

Verhaltens- und molekularbiologische Untersuchungen
zur Grundlage der Toleranz gegenüber
serotonergen Halluzinogenen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

genehmigt durch die Fakultät für Naturwissenschaften der Otto-von-Guericke-Universität
Magdeburg

von Dipl. Psych. Tobias Buchborn
geb. am 20.08.1982 in Marburg

Gutachter:

Prof. Dr. med. Volker Höllt
Prof. Dr. rer. nat. Christian P. Müller

eingereicht am: 23.01.2020

verteidigt am: 02.09.2020

Nearer my Psych' to thee

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
Summary	2
1. Einleitung	3
1.1. LSD und DMT: Serotonerge Halluzinogene.....	3
1.1.1. Abriss zu Historie, Vorkommen, Chemie und Rechtsstatus.....	3
1.1.2. Humanwirkung: Psychologie, Physiologie und klinische Implikationen.....	5
1.1.3. Wirkung auf das Tier: Physiologie und Verhalten.....	9
1.1.4. Neurobiologische Grundlagen der halluzinogenen Wirkung.....	10
1.1.4.1. Pharmakodynamik: Serotonin-(5-HT) _{2A} -Rezeptor.....	10
1.1.4.2. Neurophysiologische Grundlage: Kortikale 5-HT _{2A} -Glutamat-Interaktion.....	10
1.2. Toleranz.....	13
1.2.1. Begriffsklärung und Mechanismen.....	13
1.2.2. Pharmakodynamik: Regulation von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren.....	15
1.2.3. Toleranz gegenüber LSD und DMT beim Menschen.....	17
1.2.3.1. Mechanismus der Toleranz gegenüber serotonergen Halluzinogenen.....	18
1.3. Überblick, Ziele und Untersuchungsfragen.....	19
2. Tiere, Material und Methoden	20
2.1. Tiere und Material.....	20
2.1.1. Tiere.....	20
2.1.2. Material.....	21
2.2. Tierexperimentelle Methoden.....	23
2.2.1. Serotonerge Halluzinogene und 5-HT _{2A} -Antagonisten	23
2.2.2. <i>Shaking Behaviour</i> , Tachyphylaxie und Toleranz.....	24
2.2.3. Körperkerntemperatur, Hypersalivation und Toleranz	25
2.3. Molekularbiologische Methoden in Zellkulturen.....	26
2.3.1. Zellkultur: Humane embryonale Nieren-(HEK293-) und C6-Gliomazellen	26
2.3.2. Generierung einer stabil HA-5-HT _{2A} -exprimierenden HEK293-Zelllinie	27
2.3.3. Polyacrylamidgel-Elektrophorese und <i>Western Blotting</i>	28

2.3.4.	Immunzytochemie und Konfokal-Mikroskopie	30
2.3.5.	Radiomessung zur Phospholipase-D-katalysierten Transphosphatidylierung	31
2.3.6.	RNA-Extraktion, reverse Transkription und Polymerase-Kettenreaktion.....	33
2.4.	Untersuchungen zur Radioligand-Bindungskapazität von Hirn-Homogenaten.....	35
2.4.1.	Radiomessungen zu 5-HT _{2A} - und Glutamat-(Glu-)Bindungsstellen	36
2.4.2	Radiomessungen zur G-Protein-Kopplung von 5-HT ₂ - und Glu-Rezeptoren	36
2.5.	Statistische Auswertung	37
3.	Ergebnisse.....	38
3.1.	Verhaltensuntersuchungen: LSD- bzw. DOB-induziertes <i>Shaking Behaviour</i> (SB).....	38
3.1.1.	Dosis-Wirkungskurve von LSD und DOB.....	38
3.1.2.	Einfluss der Gegenwart von Wurfgeschwistern	39
3.1.3.	Komponenten des SB.....	39
3.1.4.	Blockade durch Ketanserin	40
3.1.5.	Tachyphylaxie gegenüber LSD-induziertem SB.....	41
3.1.6.	Toleranz gegenüber LSD- und DOB-induziertem SB.....	42
3.2.	LSD-, DMT- und DOB-induzierte Thermoregulation.....	43
3.2.1.	Effekt bei normaler Raumtemperatur (RT).....	43
3.2.2.	Effekt bei verminderter RT	44
3.2.3.	Effekt bei erhöhter RT und Blockade durch 5-HT _{2A} -Antagonisten.....	45
3.2.4.	Effekt bei erhöhter RT: Hypersalivation und Blockade durch MDL100907	46
3.2.5.	Effekt bei erhöhter RT: Differentielle Toleranz gegenüber LSD und DMT	47
3.3.	Radiomessungen zur Toleranz gegenüber LSD- bzw. DOB-induziertem SB.....	49
3.3.1.	5-HT _{2A} - und Glu-Rezeptor-Bindungskapazität im frontalen Kortex (FC).....	49
3.3.2.	5-HT ₂ - und Glu-Rezeptor-G-Protein-Kopplungskapazität im FC.....	50
3.4.	Radiomessungen zur Toleranz gegenüber LSD und DMT-induzierter Hyperthermie.....	51
3.4.1.	5-HT _{2A} -Rezeptor-Bindungs- bzw. 5-HT ₂ - und Glu-Rezeptor-G-Protein-Bindungskapazität im zentralen Nervensystem.....	51
3.5.	Molekularbiologische Untersuchungen in 5-HT _{2A} -exprimierenden Zellkulturen	53
3.5.1.	<i>Western Blot</i> zur Phosphorylierung Extrazellulär-Signal-regulierter Kinasen.....	53
3.5.2.	Immunzytochemie zur Internalisierung von 5-HT _{2A} -Rezeptoren	54
3.5.3.	Radiomessung zur Phospholipase-D-katalysierten Transphosphatidylierung.....	57

3.5.4.	Polymerase-Kettenreaktion zu 5-HT _{2A} -Transkription.....	59
4.	Diskussion.....	60
4.1.	Untersuchungen zum LSD- und DOB-induzierten <i>Shaking Behaviour</i> (SB).....	60
4.1.1.	Dosis-Wirkungskurve, Einfluss von Wurfgeschwistern, SB-Komponenten sowie Blockade durch Ketanserin	61
4.1.2.	Tachyphylaxie gegenüber LSD-induziertem SB.....	61
4.1.3.	Toleranz gegenüber LSD- und DOB-induziertem SB und assoziierte Rezeptor-Regulation im frontalen Kortex	62
4.2.	Untersuchungen zur LSD- und DMT-induzierten Thermoregulation.....	65
4.2.1.	Effekt von Dosis sowie Wechselwirkung mit RT.....	65
4.2.2.	Rekapitulation durch DOB sowie Blockade durch Ketanserin und MDL100907..	67
4.2.3.	Differentielle Toleranz gegenüber LSD- und DMT-induzierter Hyperthermie und assoziierte Rezeptor-Regulation im zentralen Nervensystem.....	68
4.3.	Untersuchungen zur Agonist-induzierten 5-HT _{2A} -Regulation in Zellsystemen.....	71
4.3.1.	5-HT _{2A} -Kopplung an Extrazellulär-Signal-regulierte Kinasen 1/2.....	71
4.3.2.	5-HT _{2A} -Internalisierung sowie Aktivierung der Phospholipase D.....	72
4.3.3.	5-HT _{2A} -Transkript-Regulation	75
4.4.	Abschließendes Resümee und Ausblick	76
5.	Literaturverzeichnis.....	81
	Abkürzungsverzeichnis	99
	Publikationen und Preise.....	104

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformeln von LSD, DMT und Serotonin	5
Abbildung 2: Elektrophysiologisches Modell zur Wirkung serotonerger Halluzinogene	12
Abbildung 3: <i>Shaking Behaviour</i> (SB) und Temperatur-bedingte Hypersalivation	26
Abbildung 4: HA-5-HT _{2A} -pcDNA3-Plasmid mit Schlüsselmerkmalen	28
Abbildung 5: Phospholipase-D-katalysierte Transphosphatidylierung	32
Abbildung 6: Nukleotid-Sequenz des Polymerase-Kettenreaktion-5-HT _{2A} -Amplikons	35
Abbildung 7: Dosis-Wirkungskurve für LSD- und DOB-induziertes SB	38
Abbildung 8: SB bei Einzel- vs. Gruppenbeobachtung	39
Abbildung 9: Komponenten des SB	40
Abbildung 10: Blockade von SB durch Ketanserin	40
Abbildung 11: Tachyphylaxie gegenüber LSD-induziertem SB.....	41
Abbildung 12: Toleranz gegenüber LSD- und DOB-induziertem SB.....	42
Abbildung 13: Effekt von LSD, DMT und DOB auf Körpertemperatur bei 22 °C RT	44
Abbildung 14: Effekt von LSD und DOB auf Körpertemperatur bei 11 °C RT	44
Abbildung 15: Effekt von LSD, DMT und DOB auf Körpertemperatur bei 33 °C RT	45
Abbildung 16: LSD- bzw. DOB-induzierte Hypersalivation bei 33 °C RT	46
Abbildung 17: Effekt wiederholter LSD-Behandlung auf Körpertemperatur bei 33 °C RT	47
Abbildung 18: Differentielle Toleranz gegenüber LSD- bzw. DMT-induzierter Hyperthermie und Hypersalivation.....	48
Abbildung 19: SB-Toleranz: [³ H]Spiroperidol- und [³ H]Glutamat-Bindungen im FC.....	50
Abbildung 20: SB-Toleranz: DOB- bzw. LY354740-stimulierte [³⁵ S]GTPγS-Bindungen im FC ..	51
Abbildung 21: Hyperthermie-Toleranz – [³ H]Spiroperidol- bzw. Glutamat- und DOB- stimulierte [³⁵ S]GTPγS-Bindungen im zentralen Nervensystem	52
Abbildung 22: ERK1/2-Aktivierung in HA-h5-HT _{2A} -transfizierten HEK293-Zellen	53
Abbildung 23: HA-h5-HT _{2A} -Internalisierung in transfizierten HEK293-Zellen	54
Abbildung 24: Konzentration-Wirkungsbeziehung für LSD-induzierte Phospholipase-D- Aktivierung.....	58
Abbildung 25: Phospholipase-D-Aktivierung in 5-HT _{2A} -transfizierten HEK293-Zellen	59
Abbildung 26: 5-HT _{2A} -Transkript-Regulation in nativen C6-Zellen	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Strukturelle Kategorisierung serotonerger Halluzinogene	4
Tabelle 2: Übersicht der eingesetzten Materialien und Geräte	21
Tabelle 3: Lösungen für Tierversuche	24
Tabelle 4: Lösungen für Zellkultur	27
Tabelle 5: Lösungen für Polyacrylamidgel-Elektrophorese und <i>Western Blot</i>	29
Tabelle 6: Pipettierschema für Polyacrylamid-Sammel- und Trenngel.....	29
Tabelle 7: Lösungen für Immunzytochemie	31
Tabelle 8: Eigenschaften der Gen-spezifischen <i>Primer</i> der Polymerase-Kettenreaktion	34
Tabelle 9: Inkubationspuffer für Radioligand-Bindungsuntersuchungen	37

Zusammenfassung

Serotonerge Halluzinogene (sHG) wie Lysergsäurediäthylamid (LSD) werden in der gegenwärtigen Psychopharmakologie kontrovers diskutiert. Auf der einen Seite gibt es im Zuge des wiedererwachten Forschungsinteresses zunehmend Hinweise auf therapeutische Einsetzbarkeit; auf der anderen Seite kann der klinisch nicht-überwachte Missbrauch mit Schaden für Individuum und Gesellschaft einhergehen. Die psychedelische Wirkung von sHG geht bei wiederholter Einnahme rasch verloren, ein als *Toleranz* bekanntes Phänomen. Einzig bisher bekannte Ausnahme ist Dimethyltryptamin (DMT), für welches vergleichbare Toleranz nicht nachgewiesen werden konnte. sHG wirken primär über Aktivierung von Serotonin (5-HT) 2A Rezeptoren im (frontalen) Kortex (FC), sodass allgemein angenommen wird, dass die Herabregulation nämlicher Rezeptoren Toleranz-ursächlich ist. An experimenteller Evidenz mangelt es jedoch. In der vorliegenden Arbeit wurde multimethodal der Frage nachgegangen, ob LSD, DMT und/oder die 5-HT₂-selektiven sHG DOB bzw. DOI (Brom-/Iod-Dimethoxyamphetamin) Prozesse der 5-HT_{2A}-Regulation anstoßen. Als Tiermodelle halluzinogener 5-HT_{2A}-Aktivität wurden *Shaking Behaviour* sowie die in Interaktion mit umweltlicher Wärme auftretende Hyperthermie betrachtet. Mit den wichtigsten unserer Ergebnisse zeigen wir, dass Mehrfachapplikation von LSD bzw. DOB bei Ratten zu raschem Wirkungsverlust führt. Dieser ist – so demonstrieren *Post-Mortem*-Radioligand-Bindungen – von einer Abnahme der 5-HT_{2A}-Bindungs- und/oder der 5-HT₂-G-Proteinkopplungskapazität im FC begleitet. Ferner legt die von uns beobachtete Abnahme glutamaterger Bindungen nahe, dass Adaptationen in 5-HT_{2A}-nachgeschalteten Systemen jene um 5-HT_{2A} komplementieren. Infolge wiederholter DMT-Applikation ist weder *in vivo* noch hinsichtlich der G-Proteinkopplung *in vitro* Toleranz festzustellen; stattdessen tritt ein Anstieg der 5-HT_{2A}-Bindungen auf. Untersuchungen in 5-HT_{2A}-exprimierenden Zellsystemen unter Einsatz von Immunzytochemie, Transphosphatidylisierungsmessung und RT-PCR ergänzen die Befundlage: Während LSD und DOI/-B 5-HT_{2A}-Rezeptoren internalisieren, das endozytotisch relevante Enzym Phospholipase D (PLD) aktivieren und der 5-HT_{2A}-Neusynthese entgegenwirken, erweist sich DMT als inaktiv. *In toto* unterstützen unsere Daten die Annahme, dass sHG 5-HT_{2A}-Rezeptoren sowohl auf molekularbiologischer Ebene als auch in Bezug auf physiologisches und Verhaltensoutput herabregulieren. Dass unsere Befunde mechanistische Schlussfolgerungen zur 5-HT_{2A}ergen Bewusstseinsveränderung beim Menschen zulassen, findet dabei vor allem darin Bekräftigung, dass sich DMT hier wie da systematisch von anderen sHG unterscheidet.

Summary

Serotonergic hallucinogens (sHG) such as lysergic acid diethylamide (LSD) are controversially discussed in contemporary psychopharmacology. In the context of the recently revived scientific interest there is increasing amount of evidence suggesting therapeutic applicability. On the other hand, if abused in an unsupervised context, sHG might pose a substantial threat to human health and society. Upon repeated administration, the psychedelic effects of sHG rapidly diminish, a phenomenon known as *tolerance*. Only exception to the rule seems to be dimethyltryptamine (DMT), whose psychedelia appears unsusceptible to tolerance. As sHG primarily act by activation of serotonin (5-HT) 2A receptors in the (frontal) cortex (FC), the downregulation of the given receptors is generally assumed to be the main tolerance-underlying principle. Experiment-based empirical evidence for this assumption – particularly for the classic sHG – is sparse, though. In the work at hand, we in a multimethod approach pursued the question whether LSD, DMT, and/or the 5-HT₂-selective sHG DOB and DOI (bromo-/iodo-dimethoxyamphetamine), respectively, induce processes of 5-HT_{2A} regulation. As animal models of hallucinogenic 5-HT_{2A} activity, *shaking behaviour* and *hyperthermia* primed by increased ambient temperature were used. Amongst the most important results, we find that repeated application of LSD and DOB leads to a rapid loss of effects. Tolerance – as indicated by *post-mortem* radioligand-binding assays – is associated with a decrease in 5-HT_{2A} binding- and/or 5-HT₂-G-protein coupling capacity in the FC. Furthermore, a decrease in glutamatergic binding suggests that adaptations in systems downstream of 5-HT_{2A} receptors might complement the primary ones surrounding 5-HT_{2A}. Upon repeated DMT application, neither *in vivo* nor as to G-protein coupling *in vitro* tolerance can be detected; instead, an increase in frontocortical 5-HT_{2A} binding is observed. Studies in 5-HT_{2A} expressing cell systems engaging immunocytochemistry, transphosphatidylation assay, and RT-PCR round up the picture: Whereas LSD and DOI/-B internalise 5-HT_{2A} receptors, activate the endocytotically relevant enzyme phospholipase D (PLD), and inhibit 5-HT_{2A} re-synthesis, DMT fails. *In toto*, our data back up the assumption that sHG both on a molecular biological as well as on a physio-behavioural-output level downregulate 5-HT_{2A} receptors. Mechanistic implications of our results for 5-HT_{2A}ergic alterations of human consciousness appear particularly favourable given that DMT, here as there, systemically differs from other sHG.

1 Einleitung

1.1 LSD und DMT: Serotonerge Halluzinogene

1.1.1 Abriss zu Historie, Vorkommen, Chemie und Rechtsstatus

Serotonerge Halluzinogene (sHG) sind psychotrope Substanzen, die tiefgreifende Veränderungen des menschlichen Wachbewusstseins hervorrufen. Der bekannteste und wohl am umfassendsten untersuchte Vertreter der sHG ist das Lysergsäurediäthylamid (LSD) (Passie et al., 2008; Hintzen & Passie, 2010). LSD wurde erstmals durch den Schweizer Chemiker Albert Hofmann im Rahmen der Derivatisierung von Mutterkorn-Alkaloiden 1938 für den Pharmakonzern *Sandoz* hergestellt. Von der tierexperimentellen Abteilung *Sandoz*¹ zunächst als pharmakologisch uninteressant befunden, ist die Entdeckung der bewusstseinsverändernden Wirkung von LSD erst fünf Jahre später erfolgt, als Hofmann die Substanz aus einer „merkwürdigen Ahnung“ heraus (Hofmann, 2010, S. 28) erneut synthetisierte und dabei versehentlich Spuren dieser zu sich nahm. N,N-Dimethyltryptamin (DMT), ebenfalls ein sHG, ist im Gegensatz zu LSD natürlichen Ursprungs. Es kommt in bestimmten Arten von Mimosen- und Rötengewächsen vor (Pachter et al., 1959; Rivier & Lindgren, 1972) und ist als endogenes *Spurenamin* in Körperflüssigkeiten von Säugern, einschließlich des Menschen nachweisbar (rev. Barker et al., 1981; Barker et al., 2012). DMT wurde bereits in den 1930er Jahren synthetisiert (Manske, 1931); dass es bewusstseinsverändernde Eigenschaften besitzt, ist für seine Reinform allerdings erst zwei Jahrzehnte später beschrieben worden (Szára, 1956). Das ethnobotanische Wissen um die Wirkung von DMT prädatiert jenes der modernen Wissenschaft. So erfährt *Ayahuasca*, ein von Amazonasindianern aus DMT- und β -Carbolin-haltigen Pflanzen¹ zubereitetes Gebräu, bereits seit Jahrhunderten medizinisch und/oder religiös rituellen Einsatz (Luna, 2011; Mishor et al., 2011). Die physiologische Relevanz des Säugetier-eigenen DMTs ist hingegen auch heute noch weitgehend unbekannt. Nachdem es im Rahmen der mittlerweile eher als obsolet geltenden Transmethylierungshypothese als *Schizotoxin*, das heißt als möglicher Auslöser der Schizophrenie gehandelt wurde (Gillin et al., 1976), steht es aktuell als Immunregulator (Frecka et al., 2013) bzw. endogener Ligand

¹ *Ayahuasca* (Kichwa für *Wein der Ahnen* oder *Ranke der Seelen*) enthält Extrakte aus dem DMT-haltigen Rötengewächs *Psychotria viridis* und der β -Carbolin-haltigen Liane *Banisteriopsis caapi*.

von σ_1 - und/oder Spurenamin-assoziierten Rezeptoren in Diskussion (Bunzow et al., 2001; Fontanilla et al., 2009).

„HG“s sind chemisch gesehen Arylalkylamine. Sie lassen sich in zwei Hauptgruppen unterteilen, die Indol- und Phenylalkylamine, die ihrerseits verschiedene Untergruppen umfassen (Tab. 1) (Glennon, 1999). LSD und DMT gehören zu den Indolalkylaminen und stehen strukturell dem Botenstoff Serotonin (5-Hydroxytryptamin [5-HT]) nahe. DMT weist wie Serotonin ein simples bicyklisches Indolethylamin-Grundgerüst auf, was seine Kategorisierung als Tryptamin begründet. Das aliphatische Stickstoff-Atom von DMT, welches mit zwei Methylgruppen (CH_3) verbunden ist, macht es zum sogenannten *Monoamin*. Serotonin fehlen genannte CH_3 -Gruppen und trägt stattdessen eine Hydroxylgruppe (OH) in Position 5 seines Bicyklus. LSD ist erweitert um zwei Ringe den tetrazyklischen Ergolinen zuzuordnen (Abb. 1) (Breitmaier, 2008). Neben LSD und DMT gehören vor allem Psilocybin, Phenylethylamine wie Meskalin sowie die von Alexander Shulgin synthetisierten 2,5-Dimethoxy-Derivate des Amphetamins zu den wichtigsten Vertretern der „HG“s (Tab. 1) (Shulgin & Shulgin, 1991).

Hauptgruppe	Untergruppe	Wichtigste Vertreter	Vorkommen
Indolalkylamine	Tryptamine	N,N-Dimethyltryptamin (DMT)	Psychotria Viridis (Rötegewächs)
		4-Phosphoryloxy-DMT (Psilocybin)	Psilocybe cubensis (Pilz)
	Ergoline	Lysergsäurediäthylamid (LSD)	(Semi-)synthetisch
		Lysergsäureamid (LSA)	Argyreia nervosa (Windengewächs)
Phenylalkylamine	Phenylethylamine (PEA)	Meskalin	Lophophora williamsii (Kaktus)
		4-Bromo-2,5-dimethoxyphenethylamin (2C-B); 4-Iodo-2,5-dimethoxyphenethylamin (2C-I)	Synthetisch
	Phenylisopropylamine (PIA)	4-Bromo-2,5-dimethoxyamphetamin (DOB); 4-Iodo-2,5-dimethoxyamphetamin (DOI)	Synthetisch

Tabelle 1: Strukturelle Kategorisierung serotonerger Halluzinogene („HG“) mit ihren wichtigsten Vertretern. 2C-B und 2C-I sind keine „HG“s im klassischen Sinne, eher „HG-Entaktogen-Hybride“, werden hier jedoch aufgrund ihrer strukturellen Verwandtschaft zu DOB bzw. DOI mit aufgeführt (erstellt nach Glennon, 2008; Halpern et al., 2011).

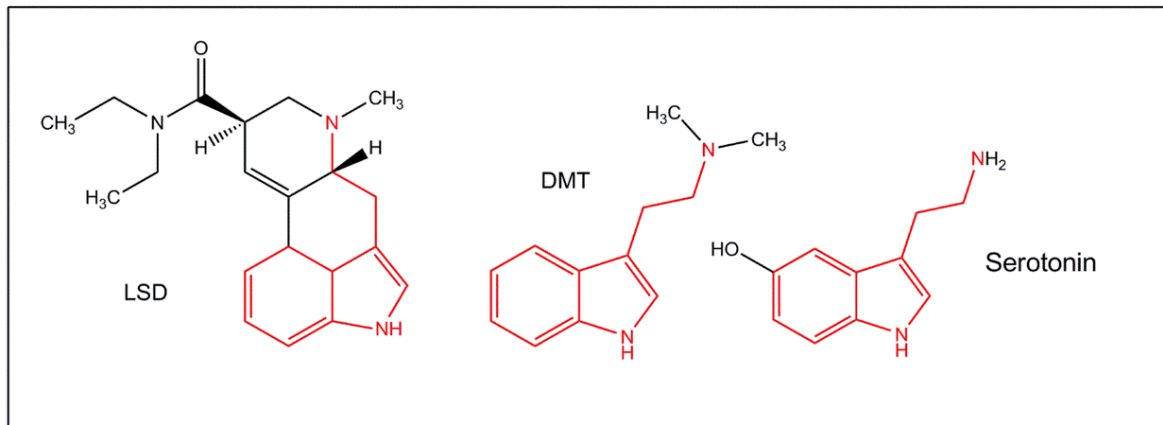


Abbildung 1: Strukturformeln von Lysergsäurediäthylamid (LSD), Dimethyltryptamin (DMT) und dem Neurotransmitter *Serotonin*. Alle drei gehören zu den Indolalkylaminen, ihre strukturellen Überlappungen (das Tryptamin-Grundgerüst) sind rot hervorgehoben. Schematische Darstellung (eigen).

Die meisten sHG's unterliegen in Deutschland – LSD seit 1967, DMT seit 1974 (BGBl. I, 10, S. 197; BGBl. I, 6, S. 97) – den betäubungsmittelrechtlichen Vorschriften des Opium- bzw. Betäubungsmittelgesetzes (BtMG) und werden dort in Folge dessen Neuordnung seit 1981 in Anlage 1 als *nicht verkehrsfähig* eingestuft (BGBl. I, 30, S. 681). Aufgrund dieser und vergleichbarer gesetzlicher Einstufungen in anderen Ländern ist die Humanforschung zu den neurophysiologischen Grundlagen, dem Nutzen und den Gefahren der Wirkung dieser Substanzen, abgesehen von wenigen Ausnahmen (z.B. Strassman, 1995; Gasser, 1996; Hermle et al., 1998), über mehrere Jahrzehnte fast vollständig zum Erliegen gekommen (Asher, 1975; Nutt et al., 2013). Erst nach einem breit angelegten Vorstoß der Schweizer Humanforschung um Psilocybin (Vollenweider et al., 1997; Hasler et al., 2002; Vollenweider et al., 2007; Studerus et al., 2011) ist in jüngster Gegenwart zusehends ein Abklingen der Stagnation zu beobachten. Im Fokus des wiederentfachten Interesses steht dabei vor allem der durch moderne Bildgebung ermöglichte Einblick in die der halluzinogenen Wirkung zugrunde liegenden Gehirnprozesse (rev. Carhart-Harris, 2018; McKenna & Riba, 2018) sowie die Eruierung potentieller therapeutischer Anwendungen (rev. Dos Santos et al., 2016; Carhart-Harris & Goodwin, 2017; Johnson & Griffiths, 2017).

1.1.2 Humanwirkung: Psychologie, Physiologie und klinische Implikationen

Anders als die meisten anderen psychotropen Substanzen haben serotonerge Halluzinogene (sHG) keine Präferenz für eine bestimmte Dimension der Psyche, vielmehr lenken sie diese über Perzeption, Affektivität, Kognition und Exekutivfunktionen ganzheitlich aus. In welche Richtung die Auslenkung erfolgt, unterliegt großer intra- und interindividueller Variabilität, und wird neben der Dosis vor allem durch die Konstitution des Konsumenten (*Set*) und die Umgebung des Konsums (*Setting*) beeinflusst (rev. Cohen, 1985; Hartogsohn, 2016; Preller & Vollenweider, 2016). LSD wird in der Regel *per os* (p.o.) in Dosen um 150 µg konsumiert. Seine Wirkung setzt nach circa 30 bis 60 Minuten ein, erreicht nach etwa zwei Stunden ihren Höhepunkt, schwindet nach vier bis sechs Stunden und läuft schließlich nach acht bis zwölf Stunden aus (Hoch, 1956; Linton & Langs, 1962; Schmid et al., 2015). Ihre psychisch eindrücklichste Manifestierung findet sie auf den Dimensionen der Wahrnehmung, der Kognition, der Affektivität sowie der integrativen und Ich-Funktion(en). Charakteristisch sind (1) illusionäre Verkennungen, Pseudohalluzinationen und Akzentuierungen der (visuellen) Wahrnehmung; (2) attentive Zerstreuung und formale Denkstörungen wie assoziative Lockerung, Ideenflucht oder Gedankenabreißen; (3) Stimmungslabilität mit wellenartigen Umschwüngen, Ambivalenz und stark affektiven Ausschlägen sowie (4) Verzerrungen des Körper selbst, der Ich-Umweltabgrenzung und des Raum-/Zeiterlebens. Untypisch hingegen sind echte Halluzinationen², systematisiert ausgestaltete Wahngebäude sowie Delirium-artige Gedächtnis- und Vigilanz-Einbrüche (Stoll, 1947; Rinkel et al., 1952; Katz et al., 1968). Den psychischen Effekten vorausgehend und diese begleitend induziert LSD eine Reihe von vegetativen Symptomen. Neben einer stark ausgeprägten Mydriasis kann es zu einer leichten Erhöhung der Herzrate, des Blutdrucks, der Atemfrequenz, des Blutzuckers, der Kniesehnen-Reflexie, der Sekretion von Hormonen (einschließlich Cortisol, Prolaktin, Oxytozin und Adrenalin) sowie der Körpertemperatur kommen (Forrer & Goldner, 1951; Isbell, 1959; Gorodetzky & Isbell, 1964; Schmid et al., 2015). Zudem können Symptome wie Piloerektion, Gänsehaut, Schwitzen, Salivation, Zittern sowie Wärme- und Kälteschauern auftreten (Rinkel et al., 1952; Abramson et al., 1955).

