pathophysiologie des essentiellen Tremors

Bekannt ist, dass Ethanol tremorreduzierende Wirkungen zeigt. Etwa 65-80% der Patient:innen berichten über eine vorübergehende Linderung des Zitterns nach Alkoholkonsum (Everlo et al., 2024; Haubenberger et al., 2014; McGurrin et al., 2024). Auch aktuelle Studien verdeutlichen diesen Effekt (McGurrin et al., 2024). Aufgrund des Suchtpotenzials und der Toxizität ist Ethanol jedoch nicht für die klinische Anwendung geeignet (Haubenberger et al., 2014).

Die Einnahme von Octansäure hat ebenfalls in mehreren Studien zu einer signifikanten Verbesserung der Symptome bei Patient:innen mit ET geführt (Nahab et al., 2011; Voller et al., 2016). Die Suche nach Alternativen zu Ethanol führte zu der Untersuchung höhermolekularen Alkoholen wie 1-Octanol welches im Körper rasch zu Octansäure verstoffwechselt wird. Bereits wenige Minuten nach der oralen Einnahme steigt die Konzentration von Octansäure im Blut signifikant an. In Pharmakokinetischen Untersuchungen war der Plasmaspiegel von Octansäure etwa 100-fach höher als die von 1-Octanol. In derselben Studie wurde zudem auch die Tremorstärke vor und nach der Einnahme erfasst.

Die Ergebnisse zeigten signifikante Verbesserungen des Tremors, wobei der Effekt nach 90 Minuten einsetzte und etwa 90 min lang hielt. Die zeitliche Korrelation zwischen der beobachteten Tremorreduktion und dem Anstieg des Plasmaspiegels von Octansäure liegt nahe, dass Octansäure den wirksamen Metaboliten darstellt und nicht 1-Octanol. Das Sicherheitsprofil der Substanz war gut, mit nur wenigen Nebenwirkungen (Nahab et al., 2011).

Im Gegensatz dazu scheint im Tiermodell 1-Octanol die wirksamere Substanz zu sein. Bereits bei geringer Konzentration war die Substanz in der Lage den Tremor signifikant zu reduzieren, während die Octansäure erst bei höheren Konzentrationen den gleichen Effekt hatte (Nahab et al., 2012a).

In einer weiteren Studie wurde die maximal verträgliche Einzeldosis von oral verabreichter Octansäure untersucht, um zugleich Hinweise auf eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zu erlangen. Die Teilnehmer wurden dabei in fünf Gruppen eingeteilt, die jeweils eine andere Menge an Octansäure bekamen: 8-128 mg/kg Körpergewicht. Es traten keine dosislimitierenden Toxizitäten auf, selbst nach einer Dosis von 128 mg/kg. Die häufigste Nebenwirkung war ein mildes abdominales Unwohlsein. Die Untersuchung der Pharmakokinetik zeigte, dass die Octansäure-Konzentration im Plasma linear mit der Dosis anstieg. Die maximale Konzentration wurde nach etwa 58 Minuten erreicht (Voller et al., 2016).

Der vollständige Wirkmechanismus von der Octansäure ist bislang nicht klar. Es existieren jedoch einige Erklärungen, die auf neurobiologischen Mechanismen basieren und den tremorreduzierenden Effekt erklären. 1-Octanol zeigt Einfluss auf die Neurotransmitter im Gehirn, insbesondere auf das GABAerge System. In elektrophysiologischen Studien wurde nachgewiesen, dass 1-Octanol in geringen Konzentrationen als schwacher Agonist am GABA_A-Rezeptor einen geringen Strom auslöst und in Kombination mit GABA dessen induzierten Strom verstärkt. In diesem Fall fungiert 1-Octanol als positiver Modulator. Somit kann der Wirkstoff die GABAerge Inhibition verstärken und potentiell ein Ungleichgewicht zwischen Hemmung und Erregung im ZNS ausgleichen. Es sei darauf hingewiesen, dass bei hohen 1-Octanol-Konzentrationen der Strom geschwächt wurde, da es zu einer Desensibilisierung des Rezeptors kam. Diese Beobachtung legt nahe, dass die Wirkung von 1-Octanol konzentrationsabhängig ist (Kurata et al., 1999).

Octansäure fördert zudem durch seinen Beitrag zum oxidativen Stoffwechsel im Gehirn die Synthese von Glutamin. Dieser oxidative Metabolismus erfolgt hauptsächlich in Zellen, die Astrozyten genannt werden (Andersen et al., 2021). Sie stellen den häufigsten Zelltyp im ZNS dar und übernehmen eine Vielzahl an komplexen Funktionen (Giovannoni & Quintana, 2020). Das entstandene Acetyl-CoA wird im Rahmen des Citratzyklus zu α -Ketoglutarat umgewandelt. Dieses wird weiter zu Glutamat transaminiert und anschließend zu Glutamin metabolisiert. Das Glutamin wird an Neuronen weitergegeben und dient ihnen als Vorläufer

von GABA. Dadurch unterstützt Octansäure indirekt die GABAerge Inhibition und kann sich somit positiv auf die Neurotransmitter-Homöostase auswirken (Andersen et al., 2021). Octansäure wurde auch mit einer Wirkung auf T-Typ-Calciumkanäle in Verbindung gebracht, insbesondere im Bereich der inferioren Olive. Die Blockade dieser Kanäle könnte pathologisch synchronisierte oliväre Signale reduzieren, die an der Entstehung des Tremors beteiligt sind. Diese Hypothese ist jedoch nicht mehr aktuell (Haubenberger et al., 2014).

Die aktuelle Forschung konzentriert sich eher auf eine Degeneration von Purkinje-Zellen im Kleinhirn, was zu einer verminderten GABA-Aktivität im Kleinhirn führen könnte (Kosmowska & Wardas, 2021). Dies unterstützt die Relevanz GABA-modulierender Substanzen wie Octansäure und 1-Octanol.

1.4 Zielsetzung der Studie

1. Untersuchung des Einflusses der $\gamma 2$ - und δ -Untereinheit auf die funktionellen und elektrophysiologischen Eigenschaften von GABA_A-Rezeptoren bestehend aus $\alpha 4\beta 3$ - oder $\alpha 6\beta 3$ -Untereinheiten.
2. Analyse der Wirkung von Octansäure auf die GABA-Konzentrations-Wirkungskurven von fünf unterschiedlichen GABA_A-Rezeptorkombinationen: $\alpha 6\beta 3\gamma 2$, $\alpha 4\beta 3\gamma 2$, $\alpha 6\beta 3\delta$, $\alpha 4\beta 3\delta$ und $\alpha 1\beta 3\gamma 2$.

2 Methoden

2.1 Zellkultur

Zellen der tsA201-Linie, die eine Unterlinie der menschlichen embryonalen Nierenzelllinie (HEK293) darstellen, wurden in einem Medium kultiviert, welches zu 90% aus Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM mit 4500 mg/l Glukose, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) und zu 10% aus fetalem Kälberserum (FBS, Capricorn Scientific, Ebsdorfergrund, Hessen, Deutschland) zusammengesetzt ist. Diese Zellen wurden bei einer Temperatur von 37 °C und einer CO₂-Konzentration von 5% in einem Inkubator aufbewahrt und nach Erreichen einer Konfluenz von etwa 75% zweimal in der Woche passagiert. Zur Durchführung der Transfektion wurden die Zellen auf 35-mm-Zellkulturschalen ausgesät und 48 Stunden vor der elektrophysiologischen Untersuchung mit GABA_A-Rezeptor-Untereinheiten transfiziert. Die transfizierten Untereinheiten umfassten: $\alpha 1$, $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\beta 3$, $\gamma 2s$ und δ . Ziel war die Expression folgender Rezeptorkombinationen: $\alpha 6\beta 3\gamma 2$, $\alpha 4\beta 3\gamma 2$, $\alpha 6\beta 3\delta$, $\alpha 4\beta 3\delta$ und $\alpha 1\beta 3\gamma 2$. Etwa 24 Stunden nach der Transfektion wurden die Zellen in niedriger Dichte erneut auf 35-mm-Schalen ausgesät, um optimale Bedingungen für elektrophysiologische Messungen zu schaffen. Nur einzeln liegende Zellen wurden zur elektrophysiologischen Untersuchung herangezogen. Zur Überprüfung der Transfektionseffizienz wurde zusätzlich das Plasmid peGFP-C1 co-transfiziert. Als Transfektionsreagenz wurde Polyethylenimin (PEI, 10 μ M, Polysciences Inc., Warrington, Pennsylvania, USA) verwendet.

2.2 Elektrophysiologische Untersuchungen

2.2.1 Die Patch-Clamp-Technik

Die sogenannte Patch-Clamp-Technik stellt eine zentrale Methode in der Elektrophysiologie dar, die hochauflösende elektrische Messungen einzelnen Ionenkanäle oder auch von ganzen Zellen ermöglicht (Kornreich, 2007). Die Entwicklung der Technik erfolgte in den 1970er und 1980er Jahren. Erstmals konnten Forscher präzise elektrische Ströme durch einzelne Ionenkanäle in biologischen Membranen direkt messen (NEHER & SAKMANN, 1976). Die Patch-Clamp-Technik verwendet eine feine Glaspipette mit einer Spitze von wenigen Mikrometern. Eine leitfähige Lösung wird in die Pipette eingefüllt und mit einem Mikromanipulator präzise an die Zellmembran herangeführt. Nachdem die Pipettenspitze die Membran leicht berührt, wird ein leichter Unterdruck erzeugt, um eine spezielle Dichtung zu erhalten. Diese Dichtung wird „Gigaseal“ genannt, da der Widerstand dieser Abdichtung mehrere Gigaohm (G Ω) beträgt (Kornreich, 2007). Der „Gigaseal“ wurde 1981 von Hammel et al. entwickelt und führte zu deutlichen Verbesserungen der damaligen Messergebnisse, da

Leckströme und Rauschen durch diesen dichten Kontakt minimiert konnten (Hamill et al., 1981).

Die Patch-Clamp-Technik findet in unterschiedlichen Konfigurationen Anwendung. Die Cell-Attached-Konfiguration (engl. für „zellanhaftend“, s. Abb. 2.1A) liegt vor, nach der Bildung des Gigaseals. Ausgehend von der Cell-Attached-Konfiguration bestimmt die Veränderung der Membran, ob es sich um die Whole-Cell- (engl. für „Ganzzell-“, s. Abb. 2.1B), Inside-Out- (engl. für „innen nach außen“, s. Abb. 2.1C) oder Outside-Out-Konfiguration (engl. für „außen nach außen“, s. Abb. 2.1D) handelt. Während die Whole-Cell-Methode die Gesamtheit der Ionenströme einer Zelle erfasst, ermöglichen die Inside-Out- und Outside-Out-Konfigurationen die Untersuchung einzelner Ionenkanäle (Ahmadi et al., 2023).

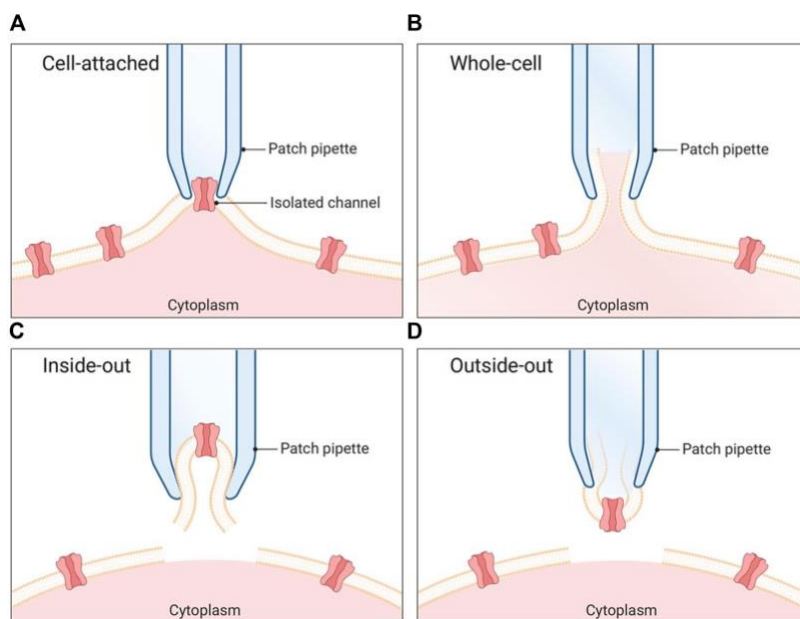


Abbildung 2.1 Die Konfigurationen der Patch-Clamp-Technik. (A) Cell-attached (zellanhaftend): Die Pipettenspitze berührt die Zellmembran vorsichtig. Ein leichter Unterdruck bewirkt die Ausbildung des Gigaseals. Die Methode ermöglicht die Messung Einzelkanälen, ohne dabei die Zelle zu verletzen. (B) Whole-Cell (Ganzzell): Ausgehend von (A) wird ein stärkerer Unterdruck ausgeübt, um die Membran gezielt aufzubrechen. (C) Inside-out (nach innen gewendet): Ausgehend von (A) zieht man die Pipette schnell von der Zellmembran weg, was zur Ablösung eines kleinen Stücks der Membran führt. Die Seite, die dem Zellinneren zugewandt war, liegt nun in der Badelösung frei außen. (D) Outside-out (nach außen gewendet Konfiguration): Diese Konfiguration baut auf der Whole-Cell-Konfiguration auf. Die Pipette wird im Anschluss langsam zurückgezogen, wodurch sich ein Stück der Membran abschnürt und sich so dreht, dass die Außenseite der Membran nach außen zeigt (Ahmadi et al., 2023). Bildlizenz: CC BY

2.2.2 Patch-Clamp Vorgehen

Die elektrophysiologischen Untersuchungen wurden mit der Whole-Cell-Methode bei Raumtemperatur (20–24 °C) durchgeführt. Die verwendeten Pipetten wurden mit einem P-97

Flaming/ Brown Mikropipettenzieher (Sutter Instruments, Novato, CA, USA) aus Borkosilikat-Glaskapillaren (Science Products, Frankfurt/Main, Deutschland) hergestellt. Die Widerstände der Pipettenspitzen lagen im Bereich von 2 - 5 Megaohm. Für die Messungen wurden die Pipetten mit einer Lösung gefüllt, die K_2SO_4 (75 mM), KCl (55 mM), HEPES (10 mM) und $MgCl_2$ (8 mM) enthält. Die Zusammensetzung der Außenlösung umfasst NaCl (140 mM), Glucose (20 mM), HEPES (10 mM), KOH (3 mM), $CaCl_2$ (2,5 mM), $MgCl_2$ (2 mM) und NaOH (2 mM). Für die Strommessungen wurde ein Axopatch 200B-Verstärker und pCLAMP 10.2 Hard- und Software (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) verwendet.

Mittels einer piezogeschalteten Schnellstufenperfusion SF-77B, die an ein achtkanaliges Ventilsteuerungssystem VC-8 (Warner Instruments, Hamden, CT, USA) angeschlossen ist, wurden fünf ansteigende GABA-Konzentrationen (0,03 μM bis 300 μM) auf die Zelle appliziert, wobei jede Konzentration für eine Dauer von drei Sekunden verabreicht wurde. Octansäure soll unter Verwendung einer piezogeschalteten Schnellstufenperfusion SF-77B, die an ein achtkanaliges Ventilsteuerungssystem VC-8 (Warner Instruments, Hamden, CT, USA) angeschlossen ist, verabreicht werden. Zwischen den einzelnen GABA-Applikationen erfolgten Waschphasen von 90 Sekunden mit Außenlösung, um die Rezeptoren zu regenerieren und Überlagerungseffekte zu vermeiden. Nach Abschluss der fünf GABA-Applikationen wurde eine längere Waschphase durchgeführt, in der die Lösung von Außenlösung auf Octansäure-haltige Lösung umgestellt wurde. Von jeder Rezeptorkombination wurden sechs Zellen gemessen.