Klassische sHG (insbesondere LSD, Psilocybin und DMT) gelten als physiologisch sichere Moleküle (rev. Passie et al., 2002; Gable, 2007; Passie et al., 2008; Amsterdam et al., 2011; Nichols & Grob, 2018), die akut eine hohe *therapeutische Breite* und ein geringes Abhängig-

² Die von LSD ausgelösten Trugwahrnehmungen unterscheiden sich von echten Halluzinationen unter anderem dahingehend, dass der Konsument in der Regel darum weiß, dass diese auf die LSD-Einnahme zurückzuführen und daher nicht real sind.

keitspotential aufweisen (Gable, 1993, 2004; Nutt et al., 2007). LSD wird als kardiovaskulär unbedenklich eingestuft (Dawson & Moffatt, 2012), kann jedoch in seltenen Fällen – so bei massiver Überdosierung oder in Wechselwirkung mit medizinischer Fixierung – zur Aufheizung des Körpers (Hyperthermie [HYPER]) führen (Klock et al., 1974; Mercieca & Brown, 1984; Behan et al., 1991). Physische Abhängigkeit von LSD tritt nicht auf; wird es nach chronischer Gabe durch ein Plazebo ersetzt, sind keine Entzugssymptome festzustellen (Isbell et al., 1956). Psychische Abhängigkeit kommt vermutlich aufgrund des variablen Verstärkungscharakters von LSD (Hoffmeister, 1975; Parker, 1996) eher selten vor. Fälle, in denen LSD mitunter mehrere Male pro Monat eingenommen wurde, sind jedoch bekannt (Ludwig & Levine, 1965; Wright & Hogan, 1972). Kriterien der Abhängigkeit sind bei rund 4 % der Nutzer, die kürzlich mit LSD- oder Psilocybin-Konsum begonnen haben, zu beobachten (Stone et al., 2007). Auch gewinnt gegenwärtig der Trend zur sogenannten Mikrodosierung (*Microdosing*), das heißt zur Einnahme von subhalluzinogenen sHG-Dosen jeden zweiten bis dritten Tag zunehmend Bedeutung (Anderson et al., 2019; Passie, 2019). Psychische Komplikationen während des Rausches, zum Beispiel Dysphorie oder Angst, sind nicht unüblich. So gilt es für die Wirkung von LSD als charakteristisch, dass positive und negative Emotionen abwechselnd oder in zeitlicher Überlappung in Erscheinung treten (Katz et al., 1968). Eine Angstbetonte Phänomenologie (sei es für LSD, Psilocybin oder DMT) wird durch emotionale Labilität, rigide Konventionalität oder experimentell-methodische Restriktionen (zum Beispiel Messungen im beengten Tomographen oder in Separierung von anderen Studienteilnehmern) begünstigt (Slater et al., 1957; Dittrich, 1994; Studerus et al., 2012). Bei sehr hohen LSD-Dosen um 16 µg/kg p.o. kann es sich zudem als schwierig erweisen, halluzinierte und reale Objekte zu unterscheiden (Klee et al., 1961); akut psychotisches Erleben ist in diesem Zusammenhang nicht auszuschließen. Protrahierte, das heißt die Akutwirkung von sHG überdauernde Psychosen oder Affektstörungen sind bei klinisch experimenteller Verabreichung bei rund 0.01 bis zwei von 100 Fällen zu beobachten (rev. Cohen, 1960; Fink et al., 1966; Studerus et al., 2011). Kommt es zur Ausklinkung Schizophrenie-ähnlicher Psychosen, scheinen sHG – als unspezifischer Stressoren fungierend – diese jedoch eher der Latenz zu entheben als ursächlich zu sein (rev. Strassman, 1984). Die in der Öffentlichkeit häufig mit sHG in Verbindung gebrachten Nachhallphänomene (*Flashbacks*; nach DSM-5, *Hallucinogen Persisting Perception Disorder* [HPPD]), bei denen mitunter Wochen und Monate nach der letzten Einnahme (zumeist visuo-perzeptuelle) Elemente des akuten Rausches wiedererlebt werden, sind mechanistisch nicht gut verstanden. Knotenpunkte, die in Angst-dominierten Rauschver-

läufen gesetzt werden und daraus hervorgehende (mnestische) Sensitisierungsprozesse mögen eine Rolle spielen (rev. Hermle et al., 2015; Halpern et al., 2016). Einschätzungen zur Prävalenz variieren aufgrund uneinheitlicher Operationalisierungen mitunter stark (Halpern & Pope, 2003). In einer jüngeren, Web-basierten Untersuchung klagten 4.2% von 2455 Befragten von Beeinträchtigungen durch visuelle *Post-Rausch* Anomalien (Baggott et al., 2011). Zur pharmakologischen Behandlung von akuten sowie protrahierten sHG-Komplikationen gelten Benzodiazepine als Mittel der ersten Wahl (rev. Hermle et al., 2008). Die therapeutische Einsetzbarkeit von LSD wird aktuell vor allem im Bereich von 5-HT-Spektrumserkrankungen wie Clusterkopfschmerz, Angst und Depression diskutiert (Sewell et al., 2006; Buchborn et al., 2014; Gasser et al., 2014). Suchterkrankungen stellen ebenfalls ein mögliches Indikationsgebiet für die LSD-gestützte Psychotherapie dar (Krebs & Johansen, 2012).

Die psychischen und vegetativen Effekte von DMT sind qualitativ jenen von LSD sehr ähnlich (Szara, 1957). Es induziert lebendig visuelle Wahrnehmungsveränderungen, formale Denkstörungen, Stimmungsumschwünge mit -ambivalenz (Strassman et al., 1994; Gouzoulis-Mayfrank et al., 2005), Mydriasis sowie eine leichte Erhöhung von Blutdruck, Puls, (Knie-sehnen-)Reflexie (Sai-Halász et al., 1958; Rosenberg et al., 1963) und Körpertemperatur (Strassman & Qualls, 1994). Anders als LSD ist DMT jedoch bis zu einer Dosis von 350 mg oral inaktiv (Turner & Merlis, 1959). DMT wird durch die Monoaminoxidase (MAO) abgebaut (Shah & Hedden, 1978) und muss zur Umgehung des *First-Pass*-Effektes parenteral oder in Kombination mit einem MAO-Hemmer appliziert werden. Letzteres erfolgt in der Regel in Form des weiter oben bereits erwähnten Ayahuasca-Gebräus, welches neben DMT zusätzlich β -Carboline wie Harmin und Harmalin enthält (Callaway et al., 1996). Diese wirken als reversible kompetitive MAO-A-Hemmer (Kim et al., 1997) und schützen, so wird angenommen, orales DMT vor präsystemischem Abbau (McKenna et al., 1984). Unter Bedingungen gehemmter MAO gelten 0.5 bis 1.0 mg/kg DMT p.o. als übliche Humandosis; ihre psychologischen Effekte setzen nach 30 bis 60 Minuten ein, erreichen nach eineinhalb bis zwei Stunden ihren Höhepunkt und enden nach circa vier bis sechs Stunden (Riba et al., 2001; Riba et al., 2003). Ähnlich wie LSD wird DMT aktuell als Adjuvans in der Behandlung von Angst-, Depressions- und Suchterkrankungen diskutiert (rev. de Lima Osório et al., 2011; Bouso & Riba, 2014; Nielson & Megler, 2014).

1.1.3 Wirkung auf das Tier: Physiologie und Verhalten

Beim Tier rufen LSD und DMT eine Vielzahl von Effekten auf Vegetativum und Verhalten hervor, die auf eine umfassende Beeinflussung von autonomem Nervensystem, Motorik, Affektivität und Kognition hinweisen. Ähnlich wie beim Menschen ist LSD dabei in der Regel deutlich potenter als DMT. LSD und DMT induzieren beide Mydriasis, Tachykardie, Hyperreflexie, Tachypnoe und Hyperthermie (HYPER) beim Hund (Martin et al., 1978), HYPER beim Kaninchen (Domino, 1976) sowie Symptome des Serotoninsyndroms (zum Beispiel Abspreizen der Hinterläufe) bei der Ratte (Sloviter et al., 1980). Bei Ratten, Mäusen, Kaninchen, Katzen und Affen löst LSD ferner ein charakteristisches Schütteln des Kopfs mit oder ohne Beteiligung des Rumpfes aus (*Head Twitches* [HTs] bzw. *Wet Dog Shakes* [WDS]) (rev. Buchborn et al., 2016), welches bei Mäusen und Affen ebenfalls für DMT beschrieben worden ist (Schlemmer & Davis, 1983; González-Maeso et al., 2007). Da HTs bei Mäusen und WDS bei Ratten eine stark überlappende Pharmakologie aufweisen, wobei letztere vermutlich eine generalisierte Version der ersteren darstellen (Green & Heal, 1985; Wilkinson & Dourish, 1991), werden beide Verhaltenskomponenten in der vorliegenden Arbeit als homolog verstanden und unter dem Begriff *Shaking Behaviour* (SB) subsummiert (Handley & Singh, 1986; Lucki, 1990). LSD und DMT agieren im Weiteren als diskriminative Hinweisreize, sodass Ratten diese im Zwei-Hebel-Paradigma von Kochsalzlösung und anderen Substanzen zu unterscheiden lernen können (Gatch et al., 2009). Beide begünstigen die angeborene Neigung von Ratten, neue Umgebungen mit anfänglicher Scheu zu begegnen und exponierte Areale im Zentrum von offenen Flächen zu meiden (Adams & Geyer, 1985b, a). Auch können LSD und DMT das Ansprechen der Tiere auf Schreckreize verstärken (Davis & Bear, 1972; Davis & Sheard, 1974). Diskriminativer Hinweisreiz (Winter et al., 2005), SB (González-Maeso et al., 2007) und HYPER (Domino et al., 1977) involvieren, der psychedelischen Wirkung von sHG auf den Menschen ähnlich (s. Abschn. 1.1.4.1), 5-HT_{2A}-Rezeptoren. Die Potenz diverser Antagonisten SB zu blockieren, korreliert beispielsweise hoch positiv mit deren Affinität zu 5-HT_{2A}-Rezeptoren (Schreiber et al., 1995). Auch konnten vergleichbare Korrelationen zwischen der psychedelischen Humanpotenz diverser sHG und deren Potenz, SB und HYPER beim Tier auszulösen, aufgezeigt werden (Jacob & Lafille, 1963; Corne & Pickering, 1967). Dass sHG-induzierte HYPER – wie weiter oben beschrieben – auch beim Menschen auftritt, und SB zudem ähnliche neurophysiologische Korrelate wie die psychedelische Humanwirkung aufzuweisen scheint (s. Abschn. 1.1.4.2), lässt insbesondere diese beiden Tiermodelle als *translational valide* erscheinen.

1.1.4 Neurobiologische Grundlagen der halluzinogenen Wirkung

1.1.4.1 Pharmakodynamik: 5-HT_{2A}-Rezeptor

Aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit zu Serotonin, aber auch zu den katecholaminergen Neurotransmittern *Dopamin* und *Noradrenalin*, interagieren die meisten sHGs mit einer Vielzahl von Monoamin-Rezeptoren (Ray, 2010). Trotz ihrer pharmakodynamischen Promiskuität wird im Allgemeinen davon ausgegangen, dass die psychedelische Wirkung von sHGs primär auf die Aktivierung von 5-HT_{2A}-Rezeptoren zurückzuführen ist (Nichols, 2004; Nichols, 2016). Ausschlaggebend für diese Einschätzung waren zunächst die Befunde, dass (1) die psychedelischen und diskriminativen Potenzen diverser sHGs mit ihrer Affinität zu 5-HT₂-Bindungsstellen korrelieren (Glennon et al., 1984; Sadzot et al., 1989); und dass (2) die Potenzen diverser Antagonisten für die Blockade der sHG-vs.-Kochsalzlösung-Diskrimination ebenso in enger Beziehung zu deren 5-HT_{2A}-, nicht jedoch 5-HT_{2C}-Affinität stehen (Fiorella et al., 1995). Obwohl die 5-HT_{2A}-Hypothese vornehmlich auf diese und vergleichbare tierexperimentelle (teils Verhaltens-, teils biochemische, teils elektrophysiologische) Studien stützt, erfährt sie ihr wohl überzeugendstes Argument darin, dass die psychedelische Humanwirkung der sHGs LSD und Psilocybin nahezu vollständig durch den 5-HT_{2A}-Antagonisten Ketanserin blockiert wird (Vollenweider et al., 1998; Kometer et al., 2012; Preller et al., 2017). Auch die subjektiven Effekte des DMT-haltigen Ayahuascas erweisen sich als Ketanserin-empfindlich (Valle et al., 2016). LSD und DMT wirken als partielle Agonisten am 5-HT_{2A}-Rezeptor (Braden & Nichols, 2007) und können, so zumindest für LSD gezeigt, hier verschiedene dem Rezeptor unterstellte Signalkaskaden anstoßen (Kurrasch-Orbaugh et al., 2003; Parrish & Nichols, 2006).

1.1.4.2 Neurophysiologische Grundlage der sHG-induzierten 5-HT_{2A}-Glutamat-Interaktion an kortikalen LVPCs

Obwohl das Gesamtspektrum der Wirkung von sHGs unwahrscheinlich einem einzigen Hirnareal zuzuordnen ist, wird ätiologisch vor allem den 5-HT_{2A}-Rezeptoren des (frontalen) Kortex eine große Bedeutung zugeschrieben. 5-HT_{2A}-Rezeptoren werden in vielen Arealen des Gehirns sowie auch in der Peripherie exprimiert (Regard et al., 2008). Ihre höchste Expression finden sie jedoch im Kortex, wobei beim Nager ein starker *Anterior-Posterior*-Gradient mit nach frontal zunehmender Expression zu beobachten ist (Andrade & Weber, 2010). Die psychedelische Wirkung des sHG *Psilocybin* korreliert mit dessen Fähigkeit, 5-HT_{2A}-Rezeptoren

im medialen präfrontalen und anterioren zingulären Kortex zu besetzen (Quednow et al., 2010). In Untersuchungen beim Menschen, bei denen Einzelphotonen-Emissionscomputer- und Positronen-Emissionstomographie (SPECT bzw. PET) zum Einsatz kamen, konnte ferner gezeigt werden, dass Psilocybin (Vollenweider et al., 1997; Gouzoulis-Mayfrank et al., 1999), Meskalin (Hermlle et al., 1992) sowie das DMT-haltige Ayahuasca (Riba et al., 2006) den Blutfluss und/oder Glukose-Umsatz im frontalen Kortex (FC) erhöhen und dass dieser als *metabolische Hyperfrontalität* bezeichnete Effekt in Beziehung zur deren Wirkung auf die Psyche steht. Obwohl jüngere Befunde um Psilocybin und Ayahuasca, die auf funktioneller Magnetresonanztomographie (fMRT) beruhen, in gegenteilige Richtung weisen, also eine Reduktion von Blutfluss und/oder venöser Blutoxygenierung im Kortex auffinden, scheint auch hier besonders (fronto-)kortikalen Arealen eine wichtige Rolle beim Zustandekommen der psychedelischen Wirkung zuzukommen (Carhart-Harris et al., 2012; Palhano-Fontes et al., 2015). Da die Widersprüchlichkeit um die Richtung der sHG-induzierten Blutflussauslenkung im Kortex bisher nicht vollends aufgeklärt werden konnte und diese vermutlich durch die unmittelbare Interaktion von sHG mit dem Gefäßsystem konfundiert ist (Spain et al., 2015), wird in der gegenwärtigen Humanforschung zunehmend auf direkte Messungen neuronaler Aktivität (zum Beispiel durch Magnetenzephalographie) sowie auf dynamischere fMRT-Parameter wie Areal-übergreifende Konnektivitätsanalysen gesetzt. Dabei zeigt sich, dass spontane Schwankungen der Blutoxygenierung, die im (frontalen) Kortex auftreten, unter LSD stärker mit jenen des übrigen Gehirns korreliert sind (Tagliazucchi et al., 2016) und dass LSD sowie Ayahuasca kortikale Alpha-Oszillationen (8 bis 15 Hz) schwächen. Letztgenannter Effekt steht in Zusammenhang mit den sHG-typischen visuellen Veränderungen und involviert, so für Ayahuasca demonstriert, die Aktivierung von 5-HT_{2A}-Rezeptoren (Carhart-Harris et al., 2016b; Valle et al., 2016). Innerhalb des Kortex werden 5-HT_{2A}-Rezeptoren vor allem durch Pyramidenzellen der Schicht 5 (*Layer 5 Pyramidal Cells* [LVPCs]) exprimiert, wobei bevorzugt deren apikale Dendriten besiedelt sind (Andrade & Weber, 2010). In elektrophysiologischen *Slice*-Präparationen des FC der Ratte verstärken sHG (einschließlich LSD und DMT) exzitatorische postsynaptische Ströme (EPSCs), die LVPCs spontan oder in Reaktion auf elektrische Reizung des umliegenden Hirngewebes zeigen (Aghajanian & Marek, 1999; Ly et al., 2018). Die elektrisch evozierten EPSCs, wie in Abbildung 2 veranschaulicht, werden über postsynaptische Aminomethyl-Phosphonsäure-(AMPA-)Rezeptoren vermittelt, und können über Aktivierung von metabotropen Glutamat-Typ-2/3-(mGlu_{2/3}-)Rezeptoren – welche präsynaptisch mit der Freisetzung von Glutamat interferieren – funktionell antagoni-

siert werden. Ausgangspunkt für den Effekt von sHG auf EPSCs sind postsynaptische 5-HT_{2A}-Rezeptoren, asynchrone Freisetzung und Überschwappen (*Spillover*) von Glutamat in extrasynaptische Bereiche sowie anschließende Aktivierung von extrasynaptischen NR2B-Untereinheit-haltigen Rezeptoren vom Typ N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) (Aghajanian, 2009). Der genaue Mechanismus, der es postsynaptischer sHG-5-HT_{2A}-Interaktion an den apikalen Dendriten der LVPCs ermöglicht, Glutamat-Freisetzung aus präsynaptischen Axoterminalen hervorzurufen, bleibt kontrovers; diskutiert werden (a) Depolarisierung rekurrent verbundener LVPCs sowie (b) Freisetzung exzitatorischer, retrograder *Messenger* (Abb. 2).

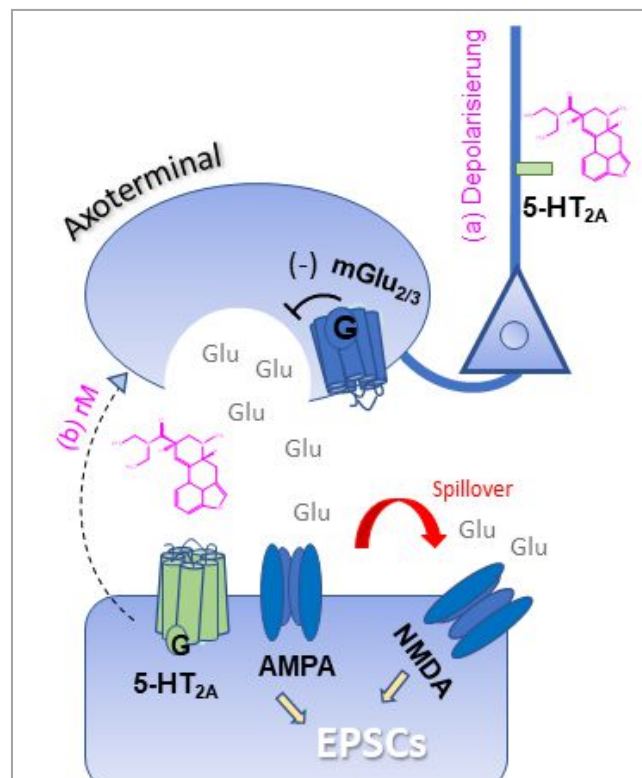


Abbildung 2: Elektrophysiologisches Modell zur 5-HT_{2A}-vermittelten Wirkung serotonerger Halluzinogene (hier dargestellt für LSD) auf Layer 5 Pyramidenzellen (LVPCs) des präfrontalen Kortex. EPSCs: Exzitatorische postsynaptische Ströme; Glu: Glutamat; rM: Retrograder Messenger. Schematische Darstellung (eigen).

Das elektrophysiologische Modell zur Bahnung kortikaler LVPC-Aktivität durch 5-HT_{2A}-Glutamat-Wechselwirkung ist das bis heute am umfangreichsten elabourierte Modell zur Wirkung von sHG und wird daher oft als Grundlage herangezogen, um die weiter oben skizzierten Effekte von sHG auf den humanen Kortex zu erklären. So wird beispielsweise vermutet, dass der erhöhte Glukose-Umsatz im FC der sHG-induzierten Übererregbarkeit der LVPCs Rechnung trägt (Geyer & Vollenweider, 2008) und dass die Schwächung der kortikalen Alpha-Oszillationen in der damit einhergehenden LVPC-Desynchronisierung begründet ist (Muthukumaraswamy et al., 2013). Auch das Auftreten des obengenannten *Shaking Behaviour* (SB) bei Nagern (s. Abschn. 1.1.3) wird oft vor dem Hintergrund elektrophysiologischer Aktivität im FC erklärt. SB kann beispielsweise durch lokale sHG-Injektion in den FC hervorgerufen (Willins & Meltzer, 1997) und durch lokale Restauration der kortikalen 5-HT_{2A}-Expression in 5-HT_{2A}-*Knockout*-Mäusen wiederhergestellt werden (González-Maeso et al., 2007). Zudem zeigt sich SB – ähnlich der im elektrophysiologischen Modell beschriebenen

halluzinogenen EPSC-Bahnung – empfindlich gegenüber pharmakologischer Manipulation glutamaterger AMPA- und mGlu_{2/3}-Transmission (rev. Wischhof & Koch, 2016; Marek, 2017).

1.2 Toleranz

1.2.1 Begriffsklärung und Mechanismen

Toleranz beschreibt das Phänomen, dass bei wiederholter Einnahme einer pharmakologisch aktiven Substanz deren Wirkung nachlässt und/oder eine Erhöhung der Dosis notwendig wird, um deren ursprüngliche Wirkung wiederherzustellen (Craft & Lustyk, 2013; McKim & Hancock, 2013). Toleranz war bereits im antiken Griechenland bekannt, so schreibt der griechische Philosoph und Naturforscher Theophrastos in seiner *Naturgeschichte der Gewächse* um 200 vor Christus beispielsweise: „Von allen Arznei- [sic] und Giftpflanzen werden die Wirkungen durch Gewohnheit schwächer; bisweilen werden sie dadurch ganz unwirksam“ (dt. Übersetzung: Sprengel, 1822; S. 348). Toleranz kann sich gegenüber missbräuchlich als auch gegenüber therapeutisch eingesetzten Substanzen, gegenüber psychotropen sowie peripher wirkenden Substanzen ausbilden. Toleranz gilt als ein Kriterium der Diagnose *Abhängigkeitssyndrom* (ICD10: F1x.2) (Dilling, 2011); psychische und körperliche Abhängigkeit, die sich in Form von Konsumdruck (*Craving*) bzw. Entzugssymptomatik bei Absetzen der Substanz manifestieren, sind jedoch nicht zwingend Begleiterscheinungen von Toleranz (Kopnisky & Hyman, 2002). Toleranz kann die Gesamtheit des Wirkspektrums einer Substanz erfassen, auf einzelne Wirkkomponenten beschränkt sein oder einzelne Wirkkomponenten unterschiedlich stark und unterschiedlich schnell untergraben (differentielle Toleranz). In der Regel entwickelt sich Toleranz – so die Substanz kontinuierlich eingenommen wird – über Tage und Wochen. Schneller eintretende Wirkungseinbußen werden als *Tachyphylaxie* oder *akute Toleranz* bezeichnet. Letztgenannte Begriffe werden häufig synonym verwendet (z.B. McKim & Hancock, 2013), sollen in der vorliegenden Arbeit jedoch differenziert verstanden werden. **Akute Toleranz** macht sich bereits im Verlauf der einmaligen Einnahme einer Substanz bemerkbar. Bei gleichem Blutspiegel werden die subjektiven Effekte von Ethanol zum Beispiel während der Absorptionsphase des Alkohols als intensiver erlebt als während der Eliminationsphase (z.B. Cromer et al., 2010). **Tachyphylaxie** (TACH) hingegen zeigt sich erst, wenn eine Substanz nach Einmalgabe innerhalb von 24 Stunden wiederholt appliziert

wird und ihre Wirkung bei der Wiederholungsapplikation vermindert ausfällt (Kalant & Khanna, 1990). Kokain wird beispielsweise beim sogenannten *Binge*-Konsum mehrfach hintereinander eingenommen, wobei die Wirkung der Ersteinnahme zwar verlängert wird, eine Verstärkung dergleichen jedoch nur dann eintritt, wenn bei den Folgeapplikationen eine Dosiserhöhung vorgenommen wird (Foltin et al., 2003). Toleranz ist generell ein reversibler Prozess und die Überschätzung der eigenen Toleranz nach Abstinenzphasen gilt unter anderem im Zusammenhang mit Opiaten als Risikofaktor für ungewollte Überdosierungen mit Todesfolge (Seaman et al., 1998; Fugelstad et al., 2003; Strang et al., 2003). Toleranz gegenüber einer Substanz kann auf andere Substanzen generalisieren, ein als **Kreuztoleranz** bezeichnetes Phänomen, wenn diese über dieselben Enzyme abgebaut werden und/oder den gleichen Wirkmechanismus haben (Khanna & Le, 1996). Obwohl eine Abnahme der Wirkung weit üblicher ist, gibt es bestimmte Wirkkomponenten von Substanzen, etwa die durch Psychostimulanzien hervorgerufene psychomotorische Erregung (Post, 1981), die bei wiederholter Applikation eher zu- als abnehmen. Sensitisierungsprozesse (auch als **reverse Toleranz** bezeichnet) sind nach Absetzen einer Substanz deutlich persistenter als Toleranz und es wird davon ausgegangen, dass dem Wechselspiel um Toleranz und Sensitisierung (mit einer Abnahme der belohnenden Effekte [*Liking*] auf der einen und einer Zunahme des motivationalen Konsumdrucks [*Wanting*] auf der anderen Seite) eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung von Sucht zukommt (Robinson & Berridge, 1993; Robinson et al., 2013). In der allgemeinen Pharmakologie werden drei Grundprinzipien unterschieden, die der Ausbildung der Toleranz gegenüber einer Substanz zugrunde liegen können; diese betreffen die Pharmakokinetik einer Substanz, ihre Pharmakodynamik und/oder das Vermögen des Organismus, die Wirkung der Substanz zu antizipieren und durch Verhaltensanpassungen zu kompensieren (Stewart & Badiani, 1993; Craft & Lustyk, 2013; McKim & Hancock, 2013). **Pharmakokinetische Toleranz** entsteht, wenn bei gleichbleibender Dosis infolge veränderter Gewebsverteilung und/oder erhöhten Abbaus die Konzentration einer Substanz am Wirkort (etwa im synaptischen Spalt) vermindert ausfällt (Lê & Khanna, 1989). Nikotin beispielsweise erhöht die zentralnervöse Expression des Nikotin-abbauenden Enzyms Zytochrom P450 2B1, wenn es wiederholt appliziert wird (Miksys et al., 2000). Auch Toleranz gegenüber dem Hypnotikum Amobarbital wird mitunter vor dem Hintergrund eines beschleunigten Abbaus diskutiert (Misra et al., 1974). **Pharmakodynamische Toleranz** bezieht sich hingegen auf homöostatische Adaptationen, die sich am Wirkort einer Substanz ereignen und das Ansprechen des Zielgewebes (etwas des Gehirns) auf diese reduzieren. Da die meisten psychoaktiven

Substanzen ihre Wirkung auf das Gehirn über Transmembran-Rezeptoren entfalten, spielen hier (wie im Folgeabschnitt eingehender besprochen) vor allem molekularbiologische Prozesse der Rezeptor-Regulation eine Rolle (Sim-Selley, 2003; Williams et al., 2013). Neben den beiden obengenannten rein pharmakologischen Prinzipien der Toleranzentwicklung können auch psychologische und Verhaltensanpassungen, die auf wiederholten Lernerfahrungen mit einer Substanz beruhen, zur Abnahme der Substanzwirkung führen. **Behaviorale Toleranz**, wie diese durch Lernen begründete dritte Form der Toleranz oftmals bezeichnet wird, kann sowohl durch klassische als auch durch operante Konditionierung erworben werden. Werden Opioide zum Beispiel stets in einem bestimmten umweltlichen Kontext appliziert, wird die sich ausbildende Opioid-Toleranz zu einem gewissen Grad klassisch auf diesen Kontext konditioniert. Erfolgt dann eine Applikation in einem neuen Kontext, fällt der konditionierte Toleranzanteil weg und es kann zu lebensgefährlichen Überdosen kommen (Siegel, 1983). Interferiert die Wirkung einer Substanz ferner mit der Fähigkeit des Organismus, eine positive Verstärkung zu erhalten, kann darüber hinaus – als Manifest operant konditionierter Toleranz – eine Verhaltensstrategie ausgebildet werden, die die interferierende Substanzwirkung anteilig auszuhebeln imstande ist (Schuster et al., 1966; Pinel et al., 1992).

1.2.2 Regulation von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) als Kernprinzip pharmakodynamischer Toleranz

Fast alle psychoaktiven Substanzen wirken auf das Gehirn, indem sie innerhalb des synaptischen Spalts direkt oder indirekt mit membranösen Rezeptor-Proteinen interagieren. LSD, THC (Tetrahydrocannabinol) und Morphin beispielsweise aktivieren spezifische 7-Transmembran-Rezeptoren, verändern deren Konformation, sodass innerhalb der α -Untereinheit der an die Rezeptoren gekoppelten G-Proteine (Guanosintriphosphat-[GTP]-bindende Proteine) ein Austausch von GDP (Guanosindiphosphat) gegen GTP stattfindet. Die α - und die $\beta\gamma$ -Untereinheiten des durch den GDP-gegen-GTP-Austausch aktivierten heterotrimeren G-Proteins können nun dissoziieren und die von LSD, THC bzw. Morphin übertragenen Signale in das Zellinnere transduzieren (Meyer & Quenzer, 2013). Bereits im Zuge der auf diese Weise initiierten Signaltransduktion setzen jedoch Vorgänge ein, die – unter dem Oberbegriff *Rezeptor-Regulation* subsummiert – dem zellulären Ansprechen auf die exogen zugeführten Substanzen entgegenwirken. Zu den für die Toleranzausbildung wichtigsten Prozessen der Rezeptor-Regulation gehören Desensibilisierung, Internalisierung und Herabregulation (Schöneberg, 2008). **Desensibilisierung** (auch Desensibilisierung genannt [DES]) bezieht

sich auf den Verlust der Signal- bzw. der Effektor-Kopplungskapazität des Rezeptors. Der prototypische GPCR, exemplifiziert durch den adrenergen Rezeptor β_2 (rev. Hislop & von Zastrow, 2005; Tanowitz & von Zastrow, 2010), aktiviert infolge der Agonist-induzierten Konformationsänderung nicht nur das an ihn gekoppelte G-Protein, sondern legt gleichsam Konsensus-Sequenzen frei, die es GPCR-Kinasen (GRKs) ermöglichen, die Struktur des Rezeptors durch Anheftung von Phosphatgruppen zu modifizieren (Phosphorylierung). Phosphorylierte Rezeptoren binden hochaffin an β -Arrestine, welche nun sterisch mit der Kopplung des Rezeptors an sein G-Protein interferieren und ihn in so seiner Signalkapazität entheben (Ferguson, 2001; Gainetdinov et al., 2004). DES wird oft als Synonym und/oder zelluläres Äquivalent der (pharmakodynamischen) Toleranz verstanden. Da sich Rezeptor-DES, wenn sie *in vitro* untersucht wird, häufig bereits innerhalb von Sekunden und Minuten nach Rezeptor-Aktivierung einstellt, Toleranz *in vivo* – abgesehen von ihrer akuten Verlaufsform – hingegen erst nach Tagen und Wochen, scheint eine konzeptuelle Trennung der beiden Begrifflichkeiten jedoch angebracht (Dang & Christie, 2012; Williams et al., 2013). **Internalisierung** (INT) beschreibt die Entfernung des Rezeptors aus der Membran durch Endozytose, Sequestrierung und Sortierung des Rezeptors über Endosome. Die mit der INT einhergehende Bewegung des Rezeptors innerhalb der Zelle wird als *Trafficking* bezeichnet. β -Arrestine, die an phosphorylierte Rezeptoren binden, entkoppeln diese nicht nur ihrer G-Proteine, sondern führen sie auch der Clathrin-abhängigen Endozytose-Maschinerie zu (rev. Tian et al., 2014). Die Bindung des GPCR-assoziierten β -Arrestins an Clathrin, welches seinerseits via Adapter-Protein 2 (AP2) an Membranlipide bindet, erlaubt die Lateralbewegung des GPCRs in Richtung Clathrin-beschichteter Membranvertiefungen (*Clathrin-Coated Pit*). Die GTPase *Dynamin* schnürt den Hals des sich aus der Vertiefung bildenden Vesikels, sodass letzteres – den GPCR enthaltend – ins Zytosol entlassen werden kann (rev. Hislop & von Zastrow, 2005; Tanowitz & von Zastrow, 2010). Die Phospholipase D (PLD), die zum Beispiel für die INT des μ -Opioid-Rezeptor von großer Bedeutung ist (Koch et al., 2003), soll bei diesem Prozess unter anderem AP2 rekrutieren und somit die Interaktion zwischen β -Arrestin und Clathrin ermöglichen (West et al., 1997). Das endozytotische Vesikel fusioniert im nächsten Schritt mit einem Membran-nahen Endosom (*Early Endosome*); da in diesem ein leicht saurer pH-Wert vorherrscht, können hier sowohl Agonist als auch β -Arrestin vom Rezeptor dissoziieren und diesen für eine Abspaltung der Phosphatgruppen durch Phosphatasen freigeben (Dephosphorylierung). Der dephosphorylierte Rezeptor rezykliert endosomal zurück zur Membran und kann dort von neuem für die Signaltransduktion bereitstehen (Resensibilisierung). Wird der

Rezeptor wiederholt rezykliert und/oder durch Anheftung von Ubiquitin-Proteinen markiert (Ubiquitylierung), kann er alternativ zum Rezyklisierungsendosom in ein multivesikulären Körper (*Late Endosome*) sortiert und anschließend lysosomal abgebaut werden (Gáborik & Hunyady, 2004; Hanyaloglu & Von Zastrow, 2008; Marchese et al., 2008). Letztgenannter Prozess führt zur Abnahme der absoluten Anzahl der der Zelle zur Signaltransduktion zur Verfügung stehenden Rezeptoren und wird als **Herabregulation** (*Downregulation* [HR]) bezeichnet. Ergänzt wird er mitunter durch eine Hemmung der Biosynthese des Rezeptors, welcher eine supprimierte Transkription des Rezeptor-kodierenden Gens und/oder eine Destabilisierung der transkribierten Rezeptor-mRNA (Boten-Ribonukleinsäure) zugrunde liegen kann (Grady et al., 1997; Tsao & von Zastrow, 2000). Da das *Steady-State* der Rezeptor-HR *in vitro* in der Regel eine längere Agonist-Exposition voraussetzt als jene der DES und INT (Connor et al., 2004; Williams et al., 2013), mögen letztere konzeptuell der akuten Toleranz und ersteres der TACH und/oder der (sub-)chronischen Toleranz näher erscheinen. Die Wechselwirkungen um die einzelnen Prozesse der Rezeptor-Regulation sind jedoch hoch dynamisch und eine trennscharf mechanistische Zuordnung nicht immer ohne Weiteres möglich.

1.2.3 Toleranz gegenüber LSD und DMT beim Menschen

Toleranz gegenüber der psychedelischen Wirkung von LSD wurde *in humano* – abgesehen von einer kürzlich publizierten Arbeit zur akuten Toleranz (Dolder et al., 2015) – ausschließlich in den 1950 und 60er Jahren untersucht. Der überwiegende Anteil der in dieser Zeit entstandenen Publikationen stammt von *Isbell* und Kollegen (Isbell et al., 1956; Isbell & Jasinski, 1969), welche LSD – wie jüngst in einem umfassenden *Review* von uns zusammengetragen (rev. Buchborn et al., 2016) – in der Regel einmal pro Tag in ansteigenden Dosen über ein bis zwei Wochen appliziert haben. Anhand zeitlich variierend gestalteter Applikationsschemata konnte dabei demonstriert werden, dass sich Toleranz gegenüber der psychedelischen Wirkung von LSD im *Prä-Post*-Vergleich nach vier, sieben bis acht, elf, sowie nach 13 bis 15 oder 22 Tagen täglicher LSD-Gabe einstellt. Im Durchschnitt kommt es dabei zu einem 78%igen Verlust des psychischen Ansprechens auf LSD (rev. Buchborn et al., 2016). In zwei weiteren Experimenten, die *Isbell* und Kollegen durchführten, um den Verlauf der Toleranzentwicklung gegenüber LSD herauszuarbeiten, wurde der psychedelische Effekt von LSD nicht nur vor und nach, sondern zusätzlich an den verschiedenen Tagen während der (sub-)chronischen LSD-Applikation quantifiziert. Hierbei zeigte sich, dass Toleranz – wenn LSD

täglich in durchschnittlichen Dosen um 130 µg appliziert wird – bereits nach 24 Stunden auftritt, nach zwei bis vier Tagen eine nahmaximale Ausprägung findet und anschließend (bei Weiterführung der täglichen Applikation über Tage und Wochen) selbst bei zwei- bis vierfacher Erhöhung der verabreichten Dosis relativ konstant bleibt (Isbell et al., 1956). Dass sich Toleranz gegenüber der psychedelischen Wirkung von LSD binnen weniger Tage nahmaximal ausbildet, gar 24 Stunden nach Einmalgabe bereits substantielle Ausmaße annimmt, wird durch Einzelfall- bzw. Anekdoten-ähnliche Befunde anderer Forschungsgruppen bestätigt (z.B. Cholden et al., 1955; Hoffer & Osmond, 1967) und rechtfertigt die Klassifikation der LSD-Toleranz im Sinne einer TACH. Toleranz gegenüber LSD – rigoros scheinbar im Kommen wie im Gehen – verschwindet bei Absetzen der Substanz innerhalb einer Woche, Entzugserscheinungen sind selbst nach dreimonatiger Dauerverabreichung nicht beobachtet worden (rev. Buchborn et al., 2016). Toleranz gegenüber psychedelischer Bewusstseinsauslenkung, wenn auch weit lückenhafter untersucht, konnte in ähnlicher Weise auch für andere sHG dokumentiert werden (Isbell et al., 1961; Wolbach et al., 1962; Angrist et al., 1974). Die einzig bisher bekannte Ausnahme der Regel stellt DMT dar, dessen psychedelische Wirkung sich selbst dann unvermindert zeigt, wenn das sHG zwei- bis viermal pro Tag oder zweimal pro Tag über fünf Tage appliziert wird (Gillin et al., 1976; Gillin et al., 1978; Strassman et al., 1996).

1.2.3.1 Mechanismus der Toleranz gegenüber serotonergen Halluzinogenen (sHG)

Der Mechanismus der Toleranz gegenüber sHG ist weitgehend unbekannt (rev. Buchborn et al., 2016). Tierversuche lassen vermuten, dass Toleranz gegenüber LSD ohne Adaptationen der Konzentration des sHG in Leber, Plasma oder Gehirn auftritt, erhöhter LSD-Metabolismus also keine mechanistische Rolle zu spielen scheint (Winter, 1971; Trulson & Jacobs, 1977). Kompensatorische Verhaltensadaptationen im Sinne behavioraler Toleranz können zur Toleranzentwicklung gegenüber LSD beitragen, wenn die Wirkung des sHG mit der Kapazität des Tiers interferiert, eine operante Verhaltensverstärkung zu erlangen (Murray et al., 1977; Commissaris et al., 1980). Jenseits eines solchen Szenarios operanter Konditionierung wird jedoch im Allgemeinen davon ausgegangen, dass es vor allem pharmakodynamische Adaptationen sind, die der Toleranz gegenüber sHG zugrunde liegen (Nichols, 2004; Buchborn et al., 2016; Nichols, 2016). Die Annahme pharmakodynamisch begründeter Toleranz fußt dabei vornehmlich auf der Beobachtung, dass die wiederholte Applikation von sHG (einschließlich

LSD, Psilocybin, DOB und DOI [4-Bromo-2,5 bzw. 4-Iodo-2,5-dimethoxy-amphetamin]) beim Tier zu einer HR von kortikalen 5-HT_{2A}-Bindungsstellen führt (Buckholtz et al., 1988; McKenna et al., 1989; Buckholtz et al., 1990). Leider gibt es nahezu keine Publikationen, in denen neben Rezeptor-regulatorischen auch Verhaltensadaptationen untersucht wurden, sodass der Zusammenhang zwischen Toleranz und 5-HT_{2A}-HR für die meisten sHG_s hoch spekulativ bleibt. Für LSD beispielsweise gibt es lediglich eine Arbeit, in der zerebrale 5-HT_{2A}-Regulation und Verhaltenstoleranz parallel untersucht wurden. Dass in dieser Arbeit Diskrimination als Verhaltensparadigma herangezogen wurde (Gresch et al., 2005), welches *a priori* ein mehrwöchiges LSD-vs.-Kochsalzlösung-Diskriminationstraining erforderlich macht (die Tiere bei Beginn des eigentlichen Toleranz-Experimentes also nicht mehr LSD-naiv sind), macht die Interpretation der Ergebnisse jedoch schwierig. Auch warum DMT anders als andere sHG_s keine Toleranz hervorruft, und inwiefern dies mit Prozessen differentieller 5-HT_{2A}-Regulation zusammenhängt, ist bis dato nahezu unerforscht.

1.3 Überblick, Ziele und Untersuchungsfragen

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass LSD und DMT serotonerge Halluzinogene (sHG_s) sind, deren psychedelische Wirkung auf Aktivierung von 5-HT_{2A}-Rezeptoren beruht. 5-HT_{2A}-Rezeptoren werden in hoher Dichte von LVPCs des frontalen Kortex (FC) exprimiert. Eine Übererregbarkeit dieser glutamatergen Zellgruppe und die daraus resultierende glutamaterge Hypertransmission gilt als Schlüsselprinzip halluzinogener Psychoaktivität. Bei wiederholter Einnahme verlieren sHG_s, so vor allem für LSD gezeigt, ihre Wirkung auf den Menschen. Der Mechanismus dieses als Toleranz bezeichneten Wirkungsverlustes ist jedoch weitgehend unbekannt. Im vorliegenden Projekt geht es daher um die Regulation des 5-HT_{2A}-Rezeptors als mögliche pharmakodynamische Grundlage der Toleranz gegenüber sHG_s. Toleranz wird in Ratten auf vegetativer und Verhaltensebene, 5-HT_{2A}-Regulation auf molekularbiologischer Ebene in Hirn-Homogenaten von Ratten sowie in nativ bzw. heterolog 5-HT_{2A}-exprimierenden Zellsystemen untersucht.

Im ersten Schritt soll gezeigt werden, **(1)** ob Ratten tolerant gegenüber sHG-induziertem *Shaking Behaviour* (SB) werden, und wenn ja, ob Toleranz mit Reduktion der frontokortikalen 5-HT_{2A}-Bindungskapazität und/oder mit frontokortikaler 5-HT_{2A}-Desensitisierung (DES) einhergeht. Da SB, ähnlich wie für die halluzinogene Humanwirkung postuliert, auf 5-HT_{2A}-nachgeschaltete, mGlu_{2/3}-sensitive hyperglutamaterge Transmission im FC zurückgehen soll,

werden im nämlichen Areal neben 5-HT_{2A}- auch Glutamat-Bindungsstellen und mGlu_{2/3}-Transduktion auf Regulation hin überprüft. Eingesetzt werden LSD und das 5-HT₂-selektive sHG DOB. Im zweiten Schritt soll gezeigt werden, **(2)** ob Ratten Toleranz gegenüber sHG-induzierter Hyperthermie (HYPER) entwickeln, und wenn ja, ob diese von einer DES von 5-HT_{2(A)}-Rezeptoren im FC, Hypothalamus, Hirnstamm und/oder Rückenmark begleitet ist. Eingesetzt werden LSD und DMT, und es wird davon ausgegangen, dass sich beide sHGs – ähnlich wie für ihre Psychoaktivität beim Menschen demonstriert – hinsichtlich der Toleranzentwicklung unterscheiden. Differentielle Toleranzentwicklung sollte durch differentielle 5-HT_{2(A)}-DES im Gehirn der Tiere widergespiegelt werden. Im letzten Schritt soll innerhalb von 5-HT_{2A}-transfizierten oder nativ-exprimierenden HEK295- bzw. C6-Gliomazellen überprüft werden, **(3)** ob sHGs membranöse 5-HT_{2A}-Rezeptoren internalisieren; die für die INT von GPCRs bedeutsame PLD aktivieren; und/oder die Biosynthese von 5-HT_{2A}-Rezeptoren hemmen. Eingesetzt werden LSD, DMT und die selektiven 5-HT₂-Agonisten DOI bzw. DOB. Wenn genannte Prozesse der 5-HT_{2A}-Regulation eine Rolle beim Zustandekommen von Toleranz gegenüber sHGs spielen, sollte sich DMT auch hier von den anderen sHGs unterscheiden.

2 Tiere, Material und Methoden

2.1 Tiere und Material

2.1.1 Tiere

Alle Tierversuche wurden mit jung-adulten bis adulten (Ø 13.5 Wochen), männlichen Sprague-Dawley-Ratten (SpD; SD/MolTac) durchgeführt, die bei Versuchsbeginn durchschnittlich 420 g wogen. Die Ratten wurden unter kontrollierten Bedingungen (20±2 °C Raumtemperatur [RT]), 55 bis 60 % relative Luftfeuchtigkeit) in Gruppen zu je fünf bis sechs Tieren in mit Streu ausgelegten Makrolon-Käfigen (Typ IV, L55 × B32 × H20 cm) gehalten. Sie unterlagen einem 12-Stunden-Hell-Dunkel-Rhythmus (mit Hell-Phasen zwischen 6 und 18 Uhr) mit freiem Zugang zu Standardfutter-*Pellets* und Wasser. Tierhaltung und Versuchsdurchführung erfolgten unter Einhaltung der Bestimmungen des Deutschen Tierschutzgesetzes und wurden von der Tierschutzkommission des Landes *Sachsen-Anhalt* genehmigt (42502-2-1046 UniMD).

2.1.2 Material

Verkehr der eingesetzten Betäubungsmittel erfolgte unter Genehmigung durch das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BtM-Nr. 4241195, Bundesopiumstelle; Bonn, BRD).

Tabelle 2: Übersicht der eingesetzten Materialien und Geräte

Anwendung	Produkt	Hersteller/Vertrieb
Allgemein	(±)-(R/S)-DOB	THC Pharm GmbH; Frankfurt a.M., BRD
	(±)-(R/S)-DOI	
	5-HT	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	DMT	THC Pharm GmbH; Frankfurt a.M., BRD
	GraphPad Prism Software	GraphPad; San Diego, USA
	HA-h5-HT _{2A} -pcDNA3 Plasmid	Dr. Rory Mitchell; Universität von Edinburgh, UK
	ImageJ-Software	NIH; Maryland, USA
	Ketanserin	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	LSD	THC Pharm GmbH; Frankfurt a.M., BRD
	MDL100907	ABX Advanced Biochemical Compounds; Radeberg, BRD
	Methysergid	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	Phorbol-myristat-acetat	
	Quipazin	Biozol; Eching, BRD
	Ritanserin	
	Schüttler, Unimax 2010	Heidolph Instruments GmbH; Schwabach, BRD
	SPSS Software	IBM Corporation; New York, USA
	Thermocycler 60	Bachofer GmbH Laboratoriumsgeräte; Reutlingen, BRD
	Tris-Base	Roth; Karlsruhe, BRD
	Zentrifuge, Allegra 2IR	Beckman Coulter GmbH; Krefeld, BRD
	Tierversuche	Digitales Thermometer + Eintauchfühler
Sprague-Dawley Ratten		Taconic Biosciences; Skensved, Dänemark
SM/R/N-H Futter-Pellets (10 mm)		Ssniff-Spezialdiäten GmbH; Soest, BRD
Zellkultur	Ampicillin	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	C6-Zellen	DZNE; Magdeburg, BRD
	DMEM (Medium)	Lonza; Basel, Schweiz
	FKS	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	Geneticin	ThermoFischer Scientific; Schwerte, BRD
	HEK293-Zellen	Dt. Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH; Braunschweig, BRD
	Kulturflaschen und -Schalen	Greiner Bio-One GmbH; Frickenhausen, BRD

	Lipofectamine-2000	ThermoFischer Scientific; Schwerte, BRD
	Nucleobond-Xtra-Midi-EF Kit	Macherey-Nagel GmbH; Düren; BRD
	Penicillin/Streptomycin	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	Ultra-Glutamin	Lonza; Basel, Schweiz
	UltraMEM Medium	
SDS-PAGE und <i>Western Blot</i>	β -Aktin, Maus-IgG (Primär-AK)	Cell Signaling Technology; Frankfurt a.M., BRD
	ECL (Prime) Detektionsreagenz und Hyperfilm	ThermoFischer Scientific; Schwerte, BRD
	Elektrophorese Spannungsquelle, EPS 3500	Amersham Pharmacia Biotech; Freiburg, BRD
	Foto-Entwickler und -Fixierer	Kodak; Stuttgart, BRD
	Lumineszenz-Detektor, Odyssey Fc	LI-COR Biosciences GmbH; Bad Homburg, BRD
	Multiphor II Novablot	Amersham Pharmacia Biotech; Freiburg, BRD
	Phospho-p44/42-MAPK, Maus IgG (Primär-AK)	Cell Signaling Technology; Frankfurt a.M., BRD
	Protein-Standards, Precision Plus, all blue	Bio-Rad Laboratories GmbH; Düsseldorf, BRD
	γ 5-HT _{2A} , Kaninchen-IgG (Primär-AK)	Neuromics; Minnesota, USA
	Rotiphorese Gel 30	Roth; Karlsruhe, BRD
	Ultraschallbad, HR 30/1	VEB Elektromat; Dresden, BRD
	Vertikal-Elektrophorese, Mini-PROTEAN Tetra Cell	Bio-Rad Laboratories GmbH; Düsseldorf, BRD
	Ziegen-Anti-Kaninchen-IgG, HRP (Sekundär-AK)	Santa Cruz Biotechnology; Heidelberg, BRD
	Ziegen-Anti-Maus-IgG, HRP (Sekundär-AK)	
Immunzytochemie und Konfokal-Mikroskopie	DPX-Einschlussmittel	Fluka-Feinchemikalien, GmbH; Neu-Ulm, BRD
	HA-Tag Primär-AK, Kaninchen-Serum	Gramsch Laboratories; Schwabhausen, BRD
	Inverses Mikroskop, DM IRBE	Leica Microsystems GmbH; Wetzlar, BRD
	Poly-L-Lysin	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	Roti-Histol	Roth; Karlsruhe, BRD
	Staurosporin	Roche Diagnostics GmbH; Mannheim, BRD
	Sucrose	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	Transferrin, Alexa 488	ThermoFischer Scientific; Schwerte, BRD
	Esel-Anti-Kaninchen-IgG, Cy3 (Sekundär-AK)	Dianova; Hamburg, BRD
Radioassay zur Transphos-	[^{1,2,3-3} H]Glyzerol	American Radiolabeled Chemicals; St. Louis, USA

phatidylierung	DC-Fertigschichten, Kieselgel	Roth; Karlsruhe, BRD
	L- α -Lyso-Phosphatidylcholin	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
	L- α -Phosphatidylcholin	
	Phosphatidyl-Ethanol	Enzo Life Sciences; Lörrach, BRD
	Phosphatidsäure Natriumsalz	Merck KGaA; Darmstadt, BRD
RNA-Extraktion und PCR	Glaskapillare, 20 μ l	Roche Diagnostics GmbH; Mannheim, BRD
	LightCycler 2.0	Roche Diagnostics GmbH; Mannheim, BRD
	NucleoSpin RNA II	Macherey-Nagel GmbH; Düren, BRD
	Oligonukleotide (Gen-spezifisch)	Metabion; Planegg, BRD
	Reverse Transkriptase (M-MLV), RNase-H Minus-Punktmutant	Promega GmbH; Mannheim, BRD
	Spektrophotometer, GeneQuant Pro	Amersham Pharmacia Biotech; Freiburg, BRD
	SYBR Green I, FastStart DNA Master	Roche Diagnostics GmbH; Mannheim, BRD
Messung zu Radioligand-Bindungs-kapazität	[³ H]Glutamat	PerkinElmer Life Sciences; Rodgau-Jügesheim, BRD
	[³ H]Spiroperidol	
	Cell Harvester, Inotech	Berthold Technologies GmbH; Bad Wildbad, BRD
	Homogenisierer, Potter S	B. Braun Biotech international; Göttingen, BRD
	LSC-Universalcocktail, Rotiszint eco plus	Roth; Karlsruhe, BRD
	LY354740	Biozol; Eching, BRD
	Zentrifuge, Super-Speed J2-MC	Beckman Coulter GmbH; Krefeld, BRD
	Spektrometer, ACTA M-VI Szintillationszähler, LS6500	

2.2 Tierexperimentelle Methoden

2.2.1 Serotonerge Halluzinogene (δ HGs) und 5-HT_{2A}-Antagonisten

LSD, DOB, Ketanserin und MDL100907 wurden in isotonischer Kochsalzlösung (0.9 (w/v) % Natriumchlorid [NaCl]; Tab. 3) gelöst. Die Lösung von DMT erfolgte unter leichter Ansäuerung und anschließender pH-Retitrierung mit verdünnter Natronlauge (Vgl. File, 1977; Sitaram et al., 1987). Alle Substanzen wurden intraperitoneal appliziert (10 ml/kg, i.p.). Die

eingesetzten LSD- und DOB-Dosen wurden aufgrund von Dosis-Wirkungsbeziehungen für das Auftreten von *Shaking Behaviour* (SB) ermittelt. Für das SB-inaktive DMT wurden 6.0 mg/kg eingesetzt, da SpD-Ratten DMT in dieser Dosis zuverlässig als 5-HT_{2(A)}-spezifischen diskriminativen Hinweisreiz erkennen (Glennon et al., 1983a; Smith et al., 1998). Basierend auf Befunden zum Antagonismus von 5-HT_{2A}-spezifischen Effekten (einschließlich SB, Hyperthermie [HYPER] oder Präpuls-Inhibition) wurden Ketanserin (Glennon et al., 1983b; Mazzola-Pomietto et al., 1995) und MDL100907 (Ouagazzal et al., 2001; Herin et al., 2005) in Dosen zwischen 0.5 bis 1.0 mg/kg eingesetzt; Behandlung erfolgte 30 Minuten vor sHG-Injektion. Die Kontrolltiere erhielten reine Kochsalzlösung.

Tabelle 3: Lösungen für Tierversuche

Kochsalzlösung (0.9 (w/v) %)	154 mM NaCl
---------------------------------	-------------

2.2.2 *Shaking Behaviour* (SB), Tachyphylaxie (TACH) und Toleranz

SB wurde als ruckartiges Schütteln des Kopfes mit oder ohne Beteiligung des Rumpfes (*Head Twitches* [HTs] vs. *Wet Dog Shakes* [WDS]) entlang der Körperlängsachse definiert (s. Abb. 3) (Handley & Singh, 1986). Für die Beobachtung des SB wurden die Ratten einzeln oder in Gruppen von zwei bis drei Wurfgeschwistern in Acrylzyclindern (Ø 19 × H23 cm) bzw. Plexiglastische platziert (L36 × B20 × H38 cm). Das Auftreten von SB wurde über 30 Minuten in direkter Folge an die Applikation des jeweiligen serotonergen Halluzinogens (sHG) (0.01 bis 0.5 mg/kg LSD bzw. 0.005 bis 2.0 mg/kg DOB, i.p.) gezählt, für das einzelne Tier summiert und gruppenweise aufgemittelt. Die Beobachtung erfolgte *live* und wurde stichprobenartig über digitale Videoaufnahmen *geblindet* validiert. Um Fellpflege-motiviertes SB zu minimieren, wurde keine Streu in den Beobachtungszylindern/-käfigen ausgelegt. Toleranz gegenüber LSD- und DOB-induziertem SB wurde jeweils morgendlich quantifiziert und über vier Tage in unabhängigen Tiergruppen unter folgenden Applikationsschemata untersucht: **(1)** Einmal-Pro-Tag-Applikation von LSD bzw. DOB (0.025 bzw. 0.25 mg/kg, morgens); **(2)** Zweimal-Pro-Tag-Applikation von LSD mit 12-stündigem Interstimulus-Intervall (ISI) (0.025 mg/kg, morgens und abends); **(3)** Zweimal-Pro-Tag-Applikation von LSD bzw. DOB mit 12-stündigem ISI (0.025 bzw. 0.25 mg/kg morgens und 0.25 mg/kg bzw. 0.75 mg/kg abends); **(4)** Zweimal-Pro-Tag-Applikation von LSD mit 12-stündigem ISI (0.025 mg/kg morgens und

0.25 mg/kg abends), wobei die Ratten den viertägigen Versuchsablauf zur Gewöhnung an *Handling*, Injektion und Nicht-Heim-Käfige vorab unter Kontroll-(Kochsalz-)Bedingungen durchliefen. Letzteres diente zur Überprüfung der Hypothese, dass die über die vier Experimentaltage eintretende Toleranz gegebenenfalls Elemente kontextueller Habituation enthält. Für LSD-induziertes SB wurde in einem weiteren Schema (5) zudem auf etwaige Entwicklung von TACH geprüft, wobei das sHG an einem Tag zweimal in vier-, acht- oder 24-stündigem Intervall appliziert wurde.

2.2.3 Körperkerntemperatur (T_c), Hypersalivation und Toleranz

Die T_c der Ratten wurde mittels eines digitalen Thermometers unter Einführung (~4 cm) eines Vaseline-getauchten Thermofühlers in das Rektum der Tiere erfasst. Die Messungen wurden bei normaler, erhöhter oder verminderter Raumtemperatur (RT: 22, 33 bzw. 11 °C) in den Heim-Käfigen durchgeführt. Die bei erhöhter RT stattfindenden Messungen erfolgten in Wärme-akklimatisierten Ratten. Die Tiere wurden in der Regel vor Applikation des jeweiligen sHG (LSD: 0.025 mg/kg; DOB: 0.25 mg/kg; DMT: 6.0 mg/kg) sowie *post-injectionem* einmalig nach 30 Minuten oder über eine Stunde in zehn- oder 20-minütigen Intervallen Temperatur-gemessen. Die (durchschnittlichen) *Post-Treatment*-Werte der einzelnen Tiere wurden gruppenweise aufgemittelt und mit dem entsprechenden Gruppenmittel der Vorabmessung verglichen. Alternativ wurden die einzelnen *Post-Treatment*-Messungen in einer Verlaufskurve abgetragen und mit jener einer Kochsalz-behandelten Kontrollgruppe verglichen. Die bei den Versuchen unter erhöhter RT zu beobachtende profuse Speichel-Externalisierung (Hypersalivation) mit einhergehender Rotfärbung der unterliegenden Haut (Abb. 3) wurde anhand einer dreistufigen Skala (1=leicht; 2=mittel; 3=stark) bewertet oder binär als vorhanden vs. nicht-vorhanden in Prozent der Beobachtungszeit angegeben und gruppenweise aufgemittelt. Um Interferenz durch Trinken-bedingte Benässung/Kühlung auszuschließen, wurden die Wasserflaschen hier für die Dauer der *Post*-Messungen entfernt. Toleranz gegenüber LSD- und/oder DMT-induzierter Hyperthermie (HYPER) wurde jeweils morgendlich quantifiziert und über vier Tage in unabhängigen Tiergruppen unter folgenden Applikationsschemata untersucht: (1) Zweimal-Pro-Tag-Applikation von LSD mit 12-stündigem Interstimulus-Intervall (ISI) (0.025 mg/kg morgens und 0.25 mg/kg abends); (2) Zweimal-Pro-Tag-Applikation von LSD bzw. DMT mit 12-stündigem ISI (an den Tagen 1 und 4 morgens 0.025 mg/kg [LSD] bzw. 6.0 mg/kg [DMT]; an den Tagen 2 und 3 morgens

0.25 mg/kg [LSD] bzw. 20 mg/kg [DMT]; sowie 0.25 mg/kg [LSD] bzw. 20 mg/kg [DMT] abends an den Tagen 1 bis 3). Bei letztgenanntem Applikationsschema wurden die Ratten nur an Tag 1 und 4 der erhöhten RT ausgesetzt und Temperatur-gemessen. Bei der Festlegung der höheren DMT-Dose wurde dessen relativ zu LSD geringere therapeutische Breite berücksichtigt. Hintergrund hierfür ist, dass der Abstand der Dosis, welche von Ratten im operanten Zwei-Hebelparadigma als 5-HT_{2(A)}-spezifisch erkannt wird, und der Dosis, die ein Serotonin-syndrom auslöst, für DMT deutlich geringer ist als für LSD (Glennon et al., 1983a; Lucki, 1990).

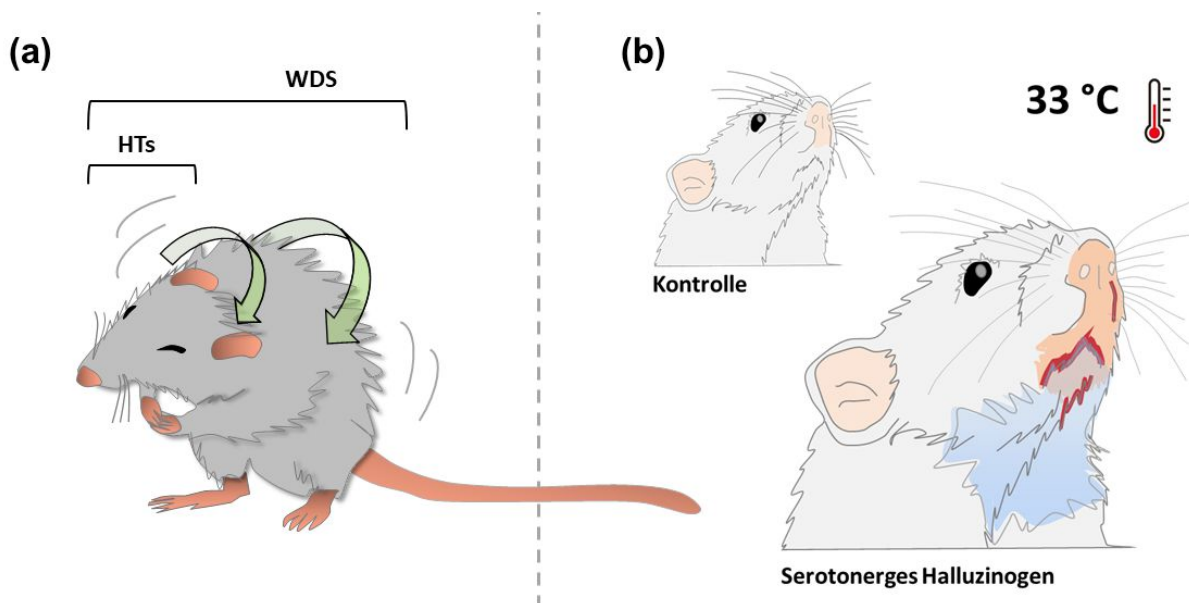


Abbildung 3: *Shaking Behaviour* und Temperatur-bedingte Hypersalivation. **(a)** *Head Twitches* (HTs) involvieren ausschließlich Kopf und Hals, *Wet Dog Shakes* (WDS) erstrecken sich darüber hinaus über Schultern und Rumpf. Pfeile deuten den Verlauf bzw. die Richtung der Bewegung an. **(b)** Lateralan-sicht eines Rattenkopfes. Infolge der Behandlung mit serotonergen Halluzinogenen bei erhöhter Raumtemperatur kommt es zur Ausdehnung und Intensivierung der *Schnauzen-Röte* sowie zur Bildung eines Speichelfilmes im Halsbereich (blaue Schraffierung). Schematische Darstellung (eigen).

2.3 Molekularbiologische Methoden in Zellkulturen

2.3.1 Zellkultur: Humane embryonale Nieren- und C6-Gliomazellen

Humane embryonale Zellen der Nieren (HEK293: Graham et al., 1977) sowie C6-Gliomazellen der Ratte (Benda et al., 1968) wurden in Kulturflaschen mit *Dulbecco's-Modified-Eagle's-Medium* (DMEM) unter Zusatz von 10 (v/v) % fötalem Kälberserum (FKS), 2 mM Ultra-Glutamin sowie 100 U/ml Penicillin und 100 µg/ml Streptomycin bei 37 °C, 5 % CO₂

und 95 % Luftfeuchtigkeit im Brutschrank kultiviert. Die adhären wachsenden Zellen wurden bei 80 bis 90%iger Konfluenz ($\sim 7 \times 10^6$ Zellen) alle drei bis vier Tage mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS; Tab. 4) gewaschen und unter Erhalt von circa 20 % der Ursprungspopulation via *Trypsinierung* passagiert (Tab. 4); Verwerfung erfolgte nach durchschnittlich 25 Passagen. C6-Zellen exprimieren endogen funktionale $\alpha_5\text{-HT}_{2A}$ -Rezeptoren (Elliott et al., 1995); native HEK293-Zellen exprimieren keine $\alpha_5\text{-HT}_{2A}$ -Rezeptoren (Johnson et al., 2003) und wurden für unsere Versuche stabil transfiziert.