Anschließend wurde das gleiche Protokoll unter identischen Bedingungen in Anwesenheit von 200 μM Octansäure wiederholt. Die aufgezeichneten Stromamplituden und die Fläche der Kurve wurden analysiert und für jede Zelle normiert.

2.3 Statistik und Auswertung

Es wurde untersucht, welchen Einfluss die Untereinheiten δ und $\gamma 2s$ auf die GABA-induzierten Ströme vermitteln. Zu diesem Zweck wurden Konzentrations-Wirkungskurven erstellt, um δ -haltige Rezeptoren und $\gamma 2s$ -haltige Rezeptoren miteinander vergleichen zu können. Mit einem Extra-Sum-of-Squares F-Test wurden die Top-Werte auf signifikante Unterschiede untersucht ($p < 0,05$). Zum Vergleich der Zellkapazitäten von $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ - bzw. $\alpha 6\beta 3\delta 2s$ -haltigen Rezeptoren mit ihren δ -haltigen Gegenstücken wurde der Mann-Whitney-U-Test angewendet.

Darüber hinaus wurden die durch eine ansteigende GABA-Konzentration (0,03 μM , 0,3 μM , 3 μM , 30 μM und 300 μM) hervorgerufenen Ströme zunächst ohne Octansäure und danach mit einer Konzentration von 200 μM Octansäure analysiert. Die Spitzen-Ströme (in pA) und Flächen unter der Stromkurve (pA*ms) wurden mittels Clampfit 10.2 ausgewertet. In Bezug auf jede verwendete Kombination der GABA_A-Rezeptor-Untereinheiten wurden auch in diesem

Fall Konzentrations-Wirkungskurven für GABA angefertigt, und zwar sowohl ohne als auch mit Octansäure.

Der LogEC₅₀-Wert wurde für jeden Rezeptorsubtyp sowohl unter Kontrollbedingungen (ohne Octansäure) als auch in Anwesenheit von 200 µM Octansäure bestimmt und jeweils mit dem zugehörigen Standardfehler (SE) angegeben.

Die Auswertung der Daten erfolgte unter Verwendung der Hill-Gleichung: $Y = \frac{[A]^n}{EC_{50}^n + [A]^n}$

Dabei steht Y für die gemessene Antwort (Stromantwort durch GABA), [A] für die Agonistenkonzentration (GABA), EC₅₀ für die Konzentration, bei der 50% der maximalen Wirkung erreicht wird. Der Hill-Koeffizienten wird mit n bezeichnet (Goutelle et al., 2008). Zunächst wurden die Ströme bei 30 µM GABA ohne Octansäure normiert, wobei dieser Wert als Referenz diente. Alle weiteren Messwerte wurden anschließend als Verhältnis zu dieser Antwort dargestellt. Kurvenanpassungen und statistische Tests wurden mit Prism 10 (GraphPad Software, San Diego, Kalifornien, USA) durchgeführt. Auch alle Abbildungen im Abschnitt „Ergebnisse“ wurden mit Prism 10 erstellt. Die Anzahl der gemessenen Einzelzellen, also die Stichprobengröße, wird mit n bezeichnet. Mit einem Extra-Sum-of-Squares F-Test wurden auch hier die Top-Werte auf signifikante Unterschiede untersucht (p < 0,05).

3 Results

3.1 GABA-Konzentrations-Wirkungskurven: γ 2s- und δ -haltige Rezeptoren im Vergleich

Zur Untersuchung, ob die von γ 2s- und δ -Untereinheiten induzierten Ströme unterschiedlich sind, wurden Konzentrations-Wirkungskurven für die Rezeptoren $\alpha 6\beta 3\gamma 2$, $\alpha 4\beta 3\gamma 2$, $\alpha 6\beta 3\delta$ und $\alpha 4\beta 3\delta$ erstellt. Dabei wurden ansteigende GABA-Konzentrationen (0,03 μ M, 0,3 μ M, 3 μ M, 30 μ M, 300 μ M) für jeweils drei Sekunden auf die transfizierten tsA201-Zellen appliziert. Zur Untersuchung, ob sich die Dosis-Wirkungskurven der γ 2s- ($\alpha 6\beta 3\gamma 2$ und $\alpha 4\beta 3\gamma 2$) und δ -haltigen ($\alpha 6\beta 3\delta$ und $\alpha 4\beta 3\delta$) Rezeptorgruppen im oberen Plateau (Top-Wert) signifikant unterscheiden, wurde ein Extra-Sum-of-Squares-F-Test durchgeführt. Zudem wurden die EC_{50} -Werte von GABA auf die jeweiligen Rezeptoren erfasst. Die Messungen basieren auf der Whole-Cell-Methode und es wurden jeweils Aufnahmen von $n = 6$ Zellen pro Rezeptorkombination gemacht. Abbildungen 3.1, 3.2 und 3.3 stellen repräsentative Stromantworten der jeweiligen Rezeptorvariante dar. In Abbildung 3.1 ist links die Stromantwort von GABA_A Rezeptoren bestehend aus $\alpha 4\beta 3\gamma 2$ s und rechts von solchen bestehend aus $\alpha 4\beta 3\delta$ zu sehen. Abbildung 3.2 zeigt links den Strom von der GABA_A Subtypenkombination $\alpha 6\beta 3\gamma 2$ s und rechts von $\alpha 6\beta 3\delta$. Abbildung 3.3 veranschaulicht eine typische Stromantwort von einem $\alpha 1\beta 3\gamma 2$ s-Rezeptor.

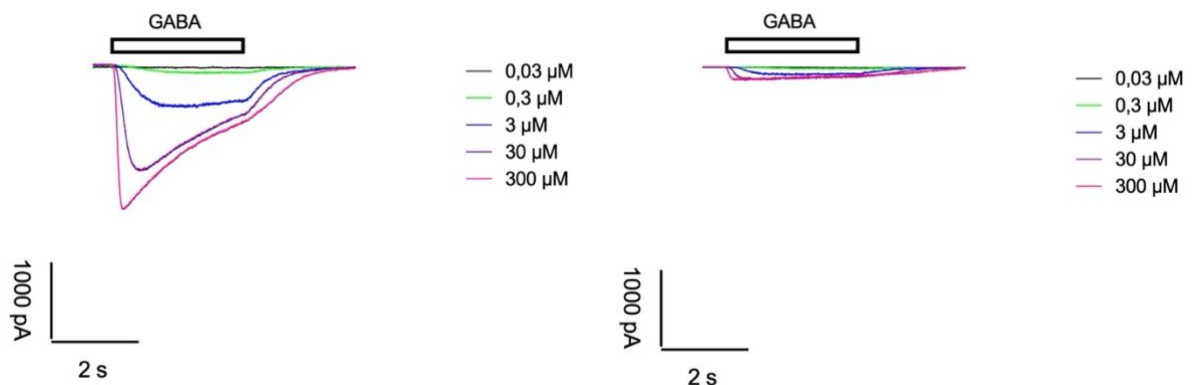


Abbildung 3.1 Stromantworten der $\alpha 4\beta 3\gamma 2$ s und $\alpha 4\beta 3\delta$ -Rezeptoren. tsA201 Zellen wurden mit $\alpha 4\beta 3\gamma 2$ s (links) oder $\alpha 4\beta 3\delta$ (rechts) Untereinheiten transfiziert. GABA-vermittelte Ströme wurden in der Whole-Cell-Konfiguration gemessen. Jede Konzentration GABA wurde jeweils für drei Sekunden auf die Zelle appliziert, veranschaulicht durch das Rechteck. Die schwarze Spur zeigt die Stromantwort bei einer GABA-Konzentration von 0,03 μ M, die grüne bei 0,3 μ M, die blaue bei 3 μ M, die violette bei 30 μ M und die pinke bei 300 μ M.

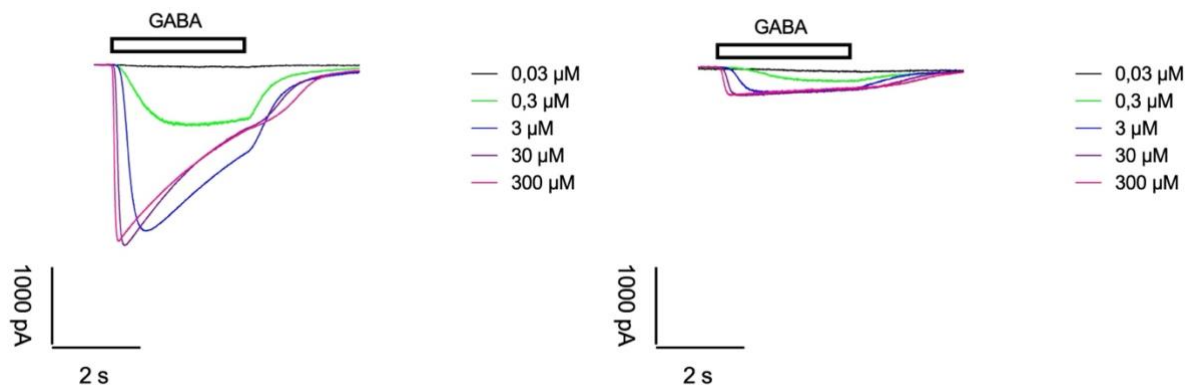


Abbildung 3.2 Stromantworten der $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ - und $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren. *taA201* Zellen wurden mit $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ (links) oder $\alpha 6\beta 3\delta$ (rechts) Untereinheiten transfiziert. GABA-vermittelte Ströme wurden in der Whole-Cell Konfiguration gemessen. Jede Konzentration GABA wurde jeweils für drei Sekunden auf die Zelle appliziert, veranschaulicht durch das Rechteck. Die schwarze Spur zeigt die Stromantwort bei einer GABA-Konzentration von $0,03 \mu\text{M}$, die grüne bei $0,3 \mu\text{M}$, die blaue bei $3 \mu\text{M}$, die violette bei $30 \mu\text{M}$ und die pinke bei $300 \mu\text{M}$.

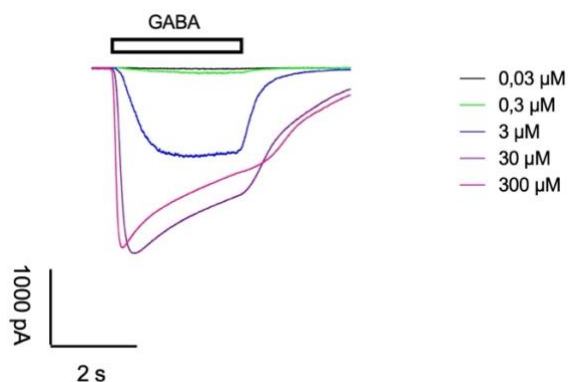


Abbildung 3.3 Stromantworten der $\alpha 1\beta 3\gamma 2s$ -Rezeptoren. *tSA201* Zellen wurden mit $\alpha 1\beta 3\gamma 2s$ Untereinheiten transfiziert. GABA-vermittelte Ströme wurden in der Whole-Cell Konfiguration gemessen. Jede Konzentration GABA wurde jeweils für drei Sekunden auf die Zelle appliziert, veranschaulicht durch das Rechteck. Die schwarze Spur zeigt die Stromantwort bei einer GABA-Konzentration von $0,03 \mu\text{M}$, die grüne bei $0,3 \mu\text{M}$, die blaue bei $3 \mu\text{M}$, die violette bei $30 \mu\text{M}$ und die pinke bei $300 \mu\text{M}$.

Für $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ ergab sich ein Top-Wert von -2900 pA ($\pm 370,0 \text{ pA}$) und für $\alpha 4\beta 3\delta$ ein Wert von $587,1 \text{ pA}$ ($\pm 105,9 \text{ pA}$) (s. Abb. 3.4). Der Unterschied dieser Werte war statistisch signifikant ($p < 0,05$). Beim Vergleich der $\alpha 6$ -haltigen Rezeptoren ergab sich für $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ ein Top-Wert von -1658 pA ($\pm 202,2 \text{ pA}$) und für $\alpha 6\beta 3\delta$ ein Wert von $-919,9 \text{ pA}$ ($\pm 77,04 \text{ pA}$). Auch hier war der Unterschied signifikant ($p < 0,05$) (s. Abb. 3.5).

Die jeweiligen $\log EC_{50}$ -Werte betragen $-5,578$ ($\pm 0,2924$) für $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$, was einem EC_{50} -Wert von $2,65 \mu\text{M}$ entspricht und $-6,499$ ($\pm 0,5012$) für $\alpha 4\beta 3\delta$, was einem EC_{50} -Wert von $0,32 \mu\text{M}$

entspricht (siehe Abb. 3.4). Der $\log EC_{50}$ -Wert betrug für $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ $-6,534 (\pm 0,3364)$, was einem EC_{50} -Wert von $0,29 \mu M$ entspricht und für $\alpha 6\beta 3\delta$ $-6,460 (\pm 0,2286)$ (s. Abb. 3.5). Dies entspricht einem EC_{50} -Wert von $0,35 \mu M$.

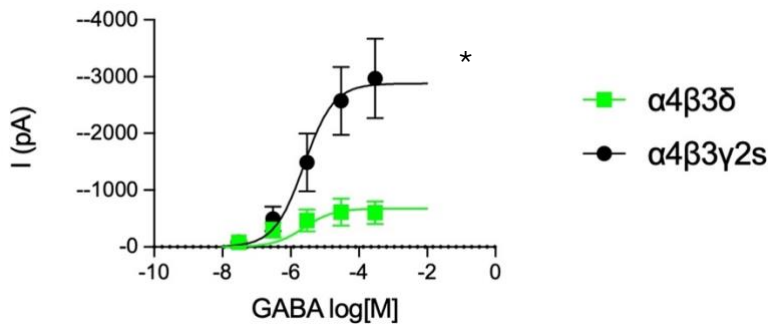


Abbildung 3.4 Dosis-Wirkungskurven von $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ - und $\alpha 4\beta 3\delta$ -Rezeptoren. *tsA201 Zellen wurden mit unterschiedlichen $GABA_A$ Untereinheiten ($\alpha 4\beta 3\gamma 2s$, schwarz, $n = 6$) vs. ($\alpha 4\beta 3\delta$, grün, $n = 6$) transfiziert. Ströme wurden in der Whole-Cell Konfiguration gemessen. * $p < 0,05$ bezieht sich auf einen signifikanten Unterschied der Top-Werte, bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test.*

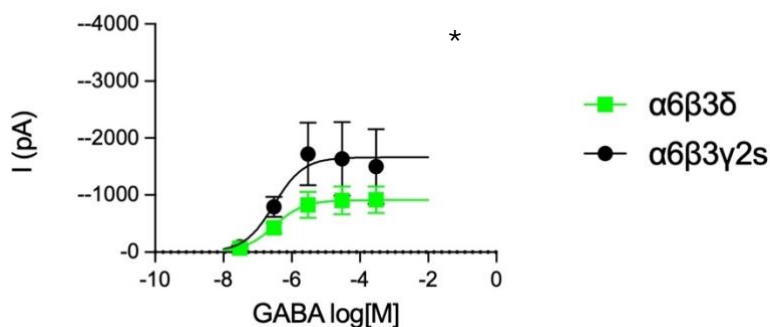


Abbildung 3.5 Dosis-Wirkungskurven für $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ - und $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren. *tsA201 Zellen wurden mit unterschiedlichen $GABA_A$ Untereinheiten ($\alpha 6\beta 3\gamma 2s$, schwarz, $n = 6$) vs. ($\alpha 6\beta 3\delta$, grün, $n = 6$) transfiziert. Ströme wurden in der Whole-Cell Konfiguration gemessen und GABA in den angegebenen Konzentrationen für drei Sekunden auf die Zellen appliziert. * $p < 0,05$ bezieht sich auf einen signifikanten Unterschied der Top-Werte, bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test.*

Die Kapazitäten der Zellen, gemessen in Pikofarad (pF), dienen als indirektes Maß über die Zellgrößen (Hamill et al., 1981). Um festzustellen, ob die Unterschiede in den Messergebnissen nicht auf stark abweichende Zellgrößen zurückzuführen sind, wurde die Kapazität jeder gemessenen Zelle mit unterschiedlichen $GABA_A$ -Rezeptorkombinationen verglichen. Zwischen $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ - und $\alpha 4\beta 3\delta$ -transfizierten Zellen zeigte sich kein signifikanter Unterschied in den Zellkapazitäten ($p > 0,05$). Auch beim Vergleich von $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ - und $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p > 0,05$). Für den statistischen Test wurde der Mann-Whitney-Test verwendet (s. Abb. 3.6).