Tabelle 4: Lösungen für Zellkultur

PBS-Waschlösung	137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na ₂ HPO ₄ , 2 mM KH ₂ PO ₄ (pH 7.4)
Dissoziationsmedium	0.05 % Trypsin, 0.53 mM EDTA in PBS

2.3.2 Generierung einer stabil HA- $\alpha_5\text{-HT}_{2A}$ -exprimierenden HEK293-Zelllinie

Damit HEK293-Zellen $\alpha_5\text{-HT}_{2A}$ -Proteine zur Expression bringen, wurde die $\alpha_5\text{-HT}_{2A}$ -kodierende cDNA (komplementäre Desoxyribonukleinsäure) über einen Vektor – hier das pcDNA3-Plasmid – mittels Liposom-basierter Transfektion (Lipofektion) in diese eingebracht. Der humane $\alpha_5\text{-HT}_{2A}$ -Rezeptor ($\alpha_5\text{-HT}_{2A}$) (*GenBank Accession number*: NM_000621) wurde aminoterminal mit einem Epitop des viralen Glykoproteins *Hämagglutinin* (HA) markiert (YPYDVPDYASL), welchem ein spaltbares, ebenfalls viral-stämmiges Signalpeptid (MKTIIALS_YIFCLVFA: Guan et al., 1992) zur erleichterten Membran-Insertion vorausging (s. Abb. 4). Bereitgestellt wurde das pcDNA3-HA- $\alpha_5\text{-HT}_{2A}$ -Konstrukt freundlicherweise durch Dr. Rory Mitchell (Univ. von Edinburgh, UK). Amplifizierung erfolgte über Hitze-Schock-Transformation kompetenter *Escherichia-coli*-Bakterien (XL1-Blue), Ampicillin-basierte Selektion erfolgreicher Transformanten und Endotoxin-freie Aufreinigung mittels *Nucleobond-Xtra-Midi-EF*-Kit. Lipofektion der HEK293-Zellen wurde entsprechend der Herstellerangaben unter Verwendung von *Lipofectamine-2000* durchgeführt, wobei in 6-Well-Platten bei 80%iger Konfluenz und einem Medium-Volumen von 2 ml pro Well 10 μ l Reagenz und 4.0 μ g Plasmid-DNA zum Einsatz kamen. Selektion und Aufrechterhaltung erfolgreicher Transfektanten erfolgten über Geneticin-basierte Selektion (500 μ g/ml DMEM), wobei Membran-Lokation und Funktionalität des HA- $\alpha_5\text{-HT}_{2A}$ -Konstruktes konfokalmikroskopisch bzw. *Western-Blot*-analytisch validiert wurden (s. Folge-Abschnitte).

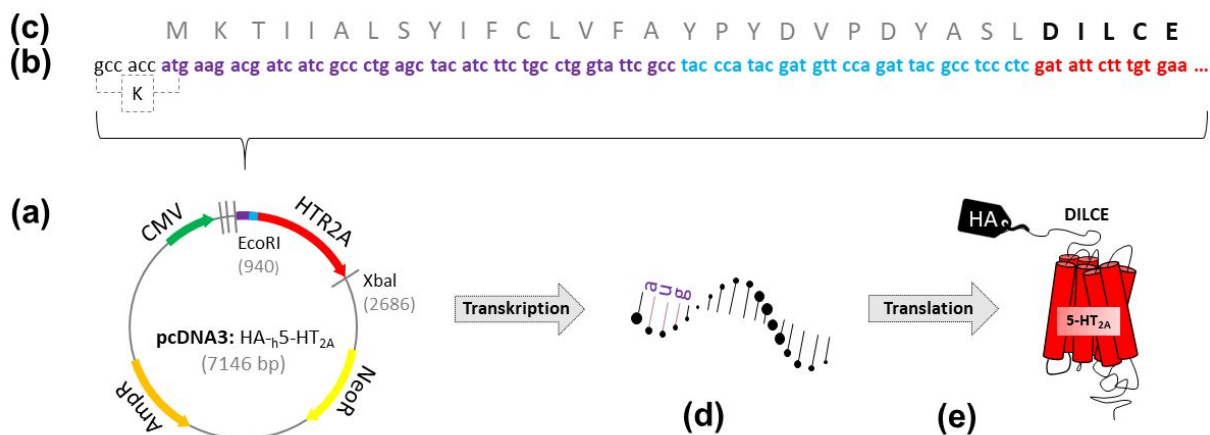


Abbildung 4: HA-h5-HT_{2A}-pcDNA3-Plasmid (7146 Basenpaare [bp] groß) (a) mit Schlüsselmerkmalen, einschließlich des Cytomegalovirus-stämmigen Expressionspromoters CMV (grün); der Ampicillin- und Geneticin-Resistenzgene AmpR (orange) und NeoR (gelb); der 5-HT_{2A}-Gen-Insertion HTR2A (rot) mit Hämagglutinin-(HA-)Tag (blau) und -Signalpeptid (lila). Subklonierung erfolgte an der Polyklonierungsstelle mit Schnittstellen für diverse Restriktionsenzyme wie *EcoRI* oder *XbaI*. Oberhalb des Plasmids ist (b) die Nukleotid-Sequenz der Insertion sowie (c) die Aminosäure-Sequenz des Translationsproduktes zu sehen. Das Basen-Triplet Adenin-Thymin-Guanin (*atg*) kodiert als Start-Codon zum Beispiel für die erste Aminosäure des HA-h5-HT_{2A}-Proteins *Methionin* (M). Transfiziert in HEK293-Zellen wird die Insertion zu (d) mRNA transkribiert und ribosomal zum (e) Protein translatiert. Ribosomale mRNA-Bindung erfolgt an der (b) Kozak-Sequenz (K: *gcc-acc-atg*). Schematische Darstellung (eigen).

2.3.3 Polyacrylamidgel-Elektrophorese und *Western Blot*: Nachweis der HA-h5-HT_{2A}-Funktionalität in HEK293-Zellen bzw. des h5-HT_{2A}-Vorkommens in C6-Gliomazellen

HEK293-Zellen, die stabil HA-h5-HT_{2A}-Rezeptoren exprimieren, wurden über Nacht auf 12-Well-Platten in Serum-reduziertem DMEM (5 % (v/v) FKS) ausgesät. Nach gründlicher Wäsche mit PBS wurden die Zellen bei 37 °C in Serum-freien UltraMEM für 2, 5, 10 oder 30 Minuten mit Serotonin (10 µM) oder DOI (100 nM) stimuliert. Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgel-Elektrophorese (SDS-PAGE) und *Western Blotting* orientierten sich an Protokollen aus *Sambrook & Russell* (2001) sowie den Herstellerangaben der eingesetzten Geräte. Zusammensetzungen der Puffer und Gele sind den Tabellen 5 und 6 zu entnehmen. Zellaufschluss und Protein-Denaturierung erfolgten in reduzierendem SDS-Probenpuffer unter Sonifizierung (25 s) und Erhitzung (4 min, 95°C). Elektrophoretische Trennung der Proteine wurde über das *Mini-PROTEAN*-System (150 V, ~1.5 h) unter Einsatz von Sammel-, Trenn- und Elektrodenpuffer in Anlehnung an Lämmli (1970) realisiert; zur Auflösung klei-

nerer Proteine (20 bis 80 kDa) wurde für das Trenngel eine 10%ige Polacrylamid-Konzentration gewählt. Protein-Standards (250-kDa-Leiter) dienen zur Größeneinordnung.

Tabelle 5: Lösungen für SDS-PAGE und *Western Blot*

SDS-Probenpuffer	62.5 mM Tris-HCl (pH 6.8), 2 (w/v) % SDS, 20 (v/v) % Glycerol, 0.01 (w/v) % Bromphenol-Blau, 0.1 mM EDTA, 100 mM Dithiothreitol (DTT)
Elektrodenpuffer	25 mM Tris-Base, 192 mM Glycin, 0.1 (w/v) % SDS (pH 8.3)
Transferpuffer	48 mM Tris-Base, 39 mM Glycin, 0.0375 (w/v) % SDS, 20 (v/v) % Methanol (pH 9.2)
<i>Stripping</i> -Puffer	62.5 mM Tris-HCl, 100 mM Mercaptoethanol, 2 (w/v) % SDS (pH 6.7)
TBS	20 mM Tris, 137 mM NaCl (pH 7.6)

Tabelle 6: Pipettierschema für Sammel- und Trenngel (Polyacrylamidgel-Elektrophorese)

	Sammelgel (in ml/8 ml)	Trenngel (in ml/15 ml)
ddH ₂ O	5.5	5.9
Rotiphorese	1.3	5.0
Tris-HCl (1.0 M, pH 6.8)	1.0	3.8
SDS (10 (w/v) %)	0.08	0.15
APS (10 (w/v) %)	0.08	0.15
TEMED	0.008	0.006

Western Blotting, das heißt der Übertrag der Proteine auf Nitrozellulose-Membranen wurde unter *Bjerrum*-Pufferung *semi-dry* mittels Elektrotransfer (1.0 mA pro 1 cm², 1.5 h) durchgeführt. 5-HT_{2A}-Rezeptoren koppeln an die Signalkaskade der Mitogen-aktivierten Proteinkinase (MAPK) (z.B. Florian & Watts, 1998). Nach Blocken der *Blots* (TBS mit 0.1 % Tween-20 und 5 % Magermilchpulver [TBST-Milch]; 1.5 h, Raumtemperatur [RT]) wurde daher zum Nachweis der Funktionalität des eingesetzten Rezeptor-Konstruktes die Phosphorylierung der Extrazellulär-Signal-regulierten Kinasen 1 und 2 (ERK1/2) via Übernacht-Inkubation mit einem phosphoERK1/2-gerichteten Primär-Antikörper (AK) untersucht (Maus-IgG: 1:1000, TBST-Milch; 4 °C). Anschließend wurden die Membranen unter Schwänken gewaschen

(TBST, $4 \times$ je 5 min) und mit einem Peroxidase-konjugierten Anti-Maus-AK inkubiert (Ziege-IgG: 1:2000, TBST; 1.5 h, RT). Sichtbarmachung der immunoreaktiven Banden erfolgte durch Inkubation in Luminol-H₂O₂-Lösung, wobei die infolge der Peroxidase-katalysierten Luminol-Oxidation entstehende Chemolumineszenz (ECL) auf einem Röntgenfilm festgehalten wurde. Die Membranen wurden gestrippt (Tab. 5) und hinsichtlich der Immunoreaktivität des Proteins β -Aktin erneut untersucht (Maus-IgG: 1:5000, TBST-Milch; über Nacht, 4 °C). Die Intensität der Banden wurde densitometrisch als Maß der intrazellulären ERK-Phosphorylierung mittels *ImageJ*-Software bestimmt und mit jener der β -Aktin-Ladekontrolle verrechnet.

Der Nachweis zur α 5-HT_{2A}-Expression in C6-Zellen wurde in analoger Weise durchgeführt; eingesetzt wurde ein hoch-spezifischer (Magalhaes et al., 2010), N-terminal-gerichteter Primär-AK (Kaninchen-IgG: 1:100, TBST-Milch, über Nacht, 4 °C; Sekundär-AK: Anti-Kaninchen-Ziege-IgG: 1:3000, TBST; 1.5 h, RT). ECL-Bildgebung erfolgte innerhalb des *Odyssey-Fc*-Systems.

2.3.4 Immunzytochemie und Konfokal-Mikroskopie: Internalisierung (INT) von HA- α 5-HT_{2A}-Rezeptoren in HEK293-Zellen

HEK293-Zellen, die stabil HA- α 5-HT_{2A}-Rezeptoren exprimieren, wurden über Nacht auf mit Poly-L-Lysin (PLL) beschichteten Deckgläschen in Serum-reduziertem DMEM (5 (v/v) % FKS) ausgesät. Nach gründlicher Waschung mit PBS wurden die Zellen zur Markierung der Oberflächen-Rezeptoren unter Blockierung unspezifischer Bindungsstellen mit einem HA-gerichteten Primär-AK inkubiert (Kaninchen-Serum: 1:1000, UltraMEM mit 1 (v/v) % Ziegen Serum; 1.5 h, 4 °C). Die Zellen wurden erneut PBS-gewaschen und mit LSD, DMT, DOI, Quipazin oder Methysergid in Serum-freiem UltraMEM stimuliert (60 min, 37 °C). Um Potenz-Unterschieden zu begegnen, wurde unter Sättigungskonzentration gearbeitet (1.0 bzw. 10 μ M). Immunzytochemie erfolgte nach etablierten Protokollen (Koch et al., 1998; Beyer et al., 2004); Zusammensetzungen der eingesetzten Lösungen sind Tabelle 7 zu entnehmen. Die stimulierten Zellen wurden bei Raumtemperatur [RT] mit Paraformaldehyd (30 min) fixiert, mit Tris-phosphatgepufferter Kochsalzlösung (TPBS) gewaschen und unter Blockierung unspezifischer Bindungsstellen (TPBS; 10 (v/v) % Pferdeserum [NHS], 2 (w/v) % bovines Serum-Albumin [BFA]) mit 0.3 (v/v) % Triton X-100 permeabilisiert. Nach Übernacht-Inkubation mit einem Fluoreszenzfarbstoff-konjugierten Sekundär-AK (Esel-Anti-Kaninchen-IgG, Cyanin-3 [Cy3]: 1:400, TBST mit je 2 (w/v) % NHS und BFA) wurden die Zellproben

bei sukzessiv ansteigenden Konzentrationen Ethanol (EtOH; 70, 80, 90 bzw. 100 (v/v) %) entwässert, mit *Rotihistol* entfettet und mit DPX (*Distrene Plasticiser Xylene*) auf Objektträgern eingedeckelt. Zelluläre 5-HT_{2A}-Lokalisation wurde konfokal-mikroskopisch über Anregung des HA-gebundenen Cy3-Farbstoffes (bei 568-nm Erregung und 570-630-nm *Band-Pass*-Emissionsfilterung) bestimmt, digitalisiert und das Ausmaß der INT densitometrisch als prozentuales Verhältnis von intrazellulärer zu zellulärer Gesamtfluoreszenz errechnet. Die Auswertung repräsentativer Zellgruppen erfolgte *geblindet* unter Einsatz der Software *ImageJ*. Intrinsische Aktivitäten wurden relativ zu 10 µM Serotonin bestimmt. Zur Skizzierung des INT-relevanten Signalapparates wurden neben dem Aktivator der Proteinkinase C (PKC) Phorbol-myristat-acetat (PMA: 100 nM) und dem Endosom-Marker Transferrin (Tf) (Alexa-488-konjugiert [Ex/Em: 495/519]; 25 µg/ml) im Zusammenhang mit DOI folgende Ko-Behandlungen appliziert: Ketanserin (5-HT_{2A}-Antagonist: 10 µM), Ritanserin (inverser 5-HT_{2A}-Agonist: 10 µM), Staurosporin (Breitspektrum-Proteinkinase-Hemmer: 100 nM) und Sucrose (Hemmer Clathrin-vermittelter Endozytose: 400 mM). Kolokalisation von 5-HT_{2A}- und Tf-Rezeptoren wurde nach digitaler Entfernung des Bildhintergrundes anhand des *Manders*-Koeffizienten quantifiziert (Manders et al., 1993).

Tabelle 7: Lösungen für Immunzytochemie

Fixativ	4 (w/v) % Paraformaldehyd, 0.2 (w/v) % Pikrinsäure in 0.1 M Phosphatpuffer (pH 6.9)
TPBS	10 mM Tris, 10 mM Phosphatpuffer, 137 mM NaCl, 0.05 (w/v) % Thimerosal (pH 7.4)

2.3.5 Radiomessung zur Phospholipase-D-(PLD-)katalysierten Transphosphatidylierung (TRANS-P) in HA-h5-HT_{2A}-transfizierten HEK293-Zellen

HEK293-Zellen exprimieren PLD (Meier et al., 1999). Um zu überprüfen, ob 5-HT_{2A}-Rezeptoren Agonist-selektiv an PLD koppeln, wurde nach etablierten Protokollen (z.B. Koch et al., 2003; Rankovic et al., 2009) in Anlehnung an Gonzalez et al. (1996) eine Radiomessung zur PLD-katalysierten TRANS-P durchgeführt. Unter physiologischen Bedingungen setzt PLD das abundante Membranlipid Phosphatidylcholin (PC) unter Freisetzung von Cholin zu Phosphatidsäure (PA) um. In Gegenwart von Ethanol (EtOH) katalysiert das Enzym hingegen TRANS-P, das heißt den Übertrag der Phosphatidyl-Gruppe von PC auf EtOH, wo-

bei das metabolisch stabile und daher per Radiomessung leicht messbare Phosphatidylethanol (PtdEtOH) entsteht (s. Abb. 5).

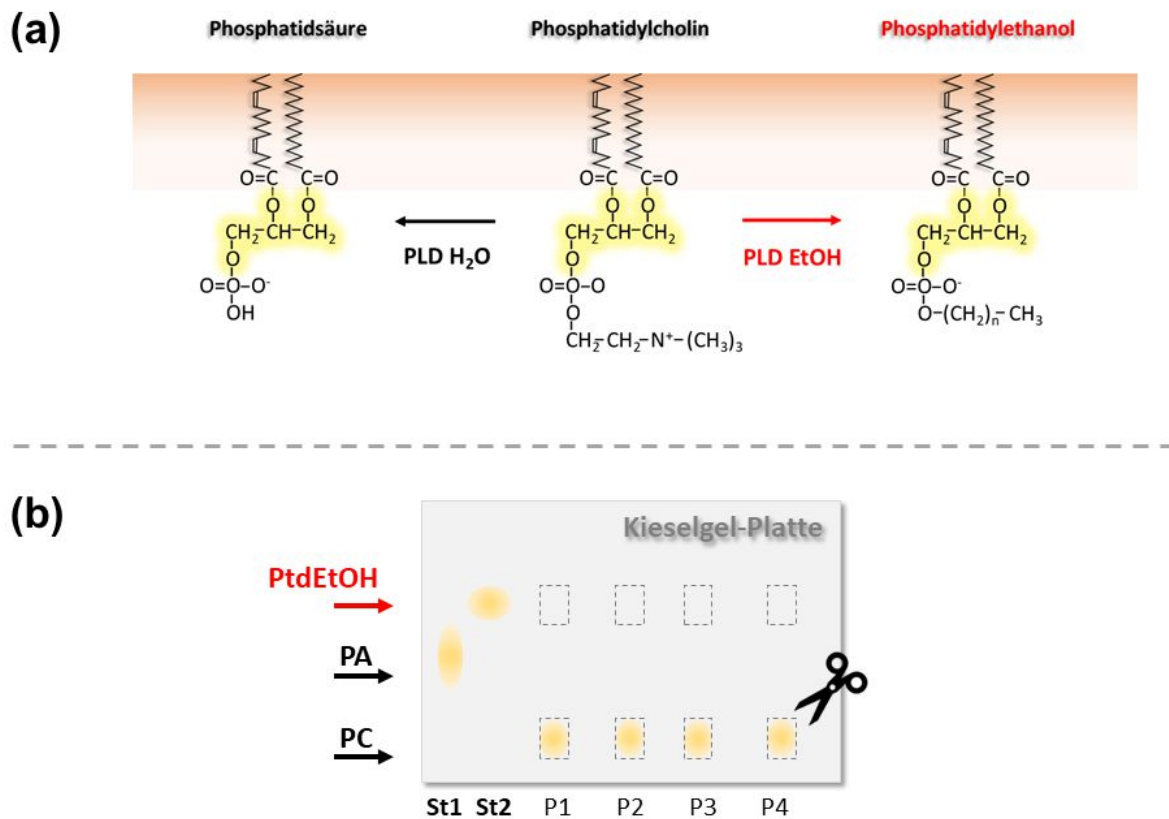


Abbildung 5: Durch Phospholipase D (PLD) katalysierte Transphosphatidylierung (TRANS-P). (a) Das Membranlipid Phosphatidylcholin (PC) und dessen durch PLD katalysierte Umsatzprodukte Phosphatidsäure (PA) und Phosphatidylethanol (PtdEtOH); Umsatz erfolgt durch H_2O -gestützte Hydrolyse bzw. Ethanol-gestützte TRANS-P. Das in die Membranlipide inkorporierte radioaktiv-markierte Glycerol ist gelb-umrandet hervorgehoben. (b) Durch Dünnschicht-Chromatographie realisierte Auftrennung der Lipide. Die Proben (hier P1 bis P4) werden zusammen mit Lipid-Standards für PA (St1) und PtdEtOH (St2) aufgetragen. Durch Iod-Färbung kann das in den Proben enthaltene PC auf der Kieselgel-Platte lokalisiert und für die Szintillationszählung herausgeschnitten werden; die Lokalisation von PtdEtOH wird anhand der Laufhöhe der Standards festgemacht. Schematische Darstellung (eigen); in Teilen orientiert an *Hongu & Kanaho* (2014).

HEK293-Zellen, die stabil HA-h5-HT_{2A} -Rezeptoren exprimieren, wurden auf 6-Well-Platten in Serum-freien UltraMEM ausgesät und zur Markierung der Membranlipide über 24 Stunden mit $[^{1,2,3-3}\text{H}]\text{Glycerol}$ ($1 \mu\text{Ci/ml}$; spezifische Aktivität 40 Ci/mM) inkubiert. Nach Waschung wurden die Zellen mit LSD, DMT, DOI, Quipazin, Methysergid oder dem PKC-Aktivator

PMA (100 nM) in Serum-freiem UltraMEM stimuliert (30 min, 37 °C). Zum Vergleich der Agonisten wurde unter Sättigungskonzentration gearbeitet (1.0 bzw. 10 µM); für LSD wurde zudem das Konzentration-Wirkungsverhältnis bestimmt (1.0 nM bis 10 µM). Die Reaktion wurde mit 2.5 ml eiskalter Methanol-H₂O-Lösung (3:2 (v/v)) abgestoppt und die Zellsuspension in *Falcon*-Röhrchen überführt. Für ein finales Methanol-Chloroform-H₂O-Volumen von 10:10:9 (Methanol:Chloroform:H₂O (v/v/v)) wurden 1.5 ml Chloroform und 0.35 ml H₂O hinzugegeben und die Lipid-haltige Chloroform-Phase durch Zentrifugieren (5 min, 2500 rpm) von der Methanol-H₂O-Phase getrennt und eingedampft. Die Lipide wurden anschließend in 25 µl Methanol-H₂O (1:1) aufgenommen, Dünnschicht-chromatographisch auf Kieselgel-Platten aufgetrennt und entsprechend der Laufhöhe aufgetragener Standards unter Iod-Färbung als PC bzw. PtdEtOH identifiziert (s. Abb. 5). Die mit beiden Lipiden assoziierte Radioaktivität wurde mittels Flüssigkeitsszintillationszählung quantifiziert und das Ausmaß der PLD-Aktivierung als prozentuales [³H]PtdEtOH-zu-[³H]PC-Verhältnis (y-fache Veränderung) angegeben. Die Potenz (EC₅₀) von LSD wurde über non-lineare Regression als *Best-Fit*-Parameter durch die Software *GraphPad Prism* geschätzt.

2.3.6 RNA-Extraktion, reverse Transkription und Polymerase-Kettenreaktion zur Bestimmung der 5-HT_{2A}-Gen-Expression in C6-Zellen

C6-Zellen, die endogen α -5-HT_{2A}-Rezeptoren exprimieren, wurden über Nacht auf 12-Well-Platten in Serum-reduziertem DMEM (5 % FKS) ausgesät. Nach gründlicher Waschung mit PBS wurden die Zellen bei 37 °C in Serum-freien UltraMEM für vier Stunden mit LSD, DMT, DOB oder PMA (100 nM) stimuliert; zum Vergleich der Agonisten wurde unter Sättigungskonzentration gearbeitet (1.0 bzw. 10 µM). Die zelluläre Gesamt-RNA (Ribonukleinsäure) wurde mithilfe des *NucleoSpin-RNA-II*-Kits entsprechend der Herstellerangaben aufgereinigt. Dabei wurden die Zellen durch Mercaptoethanol (1:100) aufgeschlossen, die enthaltenen Nukleinsäuren nach Zugabe von EtOH (70 (v/v) %) auf einer Membran gesammelt und die via rDNase-Verdau (15 min, Raumtemperatur) um Desoxyribonukleinsäure-(DNA-)Kontaminationen bereinigte RNA in RNase-freiem Wasser eludiert. Konzentrationsmessung erfolgte spektralphotometrisch durch Bestimmung der optischen Dichte bei einer Wellenlänge von $\lambda=260$ nm, dem Absorptionsmaximum von Nukleinsäuren.

Reverse Transkription zu RNA-komplementärer DNA (cDNA) und Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden sequentiell nach etablierten Protokollen durchgeführt (Börner et al., 2006, 2012). Erststrang-cDNA wurde unter Einsatz der RNase-H-defizienten Mutante (H-)

der reversen Transkriptase (RT) des murinen Leukämievirus (*Moloney-MLV RT [H-]*) basierend auf jeweils 1 µg der *Template*-RNA synthetisiert. Dabei wurde die RNA denaturiert (10 min, 65 °C) und nach Hybridisierung mit Oligo(dT)- und pdN6-*Primern* auf Eis zur Polymerisierung der Deoxynukleosid-Triphosphate und anschließender Transkriptase-Inaktivierung thermozyklisiert (1 h, 42 °C; 15 min, 75 °C). Die entstandene cDNA wurde mit H₂O zu einem Endvolumen von 50 µl verdünnt und je 2 µl für die HTR2A-Gen-spezifische cDNA-Zweitstrang-Synthese mit 18 µl *SYBR-Green*-Reaktionsansatz (10 % *Fast-Start-DNA-Mastermix*, 0.3 µM je *Primer*, 3.5 mM MgCl₂) in Glaskapillaren überführt. Die Sequenzen der eingesetzten *Primer* sind der Tabelle 8 zu entnehmen.

Tabelle 8: Eigenschaften der Gen-spezifischen *Primer* der Polymerase-Kettenreaktion

		r5-HT _{2A}	rβ-Aktin
Gen		HTR2A (NM_017254.1)	ACTB (NM_031144.3)
Primer	Vorwärts	5'-CAT GGC CGT CAT CTG CAA AG-3'	5'-GGT CCA CAC CCG CCA CCA G-3'
	Länge (bp)	20	19
	CG (%)	55	74
	Revers	5'-TCC GAC TGT TTC CCC AG-3'	5'-CAG GTC CAG ACG CAG GAT GG-3'
	Länge (bp)	20	20
	CG (%)	55	65
Amplikon	Länge (bp)	330	565

Nach Aktivierung der *Fast-Start*-Taq-DNA-Polymerase durch *Hot-Start*-Präinkubation (8 min, 95°C) erfolgte die *LightCycler*-gestützte Amplifizierung in 50 Zyklen ([1] 5 s bei 95 °C, [2] 5 s bei 56 bzw. 60 °C und [3] 14 bzw. 22 s bei 72 °C für 5-HT_{2A} bzw. β-Aktin) mit abschließender Schmelzung des Amplikons bei linearem Temperaturanstieg. Der im Reaktionsansatz enthaltene Fluoreszenzfarbstoff *SYBR-Green* bindet interkalierend an cDNA, wodurch dessen Fluoreszenz zunimmt. Mit jedem Amplifikationszyklus wird mehr *Primer*-spezifische cDNA synthetisiert. Der einhergehende Fluoreszenzzuwachs wurde für die einzelnen Proben in Form von Amplifikationskurven abgebildet und jener Zyklus, in dem die jeweilige Ausgangsfluoreszenz um zehn Standardabweichungen übertroffen wurde (*Crossing-Point*), als Maß für die dem Amplikon zugrundeliegende Transkript-Menge herangezogen. Die

Transskripte des α -HT_{2A}-Rezeptor-Gens (HTR2A) wurden an jener des β -Aktin-kodierenden *House-Keeping*-Gens (ACTB) normalisiert und als y-fache Veränderung der unstimulierten Kontrolle angegeben. Amplikon-Spezifität wurde anhand von Schmelzkurven- und Restriktionsanalysen überprüft. Für letztere wurde das Amplikon durch die Restriktionsenzyme *PvuII* und *AluI* verdaut (2 h, 36 °C) und mittels 1%-Agarose-Gel-Elektrophorese separiert. Entsprechend der Lage der beiden Konsensus-Stellen CAG[^]CTG und AG[^]CT ist die in Abbildung 6 aufgezeigte Fragmentierung zu erwarten.

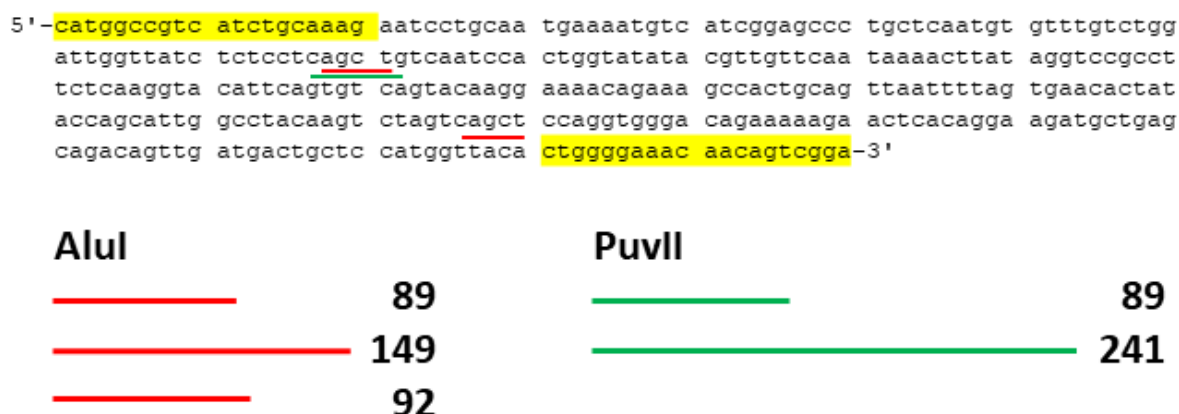


Abbildung 6: Nukleotid-Sequenz des mittels Polymerase-Kettenreaktion multiplizierten α -HT_{2A}-Transkript-Amplikons. Hybridisierungsstellen der *Primer* sind gelb, Konsensus-Stellen der Enzyme *AluI* und *PvuII* rot bzw. grün unterlegt. Restriktion durch *AluI* geht mit drei Teilstücken à 89, 149 und 92 Basenpaaren (bp), durch *PvuII* mit zwei à 89 und 241 bp einher. Schematische Darstellung (eigen).

2.4 Untersuchungen zur Radioligand-Bindungs-kapazität von Hirn-Homogenaten

Die wiederholt mit LSD, DOB, DMT oder Kochsalzlösung behandelten Ratten wurden 24 Stunden nach Letztapplikation getötet, dekapitiert und die relevanten Hirnareale gemäß der von Popov et al. (1973) beschriebenen Technik herauspräpariert. Die Auswertung zur SB-Versuchsserie wurde auf den frontalen Kortex (FC) beschränkt; bei der Hyperthermie-(HYPER-)Versuchsserie wurden zusätzlich Hypothalamus, Hirnstamm und Rückenmark berücksichtigt. Das Hirngewebe wurde homogenisiert, die synaptischen Membranfraktionen in Anlehnung an Zukin et al. (1974) fraktioniert und bei -20 °C eingelagert.

2.4.1 Radiomessungen zu 5-HT_{2A}- und Glutamat-Bindungsstellen

Die Rezeptor-spezifische Radioligand-Bindungskapazität der fraktionierten Membranen wurde nach etablierten Protokollen untersucht (z.B. Schroeder et al., 1999). Die aufgetauten *Pellets* wurden zentrifugiert ($50,000 \times g$, 15 min), in Tris-HCl-Puffer (pH 8.0 bzw. 7.4) resuspendiert, gewaschen und erneut zentrifugiert. Aliquote (50 μ l) zu je 175 bis 200 μ g Protein – spektrometrisch bestimmt nach Lowry et al. (1951) – wurden in Puffer (Tab. 9) in einem finalen Volumen von 1.0 ml mit [³H]Spiroperidol bzw. [³H]Glutamat inkubiert (spezifische Aktivität: 800 GBq/mM bzw. 1.43 TBq/mM; 30 bzw. 40 min, 37 °C). Die Membranfraktionen wurden anschließend unter Vakuum auf 0.5%-Polyethylenimin-getränkten GF/A-Glasfaserfiltern gesammelt, dreifach mit eiskaltem Tris-HCl-Puffer (pH 8.0 bzw. 7.4) gewaschen, getrocknet und die vom ³H-Label ausgehende β -Energie über deren Interaktion mit einem Toluol-haltigen Szintillationscocktail durch Flüssigkeitsszintillationszählung quantifiziert. Die spezifische 5-HT_{2A}- bzw. Glutamat-Rezeptorbindung des jeweiligen Radioliganden wurde durch Subtraktion der unspezifischen von der Gesamtbindung in An- und Abwesenheit von sättigenden Konzentrationen nicht-radiomarkierter selektiver Liganden berechnet (s. Tab. 9), um die jeweils in der Probe enthaltene Proteinmenge korrigiert und als IC₅₀ oder E_{max} der Verdrängung (γ -fache Veränderungen) angegeben.

2.4.2 Radiomessungen zur G-Protein-Kopplung von 5-HT₂- und metabotropen Glutamat-Rezeptoren (mGlu)

Die G-Protein-spezifische [³⁵S]Guanosin-5'-O-[γ -thio]triphosphat-(GTP γ S-)Bindungskapazität der fraktionierten Membranen wurde in Anlehnung an etablierte Protokollen untersucht (z.B. Becker et al., 2006). Die aufgetauten *Pellets* wurden zentrifugiert ($50,000 \times g$, 15 min), in Tris-HCl-Puffer (pH 7.4) resuspendiert, gewaschen und erneut zentrifugiert. Aliquote (50 μ l) zu je 20 bis 25 μ g Protein – spektrometrisch bestimmt nach Lowry et al. (1951) – wurden in einem finalen Volumen von 1.0 ml mit [³⁵S]GTP γ S (spezifische Aktivität: 46.3 TBq/mM) und dem jeweiligen Agonisten in Puffer inkubiert (s. Tab. 9; 1 h, 37 °C). Stimulierung erfolgte bei molarem Überschuss von GDP (3 μ M), um basalem GDP-GTP γ S-Austausch entgegenzuwirken. Die Membranfraktionen wurden unter Vakuum auf 0.5%-Polyethylenimin-getränkten GF/A-Glasfaserfiltern gesammelt, dreifach mit eiskaltem Tris-HCl-Puffer (pH 7.4) gewaschen, getrocknet und die vom ³⁵S-Label ausgehende β -Energie über deren Interaktion mit einem Toluol-haltigen Szintillationscocktail durch Flüssigkeitsszintillationszählung quan-

tifiziert. Die spezifische [^{35}S]GTP γ S-G-Protein-Bindung wurde durch Subtraktion der unspezifischen von der Gesamtbindung in An- und Abwesenheit von unmarkiertem GTP γ S (10 μM) berechnet, um die jeweils in der Probe enthaltene Proteinmenge korrigiert und als E_{max} Agonist-induzierter Stimulierung (γ -fache Veränderungen) angegeben.

Tabelle 9: Inkubationspuffer für Radioligand-Bindungsuntersuchungen

5-HT $_2\text{A}$	50 mM Tris, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 2.5 mM CaCl $_2$, 1 mM MgCl $_2$ (pH 8.0); 1 nM [^3H]Spiroperidol \pm 10 $^{-9}$ bis 10 $^{-4}$ M DOB oder Cinanserin
Glutamat	30 mM Tris, 2.5 mM CaCl $_2$ (pH 7.4); 50 nM [^3H]Glutamat \pm 10 $^{-9}$ bis 10 $^{-4}$ M Glutamat
G-Protein	50 mM Tris, 3 mM MgCl $_2$, 0.2 mM EGTA, 100 mM NaCl (pH 7.4); 0.05 nM [^{35}S]GTP γ S \pm 10 μM DOB, LY354740 oder Glutamat

2.5 Statistische Auswertung

Inferenzstatistische Datenanalyse erfolgte Software-gestützt durch *SPSS* oder *GraphPad Prism* überwiegend nicht-parametrisch und in Abhängigkeit des den jeweiligen Daten zugrundeliegenden Studiendesigns. In Fällen, in denen Mittelwerte einer Variablen in mehr als zwei unabhängigen Stichproben verglichen wurden, wurde der *Kruskal-Wallis*-Test eingesetzt; Einzelvergleiche wurden *post hoc* unter *Dunn*-Korrektur oder *a priori* spezifiziert mittels *Mann-Whitney*-Test durchgeführt. *Within-Subject*-Unterschiede bei Einmalmessung zweier Variablen oder Zweifachmessungen einer Variablen wurden mittels *Wilcoxon*-Vorzeichen-Rang-Test geprüft. Die über mehrere Tage stattfindenden Toleranz-Versuche wurden via zweifaktorieller Varianzanalyse mit Messwiederholung auf einem Faktor ausgewertet (*Mixed-Model*, MW-ANOVA), gefolgt von *Bonferroni*-korrigierten Mehrfachvergleichen bzw. paarweiser Kontrastanalyse. Korrelationen wurden bei gegebener Intervallskaliertheit nach *Pearson* berechnet. Signifikanz wurde immer dann angenommen, wenn die Nullhypothese zum statistischen Vergleich bei maximal ein- bis fünfprozentiger Irrtumswahrscheinlichkeit ($p \leq 0.01$ bzw. $p \leq 0.05$) zurückgewiesen werden konnte. Signifikanzniveaus von $p \leq 0.1$ wurden als Trend ausgezeichnet.

3 Ergebnisse

3.1 Verhaltensuntersuchungen: LSD- und DOB-induziertes *Shaking Behaviour*

3.1.1 Dosis-Wirkungskurve von LSD- und DOB-induziertem *Shaking Behaviour* (SB)

Bei SpD-Ratten, die getrennt voneinander in Acrylzylinder beobachtet wurden, führen beide serotonergen Halluzinogene (sHG), LSD und DOB, zu signifikant erhöhtem Auftreten von SB (Abb. 7). LSD ist in etwa zehnmal potenter als DOB, seine Maximalwirkung ist jener von DOB jedoch unterlegen: Während DOB (0.25 bzw. 0.5 mg/kg, i.p.) in 30 Minuten 10.71 ± 1.48 bzw. 10.09 ± 2.65 SB-Komponenten (MW \pm SEM) hervorruft, sind unter LSD (0.025 mg/kg, i.p.) lediglich 3.69 ± 0.76 zu beobachten (Abb. 7) (Kruskal-Wallis=15.58 [LSD] bzw. 26.27 [DOB], $p \leq .05$; *Post-hoc*-Vgl. Kntr, $p \leq .01$).

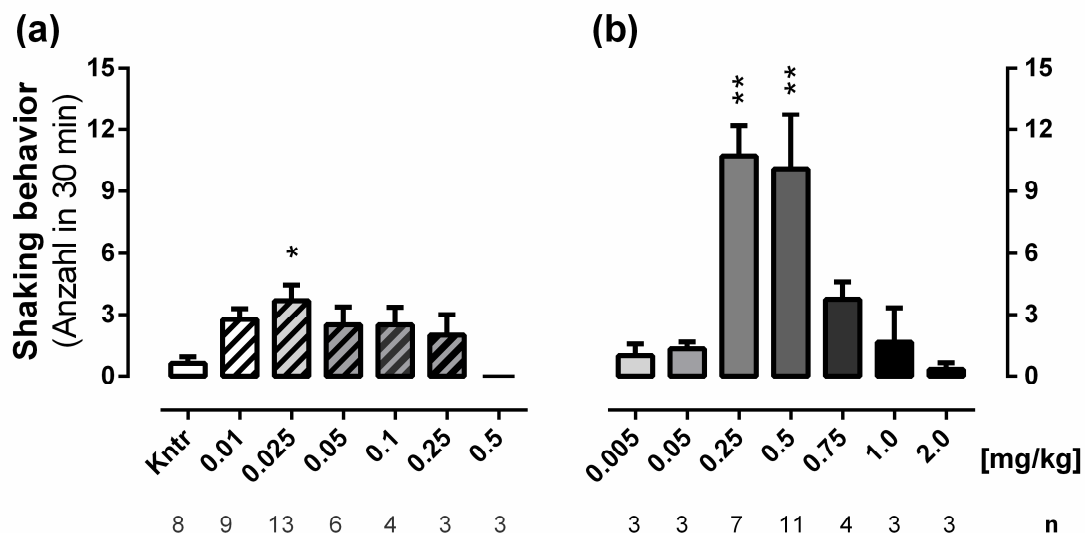


Abbildung 7: Dosis-Wirkungskurve für (a) LSD- und (b) DOB-induziertes *Shaking Behaviour* bei voneinander getrennt beobachteten Ratten. Anzahl (MW+SEM): Vgl. Kntr (Kochsalz), * $p \leq .05$ bzw. ** $p \leq .01$ (n=Anzahl der Tiere pro Gruppe) (nach Buchborn et al., 2015).

Bei DMT ist SB im Dosisbereich von 0.5 bis 20 mg/kg (i.p.) kein verlässlich auftretendes Verhaltenssymptom. In höheren Dosen induzieren alle drei sHG Komponenten des Serotoninsyndroms; diese beinhalten *Backward Walking*, *Flat Body Posture*, *Forepaw Treading* und/oder *Straub Tail* und sind bei DMT am eindrucklichsten (nicht gezeigt).

3.1.2 Einfluss der Gegenwart von Wurfgeschwistern auf LSD- und DOB-induziertes *Shaking Behaviour* (SB)

Da die Maximalwirkung von LSD und DOB nur sehr gering ausfällt, wenn Ratten getrennt von ihren Wurfgeschwistern beobachtet werden (Abb. 7 und 8), wurden alle folgenden Experimente in größeren Käfigen durchgeführt, in denen immer zwei oder drei Geschwisterratten gleichzeitig Platz fanden. Wie in Abbildung 8 ersichtlich ist, wird halluzinogenes Verhalten *output* in Gegenwart von vertrauten Wurfgeschwistern begünstigt. Im Mittel zeigen sich in einer halben Stunde hier 13.25 ± 0.65 SB-Komponenten unter LSD (0.025 mg/kg, i.p.) und 21.00 ± 2.59 unter DOB (0.25 mg/kg, i.p.) (Einzel vs. Gruppe: $u=0.0$ [LSD], $u=2.5$ [DOB], je $p \leq .01$). Auch die Kochsalz-behandelten Kontrollratten zeigen im Trend mehr SB, wenn sie zusammen beobachtet werden (Einzel vs. Gruppe [MW \pm SEM]: 0.63 ± 0.32 vs. 2.44 ± 0.73 ; $u=14$, $p=.057$). Bei DMT hingegen bleibt signifikantes SB indes weiterhin aus (nicht gezeigt).

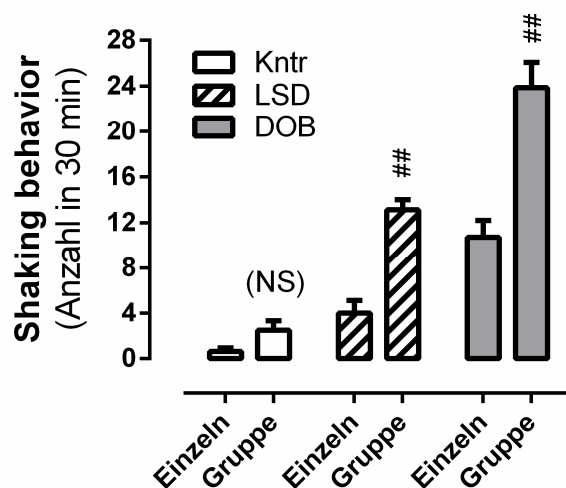


Abbildung 8: LSD- und DOB-induziertes *Shaking Behaviour* (0.025 bzw. 0.25 mg/kg, i.p.) bei einzeln oder in Gruppen von zwei bis drei Wurfgeschwistern beobachteten Ratten. Anzahl (MW+SEM): Vgl. Einzelbeobachtung, ## $p \leq .01$ bzw. (NS) $p \leq .1$ (Trend) ($n=7-8$ pro Gruppe) (nach Buchborn et al., 2015).

3.1.3 Komponenten des LSD- und DOB-induzierten *Shaking Behaviour* (SB)

Bei Ratten umfasst SB sowohl *Head Twitches* (HTs) als auch *Wet Dog Shakes* (WDS) (Abb. 9). Mit einer prozentualen Verteilung von 63.68 zu 36.32 % evoziert LSD signifikant mehr WDS als HTs (Wilcoxon [W]=-24, $p=.031$). Für DOB verhält es sich mit anteilig 36.91 % WDS und 63.09 % HTs andersherum (W=21, $p=.047$).

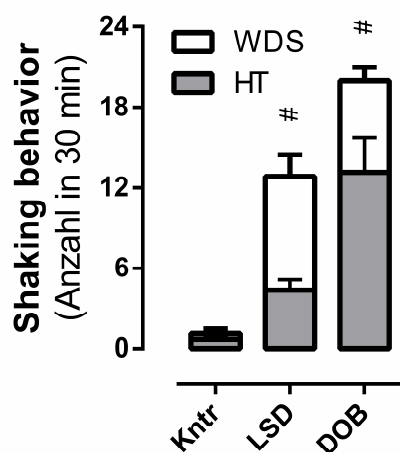


Abbildung 9: LSD- und DOB-induzierte *Wet Dog Shakes* (WDS) und *Head Twitches* (HTs) bei in Gruppen beobachteten Tieren. Anzahl (MW+SEM): Vgl. WDS vs. HTs, # $p \leq 0.05$ ($n=6-8$ pro Gruppe). Kntr= Kochsalz (nach Buchborn et al., 2015).

3.1.4 Blockade des LSD- und DOB-induzierten *Shaking Behaviour* (SB) durch den 5-HT_{2(A)}-Antagonisten Ketanserin

Vorbehandlung mit Ketanserin (Kts), einem selektiven 5-HT_{2(A)}-Antagonisten, blockiert beide Komponenten sHG-induzierten SBs (Abb. 10). Während LSD (0.025 mg/kg, i.p.) *per se* durchschnittlich 15.00 ± 0.63 SB-Komponenten in 30 Minuten hervorruft, reduziert Ketanserin (Kts: 0.5 bzw. 1.0 mg/kg, i.p., 30 min prä) selbige auf 0.83 ± 0.48 bzw. 0.17 ± 0.17 (LSD±Kts, je $u=0.0$, $p \leq 0.01$). Auch DOB (0.25 vs. 0.5 mg/kg, i.p.), das Dosis-abhängig 25.71 ± 1.38 bzw. 12.29 ± 3.89 Komponenten auslöst, verliert in Gegenwart von Ketanserin (0.5 bzw. 1.0 mg/kg, i.p., 30 min prä) vollständig seine Fähigkeit, SB auszulösen (Anzahl [MW±SEM]: 1.14 ± 0.55 bzw. 0.0 ± 0.0 ; DOB±Kts, $u=3.5$ bzw. $u=0.0$, je $p \leq 0.01$).

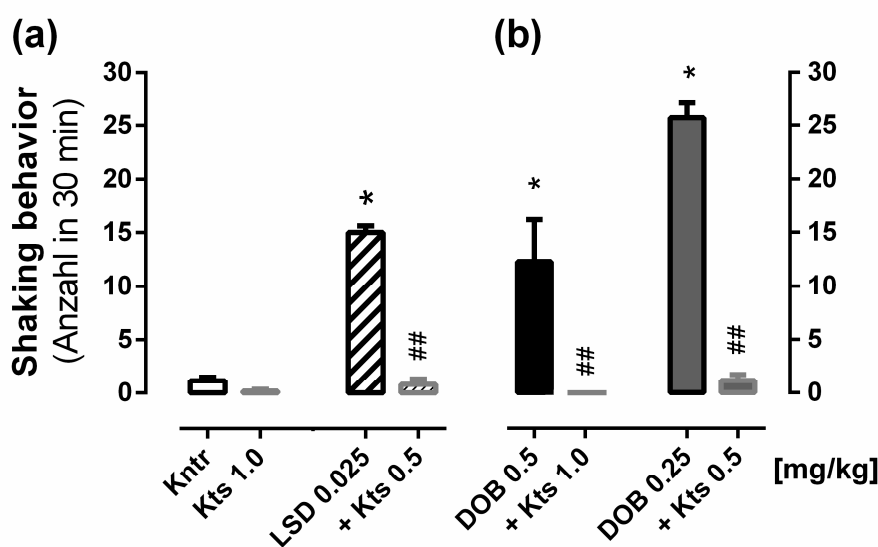


Abbildung 10: Blockade von (a) LSD- bzw. (b) DOB-induziertem *Shaking Behaviour* (0.025 bzw. 0.25 und 0.5 mg/kg, i.p.) durch Ketanserin (Kts: 0.5 bzw. 1.0 mg/kg, i.p., 30-min Vorbehandlung) bei in Gruppen beobachteten Ratten. Anzahl (MW±SEM): Vgl. Kntr bzw. Agonist±Kts, * $p \leq 0.05$ bzw. ## $p \leq 0.01$. Kntr=Kochsalz (n=6-7 pro Gruppe) (nach Buchborn et al., 2015).

3.1.5 Tachyphylaxie gegenüber LSD-induziertem *Shaking Behaviour* (SB)

Wird LSD (0.025 mg/kg, i.p.) innerhalb eines Tages zweimal appliziert, fällt das bei der Zweitapplikation induzierte SB signifikant vermindert aus, wenn diese vier oder acht Stunden nach der Erstapplikation erfolgt (Abb. 11a) (% Erstapplikation [MW±SEM]: 13.57±0.92 vs. 7.43±1.15 [4-h-ISI], $W=-28$, $p \leq 0.01$; 15.71±1.49 vs. 10.14±1.01 [8-h-ISI], $W=-26$, $p=0.016$). Liegen 24 Stunden zwischen beiden Applikationen, stellt sich keine Verminderung ein (Abb. 11a) (MW±SEM: 11.3±1.40 vs. 10.00±1.44, $W=-8.0$, n.s.). Werden beide Einzeldosen simultan appliziert (das heißt 0.05 statt 0.025 mg/kg, i.p.), zeigt sich im Vergleich zur singulären LSD-Dosis erhöhtes SB-Auftreten (Abb. 11b) (Anzahl [MW±SEM]: 18.00±1.70 vs. 25.20±1.46, $u=1.5$, $p=0.012$).

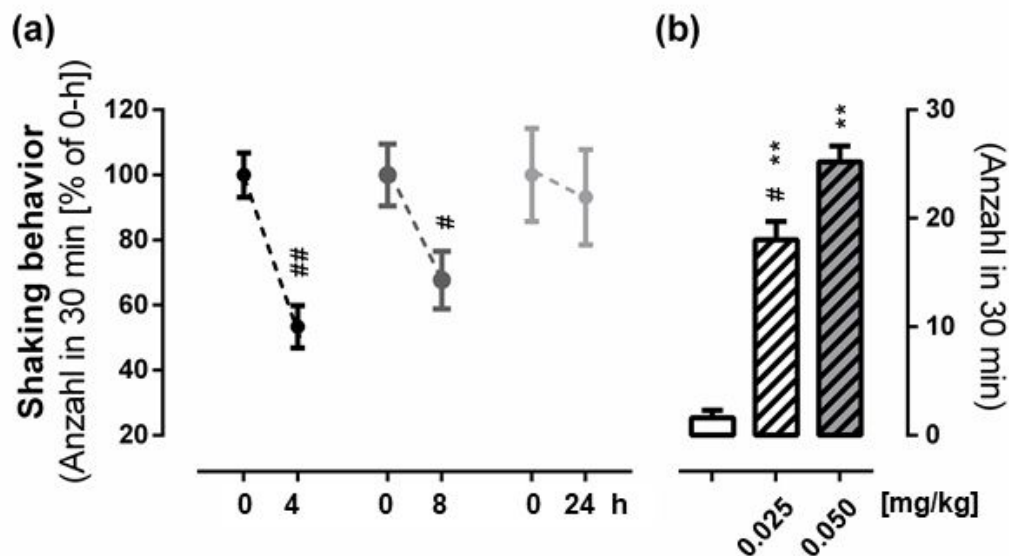


Abbildung 11: Tachyphylaxie gegenüber LSD-induziertem *Shaking Behaviour* bei in Gruppen beobachteten Ratten. (a) LSD (0.025 mg/kg, i.p.) wurde mit vier-, acht- oder 24-stündigem Intervall zweifach appliziert. % Erstapplikation [MW±SEM]: Vgl. 0.0 h, # $p \leq 0.05$ bzw. ## $p \leq 0.01$. (b) Effekt simultaner Applikation zweier LSD-Dosen (das heißt insgesamt 0.05 mg/kg, i.p.) verglichen mit Einfachapplikation (das heißt 0.025 mg/kg, i.p.). Anzahl (MW±SEM): Vgl. Kntr (Kochsalz: 0.0 mg/kg LSD), ** $p \leq 0.01$; Vgl. Einzel- vs. Zweifachdosis, # $p \leq 0.05$ (n=5-6 pro Gruppe) (nach Buchborn et al., 2016).

3.1.6 Toleranz gegenüber LSD- und DOB-induziertem *Shaking Behaviour* (SB)

Wird LSD (0.025 mg/kg, i.p.) ein- oder zweimal pro Tag appliziert, sprechen die Ratten, wenn sie jeweils nach der morgendlichen Injektion für eine halbe Stunde beobachtet werden, über vier Tage relativ konstant auf das serotonerge Halluzinogen (sHG) an. Während am ersten Tag der Einmal-Pro-Tag-Applikation beispielsweise 11.29 ± 1.49 (MW \pm SEM) SB-Komponenten zu beobachten sind, induziert LSD am letzten Tag der wiederholten Behandlung in Anzahl kaum merklich veränderte 12.29 ± 1.44 Komponenten. Ähnliches zeigt sich für den selektiven 5-HT₂-Agonisten DOB (0.25 mg/kg, i.p.), der an Tag 1 eines Einmal-Pro-Tag-Applikationsschemas 15.91 ± 2.8 und an Tag 4 12.00 ± 1.48 SB-Komponenten hervorruft. Dass die Verhaltenseffekte beider sHG s infolge der Mehrfachapplikationen keiner substantiellen Veränderung unterworfen sind (Abb. 12a), wird inferenzstatistisch (ungeachtet signifikanter Haupteffekte) in Form fehlender Signifikanz der *Zeit* \times *Gruppe*-Interaktion verdeutlicht ($F_{[5.83, 62.24]}=1.39$, n.s.).

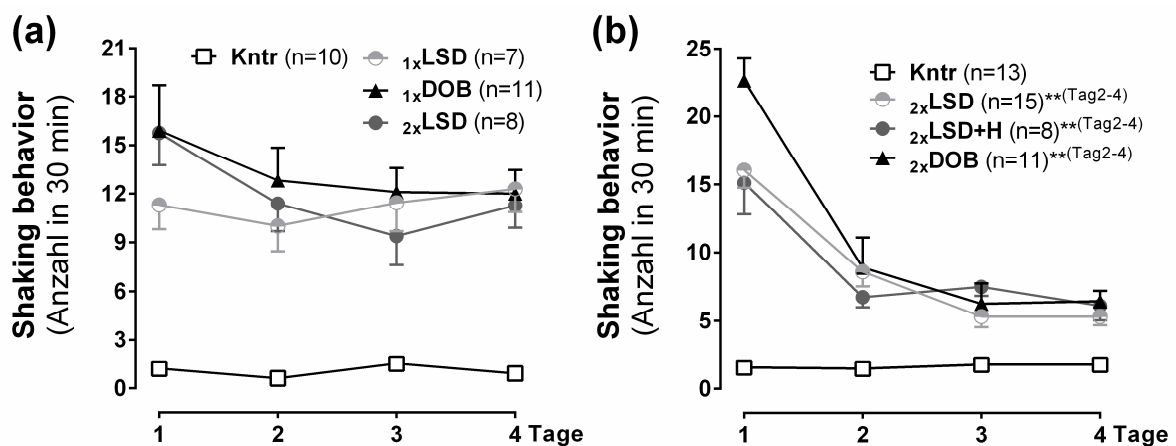


Abbildung 12: LSD- und DOB-induziertes *Shaking Behaviour* (SB) bei viertägiger Behandlung von in Gruppen beobachteten Ratten. **(a)** DOB wurde einmal ($1xDOB$: 0.25 mg/kg, i.p.), LSD ein- oder zweimal pro Tag appliziert ($1xLSD$ vs. $2xLSD$: 0.025 mg/kg, i.p.). **(b)** LSD und DOB wurden zweimal pro Tag appliziert ($2xLSD$ vs. $2xDOB$), morgens in geringer (0.025 mg/kg bzw. 0.25 mg/kg, i.p.) und abends in mittlerer Dosis (0.25 mg/kg bzw. 0.75 mg/kg, i.p.). Eine weitere Gruppe von Tieren, die die zuletzt beschriebene LSD-Behandlung erfuhr, wurde vorab über vier Tage an Kochsalz-Injektionen und Aufenthalt in den Experimentalkäfigen gewöhnt ($2xLSD-H$). Die 30-minütige Quantifizierung des SB erfolgte immer nach der morgendlichen Injektion. Anzahl (MW \pm SEM): MW-ANOVA, Bonferoni-korrigierte *Post-Hoc*-Vergleiche zur Erstapplikation (Tag1), je ** $p \leq 0.01$ (Klammerterm hinter Signifikanz-Sternen gibt an, an welchen Tagen signifikante Unterschiedlichkeit festgestellt wurde) (partiell nach Buchborn et al., 2015).

Anders hingegen verhält es sich, wenn LSD und DOB zweimal pro Tag injiziert werden, und die Dosis der abendlichen Zweitapplikation dabei auf 0.25 mg/kg LSD bzw. 0.75 mg/kg DOB (i.p.) erhöht wird. Für das jeweils nach der morgendlichen Injektion der sHG_s (0.025 LSD bzw. 0.25 mg/kg DOB) für 30 Minuten quantifizierte Auftreten von SB ergeben sich signifikante Haupteffekte für *Zeit* ($F_{[2,54, 109.39]}=77.99, p\leq.01$) und *Gruppe* ($F_{[3,43]}=31.38, p\leq.01$) sowie eine signifikante *Zeit*×*Gruppe*-Interaktion ($F_{[7,63,109.39]}=13.45, p\leq.01$) (Abb. 12b). Der größte Verlust des Ansprechens auf beide sHG_s lässt sich dabei vom ersten auf den zweiten Tag beobachten (*Post-hoc*-Vgl. Tag1 vs. Tag2, jeweils $p\leq.01$). So induziert LSD am ersten Tag 16.07 ± 1.31 , am zweiten Tag 8.6 ± 1.05 und am dritten und vierten Tag jeweils 5.33 SB-Komponenten. Das Ansprechen auf DOB nimmt – mit einem zunächst starken Abfall gefolgt von relativer Konstanz (Anzahl Tag1 [MW±SEM]: 22.64 ± 1.66 ; Tag2: 8.91 ± 2.19 ; Tag3: 6.27 ± 1.48 ; Tag4: 6.45 ± 0.76) – einen mit LSD vergleichbaren Verlauf; anders als bei LSD wird der Unterschied vom zweiten zum dritten Tag allerdings nicht mehr signifikant (*Post-Hoc*-Vgl. Tag2 vs. Tag3, n.s. [DOB]; $p\leq.05$ [LSD]). Dass die Wirkung von LSD über die Tage nachlässt, ist unabhängig davon, ob die Tiere vorab gegenüber dem experimentellen Prozedere habituiert wurden oder nicht (Abb. 12b) (*Post-Hoc*-Vgl. $2\times$ LSD vs. $2\times$ LSD-H, n.s.).

3.2 Messungen der Körperkerntemperatur (T_c): LSD-, DMT- und DOB-induzierte Thermoregulation in Abhängigkeit der Raumtemperatur

3.2.1 Effekt bei normaler Raumtemperatur (RT)

Bei normaler RT (22 °C) haben SpD-Ratten eine durchschnittliche, rektal gemessene T_c von 38.45 ± 0.04 °C (MW±SEM). Werden die Tiere mit einer geringen Dosis LSD oder DMT (0.025 bzw. 6.0 mg/kg, i.p.) behandelt und ihre T_c 20, 40 und 60 Minuten nach Behandlung erneut gemessen, zeigt sich – wie in Abbildung 13 ersichtlich – ähnlich den Kochsalzlösungsbehandelten Kontrollratten im Mittel der drei *Post*-Injektionsmessungen keine signifikante Veränderung der *Prä*-Injektionstemperatur (°C *post* [MW±SEM]: 38.47 ± 0.08 [Kochsalzlösung], 38.52 ± 0.29 [LSD] bzw. 38.22 ± 0.18 [DMT]; *Prä-Post*-Vgl., $W=9, 0.0$ bzw. -4.0 , je n.s.). Nur der selektive 5-HT₂-Agonist DOB (0.25 mg/kg, i.p.) ruft einen T_c -Anstieg hervor, der sich statistisch jedoch nur als Trend abzeichnet (°C *Prä-Post*-Vgl. [MW±SEM]: 38.45 ± 0.23 vs. 39.35 ± 0.3 ; $W=10, p=.062$). Bei erhöhter Dosis kommt es unter LSD (0.25

mg/kg, i.p.) zu leichter, aber signifikanter Hypothermie (Abb. 13) ($^{\circ}\text{C}$ *Prä-Post-Vgl.* [MW \pm SEM]: 38.67 \pm 0.12 vs. 38.17 \pm 0.16; W=-21, p=.016).

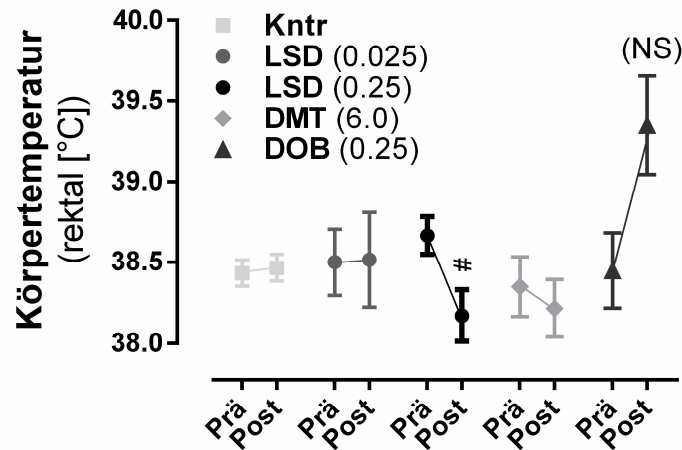


Abbildung 13: Effekt von serotonergen Halluzinogenen auf Körperkerntemperatur von Ratten bei 22 $^{\circ}\text{C}$ Raumtemperatur. LSD wurde in geringer und mittlerer (0.025 vs. 0.25 mg/kg, i.p.), DOB und DMT in geringer Dosis (0.25 bzw. 6.0 mg/kg, i.p.) getestet. Die Vorabmessung erfolgte direkt vor Injektion, die *Post*-Messungen 20, 40 und 60 min nach Injektion. $^{\circ}\text{C}$ (MW \pm SEM): *Prä-Post-Vgl.*, # p \leq .05 bzw. (NS) p \leq .1 (Trend) (n=4-6 pro Gruppe). Kntr=Kochsalz.