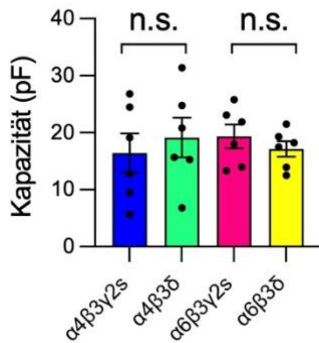


Abbildung 3.6 Vergleich der Zellkapazitäten (pF = Pikofarad) als Maß für die Zellgröße. Die Zellkapazitäten (pF) der tSA201 Zellen, die $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ (blau) oder $\alpha 4\beta 3\delta$ (grün) GABA_A-Rezeptoren heterolog exprimierten wurden verglichen. Ebenso wurden $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ (pink) GABA_A Rezeptoren mit $\alpha 6\beta 3\delta$ (gelb) Rezeptoren verglichen. n. s. bedeutet nicht signifikant ($p > 0,05$), Mann-Whitney-Test.

3.2 GABA-Konzentrations-Wirkungskurven: mit und ohne Octansäure

Die Rezeptoren mit den Untereinheiten $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ ($n = 6$), $\alpha 4\beta 3\delta$ ($n = 6$), $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ ($n = 6$), $\alpha 6\beta 3\delta$ ($n = 6$) und $\alpha 1\beta 3\gamma 2s$ ($n = 6$) wurden in geeigneten Zellen transfiziert. Anschließend wurden die GABA-vermittelten Stromantworten zweimal in derselben Zelle aufgenommen. Es wurden jeweils fünf unterschiedliche GABA-Konzentrationen getestet: 0,03 μM , 0,3 μM , 3 μM , 30 μM , 300 μM . Die erste Messreihe erfolgte unter Kontrollbedingungen ohne Octansäure und die zweite in Anwesenheit von 200 μM Octansäure. Ziel war es zu analysieren, wie und ob Octansäure die Stromantworten verändert (s. Abb. 3.7, 3.8, 3,9). Jede Konzentration wurde für drei Sekunden appliziert. Zwischen jede Konzentration erfolgte eine Auswaschphase von 90 Sekunden. Für jede Rezeptorgruppe wurden unter den beiden Bedingungen Konzentrations-Wirkungskurven erstellt. Um die Vergleichbarkeit zu verbessern, wurden alle Kurven auf die vierte Konzentration (30 μM GABA) normiert. Danach wurden die höchsten Stromantworten (Top-Werte) in Bezug auf Stromamplitude (s. Abb. 3.10) und Fläche (s. Abb. 3.11) für jeden Rezeptor mit und ohne Octansäure ermittelt und verglichen. Ein Extra-Sum-of-Squares F-Test wurde zur statistischen Bewertung durchgeführt, um auf statistische Unterschiede zu testen.

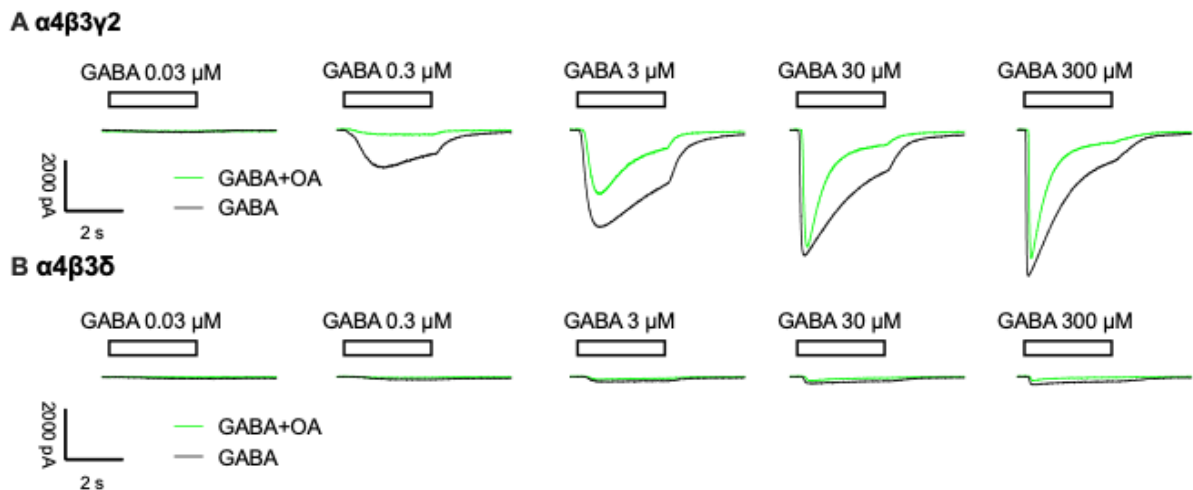


Abbildung 3.7 GABA-vermittelte Ströme von $\alpha 4\beta 3\gamma 2$ - und $\alpha 4\beta 3\delta$ -Rezeptoren mit und ohne Octansäure. Ströme wurden in, mit $\alpha 4\beta 3\gamma 2$ s (A) oder $\alpha 4\beta 3\delta$ (B) transfizierten tSA201-Zellen bei ansteigender GABA-Konzentration (von links nach rechts) in der Whole-Cell-Konfiguration aufgezeichnet. Die Stromantworten wurden sowohl ohne Octansäure („GABA“, schwarze Spur) als auch in Anwesenheit von 200 μM Octansäure („GABA+OA“, grüne Spur) gemessen.

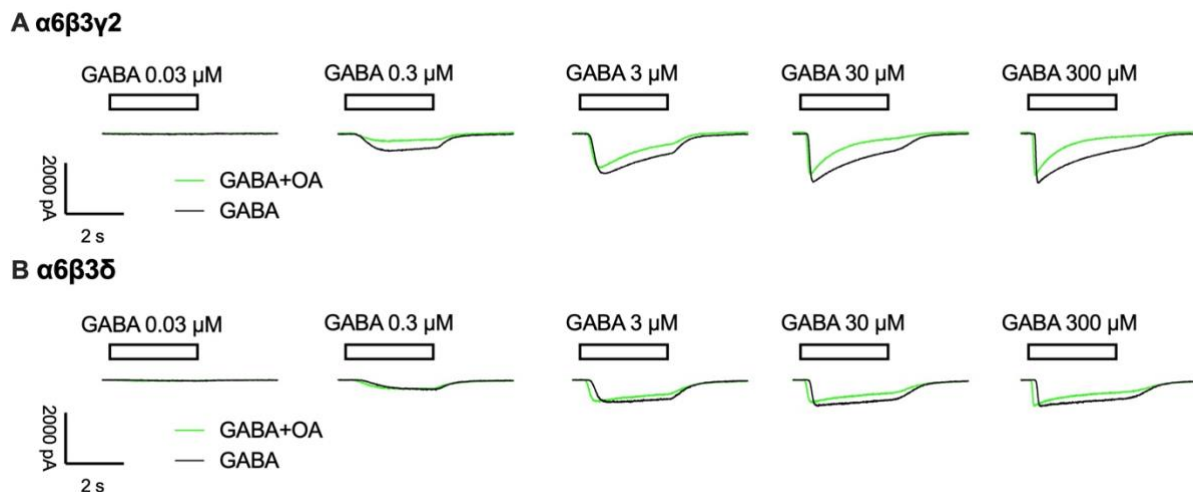


Abbildung 3.8 GABA-vermittelte Ströme von $\alpha 6\beta 3\gamma 2$ - und $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren mit und ohne Octansäure. Ströme wurden in, mit $\alpha 6\beta 3\gamma 2$ s (A) oder $\alpha 6\beta 3\delta$ (B) transfizierten tSA201-Zellen bei ansteigender GABA-Konzentration (von links nach rechts) in der Whole-Cell-Konfiguration aufgezeichnet. Die Stromantworten wurden sowohl ohne Octansäure („GABA“, schwarze Spur) als auch in Anwesenheit von 200 μM Octansäure („GABA+OA“, grüne Spur) gemessen.

$\alpha 1\beta 3\gamma 2$

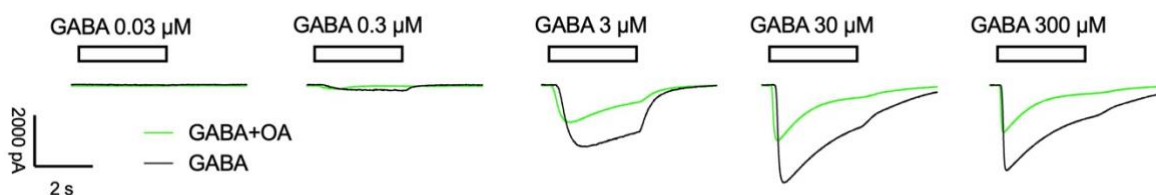


Abbildung 3.9 GABA-vermittelte Ströme von $\alpha 1\beta 3\gamma 2$ s-Rezeptoren mit und ohne Octansäure. Ströme wurden in, mit $\alpha 1\beta 3\gamma 2$ s transfizierten tSA201-Zellen bei ansteigender GABA-Konzentration (von links nach rechts) in der Whole-Cell-Konfiguration aufgezeichnet. Die Stromantworten wurden sowohl ohne Octansäure („GABA“, schwarze Spur) als auch in Anwesenheit von 200 μM Octansäure („GABA+OA“, grüne Spur) gemessen.

Bei $\alpha 1\beta 3\gamma 2$ s führte die Zugabe von Octansäure zu einer signifikanten Verringerung der maximalen Stromantwort. Der normierte Top-Wert ohne Octansäure betrug $1,067 \pm 0,078$, während er mit Octansäure bei $0,6256 \pm 0,051$ lag. Auch bei $\alpha 4\beta 3\gamma 2$ s verringerte sich der Top-Wert von $1,391 \pm 0,105$ ohne auf $0,9155 \pm 0,102$ mit Octansäure. Für $\alpha 4\beta 3\delta$ wurde eine Abnahme von $0,9763 \pm 0,040$ auf $0,6570 \pm 0,030$ beobachtet. Auch bei $\alpha 6\beta 3\gamma 2$ s zeigte sich eine Reduktion des Top-Werts von $1,039 \pm 0,057$ auf $0,6386 \pm 0,051$. Für diese vier Rezeptorkombinationen war die Abnahme der Stromantwort statistisch signifikant ($p < 0,05$), bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test (s. Abb. 3.10). Im Gegensatz dazu zeigte sich bei $\alpha 6\beta 3\delta$ kein signifikanter Unterschied zwischen den Top-Werten. Der normierte Top-Wert betrug ohne Octansäure $1,009 \pm 0,031$ und mit Octansäure $0,9110 \pm 0,051$, $p > 0,05$. Damit war $\alpha 6\beta 3\delta$ die einzige getestete Untereinheitskombination, bei der Octansäure keinen signifikanten Einfluss auf die maximale Stromantwort hatte.

Vergleich (pA)

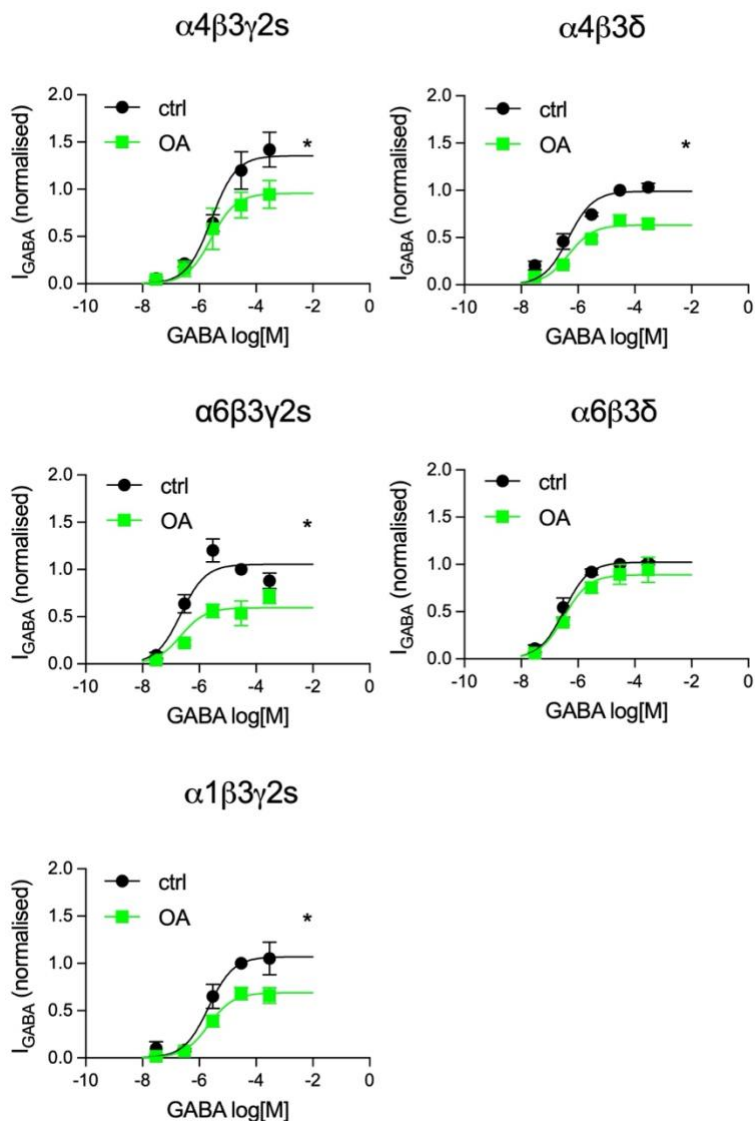


Abbildung 3.10 Dosis-Wirkungskurven mit und ohne Octansäure. Bezogen auf die Stromamplitude. Die GABA-Konzentrationen (0.03 μ M, 0.3 μ M, 3 μ M, 30 μ M, 300 μ M) wurden aufsteigend auf tsA201-Zellen appliziert, die mit den angegebenen GABA_A-Rezeptor Untereinheiten transfiziert waren. Die unterschiedlichen Subtypen wurden jeweils unter Kontrollbedingungen (schwarze Kurve) und in Anwesenheit von 200 μ M Octansäure (grüne Kurve) gemessen. Zur besseren Vergleichbarkeit und Analyse wurden alle Stromantworten auf die vierte Konzentration, 30 Mikromolar GABA, normiert. * $p < 0,05$ bezieht sich auf einen signifikanten Unterschied der Top-Werte, bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test.

Die Analyse der normierten Fläche der Kurve (Area) ergab bei fast allen untersuchten GABA_A-Rezeptorkombinationen eine signifikante Abnahme durch den Einfluss der Octansäure ($p < 0,05$) (s. Abb. 3.11). Bei $\alpha 1\beta 3\gamma 2s$ sank der normierte Top-Wert von $1,110 \pm 0,078$ auf $0,578 \pm 0,051$. Bei $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ verringerte sich der Wert von $1,351 \pm 0,102$ auf $0,769 \pm 0,101$. Bei $\alpha 4\beta 3\delta$ wurde ein Rückgang von $0,954 \pm 0,041$ auf $0,401 \pm 0,035$ beobachtet. Auch bei $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$

reduzierte sich die normierte Area signifikant, von $1,058 \pm 0,050$ auf $0,483 \pm 0,035$. Auch im Bezug auf die Fläche stellt $\alpha 6\beta 3\delta$ die Ausnahme dar. Die Top-Werte lagen hier bei $1,175 \pm 0,126$ ohne und $0,933 \pm 0,079$ mit Octansäure ($p > 0,05$) (s. Abb. 3.11).

Vergleich (area)

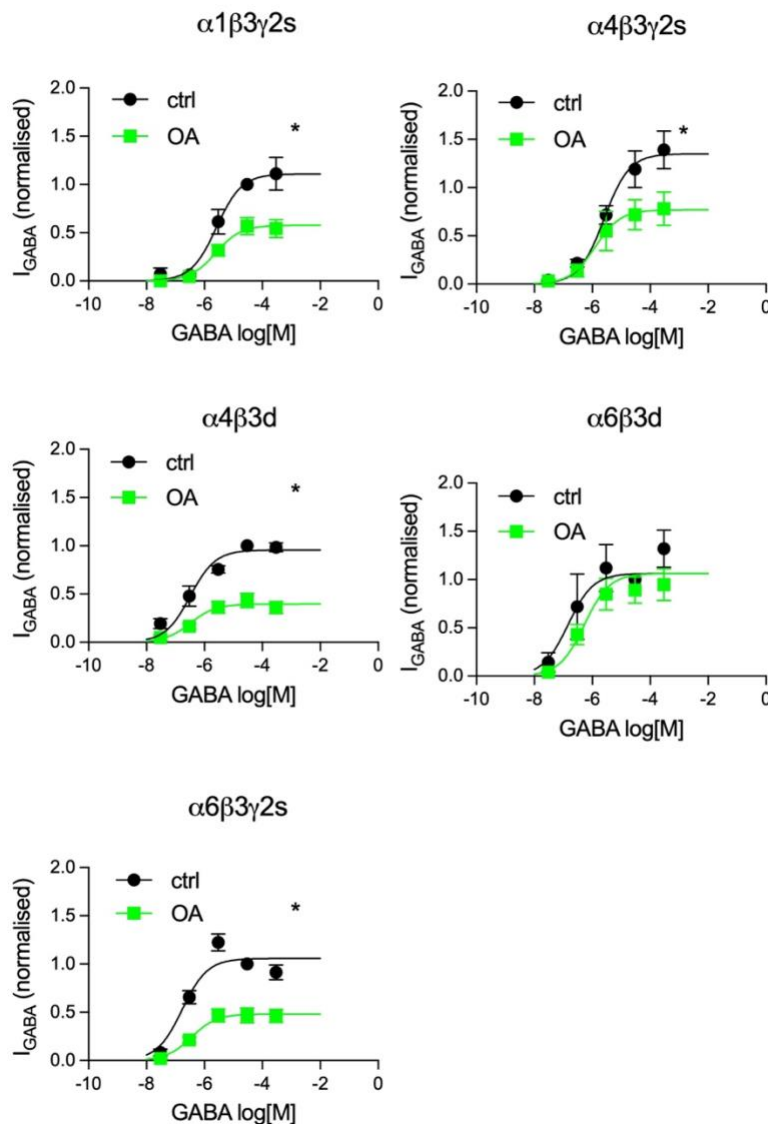


Abbildung 3.11 Dosis-Wirkungskurven mit und ohne Octansäure. Bezogen auf die Fläche (engl. area). Die GABA-Konzentrationen ($0.03 \mu M$, $0.3 \mu M$, $3 \mu M$, $30 \mu M$, $300 \mu M$) wurden aufsteigend auf *tsA201*-Zellen appliziert, die mit den angegebenen GABA_A-Rezeptor Untereinheiten transfiziert waren. Die unterschiedlichen Subtypen wurden jeweils unter Kontrollbedingungen (schwarze Kurve) und in Anwesenheit von $200 \mu M$ Octansäure (grüne Kurve) gemessen. Zur besseren Vergleichbarkeit und Analyse wurden alle Stromantworten auf die vierte Konzentration, 30 Mikromolar GABA, normiert. * $p < 0,05$ bezieht sich auf einen signifikanten Unterschied der Top-Werte, bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test.

In den Tabellen 3.1 (Amplitude) und 3.2 (Fläche) sind die $\log EC_{50}$ -Werte für die Stromamplitude und die Fläche unter der Kurve (engl. area under the curve, AUC) dargestellt.

Rezeptor Subtyp	$\log EC_{50}$ ohne OA \pm SE	$\log EC_{50}$ mit OA \pm SE
$\alpha 4\beta 3\gamma 2s$	$-5,578 \pm 0,292$	$-5,498 \pm 0,376$
$\alpha 4\beta 3\delta$	$-6,499 \pm 0,501$	$-6,223 \pm 0,340$
$\alpha 6\beta 3\gamma 2s$	$-6,534 \pm 0,484$	$-6,093 \pm 0,595$
$\alpha 6\beta 3\delta$	$-6,621 \pm 0,641$	$-6,340 \pm 0,340$
$\alpha 1\beta 3\gamma 2s$	$-5,879 \pm 0,336$	$-5,771 \pm 0,358$

Tabelle 3.1 Halbmaximale Konzentration (EC_{50}) \pm Standardfehler (SE) der Stromamplitude für fünf verschiedene $GABA_A$ -Rezeptoren. Die GABA-Konzentrationen (0.03 μM , 0.3 μM , 3 μM , 30 μM , 300 μM) wurden aufsteigend auf tsA201-Zellen appliziert, die mit den jeweiligen $GABA_A$ -Untereinheiten transfiziert waren. Die unterschiedlichen Subtypen wurden jeweils ohne und in Anwesenheit von 200 μM Octansäure (OA) untersucht. Die $\log EC_{50}$ -Werte der jeweiligen Subtypen wurde unter Kontrollbedingungen (mittlere Spalte) sowie in Anwesenheit von Octansäure (rechte Spalte) bestimmt.

Rezeptor Subtyp	$\log EC_{50}$ ohne OA \pm SE	$\log EC_{50}$ mit OA \pm SE
$\alpha 4\beta 3\gamma 2s$	$-5,762 \pm 0,237$	$-5,765 \pm 0,209$
$\alpha 4\beta 3\delta$	$-6,628 \pm 0,587$	$-6,468 \pm 0,501$
$\alpha 6\beta 3\gamma 2s$	$-6,624 \pm 0,461$	$-6,460 \pm 0,553$
$\alpha 6\beta 3\delta$	$-6,319 \pm 0,336$	$-6,372 \pm 0,336$
$\alpha 1\beta 3\gamma 2s$	$-5,847 \pm 0,369$	$-5,758 \pm 0,443$

Tabelle 3.2 Halbmaximale Konzentration (EC_{50}) \pm Standardfehler (SE) der Fläche unter der Stromkurve für fünf verschiedene $GABA_A$ -Rezeptoren. Die GABA-Konzentrationen (0.03 μM , 0.3 μM , 3 μM , 30 μM , 300 μM) wurden aufsteigend auf tsA201-Zellen appliziert, die mit den jeweiligen $GABA_A$ -Untereinheiten transfiziert waren. Die unterschiedlichen Subtypen wurden jeweils ohne und in Anwesenheit von 200 μM Octansäure untersucht. Die $\log EC_{50}$ -Werte der jeweiligen Subtypen wurde unter Kontrollbedingungen (mittlere Spalte) sowie in Anwesenheit von Octansäure (rechte Spalte) bestimmt.

4 Diskussion

Zahlreiche klinische und experimentelle Untersuchungen zeigen, dass Ethanol bei Patient:innen mit essentiellen Tremor zu einer Verbesserung der Symptome führen kann. Etwa zwei Drittel der Betroffenen berichten von einer vorübergehenden Linderung der Symptome nach dem Konsum ethanolhaltiger Getränke (Everlo et al., 2024; McGurrin et al., 2024). Diese Wirkung wird unter anderem darauf zurückgeführt, dass Ethanol an GABA_A-Rezeptoren als positiv allosterischer Modulator wirkt und so zu einer Verstärkung der GABAergen Transmission führt (Dharavath et al., 2023). Diese Beobachtung steht im Einklang mit einer weit verbreiteten Theorie, die die Pathophysiologie des essentiellen Tremors erklärt. Diese postuliert, dass Betroffene einen Mangel an hemmenden GABAergen Signalen vorweisen, insbesondere im Bereich des Kleinhirns. Dies führt zu einer rhythmischen Überaktivität tiefliegender Kleinhirnneuronen, was letztlich das Zittern auslöst (Kosmowska & Wardas, 2021). Trotz dieser positiven Wirkung ist der therapeutische Einsatz von Ethanol aufgrund von Risiken, zu denen Abhängigkeit und Organschädigung zählen, nicht klinisch anwendbar (Haubenberger et al., 2014).

Auf der Suche nach nicht berauschenden Alternativen erwies sich 1-Octanol, welches ebenfalls als Alkohol klassifiziert wird, als vielversprechender Kandidat. Diese Substanz wird im Körper rasch zu Octansäure metabolisiert und zeigt nach oraler Einnahme positive Effekte auf den Tremor. Pharmakokinetische Studien beschreiben eine Korrelation zwischen dem zeitlichen Verlauf der Tremorreduktion und dem Anstieg von Octansäure im Plasma (Nahab et al., 2011). Das ist ein Hinweis, dass Octansäure pharmakologisch wirksam ist und zu mindest zum Teil selbstständig eine Tremorreduktion bewirkt. Diese Annahme wird auch durch experimentelle Daten an Mäusen gestützt. Sowohl Octanol als auch sein Metabolit Octansäure verbesserten die Tremorsymptomatik. Wichtig ist jedoch zu erwähnen, dass die Effekte im Rahmen eines hamalininduzierten Tremormodells untersucht wurden (Nahab et al., 2012). Dieses induzierte Tremormodell zeigt zwar zentrale Aspekte der möglichen Tremorentstehung, wie die Beteiligung des olivo-cerebellären Netzwerks, spiegelt jedoch möglicherweise nicht vollständig die Pathophysiologie des essentiellen Tremors beim Menschen wider (Pan et al., 2018). Allerdings existieren jedoch auch klinische Studien am Menschen, in denen sich die Einnahme von Octansäure positiv auf die Tremorsymptome ausgewirkt hat, die diese Hypothese unterstützen (Haubenberger et al., 2013; Nahab et al., 2011; Voller et al., 2016).

Es wird vermutet, dass die beobachtete Tremorreduktion auf einer Steigerung der GABAergen Aktivität beruht, auch wenn der genaue Wirkmechanismus noch nicht abschließend verstanden ist (Kosmowska & Wardas, 2021).

Eine weitere oder ergänzende Erklärung für den Wirkmechanismus von Octansäure stellt der Energiestoffwechsel von Neuronen dar. Dabei entstehen Zwischenprodukte, die in den Aufbau von Glutamin einfließen. Glutamin stellt einen Ausgangsstoff von GABA dar (Andersen et al., 2021). Insgesamt spricht vieles dafür, dass die positiven Effekte von Octansäure bei essentiellen Tremor zumindest teilweise auf einer Verstärkung der GABA-Wirkung im Gehirn beruhen (Andersen et al., 2021; Nahab et al., 2012). Für 1-Octanol liegen bereits elektrophysiologische Daten vor, die in vitro eine Wirkung als partieller Agonist und positiver Modulator am GABA_A-Rezeptor belegen (Kurata et al., 1999). Für Octansäure fehlen elektrophysiologische Nachweise einer Modulation der GABAergen Transmission.

Um die Frage nach einem möglichen direkten GABAergen Wirkmechanismus zu klären, wurden im Rahmen dieser Arbeit erstmals elektrophysiologische Untersuchungen zur Wirkung von Octansäure auf unterschiedliche Zusammensetzungen von GABA_A-Kanälen durchgeführt, die im Cerebellum vorkommen (Laurie et al., 1992; Pirker et al., 2000; Sieghart et al., 2022).

In den Ergebnissen dieser Arbeit zeigte sich, dass Octansäure bei fast allen untersuchten GABA_A-Rezeptoren die maximale Stromantwort sowie die Fläche (engl. Area) unter der Stromkurve verringerte (s. Abb. 3.8 und 3.9). Dieser Befund widerspricht der ursprünglich angenommenen Hypothese, die postuliert, dass Octansäure die GABAerge Transmission verstärken könnte. Nur der Rezeptor $\alpha 6\beta 3\delta$ bildete eine Ausnahme. Es handelte sich um den einzigen Rezeptor, bei dem die Area unter the curve und die maximale Stromamplitude nicht signifikant gesunken sind, sondern eher konstant geblieben sind (s. Abb. 3.10 und 3.11, zweite Reihe, rechts).

Grundsätzlich kann es auch vorkommen, dass keine signifikante Zunahme der Peak-Ströme beobachtet wird beziehungsweise diese sogar abnehmen, während die Analyse der Area under the Curve (AUC) eine Zunahme zeigt. In solchen Fällen liegen die GABA_A-verstärkende Effekte in Bezug auf die Fläche vor, selbst wenn sich die maximale Stromamplitude nicht erhöht. Da die Fläche (pA*ms) die Anwesenheit von GABA über die Zeit beschreibt. Dieses Muster lässt sich physiologisch durch eine verzögerte Inaktivierung beziehungsweise Desensitivierung der GABA_A-Rezeptoren oder ein verlangsamtes Auswaschen des Agonisten erklären. Dadurch wäre mehr GABA-Strom zu einem späteren Zeitpunkt der Applikation anwesend. Die Fläche nimmt hierbei zu, aber der Spitzenstrom bleibt gleich. Ein solcher Mechanismus wurde bereits in Experimenten mit Midazolam beschrieben (Klinger et al., 2015). Daher ist es nötig, neben der Analyse der maximalen Stromamplituden auch die Fläche der Kurve zu begutachten. Dies dient dazu, subtile, aber relevante Modulationen der GABA_A-Rezeptor-vermittelten Ströme zu detektieren.

Hintergrund der in dieser Arbeit ausbleibenden Potenzierung der GABA-vermittelten Ströme könnten in den chemischen Eigenschaften der Octansäure liegen. In den Experimenten wurde

Octansäure in ihrer nicht-ionisierten Form verwendet. Diese stellt eine ölige Flüssigkeit mit schlechter Wasserlöslichkeit dar (Li, 2019). Möglicherweise hat die fettige Substanz die Zellmembran der transfizierten Zellen in ihrer Struktur oder Permeabilität verändert, was den erwarteten allosterischen Effekt auf die GABA_A-Rezeptoren überdeckt oder sogar umgekehrt haben könnte (Oz et al., 2017). Das liegt nahe, dass das deutlich besser wasserlösliche Salz der Octansäure, das Natriumcaprylat, eine interessante Alternative wäre. Es liegen bisher keine elektrophysiologischen Studien zur Wirkung von Natriumcaprylat auf GABA_A-Rezeptoren vor. Um die pharmakologische Relevanz dieses Salzes beurteilen zu können, sind dazu weitere Studien nötig.

Entscheidend könnte ebenfalls die verwendete GABA-Konzentration sein. Frühere Untersuchungen veranschaulichen, dass 1-Octanol bei niedriger GABA-Konzentration stärker potenzierend auf die Ströme wirkt als bei höheren Konzentrationen (Kurata et al., 1999). In der vorliegenden Arbeit wurden jedoch auch sehr niedrige Konzentrationen, wie 0,03 µM, verwendet. Das macht es erstmal unwahrscheinlich, dass eine zu hohe GABA-Konzentration der Grund für die ausbleibende Verstärkung der Ströme war. Diese Ergebnisse können jedoch nicht direkt auf Octansäure übertragen werden, da in der vorliegenden Arbeit nicht 1-Octanol, sondern Octansäure untersucht wurde.

Relevant ist in diesem Zusammenhang auch die eingesetzte Octansäure-Konzentration. Die in dieser Arbeit verwendete Octansäure-Konzentration von 200 µM liegt im Bereich der maximalen Plasmaspiegel, die in früheren Studien nach oraler Gabe hoher Dosen Octansäure erreicht wurden (Nahab et al., 2011). In den vorliegenden Experimenten wurde die Octansäure in einer wasserbasierten Lösung verteilt, um anschließend auf die Zellen appliziert zu werden. Es ist denkbar, dass sich die Octansäure in dieser Konzentration nicht gut genug gelöst hat, was zu einer ungleichen Wirkstoffverteilung geführt hat. Dadurch könnten ölige Aggregate verblieben sein, die die Membran- und Rezeptorfunktion beeinträchtigt haben. Möglicherweise ist eine niedrigere Konzentration ausreichend, um die erwartete Potenzierung zu erreichen, ohne gleichzeitig störend auf die Membranstruktur zu wirken. Zusätzliche Studien mit niedrigeren Konzentrationen der Octansäure sowie die Erstellung einer Konzentrations-Wirkungskurve für Octansäure sind in diesem Zusammenhang nötig, um den optimalen Wirkungsbereich zu identifizieren.