3.2.2 Effekt bei verminderter Raumtemperatur (RT)

Werden die Ratten nach der *Prä*-Injektionsmessung bei 22 $^{\circ}\text{C}$ in einen auf 11 $^{\circ}\text{C}$ gekühlten Käfig gesetzt und nach 30-minütigem Aufenthalt erneut gemessen, zeigt sich, dass Kochsalz-lösung-behandelte Tiere ihre Körpertemperatur (T_c) auch bei verminderter RT konstant halten (Abb. 14) ($^{\circ}\text{C}$ *Prä-Post-Vgl.* [MW \pm SEM]: 38.33 \pm 0.08 vs. 38.38 \pm 0.07; W=4, n.s.). LSD-, stärker noch DOB-behandelten Tiere (0.025 mg/kg vs. 0.25 mg/kg, i.p.) gelingt dies nicht, sie entwickeln signifikante Hypothermie ($^{\circ}\text{C}$ *Prä-Post-Vgl.* [MW \pm SEM]: 38.48 \pm 0.13 vs. 38.00 \pm 0.15 [LSD], W=-19, p=.031; 38.43 \pm 0.04 vs. 37.53 \pm 0.15 [DOB], W=-21, p=.016).

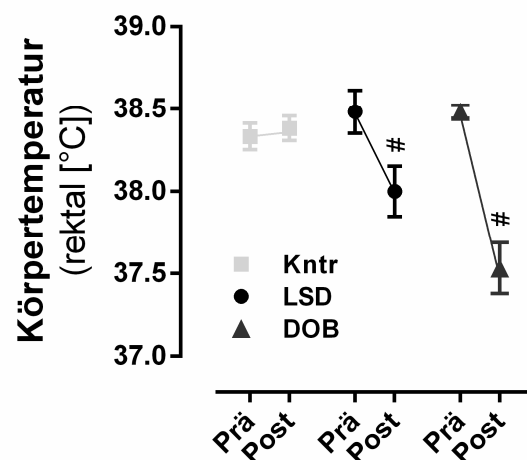


Abbildung 14: Effekt von LSD (0.025 mg/kg, i.p.) bzw. DOB (0.25 mg/kg, i.p.) auf die Körperkern-temperatur von Ratten bei 11 °C Raumtemperatur. Die Vorabmessung erfolgte direkt vor Injektion, die *Post*-Messung 30 min nach Injektion. °C (MW±SEM): *Prä-Post*-Vgl., # $p \leq .05$ ($n=6$ pro Gruppe). Kntr=Kochsalz.

3.2.3 Effekt bei erhöhter Raumtemperatur (RT) und dessen Blockade durch 5-HT_{2A}-Antagonisten

Bei erhöhter RT (33 °C) haben SpD-Ratten, die zuvor Temperatur-habituieren wurden, eine rektal gemessene Körpertemperatur (T_c) von 38.46 ± 0.47 °C (MW±SEM). Unter Behandlung mit einer geringen Dosis von LSD oder DMT (0.025 mg/kg bzw. 6.0 mg/kg, i.p.) kommt es über alle fünf *Post*-Messzeitpunkte gemittelt zu einer signifikanten T_c -Erhöhung (Abb. 15) (°C [MW±SEM]: 39.58 ± 0.09 [LSD]; 39.81 ± 0.13 [DMT]; Kruskal-Wallis=50.76, $p < .01$; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, $p \leq .05$ [LSD] bzw. $p \leq .01$ [DMT]). Die hypertherme Wirkung von LSD und DMT wird durch den selektiven 5-HT_{2A}-Agonisten DOB rekapituliert (°C [MW±SEM]: 40.01 ± 0.11 ; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, $p < .01$). Die von LSD bzw. DOB hervorgerufene Hyperthermie (HYPER) zeigt über die Dauer der Messung einen steten Anstieg; die hypertherme Wirkung von DMT erreicht nach 30 Minuten ihren Höhepunkt und beginnt dann wieder leicht zu sinken (nicht gezeigt). Der selektive 5-HT_{2A}-Antagonist MDL100907 (MDL; 0.5 mg/kg, i.p., 30 min *prä*) blockiert den LSD- und DMT-induzierten T_c -Anstieg (Abb. 15) (°C [MW±SEM]: 38.7 ± 0.12 [LSD+MDL] und 38.78 ± 0.11 [DMT+MDL]; Kruskal-Wallis=50.76 bzw. 16.78, $p \leq .01$; *Post-Hoc*-Vgl. Agonist±MDL, $p \leq .05$ [LSD] bzw. $p \leq .01$ [DMT]).

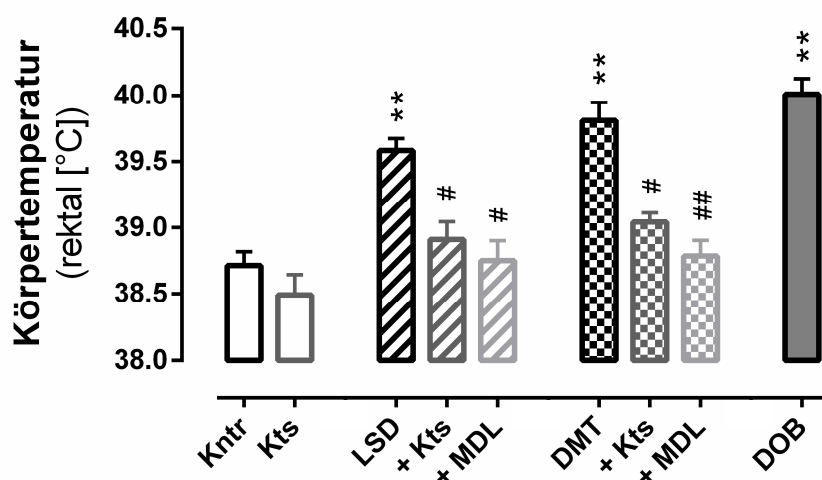


Abbildung 15: Effekt von serotonergen Halluzinogenen auf die Körperkerntemperatur (T_C) von Ratten bei 33 °C Raumtemperatur (LSD: 0.025 mg/kg, i.p.; DOB: 0.25 mg/kg, i.p.; DMT: 6.0 mg/kg, i.p.) und dessen Blockade durch Ketanserin bzw. MDL100907 (0.75 mg/kg [Kts] bzw. 0.5 [MDL] mg/kg, i.p.; 30 min *prä*). Ketanserin hat *per se* keinen Einfluss auf T_C . Messungen erfolgten 10, 20, 30, 40 und 50 min *post-injectionem*. °C (MW±SEM): Vgl. Kntr (Kochsalz), ** $p \leq 0.01$; Vgl. Agonist±Kts bzw. MDL, # $p \leq 0.05$ bzw. ## $p \leq 0.01$ (n=5-12 pro Gruppe).

Auch der selektive 5-HT_{2A>2C}-Antagonist Ketanserin (Kts; 0.5 bzw. 0.75 mg/kg, i.p.), der *per se* keinen signifikanten Einfluss auf T_C ausübt (MW±SEM: 38.49±0.13; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, n.s.) wirkt sHG-induzierter HYPERS entgegen (Abb. 15) (°C [MW±SEM]: 38.91±0.13 [LSD+Kts]; 39.04±0.07 [DMT+Kts]; Kruskal-Wallis=17.14, $p < 0.01$; *Post-Hoc*-Vgl. Agonist±Kts, $p \leq 0.05$ [LSD] bzw. $p \leq 0.01$ [DMT]).

3.2.4 Effekt bei erhöhter Raumtemperatur (RT): Hypersalivation und deren Blockade durch den 5-HT_{2A}-Antagonisten MDL100907 (MDL)

Neben Hyperthermie (HYPERS) kommt es infolge von sHG-Behandlung bei erhöhter RT (33 °C) zu verstärkter Speichel-Sekretion, welche sich in Form eines gut sichtbaren Nässefilms sowie Hautrötung um die Schnauze der Ratten abzeichnet. Wird das Vorhandensein der Hypersalivation 10, 20, 30, 40 und 50 Minuten nach Injektion bestimmt, zeigt sich, dass LSD-behandelte Tiere in 3.66±0.42 (MW±SEM) der fünf Beobachtungsintervalle Hypersalivation manifestieren; für Kochsalz-behandelte Tiere ist dies mit 0.2±0.2 Intervallen signifikant weniger (Kruskal-Wallis=17.25, $p \leq 0.01$; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, $p \leq 0.05$) (Abb. 16). LSD-induzierte Hypersalivation wird durch den selektiven 5-HT₂-Agonisten DOB (0.25 mg/kg, i.p.) rekapituliert (Anzahl positiv bewerteter Intervalle [MW±SEM]: 4.4±0.24; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, $p \leq 0.01$) und unter 30-minütiger Vorbehandlung durch den selektiven 5-HT_{2A}-Antagonisten MDL100907 (0.5 mg/kg, i.p.) blockiert (MW±SEM: 0.0±0.0; *Post-Hoc*-Vgl. LSD±MDL, $p \leq 0.05$)

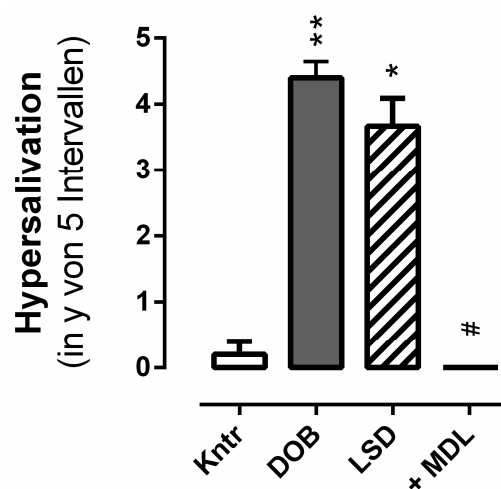


Abbildung 16: LSD- bzw. DOB-induzierte Externalisierung des Speichelflusses von Ratten bei 33 °C Raumtemperatur (LSD: 0.025 mg/kg, i.p.; DOB: 0.25 mg/kg, i.p) und deren Blockade durch MDL100907 (0.5 mg/kg, i.p., 30 min *prä*). Anzahl der Intervalle, in denen Hypersalivation als vorhanden eingestuft wurde; Einstufungen erfolgten 10, 20, 30, 40 und 50 min *post-injectionem* (MW±SEM): Vgl. Kntr (Kochsalz), * $p \leq .05$ und ** $p \leq .01$; Vgl. LSD±MDL, # $p \leq .05$ (n=5-6 pro Gruppe).

3.2.5 Effekt bei erhöhter Raumtemperatur (RT): Toleranz gegenüber LSD-, nicht jedoch DMT-induzierter Hyperthermie (HYPER) und Hypersalivation

Wird LSD zweimal täglich über vier Tage appliziert, morgens in geringer und abends in mittlerer Dosis (0.025 vs. 0.25 mg/kg, i.p.), entwickeln Ratten – anders als im Rahmen desgleichen Applikationsschemas für *Shaking Behaviour* (SB) gezeigt (s. Abb. 12b) – keine Toleranz gegenüber der jeweils morgendlich bei 33 °C gemessenen LSD-induzierten HYPER. Neben einem signifikanten Haupteffekt *Gruppe* ($F_{[1, 12]}=305.3$, $p \leq .01$), der auf Unterschiedlichkeit zur Kochsalzlösung-behandelten Gruppe hinweist, werden weder Haupteffekt *Zeit* ($F_{[3,36]}= .03$, n.s.), noch *Zeit* \times *Gruppe*-Interaktion signifikant ($F_{[3, 36]}=.22$, n.s.) (Abb. 17).

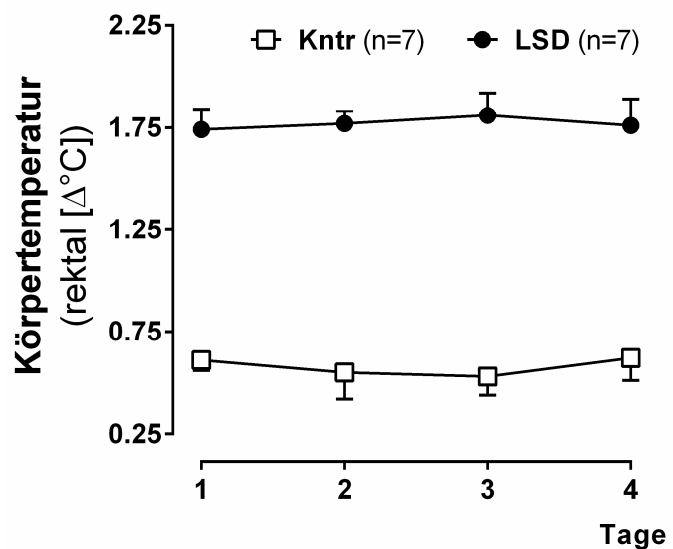


Abbildung 17: Effekt von viertägiger LSD-Behandlung auf die Körperkerntemperatur von Ratten bei 33 °C Raumtemperatur. LSD wurde zweimal pro Tag appliziert, morgens in geringer (0.025 mg/kg, i.p.) und abends in mittlerer Dosis (0.25 mg/kg, i.p.). Messung erfolgte jeweils morgens direkt vor sowie 10, 20, 30, 40 und 50 min *post-injectionem*. $\Delta^{\circ}\text{C}$ (MW±SEM): MW-ANOVA, *Zeit* \times *Gruppe*-Interaktion, n.s. Kntr=Kochsalz.

Da Toleranzentwicklung gegenüber LSD mit der Höhe der eingesetzten Einzeldosen variiert (Vgl. je $2 \times$ LSD; Abb. 12a vs. b), wurde das Applikationsschema im nächsten Schritt dahingehend angepasst, dass an den Tagen 2 und 3 nicht nur die abendliche, sondern auch die morgendliche Dosis auf 0.25 mg/kg (i.p.) erhöht wurde. Um möglichen Stress-bedingten Sensibilisierungsprozessen vorzubeugen, wurden die Ratten zudem lediglich an den Tagen 1 und 4 zur Körpertemperatur-(T_c)-Messung der erhöhten RT ausgesetzt. Wird LSD in dieser Weise appliziert, nimmt der durch das serotonerge Halluzinogen (sHG) ausgelöste T_c -Anstieg an Tag 4

– mit durchschnittlich 0.80 ± 0.09 °C (Δ °C [MW \pm SEM]) – signifikant geringere Ausmaße an als an Tag 1 (1.74 ± 0.11 °C) ($W = -76$, $p \leq 0.01$) (s. Abb. 18a). Auf einer drei-stufigen Skala bewertet, fällt auch die mit der HYPER assoziierte Hypersalivation im Mittel an Tag 4 signifikant schwächer aus als an Tag 1 (Abb. 18b) (Schweregrad [MW \pm SEM]: 1.79 ± 0.24 [Tag1] vs. 0.29 ± 0.19 [Tag4]; $W = -21$, $p = 0.031$). Für DMT auf der anderen Seite, obwohl es mit 6.0 mg/kg in geringer und 20 mg/kg in mittlerer Dosis auf LSD-analoge Weise verabreicht wurde (s. Abschn. 2.2.3), kommt es trotz der gegebenen Applikationsdichte zur keiner Toleranzausbildung (Abb. 18).

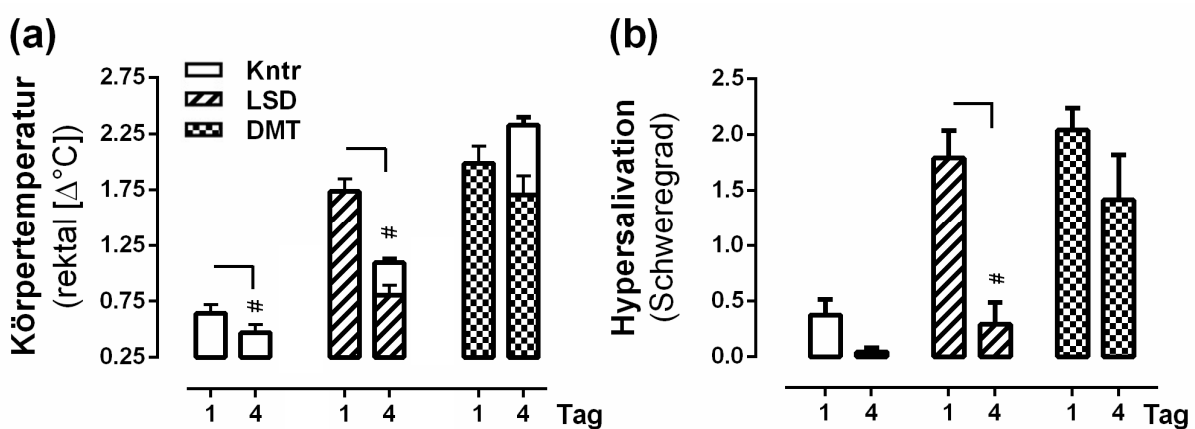


Abbildung 18: Effekt von viertägiger LSD- bzw. DMT-Behandlung auf (a) Körperkerntemperatur (T_c) und (b) Salivation von Ratten bei 33 °C Raumtemperatur. LSD und DMT wurden zweimal pro Tag appliziert; am Morgen von Tag1 und Tag4 in geringer Dosis (0.025 bzw. 6.0 mg/kg, i.p.) und am Morgen von Tag2 und Tag3 sowie jeweils abends in mittlerer Dosis (0.25 vs. 20 mg/kg, i.p.). T_c -Messung bzw. Schweregrad-Einstufung (0=nicht vorhanden, 1=schwach, 2=mittelgradig, 3=stark) erfolgten jeweils morgendlich an Tag1 und Tag4 direkt vor sowie 30 und 60 min *post-injectionem*. Δ °C bzw. Schweregrad (MW \pm SEM): Vgl. zur jeweiligen Tag1-Messung, # $p \leq 0.05$ ($n = 10-12$ [T_c] bzw. $n = 6$ [Salivation] pro Gruppe). Die um die weißen Aufsätze erweiterten Balken in der Tag4-Messung der LSD- und DMT-behandelten Tiere in (a) stellen die um die Tag1-zu-Tag4-Adaptation der Kontrolltiere (Knt=Kochsalz) normalisierten T_c -Werte dar.

Sowohl HYPER (Δ °C Tag1 vs. Tag4 [MW \pm SEM]: 1.99 ± 0.16 vs. 1.70 ± 0.17 ; $W = -36$, n.s.) als auch Hypersalivation (MW \pm SEM: 2.04 ± 0.19 vs. 1.41 ± 0.40 ; $W = 10$, n.s.), wie in Abbildung 18 dargestellt, sind am ersten und letzten Tag der viertägigen DMT-Behandlung inferenzstatistisch nicht unterscheidbar. Da sich neben den LSD- auch die Kochsalz-behandelten Tiere hinsichtlich des T_c -Anstieges signifikant von Tag 1 zu Tag 4 verändern (Δ °C Tag1 vs. Tag4 [MW \pm SEM]: 0.64 ± 0.08 vs. 0.47 ± 0.07 ; $W = -45$, $p \leq 0.01$), wurden die Δ °C-Werte der Tag4-Messungen für LSD und DMT im Weiteren um den Faktor dieser Veränderung korrigiert.

Obwohl auf deskriptiver Ebene das Ausmaß der Toleranz gegenüber LSD infolge dieser Korrektur abnimmt und sich für DMT beinahe reverse Toleranz einstellt (Abb. 18a), bleiben Signifikanz für LSD und fehlende Signifikanz für DMT erhalten ($\Delta^{\circ}\text{C}_{\text{korrigiert}} \text{Tag4}$ [MW \pm SEM]: 1.09 \pm 0.12 [LSD] bzw. 2.32 \pm 0.24 [DMT]; Vgl. Tag1, W=-66, $p \leq .01$ [LSD] bzw. W=20, n.s.).

3.3 Rezeptor-Radiomessungen zur Toleranz gegenüber LSD- bzw. DOB-induziertem *Shaking Behaviour* (SB) an Homogenaten des frontalen Kortex

Um festzustellen, ob die weiter oben beschriebene Toleranz gegenüber LSD- und DOB-induziertem SB (Abb. 12b) mit pharmakodynamischen Adaptationen der frontokortikalen 5-HT_{2A}-Glutamat-Interaktion einhergeht, wurden Homogenaten der frontalen Kortexes der toleranten Tiere bezüglich DOB-sensitiver [³H]Spiroperidol- und Glutamat-sensitiver [³H]Glutamat-Bindungsstellen sowie bezüglich DOB- und LY354740-stimulierter [³⁵S]GTP γ S-Bindungen untersucht.

3.3.1 5-HT_{2A}- und Glutamat-Rezeptorbindungskapazität im frontalen Kortex (FC) von LSD- bzw. DOB-toleranten Ratten

Wie in Abbildung 19 dargestellt zeigt sich im FC der DOB-toleranten Ratten im Vergleich zur Kochsalz-behandelten Kontrollgruppe eine signifikante Abnahme der DOB-sensitiven [³H]Spiroperidol-Bindungskapazität. Glutamat-sensitive [³H]Glutamat-Bindungen hingegen weisen keine Veränderungen auf (y-fache Veränderung [MW \pm SEM]: 0.13 \pm 0.02 [Spiro] vs. 0.85 \pm 0.18 [Glu]; Vgl. Kntr: u=5.5, $p \leq .05$ bzw. u=12, n.s.). Für die LSD-toleranten Tiere verhält es sich andersherum. Während die [³H]Glutamat-Bindungen im FC verglichen mit der Kontrollgruppe signifikant vermindert ausfallen, kommt es in Hinblick auf [³H]Spiroperidol-markierte 5-HT_{2A}-Rezeptoren lediglich im Trend zur Reduktion (y-fache Veränderung [MW \pm SEM]: 0.45 \pm 0.16 [Glu] vs. 0.37 \pm 0.26 [Spiro]; Vgl. Kntr: u=4, $p \leq .05$ bzw. u=9, $p \leq .1$). Für die DOB-behandelten Tiere korreliert die Anzahl der an Tag 4 beobachteten *Shaking Behaviour*-(SB-)Komponenten sowohl mit den [³H]Spiroperidol- als auch mit den [³H]Glutamat-Bindungen im FC ($r = .80$ bzw. $r = .84$, je $p \leq .05$); für die LSD-toleranten Ratten ist hingegen nur für das glutamaterge System eine signifikante Korrelation aufzufinden ($r = .86$, $p \leq .05$ [Glu] bzw. $r = .41$, n.s. [Spiro]).

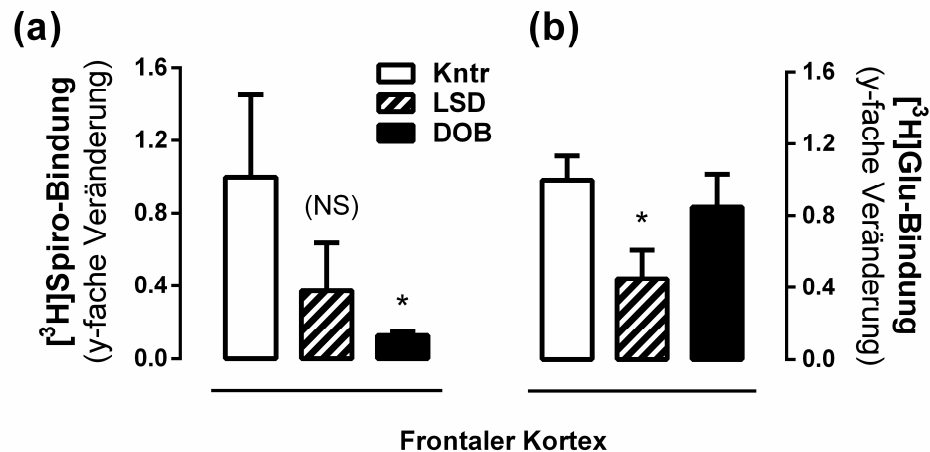


Abbildung 19: Effekt von viertägiger LSD- bzw. DOB-Behandlung auf (a) DOB-sensitive [³H]Spiroperidol- bzw. (b) Glutamat-sensitive [³H]Glutamat-Bindungen an Membranfraktionen des frontalen Kortex von Ratten. LSD und DOB wurden zweimal pro Tag appliziert, morgens in geringer (0.025 bzw. 0.25 mg/kg, i.p.) und abends in mittlerer Dosis (0.25 bzw. 0.75 mg/kg, i.p.). Die Hirn-Entnahme erfolgte 24 h nach Letztapplikation. Y-fache Veränderung (MW+SEM): Vgl. Kntr (Kochsalz), * p<0.05 bzw. (NS) p<0.1 (Trend) (n=4-6 pro Gruppe) (nach Buchborn et al., 2015).

3.3.2 5-HT₂- und mGlu_{2/3}-Rezeptor-stimulierte [³⁵S]GTPγS-Bindungen im frontalen Kortex (FC) von LSD- bzw. DOB-toleranten Ratten

Parallel zu den Befunden um die [³H]Spiroperidol-Bindungskapazität zeigt sich im FC der DOB-, nicht jedoch LSD-toleranten Ratten leichte, aber signifikante 5-HT₂-Desensibilisierung (DES), gemessen in Form eines reduzierten bzw. unveränderten Vermögens von DOB, [³⁵S]GTPγS-Bindungen zu stimulieren (Abb. 20a) (y-fache Veränderung [MW±SEM]: 0.91±0.03 [DOB] bzw. 0.96±0.05 [LSD]; Vgl. Kntr: u=4, p<0.05 bzw. u=10, n.s.). Die LY354740-induzierten [³⁵S]GTPγS-Bindungen hingegen, welche auf die G-Protein-Kopplungskapazität von mGlu_{2/3}-Rezeptoren hinweisen, erweisen sich für beide Gruppen, das heißt LSD- und DOB-behandelte Ratten als signifikant vermindert (Abb. 20b) (y-fache Veränderung [MW±SEM]: 0.86±0.03 [LSD] bzw. 0.80±0.04 [DOB]; Vgl. Kntr: u=5 bzw. u=3.0, je p<0.05). LY354740-stimulierte frontokortikale [³⁵S]GTPγS-Bindungen korrelieren negativ mit der Anzahl der *Shaking-Behaviour*-(SB-)Komponenten, die die Tiere am letzten Tag der wiederholten DOB-, nicht jedoch LSD-Behandlung zeigten (r=-.98, p<0.01 [DOB] bzw. r=.30, n.s. [LSD]). DOB-stimulierte [³⁵S]GTPγS-Bindungen weisen hingegen keine Varianzüberlappung mit dem letzttägigen SB auf (r=-.25 [DOB] bzw. r=.55 [LSD]), je n.s.).

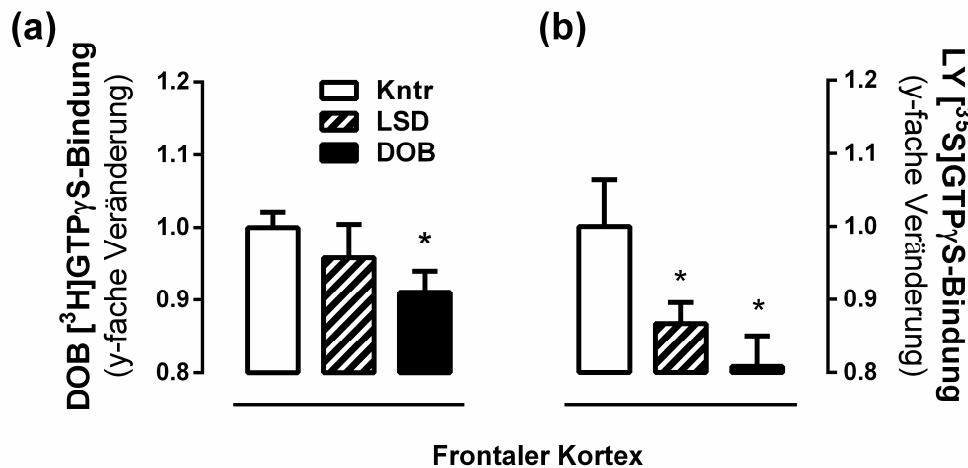


Abbildung 20: Effekt von vierstägiger LSD- bzw. DOB-Behandlung auf (a) DOB- bzw. (b) LY354740-stimulierte [³⁵S]GTPγS-Bindungen an Membranfraktionen des frontalen Kortex von Ratten. LSD und DOB wurden zweimal pro Tag appliziert, morgens in geringer (0.025 bzw. 0.25 mg/kg, i.p.) und abends in mittlerer Dosis (0.25 bzw. 0.75 mg/kg, i.p.). Die Hirn-Entnahme erfolgte 24 h nach Letztapplikation. Y-fache Veränderung (MW±SEM): Vgl. Kntr (Kochsalz), * p<.05 (n=4-6 pro Gruppe) (nach Buchborn et al., 2015).

3.4 Rezeptor-Radiomessungen zur differentiellen Toleranz gegenüber LSD- bzw. DMT-induzierter Hyperthermie (HYPER) an Hirn-Homogenaten

Um festzustellen, ob die weiter oben beschriebene Toleranz gegenüber LSD-, nicht jedoch DMT-induzierter HYPER (s. Abb. 18) mit differentiell pharmakodynamischer Regulation von zentralnervösen 5-HT_{2(A)}- und/oder Glutamat-Rezeptoren einhergeht, wurden Homogenaten verschiedener Hirnareale der (nicht-)toleranten Tiere bezüglich Cinanserin-sensitiver [³H]Spiroperidol- sowie DOB- und Glutamat-induzierter [³⁵S]GTPγS-Bindungen untersucht.

3.4.1 5-HT_{2A}-Rezeptorbindungs- sowie 5-HT₂- und Glutamat-stimulierte [³⁵S]GTPγS-Bindungskapazität im zentralen Nervensystem (ZNS)

Im frontalen Kortex (FC) der LSD-toleranten Ratten ist signifikante 5-HT₂-Desensibilisierung (DES) zu beobachten, die jedoch mit keiner Reduktion der lokalen 5-HT_{2A}-Bindungskapazität einhergeht; auch metabotrop glutamaterge (mGlu-)Transduktion zeigt keine Adaptationen auf (Abb. 21a) (y-fache Veränderung [MW±SEM]: 0.90±0.03 [DOB], 1.2±0.24 [Spiro] bzw. 1.02±0.06 [Glu]; Vgl. Kntr: u=5, p<.05; u=12 bzw. u=13.5, je n.s.). Bei den wiederholt mit DMT behandelten, nicht-toleranten Ratten kommt es zum signifikanten Anstieg von frontokortikalen 5-HT_{2A}-Bindungen (y-fache Veränderung [MW±SEM]: 1.48±0.18; Vgl. Kntr: u=4,

$p=0.026$), die im Trend mit reduzierter mGlu- und unveränderter 5-HT₂-Transduktion assoziiert ist (y-fache Veränderung [MW± SEM]: 0.89 ± 0.041 [Glu] bzw. 0.99 ± 0.042 [DOB]; Vgl. Kntr: $u=7$, $p\leq 0.1$ bzw. $u=15$, n.s.). Weder im Hypothalamus noch im Rückenmark der LSD- oder DMT-behandelten Tiere ist 5-HT₂-DES festzustellen (Vgl. Kntr: Hypothalamus, $u=6$ bzw. 7 , je n.s.; Rückenmark, $u=8$ bzw. 12 , je n.s.); lediglich im Hirnstamm zeigt sich für LSD ein Trend (Abb. 21b) (Vgl. Kntr: $u=4$, $p\leq 0.1$ [LSD] bzw. $u=5$, n.s. [DMT]).