In der Studie von Kurata et al. wurde Octanol in Ethanol gelöst und anschließend mit einer wasserbasierten Lösung verdünnt, wobei die finale Konzentration in der extrazellulären Lösung unter 0,1% lag (Kurata et al., 1999). Eine vergleichbare Vorgehensweise könnte auch für die Octansäure sinnvoll sein, da dadurch vermutlich eine bessere Löslichkeit von Octansäure gewährleistet werden kann. Es ist jedoch zu beachten, dass diese Ethanolkonzentration einer Blutalkoholkonzentration von etwa 0,8‰ entspricht. Dies ist ein

Wert, der mit deutlichen zentralnervösen Effekten einhergeht. In in-vivo Tests wäre diese Konzentration daher kritisch zu betrachten. In diesem Zusammenhang sollte eine geringere Ethanolkonzentration angestrebt werden, um Effekte auf das zentrale Nervensystem zu minimieren. Zudem ist Ethanol selbst ein positiv allosterischer Modulator (Santhakumar et al., 2007) der GABA_A-Rezeptoren, sodass der Einfluss von Ethanol sorgfältig kontrolliert werden muss. Um sicherzustellen, dass der beobachtete Effekt nicht durch das Lösungsmittel selbst verursacht wurde, führten Kurata et al. auch Kontrollversuche mit Ethanol ohne Octanol durch. Dabei zeigte sich, dass Ethanol in dieser Konzentration keinen messbaren Effekt auf die GABA-vermittelten Ströme hatte (Kurata et al., 1999). Trotzdem sind synergistische Effekte nicht auszuschließen. In zukünftigen Studien mit 1-Octanol ist es somit ratsam, auch eine Kontrolle mit Ethanol-freiem Lösungsmittel durchzuführen.

Eine weitere mögliche Erklärung könnten Metaboliten der Octansäure wie β -Hydroxybutyrat darstellen. Dieses hat die Fähigkeit, GABAerge Signale zu verstärken (Altinoz et al., 2020). In einem zellbasierten Modell, wie es hier verwendet wurde, findet dieser Fettsäure-Stoffwechsel in diesem kurzen Zeitraum, unter konstanter Perfusion, nicht statt. Somit fehlen Metabolite, die möglicherweise pharmakologisch wirksam sind. Viele Enzyme sind an der Umwandlung von Octansäure zu Ketonkörper beteiligt. Um zu ermitteln, ob Ketonkörper an den neurophysiologischen Effekten von Octansäure beteiligt sind, könnten Tiermodelle eingesetzt werden, bei denen die Aktivität bestimmter Enzyme gehemmt. Sollte die tremorlindernde Wirkung ausbleiben, wäre dies ein starker Hinweis darauf, dass die Ketonkörper zumindest (Handforth et al., 2024) mitverantwortlich für den beobachteten Effekt sind. Die Blockade des Enzyms HMG-CoA (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA-Synthase) könnte eine vielversprechende Strategie darstellen, da dieses Enzym einen zentralen Zwischenschritt der Ketonkörper-Synthese katalysiert (Altinoz et al., 2020).

Die LogEC₅₀-Werte wurden für jeden der getesteten Rezeptorsubtypen sowohl unter Kontrollbedingungen (ohne Octansäure) als auch in Anwesenheit von 200 μ M Octansäure bestimmt. Insgesamt zeigten sich nur geringe Unterschiede zwischen den beiden Bedingungen, sowohl in Bezug auf die Stromamplitude (s. Tab 3.1) als auch auf die Fläche unter der Kurve (s. Tab 3.2). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Octansäure unter den Versuchsbedingungen dieser Arbeit keinen Einfluss auf die GABA-Empfindlichkeit der untersuchten Rezeptorsubtypen hatte. Aufgrund dieser geringen Unterschiede wurde auf einen statistischen Vergleich verzichtet.

Es stellt sich jedoch auch die Frage, warum der $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptor nicht durch Octansäure beeinflusst wurde. Wichtig ist anzumerken, dass $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren vermehrt in Körnerzellen des Kleinhirns vorkommen. Dort sind sie für eine tonische, also eine konstante, Hemmung zuständig (Mortensen et al., 2012). Es ist bekannt, dass diese Rezeptoren besonders

empfindlich auf Ethanol reagieren. Studien zeigen, dass an solchen δ -haltigen Rezeptoren bereits geringe Mengen Ethanol ausreichen, um die GABAergen Wirkungen zu verstärken (Engin et al., 2018). Gerade im Zusammenhang mit der Pathophysiologie des essentiellen Tremors, bei der insbesondere das Kleinhirn als entscheidend vermutet wird (Kosmowska & Wardas, 2021), erscheint dieser Rezeptor besonders relevant (Handforth et al., 2024). Es ist plausibel, dass der erwartete verstärkende Effekt aufgetreten ist, aber durch störende, negative Membraneffekte überdeckt wurde. Dadurch wäre der Nettoeffekt in der Messung geringer ausgefallen als bei anderen Rezeptortypen, obwohl in Wahrheit die Rezeptoraktivierung besonders stark war.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit erlauben auch Rückschlüsse auf die Unterschiede zwischen synaptischen und extrasynaptischen Rezeptoren. Typischerweise sind $\gamma 2$ -haltige Rezeptoren synaptisch lokalisiert und vermitteln einen phasischen Strom, während δ -haltige Rezeptoren extrasynaptisch exprimiert sind und einen tonischen Strom vermitteln. Die Auswertung der Daten zeigte, dass in dieser Arbeit $\gamma 2$ s-haltige Rezeptoren deutlich höhere maximale Stromantworten (Top-Werte) aufwiesen als ihre δ -haltigen Gegenstücke (s. Abb. 3.4 und 3.5). Das stimmt überein mit den Ergebnissen früherer elektrophysiologischer Experimente (Fisher & Macdonald, 1997).

Die Zellkapazitäten, die ein Maß für die Zellgrößen darstellen (Hamill et al., 1981), unterschieden sich nicht signifikant zwischen den $\gamma 2$ -haltigen Rezeptoren und δ -haltigen Gegenstücke (s. Abb. 3.6). Damit ist es unwahrscheinlich, dass Unterschiede in den Stromstärken auf unterschiedlich große Zellen zurückzuführen sind. Da Größenunterschiede nicht gegeben waren, wurde auf die zusätzliche Berechnung der Stromdichte (current density, pA/ pF) verzichtet.

Eine weitere bedeutsame Erkenntnis, die durch die vorliegenden Experimente weiter bestätigt wurde, ist die Tatsache, dass $\gamma 2$ s-haltige Rezeptoren meistens deutlich stärker desensitivieren. Das bedeutet, dass die Rezeptoren bei längerer oder wiederholter Aktivierung an Empfindlichkeit verlieren. Diese Desensitivierung ist in der Abbildung 3.2 ($\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ vs. $\alpha 6\beta 3\delta$) und 3.3 ($\alpha 1\beta 3\gamma 2s$) ersichtlich. Dies ist daran zu erkennen, dass die Stromamplitude bei einer GABA-Konzentration von 300 Mikromolar niedriger ist als bei 30 Mikromolar. Im Gegensatz dazu desensitivierten die δ -haltige Rezeptoren wie $\alpha 4\beta 3\delta$ und $\alpha 6\beta 3\delta$ weniger bis gar nicht und eignen sich dadurch für eine langanhaltende, tonische Hemmung. Das ist im Einklang mit früheren Studien, die auch die stärkere Desensitivierung bei $\gamma 2$ s-haltigen Rezeptoren beschrieben (Fisher & Macdonald, 1997).

Obwohl Ethanol bereits klinisch für seine tremorlindernde Wirkung bekannt ist (Everlo et al., 2024; Haubenberger et al., 2014; McGurrin et al., 2024), liefert diese Arbeit keine elektrophysiologischen Hinweise darauf, dass auch Octansäure eine ähnliche Wirkung

entfalten könnte. Vielmehr sind die Ströme kleiner geworden, was gegen die Hypothese spricht. Wie bereits angeführt, könnte die Ursache des Problems in einer übermäßig öligen Konsistenz und einer schlechten Wasserlöslichkeit liegen. Es sind weitere Studien erforderlich, beispielsweise mit Natriumcaprylat, um die Wirksamkeit des Salzes zu evaluieren. Es besteht auch die Möglichkeit, die Octansäure zuerst in Ethanol zu lösen.

In dieser Arbeit zeigte der $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptor als einziger keine Reduktion der GABA-vermittelten Ströme, weder in Bezug auf die maximale Stromamplitude noch auf die maximale Fläche. Aus diesem Grund sollte dieser einer weiteren experimentellen Untersuchung unterzogen werden. Außerdem spielt er möglicherweise eine signifikante Rolle bei der Pathophysiologie des essentiellen Tremors (Handforth et al., 2024).

Darüber hinaus zeigt die Arbeit Unterschiede der Ströme zwischen $\gamma 2s$ - und δ -haltigen Rezeptoren auf. Dieser Befund zeigt einerseits, dass die Messmethode geeignet ist, um Unterschiede zwischen GABA_A Rezeptor Untereinheitenkombinationen zu testen und bestätigt die Annahme weiter, dass die typischen Ströme, die synaptisch und extrasynaptisch auftreten, durch bestimmte Untereinheiten bedingt sind. Während Rezeptoren, die eine $\gamma 2$ -Untereinheit aufweisen, höhere Spitzenströme erzeugen, weisen Rezeptoren mit der δ -Untereinheit eine höhere Stabilität gegenüber Desensitivierung auf.

Literaturverzeichnis

- Ahmadi, S., Benard-Valle, M., Boddum, K., Cardoso, F. C., King, G. F., Laustsen, A. H., & Ljungars, A. (2023). From squid giant axon to automated patch-clamp: electrophysiology in venom and antivenom research. *Frontiers in Pharmacology*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1249336>
- ALBERS, R. W., & BRADY, R. O. (1959). The distribution of glutamic decarboxylase in the nervous system of the rhesus monkey. *The Journal of Biological Chemistry*, *234*(4), 926–928. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)70204-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)70204-4)
- Altinoz, M. A., Ozpinar, A., & Seyfried, T. N. (2020). Caprylic (Octanoic) Acid as a Potential Fatty Acid Chemotherapeutic for Glioblastoma. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *159*, 102142. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2020.102142>
- Amin, J., & Weiss, D. S. (1993). GABAA receptor needs two homologous domains of the β -subunit for activation by GABA but not by pentobarbital. *Nature*, *366*(6455), 565–569. <https://doi.org/10.1038/366565a0>
- Andersen, J. V., Westi, E. W., Jakobsen, E., Urruticoechea, N., Borges, K., & Aldana, B. I. (2021). Astrocyte metabolism of the medium-chain fatty acids octanoic acid and decanoic acid promotes GABA synthesis in neurons via elevated glutamine supply. *Molecular Brain*, *14*(1), 132. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00842-2>
- Auteri, M., Zizzo, M. G., & Serio, R. (2015). GABA and GABA receptors in the gastrointestinal tract: from motility to inflammation. *Pharmacological Research*, *93*, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2014.12.001>
- AWAPARA, J., LANDUA, A. J., FUERST, R., & SEALE, B. (1950). Free gamma-aminobutyric acid in brain. *The Journal of Biological Chemistry*, *187*(1), 35–39.
- BAZEMORE, A., ELLIOTT, K. A. C., & FLOREY, E. (1956). Factor I and γ -Aminobutyric Acid. *Nature*, *178*(4541), 1052–1053. <https://doi.org/10.1038/1781052a0>
- Bekkers, J. M. (2011). Pyramidal neurons. *Current Biology*, *21*(24), R975. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.10.037>
- Belelli, D., Hales, T. G., Lambert, J. J., Luscher, B., Olsen, R., Peters, J. A., Rudolph, U., & Sieghart, W. (2023). GABA receptors in GtoPdb

v.2023.1. *IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology CITE*, 2023(1).
<https://doi.org/10.2218/gtopdb/F72/2023.1>

Benito-León, J., Louis, E. D., & Bermejo-Pareja, F. (2008). Population-based case–control study of cigarette smoking and essential tremor. *Movement Disorders*, 23(2), 246–252. <https://doi.org/10.1002/mds.21810>

Bessman, S. P., Rossen, J., & Layne, E. C. (1953). Gamma-Aminobutyric acid–glutamic acid transamination in brain. *The Journal of Biological Chemistry*, 201(1), 385–391.

Bhatia, K. P., Bain, P., Bajaj, N., Elble, R. J., Hallett, M., Louis, E. D., Raethjen, J., Stamelou, M., Testa, C. M., & Deuschl, G. (2018). Consensus Statement on the classification of tremors. from the task force on tremor of the International Parkinson and Movement Disorder Society. *Movement Disorders*, 33(1), 75–87. <https://doi.org/10.1002/mds.27121>

Billioti de Gage, S., Begaud, B., Bazin, F., Verdoux, H., Dartigues, J.-F., Peres, K., Kurth, T., & Pariente, A. (2012). Benzodiazepine use and risk of dementia: prospective population based study. *BMJ*, 345(sep27 4), e6231–e6231. <https://doi.org/10.1136/bmj.e6231>

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 γ -Aminobutyric AcidB Receptors: Structure and Function. *Pharmacological Reviews*, 54(2), 247–264. <https://doi.org/10.1124/pr.54.2.247>

Brickley, S. G., Cull-Candy, S. G., & Farrant, M. (1996). Development of a tonic form of synaptic inhibition in rat cerebellar granule cells resulting from persistent activation of GABAA receptors. *The Journal of Physiology*, 497(3), 753–759. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021806>

Bryson, A., Reid, C., & Petrou, S. (2023). <sc>Fundamental Neurochemistry Review: GABA_A </sc> receptor neurotransmission and epilepsy: Principles, disease mechanisms and pharmacotherapy. *Journal of Neurochemistry*, 165(1), 6–28. <https://doi.org/10.1111/jnc.15769>

Deuschl, G., & Schwingenschuh, P. (2022). *Tremor – S2k-Leitlinie*. www.dgn.org/leitlinien

- Dharavath, R. N., Pina-Leblanc, C., Tang, V. M., Sloan, M. E., Nikolova, Y. S., Pangarov, P., Ruocco, A. C., Shield, K., Voineskos, D., Blumberger, D. M., Boileau, I., Bozinoff, N., Gerretsen, P., Vieira, E., Melamed, O. C., Sibille, E., Quilty, L. C., & Prevot, T. D. (2023). GABAergic signaling in alcohol use disorder and withdrawal: pathological involvement and therapeutic potential. *Frontiers in Neural Circuits*, 17. <https://doi.org/10.3389/fncir.2023.1218737>
- Dieckmann, C. L. (2024). A hub for regulation of mitochondrial metabolism: Fatty acid and lipoic acid biosynthesis. *IUBMB Life*, 76(6), 332–344. <https://doi.org/10.1002/iub.2802>
- Drygała, S., Radzikowski, M., & Maciejczyk, M. (2024). β -blockers and metabolic modulation: unraveling the complex interplay with glucose metabolism, inflammation and oxidative stress. *Frontiers in Pharmacology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1489657>
- Dzhala, V. I., Talos, D. M., Sdrulla, D. A., Brumback, A. C., Mathews, G. C., Benke, T. A., Delpire, E., Jensen, F. E., & Staley, K. J. (2005). NKCC1 transporter facilitates seizures in the developing brain. *Nature Medicine*, 11(11), 1205–1213. <https://doi.org/10.1038/nm1301>
- Engin, E., Benham, R. S., & Rudolph, U. (2018). An Emerging Circuit Pharmacology of GABAA Receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, 39(8), 710–732. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.04.003>
- Enna, S. J., & Snyder, S. H. (1975). Properties of γ -aminobutyric acid (GABA) receptor binding in rat brain synaptic membrane fractions. *Brain Research*, 100(1), 81–97. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(75\)90243-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(75)90243-7)
- Ernst, M., Bruckner, S., Boresch, S., & Sieghart, W. (2005). Comparative Models of GABAA Receptor Extracellular and Transmembrane Domains: Important Insights in Pharmacology and Function. *Molecular Pharmacology*, 68(5), 1291–1300. <https://doi.org/10.1124/mol.105.015982>
- Evenseth, L. S. M., Gabrielsen, M., & Sylte, I. (2020). The GABAB Receptor—Structure, Ligand Binding and Drug Development. *Molecules*, 25(13), 3093. <https://doi.org/10.3390/molecules25133093>

- Everlo, C. S. J., Tijssen, M. A. J., & Van der Stouwe, A. M. M. (2024). Testing for Alcohol Responsiveness in Familial Essential Tremor. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements*, 14, 30. <https://doi.org/10.5334/tohm.923>
- Fisher, J. L., & Macdonald, R. L. (1997). Single channel properties of recombinant GABA_A receptors containing $\gamma 2$ or δ subtypes expressed with $\alpha 1$ and $\beta 3$ subtypes in mouse L929 Cells. *The Journal of Physiology*, 505(2), 283–297. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1997.283bb.x>
- Florey, E. (1954). An Inhibitory and an Excitatory Factor of Mammalian Central Nervous System, and Their Action on A Single Sensory Neuron. *Archives Internationales de Physiologie*, 62(1), 33–53. <https://doi.org/10.3109/13813455409145367>
- Fredrickson, J., Krisher, R., & Morbeck, D. E. (2015). The impact of the protein stabilizer octanoic acid on embryonic development and fetal growth in a murine model. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(10), 1517–1524. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0560-9>
- Frei, K., & Truong, D. D. (2022). Medications used to treat tremors. *Journal of the Neurological Sciences*, 435, 120194. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2022.120194>
- Frenser, M., Fischer, T., Albrecht, I., & Marquardt, T. (2024). Influence of Carbohydrate Intake on Caprylic Acid (C8:0)-Induced Ketogenesis—A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 16(15), 2456. <https://doi.org/10.3390/nu16152456>
- Frima, N., & Grünewald, R. A. (2006). A double-blind, placebo-controlled, crossover trial of topiramate in essential tremor. *Clinical Neuropharmacology*, 29(2), 94–96. <https://doi.org/10.1097/00002826-200603000-00007>
- Fu, X., Wang, Y.-J., Kang, J.-Q., & Mu, T.-W. (2022). GABAA Receptor Variants in Epilepsy. In *Epilepsy* (pp. 95–118). Exon Publications. <https://doi.org/10.36255/exon-publications-epilepsy-gaba-receptor>
- Gavish, M., & Snyder, S. H. (1980). Benzodiazepine recognition sites on GABA receptors. *Nature*, 287(5783), 651–652. <https://doi.org/10.1038/287651a0>
- Ghit, A., Assal, D., Al-Shami, A. S., & Hussein, D. E. E. (2021). GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 123. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00224-0>

- Giovannoni, F., & Quintana, F. J. (2020). The Role of Astrocytes in CNS Inflammation. *Trends in Immunology*, 41(9), 805–819. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.07.007>
- Gironell, A. (2014). The GABA Hypothesis in Essential Tremor: Lights and Shadows. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements (New York, N.Y.)*, 4, 254. <https://doi.org/10.7916/D8SF2T9C>
- Goutelle, S., Maurin, M., Rougier, F., Barbaut, X., Bourguignon, L., Ducher, M., & Maire, P. (2008). The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 22(6), 633–648. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2008.00633.x>
- Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B., & Sigworth, F. J. (1981). Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 391(2), 85–100. <https://doi.org/10.1007/BF00656997>
- Handforth, A., Singh, R. P., Kosoyan, H. P., & Kadam, P. A. (2024). A Role for GABAA Receptor $\beta 3$ Subunits in Mediating Harmaline Tremor Suppression by Alcohol: Implications for Essential Tremor Therapy. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements (New York, N.Y.)*, 14, 20. <https://doi.org/10.5334/tohm.834>
- Haubenberger, D., McCrossin, G., Lungu, C., Considine, E., Toro, C., Nahab, F. B., Auh, S., Buchwald, P., Grimes, G. J., Starling, J., Potti, G., Scheider, L., Kalowitz, D., Bowen, D., Carnie, A., & Hallett, M. (2013). Octanoic acid in alcohol-responsive essential tremor. *Neurology*, 80(10), 933–940. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182840c4f>
- Haubenberger, D., Nahab, F. B., Voller, B., & Hallett, M. (2014). Treatment of essential tremor with long-chain alcohols: still experimental or ready for prime time? *Tremor and Other Hyperkinetic Movements (New York, N.Y.)*, 4. <https://doi.org/10.7916/D8RX991R>
- Hedera, P., Cibulčik, F., & Davis, T. L. (2013). Pharmacotherapy of Essential Tremor. *Journal of Central Nervous System Disease*, 5, JCNSD.S6561. <https://doi.org/10.4137/JCNSD.S6561>

- Hill, D. R., & Bowery, N. G. (1981). 3H-baclofen and 3H-GABA bind to bicuculline-insensitive GABAB sites in rat brain. *Nature*, *290*(5802), 149–152. <https://doi.org/10.1038/290149a0>
- Holtbernd, F., & Shah, N. J. (2021). Imaging the Pathophysiology of Essential Tremor—A Systematic Review. *Frontiers in Neurology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.680254>
- Hopfner, F., & Deuschl, G. (2020). Managing Essential Tremor. *Neurotherapeutics*, *17*(4), 1603–1621. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00899-2>
- Hunkeler, W., Möhler, H., Pieri, L., Polc, P., Bonetti, E. P., Cumin, R., Schaffner, R., & Haefely, W. (1981). Selective antagonists of benzodiazepines. *Nature*, *290*(5806), 514–516. <https://doi.org/10.1038/290514a0>
- Iorizzo, M., Paventi, G., & Di Martino, C. (2023). Biosynthesis of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) by *Lactiplantibacillus plantarum* in Fermented Food Production. *Current Issues in Molecular Biology*, *46*(1), 200–220. <https://doi.org/10.3390/cimb46010015>
- Isaacson, S. H., Peckham, E., Tse, W., Waln, O., Way, C., Petrossian, M. T., Dahodwala, N., Soileau, M. J., Lew, M., Dietiker, C., Luthra, N., Agarwal, P., Dhall, R., Morgan, J., Calakos, N., Zesiewicz, T. A., Shamim, E. A., Kumar, R., LeWitt, P., ... Pahwa, R. (2020). Prospective Home-use Study on Non-invasive Neuromodulation Therapy for Essential Tremor. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements*, *10*(0), 29. <https://doi.org/10.5334/tohm.59>
- Jain, S., Rai, R., Singh, D., & Vohora, D. (2021). Octanoic acid a major component of widely consumed medium-chain triglyceride ketogenic diet is detrimental to bone. *Scientific Reports*, *11*(1), 7003. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86468-9>
- 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). GABAB receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABABR1 and GABABR2. *Nature*, *396*(6712), 674–679. <https://doi.org/10.1038/25348>

- Kaila, K., Voipio, J., Paalasmaa, P., Pasternack, M., & Deisz, R. A. (1993). The role of bicarbonate in GABAA receptor-mediated IPSPs of rat neocortical neurones. *The Journal of Physiology*, *464*(1), 273–289. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1993.sp019634>
- Kasaragod, V. B., Mortensen, M., Hardwick, S. W., Wahid, A. A., Dorovykh, V., Chirgadze, D. Y., Smart, T. G., & Miller, P. S. (2022). Mechanisms of inhibition and activation of extrasynaptic $\alpha\beta$ GABAA receptors. *Nature*, *602*(7897), 529–533. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04402-z>
- Kaufman, D. L., Houser, C. R., & Tobin, A. J. (1991). Two Forms of the γ -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>
- Kim, J. J., Gharpure, A., Teng, J., Zhuang, Y., Howard, R. J., Zhu, S., Noviello, C. M., Walsh, R. M., Lindahl, E., & Hibbs, R. E. (2020). Shared structural mechanisms of general anaesthetics and benzodiazepines. *Nature*, *585*(7824), 303–308. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2654-5>
- Kim, J. J., & Hibbs, R. E. (2021). Direct Structural Insights into GABAA Receptor Pharmacology. *Trends in Biochemical Sciences*, *46*(6), 502–517. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2021.01.011>
- Klinger, F., Bajric, M., Salzer, I., Dorostkar, M. M., Khan, D., Pollak, D. D., Kubista, H., Boehm, S., & Koenig, X. (2015). δ Subunit-containing GABAA receptors are preferred targets for the centrally acting analgesic flupirtine. *British Journal of Pharmacology*, *172*(20), 4946–4958. <https://doi.org/10.1111/bph.13262>
- Koh, W., Kwak, H., Cheong, E., & Lee, C. J. (2023). GABA tone regulation and its cognitive functions in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, *24*(9), 523–539. <https://doi.org/10.1038/s41583-023-00724-7>
- Kornreich, B. G. (2007). The patch clamp technique: Principles and technical considerations. *Journal of Veterinary Cardiology*, *9*(1), 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2007.02.001>

- Kosmowska, B., & Wardas, J. (2021). The Pathophysiology and Treatment of Essential Tremor: The Role of Adenosine and Dopamine Receptors in Animal Models. *Biomolecules*, *11*(12), 1813. <https://doi.org/10.3390/biom11121813>
- Kralic, J. E., Criswell, H. E., Osterman, J. L., O'Buckley, T. K., Wilkie, M. E., Matthews, D. B., Hamre, K., Breese, G. R., Homanics, G. E., & Morrow, A. L. (2005). Genetic essential tremor in gamma-aminobutyric acidA receptor alpha1 subunit knockout mice. *The Journal of Clinical Investigation*, *115*(3), 774–779. <https://doi.org/10.1172/JCI23625>
- Krnjević, K., & Schwartz, S. (1967). The action of γ -Aminobutyric acid on cortical neurones. *Experimental Brain Research*, *3*(4), 320–336. <https://doi.org/10.1007/BF00237558>
- Kumar, S., Porcu, P., Werner, D. F., Matthews, D. B., Diaz-Granados, J. L., Helfand, R. S., & Morrow, A. L. (2009). The role of GABAA receptors in the acute and chronic effects of ethanol: a decade of progress. *Psychopharmacology*, *205*(4), 529–564. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1562-z>
- Kurata, Y., Marszalec, W., Yeh, J. Z., & Narahashi, T. (1999). Agonist and Potentiation Actions of *n*-Octanol on γ -Aminobutyric Acid Type A Receptors. *Molecular Pharmacology*, *55*(6), 1011–1019. <https://doi.org/10.1124/mol.55.6.1011>
- Laurie, D., Seeburg, P., & Wisden, W. (1992). The distribution of 13 GABAA receptor subunit mRNAs in the rat brain. II. Olfactory bulb and cerebellum. *The Journal of Neuroscience*, *12*(3), 1063–1076. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-03-01063.1992>
- Legesse, D. H., Fan, C., Teng, J., Zhuang, Y., Howard, R. J., Noviello, C. M., Lindahl, E., & Hibbs, R. E. (2023). Structural insights into opposing actions of neurosteroids on GABAA receptors. *Nature Communications*, *14*(1), 5091. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40800-1>
- Lemarié, F., Beauchamp, E., Drouin, G., Legrand, P., & Rioux, V. (2018). Dietary caprylic acid and ghrelin O-acyltransferase activity to modulate octanoylated ghrelin functions: What is new in this nutritional field? *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *135*, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.07.009>

- Lenka, A., & Jankovic, J. (2021). Tremor Syndromes: An Updated Review. *Frontiers in Neurology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.684835>
- Li, Y. (2019). The application of caprylic acid in downstream processing of monoclonal antibodies. *Protein Expression and Purification*, 153, 92–96. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2018.09.003>
- Liang, J., Suryanarayanan, A., Abriam, A., Snyder, B., Olsen, R. W., & Spigelman, I. (2007). Mechanisms of Reversible GABA_A Receptor Plasticity after Ethanol Intoxication. *The Journal of Neuroscience*, 27(45), 12367–12377. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2786-07.2007>
- Liang, J., Suryanarayanan, A., Chandra, D., Homanics, G. E., Olsen, R. W., & Spigelman, I. (2008). Functional Consequences of GABA_A Receptor $\alpha 4$ Subunit Deletion on Synaptic and Extrasynaptic Currents in Mouse Dentate Granule Cells. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(1), 19–26. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00564.x>
- Lin, C.-Y., Louis, E. D., Faust, P. L., Koeppen, A. H., Vonsattel, J.-P. G., & Kuo, S.-H. (2014). Abnormal climbing fibre-Purkinje cell synaptic connections in the essential tremor cerebellum. *Brain*, 137(12), 3149–3159. <https://doi.org/10.1093/brain/awu281>
- Llinás, R., & Volkind, R. A. (1973). The olivo-cerebellar system: functional properties as revealed by harmaline-induced tremor. *Experimental Brain Research*, 18(1), 69–87. <https://doi.org/10.1007/BF00236557>
- Louis, E. D., Babij, R., Cortés, E., Vonsattel, J. G., & Faust, P. L. (2013). The inferior olivary nucleus: A postmortem study of essential tremor cases versus controls. *Movement Disorders*, 28(6), 779–786. <https://doi.org/10.1002/mds.25400>
- Louis, E. D., Lee, M., Babij, R., Ma, K., Cortés, E., Vonsattel, J.-P. G., & Faust, P. L. (2014). Reduced Purkinje cell dendritic arborization and loss of dendritic spines in essential tremor. *Brain*, 137(12), 3142–3148. <https://doi.org/10.1093/brain/awu314>
- Louis, E. D., & Lenka, A. (2017). The Olivary Hypothesis of Essential Tremor: Time to Lay this Model to Rest? *Tremor and Other Hyperkinetic Movements (New York, N.Y.)*, 7, 473. <https://doi.org/10.7916/D8FF40RX>

- Louis, E. D., & McCreary, M. (2021). How Common is Essential Tremor? Update on the Worldwide Prevalence of Essential Tremor. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements*, 11(1). <https://doi.org/10.5334/tohm.632>
- MacDonald, R. L., Rogers, C. J., & Twyman, R. E. (1989). Barbiturate regulation of kinetic properties of the GABAA receptor channel of mouse spinal neurones in culture. *The Journal of Physiology*, 417(1), 483–500. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1989.sp017814>
- Mály, J., Baranyi, M., & Vizi, E. S. (1996). Change in the concentrations of amino acids in CSF and serum of patients with essential tremor. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 103(5), 555–560. <https://doi.org/10.1007/BF01273153>
- Mao, C., Shen, C., Li, C., Shen, D.-D., Xu, C., Zhang, S., Zhou, R., Shen, Q., Chen, L.-N., Jiang, Z., Liu, J., & Zhang, Y. (2020). Cryo-EM structures of inactive and active GABAB receptor. *Cell Research*, 30(7), 564–573. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0350-5>
- 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*, 98(25), 14649–14654. <https://doi.org/10.1073/pnas.251554498>
- McGurrin, P., Norato, G., Thompson-Westra, J., McCrossin, G., Lines, E., Lungu, C., Pandey, S., Tinaz, S., Voller, B., Ramchandani, V., Hallett, M., & Haubenberger, D. (2024). Objective response to ethanol in essential tremor: results from a standardized ethanol challenge study. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 11(1), 156–168. <https://doi.org/10.1002/acn3.51943>
- Michałowski, M. A., Kłopotowski, K., Wiera, G., Czyżewska, M. M., & Mozrzyms, J. W. (2025). Molecular mechanisms of the GABA type A receptor function. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 58, e3. <https://doi.org/10.1017/S0033583524000179>
- Möhler, H., & Okada, T. (1977). Benzodiazepine Receptor: Demonstration in the Central Nervous System. *Science*, 198(4319), 849–851. <https://doi.org/10.1126/science.918669>