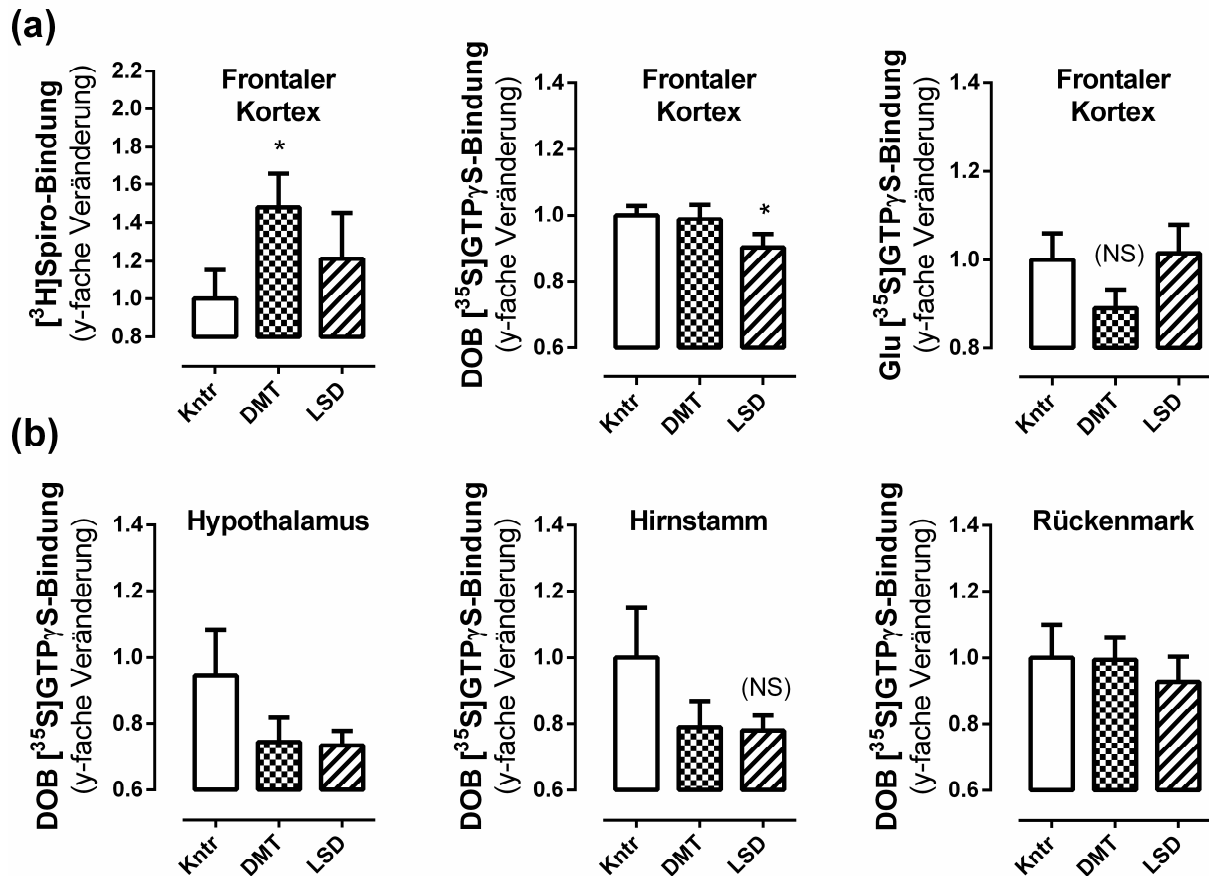


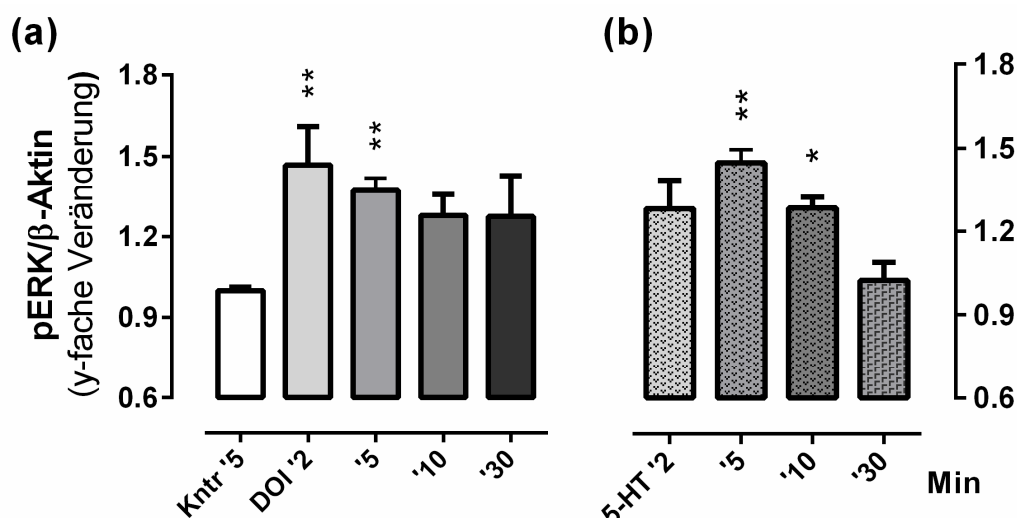
Abbildung 21: Effekt von vier tägiger LSD- bzw. DMT-Behandlung auf (a) Cinanserin-sensitive [³H]Spiroperidol-Bindungen an Membranfraktionen des frontalen Kortex (FC) von Ratten sowie auf (a) Glutamat- bzw. (b) DOB-stimulierte [³⁵S]GTP_γS-Bindungen im FC, Hypothalamus, Hirnstamm bzw. Rückenmark. LSD und DMT wurden zweimal pro Tag über vier Tage appliziert; am Morgen von Tag1 und Tag4 in geringer Dosis (0.025 bzw. 6.0 mg/kg, i.p.) und am Morgen von Tag2 und 3 sowie jeweils abends in mittlerer Dosis (0.25 vs. 20 mg/kg, i.p.). Die Hirn-Entnahme erfolgte 24 h nach Letztapplikation. Y-fache Veränderung (MW±SEM); Vgl. Kntr (Kochsalz), * $p\leq 0.05$ bzw. (NS) $p\leq 0.1$ (Trend) ($n=4-6$ pro Gruppe).

3.5 Molekularbiologische Untersuchungen zur 5-HT_{2A}-Regulation in 5-HT_{2A}-exprimierenden Zellkulturen

3.5.1 Western Blot zur Phosphorylierung der Extrazellulär-Signal-regulierten Kinasen 1 und 2 (ERK1/2)

Um zu untersuchen, ob serotonerge Halluzinogene (sHG) membranöse 5-HT_{2A}-Rezeptoren internalisieren und das für die Internalisierung (INT) relevante Enzym Phospholipase D (PLD) aktivieren, wurden HEK293-Zellen mit HA-markierten h5-HT_{2A}-Rezeptoren transfiziert. Zum Nachweis der Funktionalität des eingesetzten Rezeptor-Konstruktes wurde zunächst ein *Western Blot* zur Bestimmung der Agonist-induzierten Phosphorylierung der Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPKs) ERK1 und 2 durchgeführt.

In HA-h5-HT_{2A}-transfizierten HEK293-Zellen induziert Serotonin (5-HT; 10 µM, 2 bis 30 min) eine zeitabhängige Aktivierung von ERK1 und 2, wie die densitometrische Auswertung der phosphoERK1/2-spezifischen Banden erkennen lässt (Abb. 22c). Diese setzt nach zwei Minuten Inkubation ein, erreicht nach fünf bis zehn Minuten signifikante Werte und nähert sich anschließend wieder an das Kontrollniveau an (Abb. 22b) (y-fache Veränderung [MW±SEM]: 1.28±0.1 [2 min], 1.45±0.05 [5 min], 1.28±0.04 [10 min], 1.02±0.04 [30 min]; Kruskal-Wallis=28.61, p≤.01; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, p≤.01 bzw. p≤.05 [5 vs. 10 min]). Für den selektiven 5-HT₂-Agonisten DOI (100 nM, 2 bis 30 min) kommt es bereits nach zwei bis fünf Minuten zu signifikanter ERK1/2-Phosphorylierung, welche sich nach zehn bis 30 Minuten verliert (Abb. 22a und c) (y-fache Veränderung [MW±SEM]: 1.46±0.1 [2 min], 1.47±0.1 [5 min], 1.28±0.08 [10 min], 1.27±0.15 [30 min]; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, p≤.01 [5 und 10 min]).



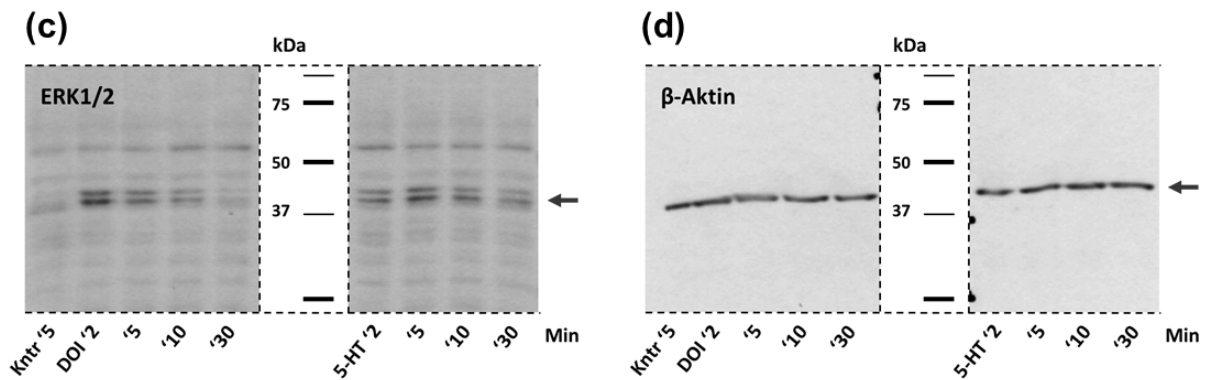
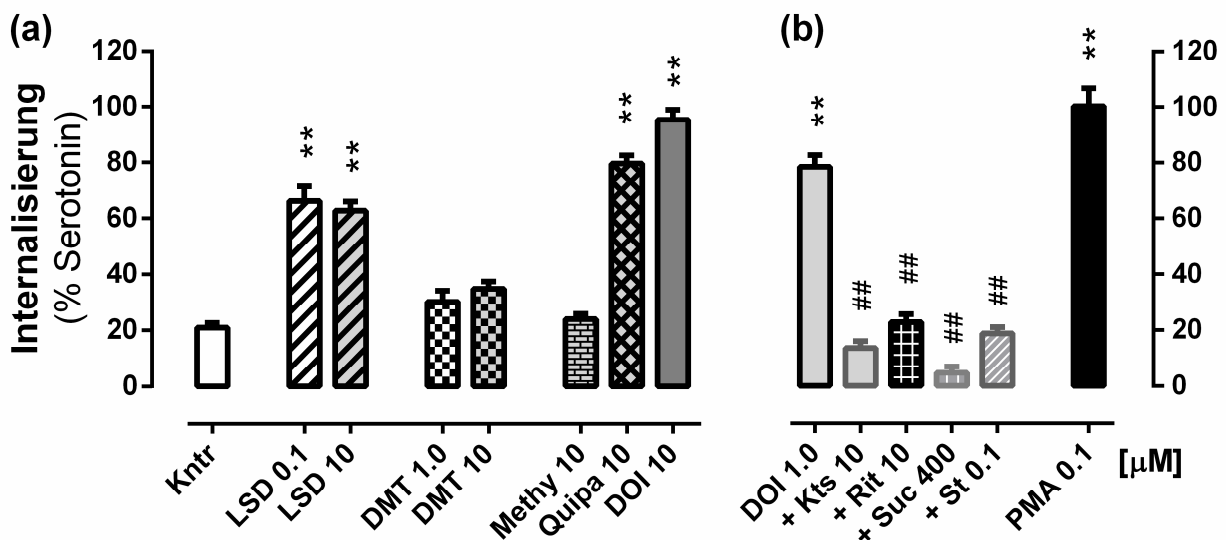


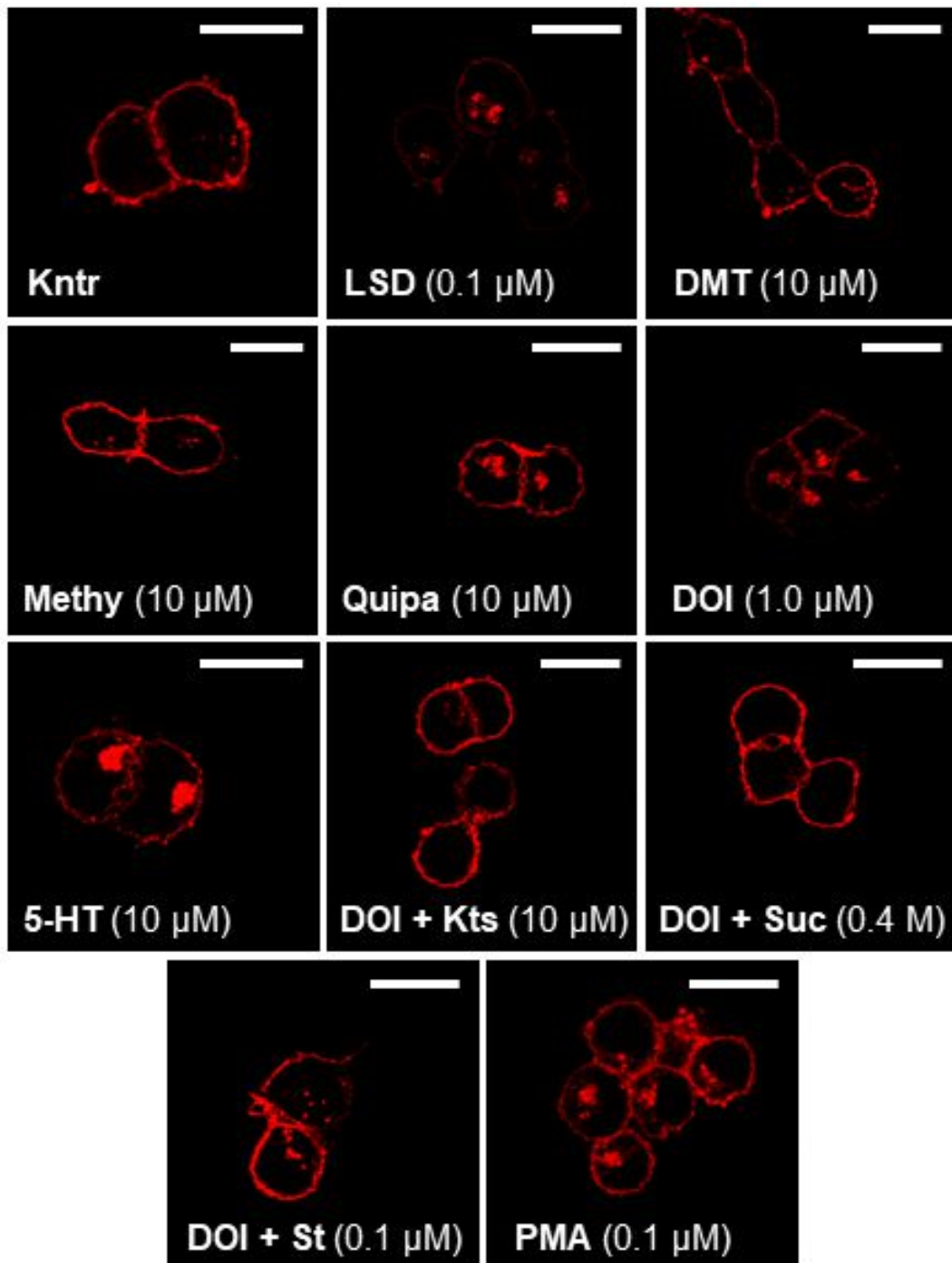
Abbildung 22: Aktivierung der Extrazellulär-Signal-regulierten Kinasen 1 und 2 (ERK1/2) durch (a) DOI (100 nM) bzw. (b) Serotonin (5-HT: 10 μM) in HA-h5-HT_{2A}-transfizierten HEK293-Zellen im Zeitverlauf über 2, 5, 10 und 30 Minuten. Y-fache Veränderung des densitometrisch erfassten zellulären phosphoERK1/2-Vorkommens nach Normalisierung an β-Aktin-Ladekontrollen (MW+SEM): Vgl. 5-Min.-Kntr (Kontrolle), * p≤.05 bzw. ** p≤.01. Zweifach-Bestimmungen mindestens zwei unabhängiger Experimente, wobei ERK1 und ERK2 jeweils als Einzelwerte in die Analyse eingegangen sind. (c-d) Repräsentative *Blots* zu (a) und (b).

3.5.2 Immunzytochemie zur Internalisierung (INT) von HA-h5-HT_{2A}-Rezeptoren

In transfizierten HEK293-Zellen internalisiert LSD Membran-ständige h5-HT_{2A}-Rezeptoren ins Zytoplasma, was in Form signifikant erhöhter Akkumulation der HA-assoziierten Immunfluoreszenz im Zellinneren erkennbar wird. Die durch LSD (0.1 bzw. 10 μM, 60 min) induzierte h5-HT_{2A}-INT erreicht 66.19±5.21 bzw. 62.71±3.27 % (MW±SEM) der Maximalwirkung des Serotonins (10 μM, 60 min) (Abb. 23 a und c) (Kruskal-Wallis=511.2, p≤.01; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, p≤.01).



(c)



(d)

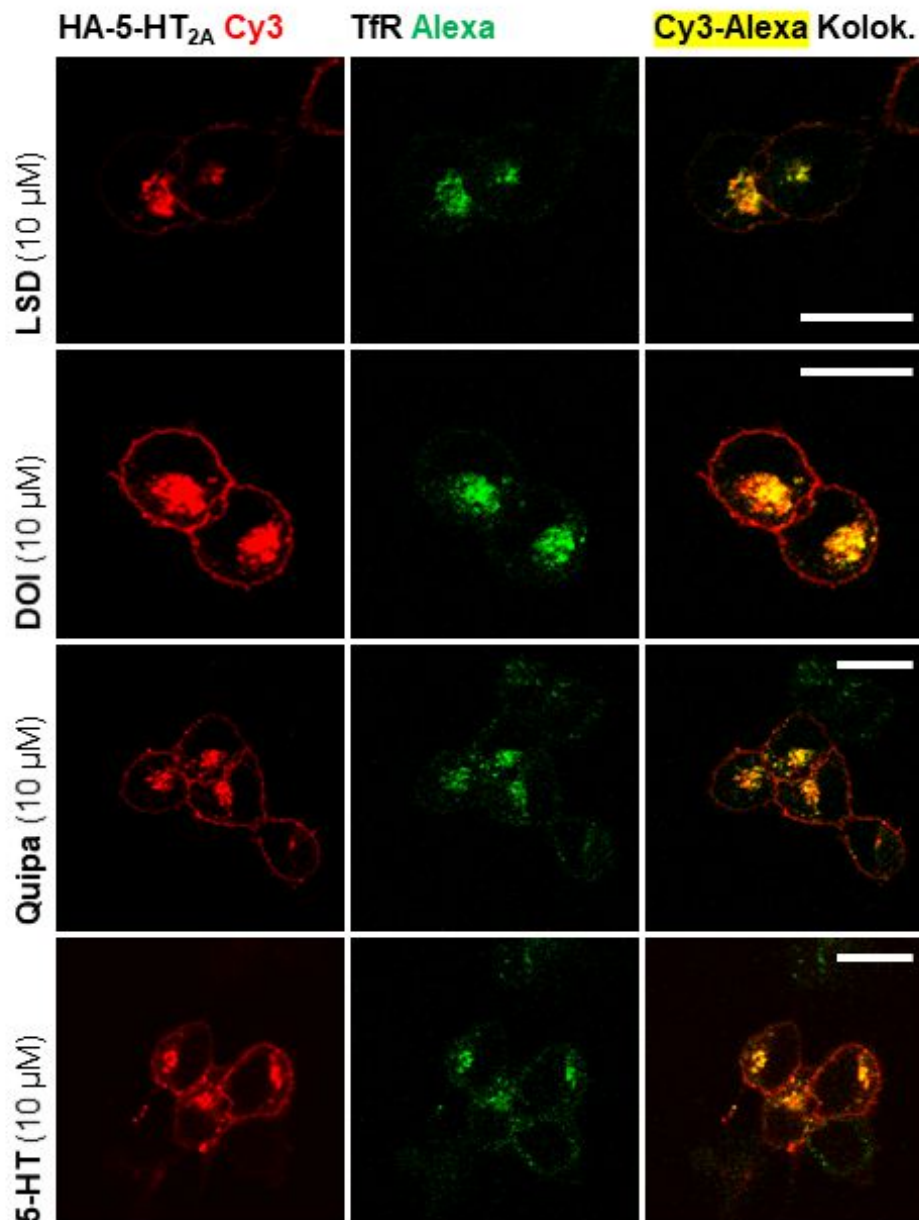


Abbildung 23: Internalisierung (INT) von HA-_h5-HT_{2A}-Rezeptoren in transfizierten HEK293-Zellen infolge der Behandlung mit **(a)** verschiedenen 5-HT_{2A}-Agonisten (LSD, DMT, Methysergid, DOI und Quipazin; 1.0 oder 10 µM, je 60 min) bzw. **(b)** PMA (Proteinkinase-C-Aktivator: 0.1 µM, 60 min). **(b)** 5-HT_{2A}-Blockade durch Ketanserin bzw. Ritanserin (Kts bzw. Rit; je 10 µM) sowie Endozytose- oder Kinase-Inhibition durch Sucrose (Suc: 0.4 M) bzw. Staurosporin (St: 0.1 µM) verhindert DOI-induzierte INT (1.0 µM, 60 min). Prozent intrazellulärer HA-Immunfluoreszenz relativ zu 10 µM Serotonin (MW+SEM): Vgl. Kntr, ** p≤.01; Vgl. DOI (1.0 µM), ### p≤.01. Zweifach-Bestimmungen mindestens drei unabhängiger Experimente (n=60 Zellen je Behandlung). **(c)** Konfokalmikroskopische Aufnahmen repräsentativer Zellen für die unter **(a)** und **(b)** genannten Behandlungen sowie für **(d)** die Kolokalisation (Kolok.) von HA-_h5-HT_{2A}- und Transferrin-Rezeptoren (TfR). HA=Cy3 (rot); Tf=Alexa (grün); HA-Tf-Kolok.=Cy3-Alexa-Überlappung (gelb). Maßstab: 20 µm.

Quipazin (10 μM , 60 min) und DOI (1.0 bzw. 10 μM , 60 min) sind mit 79.57 ± 3.09 bzw. 78.45 ± 4.24 % (% 5-HT [MW \pm SEM]) ebenfalls signifikante Internalisierer; bei 10- $\mu\text{molarer}$ Konzentration erreicht DOI (60 min) Serotonin-ähnliche Effizienz (95.35 ± 3.55) (*Post-Hoc-Vgl. Kntr*, je $p \leq 0.01$). DMT (60 min) internalisiert $h5\text{-HT}_{2A}$ -Rezeptoren weder bei 1.0- noch bei 10- $\mu\text{molarer}$ Konzentration in signifikantem Maße; auch Methysergid ist inaktiv (Abb. 23 a und c) (10 μM , 60 min) (% 5-HT [MW \pm SEM]: 30.21 ± 3.91 bzw. 34.89 ± 2.58 [DMT]; 23.94 ± 1.84 [Methy]; *Post-Hoc-Vgl. Kntr*, je n.s.). Wie in Abbildungen 23b und c dargestellt, ist die durch DOI (1.0 μM , 60 min) hervorgerufene $h5\text{-HT}_{2A}$ -INT durch den 5-HT_{2A} -Antagonisten Ketanserin sowie durch den inversen 5-HT_{2A} -Agonisten Ritanserin (je 10 μM) blockierbar. Auch Behandlung mit hypertoner Sucrose (400 mM), welche mit der Bildung von Clathrin-beschichteten Membranvertiefungen (*Clathrin-Coated Pits*) interferiert, verhindert die durch DOI (1.0 μM , 60 min) hervorgerufene $h5\text{-HT}_{2A}$ -Translokation (% 5-HT [MW \pm SEM]: 78.45 ± 4.24 [DOI], 13.57 ± 2.44 [DOI+Kts], 22.84 ± 2.81 [DOI+Rit] bzw. 4.8 ± 2.22 [DOI+Suc]; Kruskal-Wallis=169.8, $p \leq 0.01$; *Post-Hoc-Vgl. Kntr* bzw. DOI, je $p \leq 0.01$). Der direkte PKC-Aktivator PMA (100 nM, 60 min) internalisiert $h5\text{-HT}_{2A}$ -Rezeptoren in Serotonin-ähnlichem Ausmaß. Die die durch DOI (1.0 μM , 60 min) induzierte $h5\text{-HT}_{2A}$ -INT im Gegenzug lässt sich durch den Kinase-Inhibitoren Staurosporin (100 nM) blockieren (Abb. 23 b und c) (% 5-HT [MW \pm SEM]: 100.3 ± 6.44 [PMA] bzw. 18.78 ± 2.24 [DOI+St]; *Post-Hoc-Vgl. Kntr* bzw. DOI, je $p \leq 0.01$). Wie für die vier signifikanten Internalisierer gezeigt (je 10 μM , 60 min), kolokalisieren 5-HT_{2A} -Rezeptoren intrazellulär stark mit Alexa-konjugiertem Transferrin (Tf) (s. Abb. 23d), welches als Marker für endosomale Membranen gilt. Im Ausmaß der Kolokalisation zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den internalisierenden Agonisten (% Kolokalisation, *Manders-Koeffizient* [MW \pm SEM]: 49.75 ± 3.55 [5-HT]; 57 ± 5.42 [DOI]; 57.33 ± 7.00 [Quipa]; 48.66 ± 8.42 [LSD]; Kruskal-Wallis=7.88, $p = 0.048$; *Post-Hoc-Vgl.*, je n.s.).

3.5.3 Radiomessung zur Phospholipase-D-(PLD-)katalysierten Transphosphatidylierung

In HA- $h5\text{-HT}_{2A}$ -transfizierten HEK293-Zellen induziert LSD (10 nM bis 10 μM , 30 min) signifikante PLD-Aktivierung, gemessen in Form eines erhöhten Aufkommens des radioaktiv markierten Transphosphatidylierungs-(TRANS-P)-Produktes [^3H]Phosphatidylethanol ([^3H]PtdEtOH). Die stärkste PLD-Aktivierung zeigt sich bei 1.0 bis 10 μM , die halbmaximale Wirkung (EC_{50}) bei 2.52 nM (Abb. 24 bzw. 25a und b) (γ -fache Veränderung [MW \pm SEM]:

1.48±0.15 [10 nM]; 1.6±0.15 [100 nM]; 1.65±0.05 [1.0 µM]; 1.64±0.15 [10 µM]; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, p≤.05 bzw. p≤.01). Bei der geringsten getesteten LSD-Konzentration (1.0 nM, 30 min) ist kein signifikanter Anstieg des zellulären [³H]PtdEtOH zu beobachten (Abb. 24). Die PLD-aktivierende Wirkung von LSD wird durch den 5-HT_{2A/3}-Agonisten Quipazin sowie den selektiven 5-HT₂-Agonisten DOI rekapituliert (Abb. 25a) (y-fache Veränderung [MW±SEM]: 1.66±0.2 bzw. 1.58±0.15 [je 10 µM, 30 min]; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, je p≤.01).

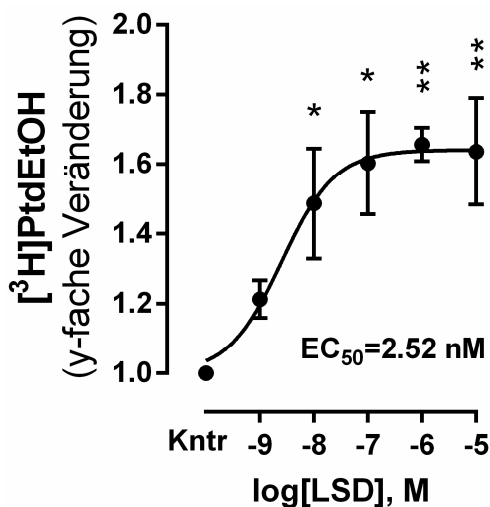


Abbildung 24: Konzentration-Wirkungsbeziehung für Phospholipase-D-Aktivierung durch LSD in HA-h₅-HT_{2A}-transfizierten HEK293-Zellen (1.0 nM bis 10 µM, 30 min; semi-logarithmische Darstellung). Y-fache Veränderung der mit Phosphatidylethanol (PtdEtOH) assoziierten [³H]Strahlung (MW±SEM): Vgl. Kntr (2 % EtOH), * p≤.05 bzw. ** p≤.01. Dreifach-Bestimmungen mindestens zwei unabhängiger Experimente. EC₅₀=Mittlere effektive LSD-Konzentration; M=Mol.

DMT und der schwache 5-HT_{2A}-Partialagonist Methysergid (je 1.0 und 10 µM, 30 min) sind hingegen inaktiv (Abb. 25a) (y-fache Veränderung [MW±SEM]: 1.02±0.04 bzw. 1.29±0.04 [DMT]; 1.2±0.06 bzw. 0.89±0.09 [Methy]; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, je n.s.). In nativen HEK293-Zellen, die keine 5-HT_{2A}-Rezeptoren exprimieren, ruft LSD (10 nM, 30 min) keinen Anstieg des zellulären [³H]PtdEtOHs hervor (Abb. 25b) (MW±SEM: 0.80±0.01; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, n.s.). Inkubation mit dem direkten PKC-Aktivator PMA (100 nM, 30 min) führt ebenfalls zu erhöhter PLD-Aktivität (MW±SEM: 3.0±0.32; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, p≤.01); anders als bei LSD manifestiert sich diese jedoch auch in Abwesenheit von h₅-HT_{2A}-Rezeptoren (MW±SEM: 3.18±0.59; *Post-Hoc*-Vgl. PMA in transfizierten vs. untransfizierten [UT] Zellen, n.s.). Über die verschiedenen Behandlungen hinweg besteht eine signifikant positive Korrelation (r=.81, p≤.01) zwischen PLD-aktivierender und h₅-HT_{2A}-internalisierender Wirkung (Abb. 25c).

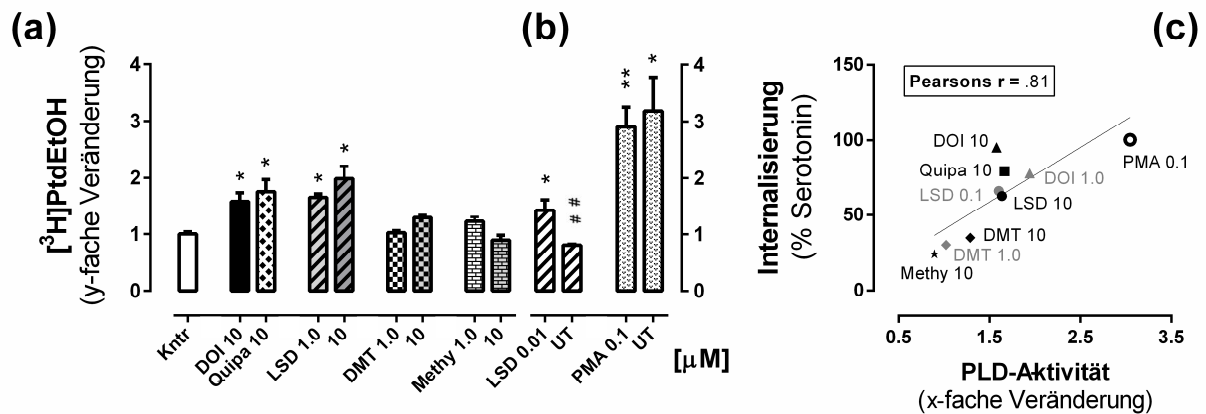


Abbildung 25: Aktivierung der Phospholipase D (PLD) durch (a) verschiedene 5-HT_{2A}-Agonisten (LSD, DMT, Methysergid, DOI und Quipazin; 1.0 und/oder 10 μM , je 30 min) bzw. (b) PMA (Proteinkinase-C-Aktivator: 0.1 μM , 30 min) in HA-h5-HT_{2A}-transfizierten HEK293-Zellen; sowie (b) durch LSD (0.01 μM , je 30 min) in transfizierten vs. untransfizierten (UT) Zellen. Y-fache Veränderung der mit Phosphatidylethanol (PtdEtOH) assoziierten [³H]Strahlung (MW \pm SEM): Vgl. Kntr (2 % EtOH), * $p \leq .05$ bzw. ** $p \leq .01$; Vgl. LSD \pm Transfektion, ## $p \leq .01$. Dreifach-Bestimmungen mindestens drei (für Quipazin zwei) unabhängiger Experimente. (c) Regression zur Korrelation (*Pearsons r*) zwischen Internalisierungs- und PLD-Aktivierungskapazität obengenannter Behandlungen (Ziffern hinter Substanz-Akronymen verweisen auf jeweils eingesetzte Konzentration [μM]).