- Mortensen, M., Patel, B., & Smart, T. G. (2012). GABA Potency at GABAA Receptors Found in Synaptic and Extrasynaptic Zones. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 6. <https://doi.org/10.3389/fncel.2012.00001>
- Nahab, F. B., Handforth, A., Brown, T., Shin, C., Quesada, A., Dong, C., Haubenberger, D., & Hallett, M. (2012a). Octanoic Acid Suppresses Harmaline-Induced Tremor in Mouse Model of Essential Tremor. *Neurotherapeutics*, 9(3), 635–638. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0121-1>
- Nahab, F. B., Handforth, A., Brown, T., Shin, C., Quesada, A., Dong, C., Haubenberger, D., & Hallett, M. (2012b). Octanoic Acid Suppresses Harmaline-Induced Tremor in Mouse Model of Essential Tremor. *Neurotherapeutics*, 9(3), 635–638. <https://doi.org/10.1007/s13311-012-0121-1>
- Nahab, F. B., Wittevrongel, L., Ippolito, D., Toro, C., Grimes, G. J., Starling, J., Potti, G., Haubenberger, D., Bowen, D., Buchwald, P., Dong, C., Kalowitz, D., & Hallett, M. (2011). An Open-Label, Single-Dose, Crossover Study of the Pharmacokinetics and Metabolism of Two Oral Formulations of 1-Octanol in Patients with Essential Tremor. *Neurotherapeutics*, 8(4), 753–762. <https://doi.org/10.1007/s13311-011-0045-1>
- NEHER, E., & SAKMANN, B. (1976). Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature*, 260(5554), 799–802. <https://doi.org/10.1038/260799a0>
- Obata, K., Oide, M., & Tanaka, H. (1978). Excitatory and inhibitory actions of GABA and glycine on embryonic chick spinal neurons in culture. *Brain Research*, 144(1), 179–184. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(78\)90447-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90447-X)
- Oishi, Y., Saito, Y. C., & Sakurai, T. (2023). GABAergic modulation of sleep-wake states. *Pharmacology & Therapeutics*, 249, 108505. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108505>
- Okelberry, T., Lyons, K. E., & Pahwa, R. (2024). Updates in essential tremor. *Parkinsonism & Related Disorders*, 122, 106086. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2024.106086>

- Olsen, R. W., & Sieghart, W. (2009). GABAA receptors: Subtypes provide diversity of function and pharmacology. In *Neuropharmacology* (Vol. 56, Issue 1, pp. 141–148). <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.07.045>
- Olsen, R. W., Wallner, M., & Rogawski, M. A. (2024). GABAA Receptors, Seizures, and Epilepsy. In J. L. Noebels (Ed.), *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* (pp. 1025–1046). Oxford University Press New York. <https://doi.org/10.1093/med/9780197549469.003.0048>
- Otsuka, M., Iversen, L. L., Hall, Z. W., & Kravitz, E. A. (1966). Release of gamma-aminobutyric acid from inhibitory nerves of lobster. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *56*(4), 1110–1115. <https://doi.org/10.1073/pnas.56.4.1110>
- Oz, M., El Nebrisi, E. G., Yang, K.-H. S., Howarth, F. C., & Al Kury, L. T. (2017). Cellular and Molecular Targets of Menthol Actions. *Frontiers in Pharmacology*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00472>
- Pahapill, P. A., Levy, R., Dostrovsky, J. O., Davis, K. D., Rezai, A. R., Tasker, R. R., & Lozano, A. M. (1999). Tremor arrest with thalamic microinjections of muscimol in patients with essential tremor. *Annals of Neurology*, *46*(2), 249–252. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(199908\)46:2<249::aid-ana15>3.0.co;2-c](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199908)46:2<249::aid-ana15>3.0.co;2-c)
- Pan, M.-K., Ni, C.-L., Wu, Y.-C., Li, Y.-S., & Kuo, S.-H. (2018). Animal Models of Tremor: Relevance to Human Tremor Disorders. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements (New York, N.Y.)*, *8*, 587. <https://doi.org/10.7916/D89S37MV>
- Paris-Robidas, S., Brochu, E., Sintès, M., Emond, V., Bousquet, M., Vandal, M., Pilote, M., Tremblay, C., Di Paolo, T., Rajput, A. H., Rajput, A., & Calon, F. (2012). Defective dentate nucleus GABA receptors in essential tremor. *Brain*, *135*(1), 105–116. <https://doi.org/10.1093/brain/awr301>
- Patel, M. D., Patel, M., Jani, R., Patel, K. G., Patel, P., & Gandhi, S. K. (2024). Essential Tremors: A Literature Review of Current Therapeutics. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.59451>
- Paul, M. S., & Das, J. M. (2025). *Neuroanatomy, Superior and Inferior Olivary Nucleus (Superior and Inferior Olivary Complex)*.

- Pirker, S., Schwarzer, C., Wieselthaler, A., Sieghart, W., & Sperk, G. (2000). GABAA receptors: immunocytochemical distribution of 13 subunits in the adult rat brain. *Neuroscience*, *101*(4), 815–850. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00442-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00442-5)
- Prenosil, G. A. (2006). Specific Subtypes of GABAA Receptors Mediate Phasic and Tonic Forms of Inhibition in Hippocampal Pyramidal Neurons. *Journal of Neurophysiology*, *96*(2), 846–857. <https://doi.org/10.1152/jn.01199.2006>
- Qian, X., Zhao, X., Yu, L., Yin, Y., Zhang, X.-D., Wang, L., Li, J.-X., Zhu, Q., & Luo, J.-L. (2023). Current status of GABA receptor subtypes in analgesia. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *168*, 115800. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115800>
- Reddy, D. S. (2022). Neurosteroid replacement therapy for catamenial epilepsy, postpartum depression and neuroendocrine disorders in women. *Journal of Neuroendocrinology*, *34*(2). <https://doi.org/10.1111/jne.13028>
- Rickels, K., Schweizer, E., Case, W. G., & Greenblatt, D. J. (1990). Long-term therapeutic use of benzodiazepines. I. Effects of abrupt discontinuation. *Archives of General Psychiatry*, *47*(10), 899–907. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1990.01810220015002>
- ROBERTS, E., & FRANKEL, S. (1950). gamma-Aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid. *The Journal of Biological Chemistry*, *187*(1), 55–63. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14794689>
- Sallard, E., Letourneur, D., & Legendre, P. (2021). Electrophysiology of ionotropic GABA receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *78*(13), 5341–5370. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03846-2>
- Santhakumar, V., Wallner, M., & Otis, T. S. (2007). Ethanol acts directly on extrasynaptic subtypes of GABAA receptors to increase tonic inhibition. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, *41*(3), 211–221. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2007.04.011>
- Scaini, G., Simon, K. R., Tonin, A. M., Busanello, E. N. B., Moura, A. P., Ferreira, G. C., Wajner, M., Streck, E. L., & Schuck, P. F. (2012). Toxicity of octanoate and decanoate in rat peripheral tissues: evidence of bioenergetic dysfunction and oxidative damage induction in liver and skeletal muscle. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *361*(1–2), 329–335. <https://doi.org/10.1007/s11010-011-1119-4>

- Schofield, P. R., Darlison, M. G., Fujita, N., Burt, D. R., Stephenson, F. A., Rodriguez, H., Rhee, L. M., Ramachandran, J., Reale, V., Glencorse, T. A., Seeburg, P. H., & Barnard, E. A. (1987). Sequence and functional expression of the GABAA receptor shows a ligand-gated receptor super-family. *Nature*, *328*(6127), 221–227. <https://doi.org/10.1038/328221a0>
- Semyanov, A., Walker, M. C., & Kullmann, D. M. (2003). GABA uptake regulates cortical excitability via cell type-specific tonic inhibition. *Nature Neuroscience*, *6*(5), 484–490. <https://doi.org/10.1038/nn1043>
- Shaye, H., Ishchenko, A., Lam, J. H., Han, G. W., Xue, L., Rondard, P., Pin, J.-P., Katritch, V., Gati, C., & Cherezov, V. (2020). Structural basis of the activation of a metabotropic GABA receptor. *Nature*, *584*(7820), 298–303. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2408-4>
- Sieghart, W. (2015). *Allosteric Modulation of GABAA Receptors via Multiple Drug-Binding Sites* (pp. 53–96). <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2014.10.002>
- Sieghart, W., Chiou, L.-C., Ernst, M., Fabjan, J., M. Savić, M., & Lee, M. T. (2022). $\alpha 6$ -Containing GABAA Receptors: Functional Roles and Therapeutic Potentials. *Pharmacological Reviews*, *74*(1), 238–270. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000293>
- Sigel, E., & Ernst, M. (2018). The Benzodiazepine Binding Sites of GABAA Receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, *39*(7), 659–671. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.03.006>
- Siokas, V., Aloizou, A.-M., Tsouris, Z., Liampas, I., Aslanidou, P., Dastamani, M., Brotis, A. G., Bogdanos, D. P., Hadjigeorgiou, G. M., & Dardiotis, E. (2020). Genetic Risk Factors for Essential Tremor: A Review. *Tremor and Other Hyperkinetic Movements*, *10*(0), 4. <https://doi.org/10.5334/tohm.67>
- Song, P., Zhang, Y., Zha, M., Yang, Q., Ye, X., Yi, Q., & Rudan, I. (2021). The global prevalence of essential tremor, with emphasis on age and sex: A meta-analysis. *Journal of Global Health*, *11*, 04028. <https://doi.org/10.7189/jogh.11.04028>
- Sun, C., Zhu, H., Clark, S., & Gouaux, E. (2023). Cryo-EM structures reveal native GABAA receptor assemblies and pharmacology. *Nature*, *622*(7981), 195–201. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06556-w>

- Symanski, C., Shill, H. A., Dugger, B., Hentz, J. G., Adler, C. H., Jacobson, S. A., Driver-Dunckley, E., & Beach, T. G. (2014). Essential tremor is not associated with cerebellar Purkinje cell loss. *Movement Disorders*, *29*(4), 496–500. <https://doi.org/10.1002/mds.25845>
- Tang, J., Li, X., Li, W., & Cao, C. (2025). The Protective Effect of Octanoic Acid on Sepsis: A Review. *Nutrition Reviews*, *83*(3), e1270–e1285. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuae106>
- Trinka, E. (2023). Phenobarbital in Status epilepticus – Rediscovery of an effective drug. *Epilepsy & Behavior*, *141*, 109104. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2023.109104>
- Unwin, N. (2005). Refined Structure of the Nicotinic Acetylcholine Receptor at 4Å Resolution. *Journal of Molecular Biology*, *346*(4), 967–989. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.12.031>
- van der Sluiszen, N. N. J. J. M., Vermeeren, A., Verster, J. C., van de Loo, A. J. A. E., van Dijken, J. H., Veldstra, J. L., Brookhuis, K. A., de Waard, D., & Ramaekers, J. G. (2019). Driving performance and neurocognitive skills of long-term users of benzodiazepine anxiolytics and hypnotics. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, *34*(6). <https://doi.org/10.1002/hup.2715>
- Vetterick, C., Lyons, K. E., Matthews, L. G., Pental, R., & Ravina, B. (2022). The Hidden Burden of Disease and Treatment Experiences of Patients with Essential Tremor: A Retrospective Claims Data Analysis. *Advances in Therapy*, *39*(12), 5546–5567. <https://doi.org/10.1007/s12325-022-02318-8>
- Voller, B., Lines, E., McCrossin, G., Tinaz, S., Lungu, C., Grimes, G., Starling, J., Potti, G., Buchwald, P., Haubenberger, D., & Hallett, M. (2016). Dose-escalation study of octanoic acid in patients with essential tremor. *Journal of Clinical Investigation*, *126*(4), 1451–1457. <https://doi.org/10.1172/JCI83621>
- Wald, J., Henningson, A., Hanze, E., Hoffmann, E., Li, H., Colquhoun, H., & Deligiannidis, K. M. (2022). Allopregnanolone Concentrations in Breast Milk and Plasma from Healthy Volunteers Receiving Brexanolone Injection, With Population Pharmacokinetic Modeling of Potential Relative Infant Dose. *Clinical Pharmacokinetics*, *61*(9), 1307–1319. <https://doi.org/10.1007/s40262-022-01155-w>

- Wallner, M., Hanchar, H. J., & Olsen, R. W. (2003). Ethanol enhances $\alpha_4\beta_3\delta$ and $\alpha_6\beta_3\delta$ γ -aminobutyric acid type A receptors at low concentrations known to affect humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(25), 15218–15223. <https://doi.org/10.1073/pnas.2435171100>
- Walters, R. J., Hadley, S. H., Morris, K. D., & Amin, J. (2000). Benzodiazepines act on GABAA receptors via two distinct and separable mechanisms. *Nature Neuroscience*, *3*(12), 1274–1281. <https://doi.org/10.1038/81800>
- Wieland, H. A., Lüddens, H., & Seeburg, P. H. (1992). A single histidine in GABAA receptors is essential for benzodiazepine agonist binding. *The Journal of Biological Chemistry*, *267*(3), 1426–1429.
- Wills, A. J., Jenkins, I. H., Thompson, P. D., Findley, L. J., & Brooks, D. J. (1994). Red nuclear and cerebellar but no olivary activation associated with essential tremor: A positron emission tomographic study. *Annals of Neurology*, *36*(4), 636–642. <https://doi.org/10.1002/ana.410360413>
- Yan, C., Hu, W., Tu, J., Li, J., Liang, Q., & Han, S. (2023). Pathogenic mechanisms and regulatory factors involved in alcoholic liver disease. *Journal of Translational Medicine*, *21*(1), 300. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04166-8>
- Yi, X., Kim, K., Yuan, W., Xu, L., Kim, H.-S., Homeister, J. W., Key, N. S., & Maeda, N. (2009). Mice with heterozygous deficiency of lipoic acid synthase have an increased sensitivity to lipopolysaccharide-induced tissue injury. *Journal of Leukocyte Biology*, *85*(1), 146–153. <https://doi.org/10.1189/jlb.0308161>
- Zhang, Q., Zhu, L., Li, H., Chen, Q., Li, N., Li, J., Zhao, Z., Xiao, D., Tang, T., Bi, C., Zhang, Y., Zhang, H., Zhang, G., Li, M., Zhu, Y., Zhang, J., & Kong, J. (2024). Insights and progress on the biosynthesis, metabolism, and physiological functions of gamma-aminobutyric acid (GABA): a review. In *PeerJ* (Vol. 12, Issue 12). PeerJ Inc. <https://doi.org/10.7717/peerj.18712>
- Zhu, S., Noviello, C. M., Teng, J., Walsh, R. M., Kim, J. J., & Hibbs, R. E. (2018). Structure of a human synaptic GABAA receptor. *Nature*, *559*(7712), 67–72. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0255-3>

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1 Strukturformel von GABA. Bei der γ -Aminobuttersäure handelt es sich um eine wasserlösliche Aminosäure und eine Monocarbonsäure. Die Aminogruppe befindet sich am γ -Kohlenstoffatom (Zhang et al., 2024).
Abbildungslizenz: CC BY 2

Abbildung 1.2 Schematische Darstellung des GABA-Shunts. Ein Stoffwechselkreislauf, der die Synthese und den Abbau des inhibitorischen Neurotransmitters γ -Aminobuttersäure mit dem Citratzyklus, auch Krebszyklus (engl. Krebs cycle) genannt, verknüpft. Er ermöglicht nicht nur die Bildung von GABA, sondern auch den Einschluss von Intermediaten in den Energiestoffwechsel (Zhang et al., 2024). Abkürzungen: PDH – Pyruvat-Dehydrogenase, GDH – Glutamat-Dehydrogenase, GAD – Glutamat-Decarboxylase, GABA-T – GABA-Transaminase, SSADH – Succinylsemialdehyd-Dehydrogenase. Abbildungslizenz: CC BY, (Iorizzo et al., 2023)..... 3

Abbildung 1.3 Schlüsselreaktion der GABA-Synthese: L-Glutamat (engl. L-Glutamate) wird durch das Enzym Glutamat-Decarboxylase (GAD) unter Mitwirkung von Pyridoxal-5-phosphat (PLP) decarboxyliert und es entsteht GABA und CO_2 (Zhang et al., 2024). Bildlizenz: CC BY 3

Abbildung 1.4 Der allgemeine Aufbau eines GABA_B-Rezeptors. Er besteht aus der VFT-Domäne, an die GABA bindet und der 7TM-Domäne der GABA_{B1b}- (grau) und GABA_{B2}- (schwarz) Untereinheit, welche die Plasmamembran durchspannen. Beide Domänen sind durch einen Linker verbunden, der mit der extrazellulären Schleife 2 (ECL2) in Verbindung steht (Evenseth et al., 2020). ELC2 wirkt wie eine Brücke und verbindet die äußere und innere Domäne innerhalb einer Untereinheit (Mao et al., 2020). Bildlizenz: CC BY, (Evenseth et al., 2020)..... 5

Abbildung 1.5 Der Übergang des GABA_B-Rezeptors vom inaktiven zum aktiven Zustand. Im inaktiven Zustand (eng. inactive, ganz links) ist die VFT-Domäne vollständig geöffnet. Wenn der Agonist bindet, schließt sie sich, wobei sich auch die Konformation der TM-Domänen ändert. Es bildet sich eine Kontaktfläche entlang der TM6 aus. Die zusätzliche Bindung eines positiven allosterischen Modulators (PAM) stabilisiert diesen aktiven Zustand (eng. active, ganz rechts) zusätzlich. Int-1 und In-2 stellen Übergangszustände dar, bevor der aktivierte Zustand erreicht wird.

Abkürzungen: EC = extrazellulär, IC = intrazellulär (Shaye et al., 2020).
Bildlizenznummer: 6045850249074..... 6

Abbildung 1.6 Aufbau der Untereinheit eines GABA_A-Rezeptors. Jede Untereinheit setzt sich aus einem großen N-Terminus, vier Transdomänen (TM1-TM4) und einem kleinen C-Terminus zusammen. Während TM1 und TM2 durch eine intrazelluläre Schleife verbunden sind, sind TM2 und TM3 durch eine extrazelluläre Schleife verbunden (Ghit et al., 2021). Bildlizenz: CC BY..... 8

Abbildung 1.7 Der schematische Aufbau eines GABA_A-Rezeptors. Er besteht aus fünf Untereinheiten, die sich zu einem Chloridkanal zusammenlagern. Diese sind in einer bestimmten Anordnung organisiert: β - α - β - γ - α (Zhang et al., 2024). Bildlizenz: CC BY..... 9

Abbildung 1.8 GABA und Benzodiazepin-(BZD)-Bindungsstelle im GABA_A-Rezeptor. Die zwei Bindungsstellen für GABA befinden sich an den β^+/α^- -Schnittstellen und die Benzodiazepin-Bindungsstelle ist an der α^+/γ^- -Schnittstelle lokalisiert (Zhang et al., 2024). Bildlizenz: CC BY11

Abbildung 1.9 "Rundown"- Desensibilisierung des GABA_A-Rezeptors. Wenn der Rezeptor wiederholt GABA-Reizen ausgesetzt ist, gelangt ein Teil der Rezeptoren bei jedem Reiz in einen desensibilisierten Zustand. Da sich diese Rezeptoren nicht vollständig regenerieren, kommt es zu einer fortschreitenden Abschwächung der maximalen Stromamplitude. Die GABA-Konzentration wird in der Abbildung in blau dargestellt (engl. GABA concentration) und ist immer dieselbe, während der GABA-vermittelte Strom mit jedem GABA-Reiz weiter sinkt (engl. intensity of the current mediated by GABA_A receptors“ (Sallard et al., 2021). Bildlizenz: CC BY13

Abbildung 1.10 Strukturformel von Diazepam, einem klassischen Benzodiazepin. (Sigel & Ernst, 2018). Bildlizenznummer: 606194088093117

Abbildung 1.11 Phenobarbital Bindung an den GABA_A-Rezeptor. Hochauflösende Kryo-Elektronenmikroskopieaufnahmen zeigen, dass Phenobarbital an zwei Schnittstellen der Transmembrandomänen des GABA_A-Rezeptors bindet (Kim et al., 2020). Bildlizenznummer: 605082055734720

Abbildung 1.12 Strukturformel eines klassischen Barbiturats: Phenobarbital (5-Ethyl-5-phenylbarbitursäure)(Trinka, 2023). Bildlizenz: CC BY.....21

Abbildung 1.13 Strukturformel von Caprylsäure (links) und Valproinsäure (rechts). Beide Verbindungen sind strukturisomere Carbonsäuren, die sich in der Anordnung ihrer Kohlenstoffatome unterscheiden. Während die Valproinsäure eine

verzweigte Struktur aufweist, ist die Caprylsäure linear aufgebaut (Altinoz et al., 2020).
Bildlizenznummer: 6056010306449.....36

Abbildung 2.1 Die Konfigurationen der Patch-Clamp-Technik. (A) Cell-attached (zellanhaftend): Die Pipettenspitze berührt die Zellmembran vorsichtig. Ein leichter Unterdruck bewirkt die Ausbildung des Gigaseals. Die Methode ermöglicht die Messung Einzelkanälen, ohne dabei die Zelle zu verletzen. (B) Whole-Cell (Ganzzell): Ausgehend von (A) wird ein stärkerer Unterdruck ausgeübt, um die Membran gezielt aufzubrechen. (C) Inside-out (nach innen gewendet): Ausgehend von (A) zieht man die Pipette schnell von der Zellmembran weg, was zur Ablösung eines kleinen Stücks der Membran führt. Die Seite, die dem Zellinneren zugewandt war, liegt nun in der Badelösung frei außen. (D) Outside-out (nach außen gewendet Konfiguration): Diese Konfiguration baut auf der Whole-Cell-Konfiguration auf. Die Pipette wird im Anschluss langsam zurückgezogen, wodurch sich ein Stück der Membran abschnürt und sich so dreht, dass die Außenseite der Membran nach außen zeigt (Ahmadi et al., 2023). Bildlizenz: CC BY.....43

Abbildung 3.1 Stromantworten der $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ und $\alpha 4\beta 3\delta$ -Rezeptoren. tsA201 Zellen wurden mit $\alpha 4\beta 3\gamma 2s$ (links) oder $\alpha 4\beta 3\delta$ (rechts) Untereinheiten transfiziert. GABA-vermittelte Ströme wurden in der Whole-Cell-Konfiguration gemessen. Jede Konzentration GABA wurde jeweils für drei Sekunden auf die Zelle appliziert, veranschaulicht durch das Rechteck. Die schwarze Spur zeigt die Stromantwort bei einer GABA-Konzentration von $0,03 \mu M$, die grüne bei $0,3 \mu M$, die blaue bei $3 \mu M$, die violette bei $30 \mu M$ und die pinke bei $300 \mu M$46

Abbildung 3.2 Stromantworten der $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ - und $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren. taA201 Zellen wurden mit $\alpha 6\beta 3\gamma 2s$ (links) oder $\alpha 6\beta 3\delta$ (rechts) Untereinheiten transfiziert. GABA-vermittelte Ströme wurden in der Whole-Cell Konfiguration gemessen. Jede Konzentration GABA wurde jeweils für drei Sekunden auf die Zelle appliziert, veranschaulicht durch das Rechteck. Die schwarze Spur zeigt die Stromantwort bei einer GABA-Konzentration von $0,03 \mu M$, die grüne bei $0,3 \mu M$, die blaue bei $3 \mu M$, die violette bei $30 \mu M$ und die pinke bei $300 \mu M$47

Abbildung 3.3 Stromantworten der $\alpha 1\beta 3\gamma 2s$ -Rezeptoren. tSA201 Zellen wurden mit $\alpha 1\beta 3\gamma 2s$ Untereinheiten transfiziert. GABA-vermittelte Ströme wurden in der Whole-Cell Konfiguration gemessen. Jede Konzentration GABA wurde jeweils für drei Sekunden auf die Zelle appliziert, veranschaulicht durch das Rechteck. Die schwarze

Spur zeigt die Stromantwort bei einer GABA-Konzentration von 0,03 μM , die grüne bei 0,3 μM , die blaue bei 3 μM , die violette bei 30 μM und die pinke bei 300 μM47

Abbildung 3.4 Dosis-Wirkungskurven von $\alpha 4\beta 3\gamma 2\text{s}$ - und $\alpha 4\beta 3\delta$ -Rezeptoren.

tSA201 Zellen wurden mit unterschiedlichen GABA_A Untereinheiten ($\alpha 4\beta 3\gamma 2\text{s}$, schwarz, n = 6) vs. ($\alpha 4\beta 3\delta$, grün, n = 6) transfiziert. Ströme wurden in der Whole-Cell Konfiguration gemessen. * p < 0,05 bezieht sich auf einen signifikanten Unterschied der Top-Werte, bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test.....48

Abbildung 3.5 Dosis-Wirkungskurven für $\alpha 6\beta 3\gamma 2\text{s}$ - und $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren.

tsA201 Zellen wurden mit unterschiedlichen GABA_A Untereinheiten ($\alpha 6\beta 3\gamma 2\text{s}$, schwarz, n = 6) vs. ($\alpha 6\beta 3\delta$, grün, n = 6) transfiziert. Ströme wurden in der Whole-Cell Konfiguration gemessen und GABA in den angegebenen Konzentrationen für drei Sekunden auf die Zellen appliziert. * p < 0,05 bezieht sich auf einen signifikanten Unterschied der Top-Werte, bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test.48

Abbildung 3.6 Vergleich der Zellkapazitäten (pF = Pikofarad) als Maß für die Zellgröße.

Die Zellkapazitäten (pF) der tSA201 Zellen, die $\alpha 4\beta 3\gamma 2\text{s}$ (blau) oder $\alpha 4\beta 3\delta$ (grün) GABA_A-Rezeptoren heterolog exprimierten wurden verglichen. Ebenso wurden $\alpha 6\beta 3\gamma 2\text{s}$ (pink) GABA_A Rezeptoren mit $\alpha 6\beta 3\delta$ (gelb) Rezeptoren verglichen. n. s. bedeutet nicht signifikant (p > 0,05), Mann-Whitney-Test.49

Abbildung 3.7 GABA-vermittelte Ströme von $\alpha 4\beta 3\gamma 2\text{s}$ - und $\alpha 4\beta 3\delta$ -Rezeptoren mit und ohne Octansäure.

Ströme wurden in, mit $\alpha 4\beta 3\gamma 2\text{s}$ (A) oder $\alpha 4\beta 3\delta$ (B) transfizierten tSA201-Zellen bei ansteigender GABA-Konzentration (von links nach rechts) in der Whole-Cell-Konfiguration aufgezeichnet. Die Stromantworten wurden sowohl ohne Octansäure („GABA“, schwarze Spur) als auch in Anwesenheit von 200 μM Octansäure („GABA+OA“, grüne Spur) gemessen.50

Abbildung 3.8 GABA-vermittelte Ströme von $\alpha 6\beta 3\gamma 2\text{s}$ - und $\alpha 6\beta 3\delta$ -Rezeptoren mit und ohne Octansäure.

Ströme wurden in, mit $\alpha 6\beta 3\gamma 2\text{s}$ (A) oder $\alpha 6\beta 3\delta$ (B) transfizierten tSA201-Zellen bei ansteigender GABA-Konzentration (von links nach rechts) in der Whole-Cell-Konfiguration aufgezeichnet. Die Stromantworten wurden sowohl ohne Octansäure („GABA“, schwarze Spur) als auch in Anwesenheit von 200 μM Octansäure („GABA+OA“, grüne Spur) gemessen.50

Abbildung 3.9 GABA-vermittelte Ströme von $\alpha 1\beta 3\gamma 2\text{s}$ -Rezeptoren mit und ohne Octansäure.

Ströme wurden in, mit $\alpha 1\beta 3\gamma 2\text{s}$ transfizierten tSA201-Zellen bei ansteigender GABA-Konzentration (von links nach rechts) in der Whole-Cell-Konfiguration aufgezeichnet. Die Stromantworten wurden sowohl ohne Octansäure

(„GABA“, schwarze Spur) als auch in Anwesenheit von 200 μM Octansäure („GABA+OA“, grüne Spur) gemessen.....51

Abbildung 3.10 Dosis-Wirkungskurven mit und ohne Octansäure. Bezogen auf die Stromamplitude. Die GABA-Konzentrationen (0.03 μM , 0.3 μM , 3 μM , 30 μM , 300 μM) wurden aufsteigend auf tsA201-Zellen appliziert, die mit den angegebenen GABA_A-Rezeptor Untereinheiten transfiziert waren. Die unterschiedlichen Subtypen wurden jeweils unter Kontrollbedingungen (schwarze Kurve) und in Anwesenheit von 200 μM Octansäure (grüne Kurve) gemessen. Zur besseren Vergleichbarkeit und Analyse wurden alle Stromantworten auf die vierte Konzentration, 30 Mikromolar GABA, normiert. * $p < 0,05$ bezieht sich auf einen signifikanten Unterschied der Top-Werte, bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test.52

Abbildung 3.11 Dosis-Wirkungskurven mit und ohne Octansäure. Bezogen auf die Fläche (engl. area). Die GABA-Konzentrationen (0.03 μM , 0.3 μM , 3 μM , 30 μM , 300 μM) wurden aufsteigend auf tsA201-Zellen appliziert, die mit den angegebenen GABA_A-Rezeptor Untereinheiten transfiziert waren. Die unterschiedlichen Subtypen wurden jeweils unter Kontrollbedingungen (schwarze Kurve) und in Anwesenheit von 200 μM Octansäure (grüne Kurve) gemessen. Zur besseren Vergleichbarkeit und Analyse wurden alle Stromantworten auf die vierte Konzentration, 30 Mikromolar GABA, normiert. * $p < 0,05$ bezieht sich auf einen signifikanten Unterschied der Top-Werte, bestimmt mittels Extra-Sum-of-Squares F-Test.53

Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1 Halbmaximale Konzentration (EC_{50}) \pm Standardfehler (SE) der Stromamplitude für fünf verschiedene $GABA_A$ -Rezeptoren. Die GABA-Konzentrationen (0.03 μ M, 0.3 μ M, 3 μ M, 30 μ M, 300 μ M) wurden aufsteigend auf tsA201-Zellen appliziert, die mit den jeweiligen $GABA_A$ -Untereinheiten transfiziert waren. Die unterschiedlichen Subtypen wurden jeweils ohne und in Anwesenheit von 200 μ M Octansäure (OA) untersucht. Die $\log EC_{50}$ -Werte der jeweiligen Subtypen wurde unter Kontrollbedingungen (mittlere Spalte) sowie in Anwesenheit von Octansäure (rechte Spalte) bestimmt.54

Tabelle 3.2 Halbmaximale Konzentration (EC_{50}) \pm Standardfehler (SE) der Fläche unter der Stromkurve für fünf verschiedene $GABA_A$ -Rezeptoren. Die GABA-Konzentrationen (0.03 μ M, 0.3 μ M, 3 μ M, 30 μ M, 300 μ M) wurden aufsteigend auf tsA201-Zellen appliziert, die mit den jeweiligen $GABA_A$ -Untereinheiten transfiziert waren. Die unterschiedlichen Subtypen wurden jeweils ohne und in Anwesenheit von 200 μ M Octansäure untersucht. Die $\log EC_{50}$ -Werte der jeweiligen Subtypen wurde unter Kontrollbedingungen (mittlere Spalte) sowie in Anwesenheit von Octansäure (rechte Spalte) bestimmt.....54