3.5.4 Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur 5-HT_{2A}-Transkription in C6-Gliomazellen

Um zu überprüfen, ob serotonerge Halluzinogene (_sHGs) die Neusynthese von 5-HT_{2A}-Rezeptoren beeinträchtigen, wurden native C6-Zellen eingesetzt. C6-Zellen exprimieren 5-HT_{2A}-Proteine endogen, was sich in immunmarkierten *Western Blots* als Rezeptor-spezifische ~53-kDa Bande abzeichnet (Abb. 26f). Werden C6-Zellen über 4 h mit LSD (1.0 μM) inkubiert, kommt es zur signifikanten Abnahme der 5-HT_{2A}-Transkripte (Abb. 26a) (y-fache Veränderung des an β -Aktin-Transkripten [Abb. 26c] normalisierten 5-HT_{2A}-Transkript-Vorkommens [MW \pm SEM]: 1.01 \pm 0.043 [Kntr], 0.667 \pm 0.051 [LSD]; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, $p \leq .05$), welche sich in einer relativ zur Kontrolle Rechtsverschiebung der Fluoreszenzkurve abzeichnet (Abb. 26b). Die inhibierende Wirkung von LSD wird durch den selektiven 5-HT₂-Agonisten DOB (1.0 μM) sowie durch den PKC-Aktivator PMA (100 nM) rekapituliert (Abb. 26a bzw. b) (y-fache Veränderung [MW \pm SEM]: 0.672 \pm 0.098 [DOB] und 0.225 \pm 0.096 [PMA]; *Post-Hoc*-Vgl. Kntr, $p \leq .05$ und $p \leq .01$). Ketanserin und Ritanserin, so lassen präliminäre Ergebnisse vermuten, wirken ebenfalls herabregulatorisch (nicht gezeigt). Das der Analyse zugrunde liegende 5-HT_{2A}-Transkript-Amplikon, aufgereinigt und Ethidiumbromid-gefärbt (Abb. 26e), weist eine Größe von ~330 Basenpaaren (bp) auf. Restriktion durch *PvuII*

produziert zwei, Restriktion durch *Alu1* drei Transkript-Segmente. Entsprechend der Lage der enzymatischen Erkennungssequenzen innerhalb des Amplikons (Vgl. Abb. 6) sind diese ~89 und ~241 bp bzw. ~89, ~92, und ~149 bp groß. Infolge unvollständigen Schneidens durch *Alu1* ist zudem das ~241-bp-Teilstück erhalten. Die Schmelztemperatur des 5-HT_{2A}-Transkript-Amplikons liegt bei $T_M \approx 83.5$ °C (Abb. 26d).

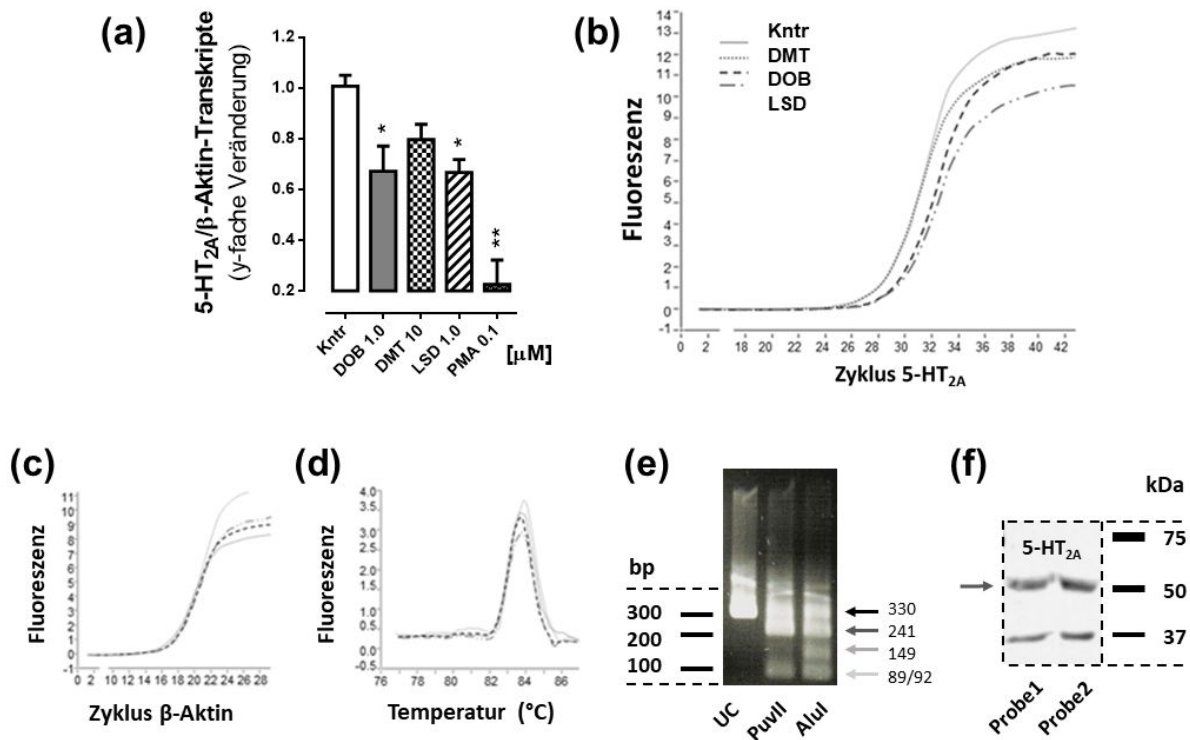


Abbildung 26: Effekt von LSD, DOB und DMT (1.0 bzw. 10 μM, je 4 h) bzw. PMA (Proteinkinase-C-Aktivator; 0.1 μM, 4 h) auf (a) 5-HT_{2A}-Rezeptor-Transkripte in nativen C6-Zellen. Y-fache Veränderung der Fluoreszenzkurven-Übertrittswerte (*Crossing-Points*) für die an β-Aktin-Transkripten normalisierte 5-HT_{2A}-Transkript-Amplifikation (MW+SEM): Vgl. Kntr, * $p \leq .05$ bzw. ** $p \leq .01$). Zweifach-Bestimmungen vier unabhängiger Experimente. Repräsentative Fluoreszenzkurven der (b) 5-HT_{2A}- bzw. (c) β-Aktin-Transkript-Amplifikation. (d) Repräsentative 5-HT_{2A}-Amplikon-Schmelzkurven für obengenannte sHG-Behandlungen. (e) Ethidiumbromid-Färbung des durch *PvuII* bzw. *AluI* enzymatisch restringierten 5-HT_{2A}-Transkript-Amplikons. (f) *Western Blot* zum Nachweis des 5-HT_{2A}-Transkript-Translationsproduktes (Zweifach-Bestimmung; Proben 1 und 2). bp=Basenpaare; kDa=Kilodalton; UC=Nicht-restringiert.

4 Diskussion

4.1 Untersuchungen zum LSD- und DOB-induzierten *Shaking Behaviour*

4.1.1 Dosis-Wirkungskurve, Einfluss von Wurfgeschwistern, Komponenten des *Shaking Behaviour* (SB) sowie Blockade durch Ketanserin

SB ist ein Säugetier-übergreifend auftretendes Symptom der Wirkung von serotonergen Halluzinogenen (sHG) (rev. Buchborn et al., 2016). In SpD-Ratten induzieren LSD und DOB, in Einklang mit der Literatur, signifikantes SB in Dosen um 0.025 bzw. 0.25 mg/kg i.p. (Abb. 7) (Wieland et al., 1990; Ouagazzal et al., 2001). Die im Vergleich zu DOB geringere Potenz von LSD wird durch seine geringere 5-HT_{2A}-Affinität und Humanpotenz widergespiegelt (Egan et al., 2000; Nichols, 2004). Dass die Maximalwirkung von LSD weit geringer ist als jene von DOB, ist gegebenenfalls auf LSDs geringere 5-HT_{2A}-Effizienz (Kurrasch-Orbaugh et al., 2003) oder Interaktion mit SB-inhibitorischen Rezeptoren zurückzuführen (Berendsen & Broekkamp, 1990). Auch dass LSD mehr *Wet Dog Shakes* (WDS) als *Head Twitches* (HTs) und DOB mehr HTs als WDS induziert (Abb. 9), ist vermutlich pharmakodynamischen Unterschieden, wie funktioneller 5-HT_{2A}-Selektivität zuzuschreiben (Parrish & Nichols, 2006). Das verstärkte Auftreten von SB in Gegenwart von vertrauten Wurfgeschwistern (Abb. 8) ähnelt Befunden zu sHG-behandelten Mäusen, welche mehr SB zeigen, wenn sie präexperimentell an den Versuchsablauf habituiert wurden (Buchborn et al., 2018). Möglicherweise steht ängstlich-muskuläre Anspannung der SB-Ausführung entgegen. Primäre 5-HT_{2A}-Beteiligung wurde durch den selektiven Antagonisten Ketanserin bestätigt, wobei sich die hierbei eingesetzte Dosis (0.75 bzw. 1.0 mg/kg, i.p.) an der Literatur orientierte (s. Abschn. 2.2.1). Da Ketanserin HTs und WDS blockiert (Abb. 10), scheint es gerechtfertigt, beide als zwei Ausprägungen desselben Verhaltens zu verstehen und – sowie hier durchgängig vorgenommen – unter dem Begriff *SB* zusammenzufassen (Vgl. Handley & Singh, 1986).

4.1.2 Tachyphylaxie (TACH) gegenüber LSD-induziertem *Shaking Behaviour* (SB)

Werden Menschen in 24-stündigen Intervallen mit LSD behandelt, zeigt sich bereits bei der Zweitapplikation eine substantielle Abnahme der psychedelischen Wirkung des serotonergen Halluzinogens (sHG) (Isbell et al., 1956), was auf TACH-Entwicklung hinweist. *Akute Toleranz* während der Ersteinnahme, also nachlassende Wirkung trotz gleichbleibenden oder ansteigenden Plasmaspiegels, tritt nicht auf (Dolder et al., 2015). Ob TACH zu beobachten ist, wenn LSD mehrfach innerhalb von 24 Stunden eingenommen wird, ist experimentell nicht untersucht worden. Anekdotenhafte Berichte lassen jedoch vermuten, dass das Intervall der wiederholten Einnahme für eine etwaige TACH-Ausbildung entscheidend ist (rev. Buchborn

et al., 2016). Unsere Experimente zum LSD-induzierten SB in SpD-Ratten weisen ebenfalls auf eine Intervall-Abhängigkeit von TACH hin. Wird LSD (0.025 mg/kg, i.p.) zweimal an einem Tag injiziert, zeigt sich bei vierstündigem Intervall starke Tachyphylaxie (TACH). Bei acht- und 24-stündigem Intervall tritt selbige vermindert bzw. gar nicht in Erscheinung (Abb. 11a). Unsere Befunde stehen in Widerspruch zu Ergebnissen in Katzen, bei welchen TACH gegenüber LSD-induziertem SB zwar auch bereits nach zwei bis sechs Stunden beobachtbar ist, statistisch aber erst bei einem 24-Stundenintervall signifikant wird (Trulson & Jacobs, 1977). In Mäusen ist das durch den selektiven 5-HT_{2A}-Agonisten 25CN-NBOH induzierte SB – die hiesigen Ergebnisse spiegelnd – hingegen stärker von TACH betroffen, wenn ein Intervall kleiner als 24 Stunden für die Zweitapplikation gewählt wird (Buchborn et al., 2018). Der Mechanismus der TACH gegenüber sHG_s ist unbekannt. Da die Applikation von 0.05 mg/kg LSD mehr SB hervorruft als die Applikation von 0.025 mg/kg (Abb. 11b), ist es unwahrscheinlich, dass die beobachtete TACH Resultat von Substanzakkumulation und einem etwaig assoziierten funktionellen Antagonismus ist. Auch motorische Erschöpfung, so legen Untersuchungen zu 25CN-NBOH nahe (Buchborn et al., 2018), scheint kein ausschlaggebender Faktor zu sein. Im Kortex von SpD-Ratten geht Zweifachapplikation des sHG DOI innerhalb von vier Stunden mit Desensitisierung (DES) der 5-HT_{2A}-vermittelten Glutamat-Ausschüttung einher (Scruggs et al., 2003); zugrundeliegenden Prozessen der 5-HT_{2A}-Regulation kommt daher am ehesten TACH-mechanistische Bedeutung zu.

4.1.3 Toleranz gegenüber LSD- und DOB-induziertem *Shaking Behaviour* (SB) und assoziierte Rezeptor-Regulation im frontalen Kortex (FC)

Toleranz gegenüber der psychedelischen Wirkung von LSD erreicht bei wiederholter Ein- bis Zweimal-Pro-Tag-Gabe beim Menschen innerhalb von drei bis vier Tagen nah-maximale Ausprägung (rev. Buchborn et al., 2016). Für DOB gibt es keine vergleichbaren Humanstudien, jedoch anekdotische Hinweise (Shulgin, 1981) sowie Befunde zur DOB-Schwester-substanz DOM, welche eine ähnlich schnelle Toleranzentwicklung vermuten lassen (Angrist et al., 1974). Bei Tieren tritt Toleranz gegenüber serotonergen Halluzinogenen (sHG_s) variabel in Abhängigkeit von Spezies, betrachtetem Verhalten sowie eingesetztem Applikations-schema auf (rev. Hintzen & Passie, 2010; Buchborn et al., 2016). Bei unseren Versuchen zu LSD- und DOB-induziertem SB in SpD-Ratten tritt Toleranz, das heißt eine über die vier Applikationstage fortschreitende Abnahme des Ansprechens auf beide sHG_s, nur bei Zweimal-, nicht jedoch Einmal-Pro-Tag-Applikation ein (Abb. 12). Da bei acht-stündigem Intervall

TACH-Residuen auftreten (s. Abschn. 4.1.2), könnte die beobachtete Toleranz anteilig TACH-Komponenten enthalten. In der Literatur ist Toleranz gegenüber LSD-induziertem SB in Katzen und Makaken (Trulson & Jacobs, 1977; Schlemmer et al., 1986) sowie in Form von Kreuztoleranz gegenüber endogenem 5-HT in Kaninchen beschrieben worden (Aloyo & Dave, 2007); Toleranz gegenüber DOB-induziertem SB bei mehrmonatiger Behandlung während einer Diskriminationsstudie in Mäusen (Benneyworth et al., 2008). Dass Toleranz gegenüber LSD und DOB tägliche Zweifachapplikation erfordert, erscheint zunächst ungewöhnlich, da in den genannten Studien in Katzen und Makaken, aber auch in Untersuchungen zu DOI in Mäusen Einmal-Pro-Tag-Applikationen ausreichend sind (Darmani et al., 1992; Smith et al., 2014). Bei Ratten finden sich jedoch üblich Mehrfach-Pro-Tag-Regimes beschrieben (Leysen et al., 1989; Chaouloff et al., 1993). Für SpD-Ratten insbesondere gibt es mit unseren Daten übereinstimmende Hinweise, dass selbst nach sieben Tagen keine SB-Toleranz auftritt, wenn DOI einmal pro Tag injiziert wird (Ross et al., 2006).

Studien, bei denen die Plasma-, Leber- und/oder Hirnkonzentration nach Ein- bzw. Mehrfachapplikation von LSD ausgewertet wurde, lassen vermuten, dass Toleranz gegenüber dem sHG auch im Kontext von SB nicht pharmakokinetisch begründet ist (Winter, 1971; Trulson & Jacobs, 1977). Auch behaviorale Habituation gegenüber dem für die Ratten ungewohnten experimentellen Prozedere, so implizieren unsere Daten, scheint keine primäre Rolle bei der fortschreitenden SB-Abnahme zu spielen (Abb. 12b; LSD vs. LSD-H). Davon ausgehend, dass Toleranz gegenüber sHG's vorrangig ein pharmakodynamisches Phänomen ist, kann dieses am besten vor dem Hintergrund unserer Untersuchungen zu den DOB-sensitiven [³H]Spiroperidol- bzw. DOB-stimulierten [³⁵S]GTPγS-Bindungsstellen im FC diskutiert werden. Toleranz gegenüber DOB geht mit signifikanter Abnahme der 5-HT_{2A}-Bindungs- sowie 5-HT₂-Effektor-Kopplungskapazität einher (Abb. 19a und 20a). Dass mehrtägige DOB-Behandlung bei SpD-Ratten kortikale 5-HT_{2A}-Herunterregulation (HR) hervorruft, deckt sich mit Befunden von *Buckholtz* und Kollegen (1988). Die reduzierte 5-HT_{2A}-Bindungskapazität im FC unserer Ratten korreliert hoch positiv mit dem reduzierten SB, das die Tiere am letzten Tag der wiederholten DOB-Behandlung an den Tag legten. Für die reduzierte 5-HT₂-Effektor-Kopplung konnte indes keine solche Korrelation gefunden werden. Letzteres hängt gegebenenfalls damit zusammen, dass DOB nicht zwischen den 5-HT₂-Subtypen diskriminiert (Porter et al., 1999) und DOB-stimulierte [³⁵S]GTPγS-Bindungen daher anteilig durch 5-HT_{2B/C}-Transduktion konfundiert sind. Im Gegensatz zur Reduktion der 5-HT_{2(A)}}-Parameter zeigt sich im FC der DOB-toleranten Ratten keine Abnahme der Glutamat-sensitiven

[³H]Glutamat-Bindungen (Abb. 19b); nichtsdestotrotz steht der glutamaterge Status in korrelativer Beziehung zur Toleranz. Dass Toleranz gegenüber DOB-induziertem SB mit Adaptationen von 5-HT_{2A}-Bindungsstellen im FC einhergeht, passt zu Befunden zu DOI und DOM (Leysen et al., 1989; Chaouloff et al., 1993; Dougherty & Aloyo, 2011). Bei Ratten, die infolge der viertägigen Zweimal-Pro-Tag-Behandlung tolerant gegenüber LSD wurden, kommt es in unserer Studie im Trend ebenfalls zu reduzierter 5-HT_{2A}-Bindungskapazität ($p \leq .1$) (Abb. 19a); 5-HT₂-Transduktion ist jedoch unverändert (Abb. 20a) und keiner der beiden Parameter korreliert mit Toleranz gegenüber LSD. Ungleich seines nur geringen Effektes auf 5-HT_{2(A)}-Rezeptoren ruft LSD eine signifikante Abnahme der Glutamat-Bindungskapazität im FC hervor (Abb. 19b); diese weist zudem eine hoch positive Korrelation zur Toleranz gegenüber LSD auf. LSD hat keine Affinität zu Glutamat-Rezeptoren (Ray, 2010), sodass die beobachtete glutamaterge HR nur indirekt aufgetreten sein kann. Ausgehend von der Hypothese, dass SB auf 5-HT_{2A}-bedingte Glutamat-Freisetzung im FC zurückzuführen ist (s. Abschn. 1.1.4.2), ist vorstellbar, dass Glutamat-Rezeptoren infolge des 5-HT_{2A}-bedingten Glutamat-Überangebots herunterregulieren und somit auf 5-HT_{2A}-nachgeschalteter Ebene Toleranz hervorrufen. Dass DOB anders LSD zwar 5-HT_{2A}-, nicht jedoch Glutamat-Rezeptoren reguliert, beide sHG's jedoch in ähnlicher Weise Toleranz hervorrufen, stünde in Einklang mit der vorgeschlagenen Komplementarität beider Transmitter-Systeme. Warum unsere Tiere nach mehrtägiger LSD-Behandlung kaum Anzeichen auf 5-HT_{2A}-Regulation aufweisen, erscheint zunächst unklar. So wurde zum Beispiel in *Wistar*-Ratten gezeigt, dass fünftägige Behandlung mit LSD (0.13 mg/kg, s.c.) mit Toleranz gegenüber den diskriminativen Eigenschaften des sHG einhergeht, welche von kortikaler 5-HT_{2(A)}-HR und -Desensibilisierung (DES) begleitet ist. Auch bei Kaninchen tritt nach achttägiger LSD-Injektion 5-HT_{2A}-HR im FC auf, die mit Kreuztoleranz gegenüber 5-HT-induziertem SB einhergeht (rev. Buchborn et al., 2016). Neben Stamm- bzw. Spezies-spezifischen Eigenheiten und der Tatsache, dass in genannten Arbeiten abweichende Liganden zur 5-HT_{2A}-Markierung eingesetzt wurden, mag vor allem auch der Zeitfaktor zur Unterschiedlichkeit der Befundlage beitragen. In unserer Studie wurde LSD nicht fünf oder acht, sondern nur vier Tage appliziert. Obwohl vier Tage bei dem gewählten Zweimal-Pro-Tag-Regime ausreichen, um Toleranz gegenüber LSD auszulösen (Abb. 12b), bedarf kortikale 5-HT_{2A}-HR offenbar längerer (und/oder Dosis-intensiverer) Applikations-schemata (Vgl. 4.2.3). In der Tat demonstrieren Studien um den SpD-Stamm, dass fünf- bzw. zehntägige Behandlung mit LSD (0.13 bis 0.26 mg/kg, i.p.) kortikale 5-HT_{2(A)}-

Bindungsstellen herabreguliert, dreitägige Behandlung jedoch nicht (Buckholtz et al., 1985; Buckholtz et al., 1990).

In scheinbarer Übereinstimmung mit der oben vorgeschlagenen Relevanz des frontokortikalen Glutamat-Systems für die Entstehung von Toleranz zeigen unsere Ergebnisse im Weiteren, dass wiederholte Behandlung mit LSD bzw. DOB metabotrope Glutamat-Rezeptoren vom Typ 2/3 (mGlu_{2/3}) im FC desensibilisiert (Abb. 20b). Dass 14-tägige DOB-Gabe bei Mäusen die Fähigkeit von mGlu_{2/3}-Agonisten herabsetzt, SB zu blockieren, spiegelt unsere neurochemischen Befunde auf Verhaltensebene wider (Benneyworth et al., 2008). mGlu_{2/3}-DES im FC stellt gegebenenfalls eine homologe Anpassung an das sHG-induzierte Überangebot synaptischen Glutamats dar (Muschamp et al., 2004) oder ist heterolog begründet auf Signal-Interaktionen innerhalb des 5-HT_{2A}-mGlu₂-Heterokomplexes zurückzuführen (Gonzalez-Maeso et al., 2008). Für DOB zeigt sich eine hoch negative Korrelation zwischen Toleranz und reduzierter mGlu_{2/3}-Transduktion. Dass vor allem bei jenen Tieren, die wenig tolerant sind, eine stark ausgeprägte mGlu_{2/3}-DES aufzufinden ist, steht in Einklang damit, dass mGlu_{2/3}-Rezeptoren DOB-induziertes SB primär blockieren (Benneyworth et al., 2007). Für LSD konnte allerdings keine solche Korrelation gefunden werden. Für sich genommen implizieren die Korrelationskoeffizienten also, dass mGlu_{2/3}-DES – obwohl auf den ersten Blick stimmig mit der oben diskutierten Idee, dass glutamaterge Adaptationen Toleranz begünstigen – in keiner Beziehung zur Toleranz steht oder letzterer gar entgegenwirkt. Funktionell sind vor allem mGlu-Rezeptoren vom Typ 2 relevant für SB (Benvenega et al., 2018). Da der von uns bei der [³⁵S]GTPγS-Bindungsanalyse eingesetzte Agonist nicht zwischen mGlu₂- und mGlu₃-Rezeptoren unterscheidet (Schoepp et al., 1997), kann eine Interpretation des korrelativen Rezeptor-Verhaltenszusammenhangs hier indes nur als präliminär betrachtet werden.

4.2 Untersuchungen zur LSD- und DMT-induzierten Thermoregulation

4.2.1 Effekt von Dosis sowie Wechselwirkung mit Raumtemperatur (RT)

Dass sHGs thermoaktive Substanzen sind, ist für eine Vielzahl von Säugertieren beschrieben worden; die umfangreichste Befundlage zum Beispiel zu LSD besteht jedoch für Kaninchen (Horita & Hill, 1972). Bei SpD-Ratten, so dokumentieren unsere Ergebnisse, übt LSD bei normaler RT (22 °C) in der für *Shaking Behaviour* (SB) optimalen Dosis (0.025 mg/kg, i.p.) (s. Abschn. 4.1.1) keinen signifikanten Einfluss auf die Körpertemperatur (T_c) aus (Abb. 13).

Wird die Dosis verzehnfacht (0.25 mg/kg, i.p.), kommt es zu leichter Hypothermie. Literaturwerte, nach denen LSD gering dosiert bei normaler RT die T_c von Ratten kaum beeinflusst, selbige in mittleren Dosen jedoch vermindert (Cerletti, 1956; Shemano & Nickerson, 1958; Staehlin & Taeschler, 1959), stehen in Einklang mit unseren Befunden. Variation der RT verleiht der ansonsten thermoinaktiven LSD-Dosis (0.025 mg/kg i.p.) Aktivität und lässt T_c in Richtung der RT ausschwenken (Abb. 14 und 15); so entwickelt sich bei verminderter RT (11 °C) leichte Hypothermie und bei erhöhter RT (33 °C) Hyperthermie (HYPER). Dass bereits eine geringe Dosis LSD (0.016 mg/kg) bei Ratten in Gegenwart einer Infrarotlampe Wärme-Fluchtverhalten auslöst (Murakami et al., 1980) und eine ansonsten hypotherme 0.5-mg/kg-Dosis bei 33 °C RT hypertherm wirkt (Shemano & Nickerson, 1958), spiegelt unsere Ergebnisse zur LSD-RT-Interaktion wider. LSD-induzierte HYPER geht mit einem sich von der Schnauze über den Hals ausbreitenden Nässefilm sowie mit Rötung des unterliegenden Hautgewebes einher (Abb. 16). Da den Tieren während der *Post*-Messungen keine Wasserflaschen bereitgestellt wurden, ist der Nässefilm wahrscheinlich auf erhöhten Speichelfluss und die Hautrötung auf die diesen versorgende Durchblutung zurückzuführen. Untersuchungen zum *Wistar*-Stamm legen nahe, dass Ratten eine stark eingeschränkte Schweißdrüsen-Verteilung aufweisen (Ring & Randall, 1947). Hypersalivation während Hitzestress und behaviorale Benässung der Körperoberfläche mit Speichel gelten daher, auch für SpD-Ratten gezeigt, als zentrales der evaporativen Kühlung dienendes Thermoregulativ (Hainsworth, 1967; rev. Hainsworth & Stricker, 1970).

Anders als LSD hat DMT in unserer Studie über eine große Dosen-Bandbreite kein verlässliches SB hervorgerufen. Bei Mäusen ist DMT-induziertes SB nicht in allen Stämmen zu beobachten (Fantegrossi et al., 2006) und bei Ratten ist es (wenn überhaupt) von stark ausgeprägten Symptomen des Serotoninsyndroms begleitet (Jenner et al., 1980); letztere, vor allem die die Grobmotorik der Tiere prädominierende *Flat Body Posture*, scheinen mit der motorischen Manifestation des SBs zu interferieren. Um die Thermoaktivität beider sHG's dennoch sinnvoll vergleichen zu können, musste zur Festlegung einer LSD-adäquaten DMT-Dosis aus der Literatur extrapoliert werden (s. Abschn. 2.2.1 bzw. 2.2.3). In Einklang mit den Ergebnissen von Blair (1997), welcher 4.0 mg/kg des sHG applizierte, übt DMT (6.0 mg/kg, i.p.) bei 22 °C RT keinen signifikanten Effekt auf die T_c von SpD-Ratten aus (Abb. 13); ähnlich LSD scheint DMT erst in mittleren Dosen hypotherm zu wirken (Blair, 1997). Wird DMT allerdings bei 33 °C RT injiziert, gewinnt die sonst thermoinaktive Dosis (6.0 mg/kg, i.p.) hypertherme Eigenschaften. Das mittlere Ausmaß des durch DMT ausgelösten T_c -Anstiegs ist (für

den von uns gewählten 50-minütigen Beobachtungszeitraum) mit jenem von LSD vergleichbar und in ähnlicher Weise von Hypersalivation begleitet (Abb. 15 und 18b). Anders als die LSD-induzierte HYPER, welche einen relativ stet zunehmenden Verlauf nimmt, beginnt die DMT-induzierte HYPER nach der 30-Minuten-Messung wieder leicht abzunehmen (nicht gezeigt). Dass LSD und DMT unterschiedlich lange wirken, stimmt mit Resultaten zur HYPER beim Kaninchen überein (Domino, 1976) und ist vermutlich der raschen Desaminierung DMTs geschuldet. Tatsächlich kann der durch DMT hervorgerufene T_C -Anstieg beim Kaninchen durch Monoaminoxidase-Hemmung prolongiert werden (Moore et al., 1975).

4.2.2 Rekapitulation durch den selektiven 5-HT₂-Agonisten DOB sowie Blockade durch die selektiven 5-HT_{2A}-Antagonisten Ketanserin und MDL100907

Sowohl LSD- als auch DMT-induzierte Hyperthermie (HYPER) weist hohe Sensitivität gegenüber 30-minütiger Vorbehandlung mit Ketanserin (0.5 bzw. 0.75 mg/kg, i.p.) auf, wobei Ketanserin (0.75 mg/kg, i.p.) *per se* thermoinaktiv ist (Abb. 15). SpD-spezifische Literatur, nach der die durch DOI unter erhöhter Raumtemperatur (RT: 33 °C) ausgelöste HYPER durch Ketanserin (5.0 mg/kg, s.c.) antagonisiert wird (und Ketanserin *per se* zwar einen leichten, aber nicht signifikant hypothermen Effekt ausübt) (Zhang & Tao, 2011), spiegelt unsere Befunde wider. Ketanserin, generell Antagonist der ersten Wahl, hat hohe Präferenz für 5-HT_{2A}-Rezeptoren, interagiert jedoch ebenfalls mit H₁- und geringer affin mit 5-HT_{2C}- und α_1 -Rezeptoren (Ki database; z.B. Leysen et al., 1981). Obwohl die Sensitivität der LSD- und DMT-induzierten HYPER gegenüber dem 5-HT_{2A>2C}-Antagonisten Cinanserin bei Kaninchen (Carino & Horita, 1977; Domino et al., 1977), gleich der von uns gefundenen Ketanserin-Sensitivität, auf eine starke 5-HT_{2(A)}-Komponente der Thermoaktivität beider sHG's hinweist, wurden zur pharmakologischen Untermuerung hier zusätzlich der selektive 5-HT₂-Agonist DOB sowie der selektive 5-HT_{2A}-Antagonist MDL100907 herangezogen. Letzteres ist Ketanserin in Bezug auf allgemeine Selektivität (Ki database; z.B. Kehne et al., 1996) sowie 5-HT_{2A}-über-5-HT_{2C} Präferenz überlegen (Knight et al., 2004). DOB wurde in einer für *Shaking Behaviour* (SB) optimalen Dosis (0.25 mg/kg, i.p. [s. Abschn. 4.1.1]) injiziert und rekapituliert die Wirkung von LSD und/oder DMT dahingehend, dass es bei verminderter RT (11 °C) Hypothermie (Abb. 14) und bei gehobener RT (33 °C) HYPER mit Hypersalivation hervorruft (Abb. 15 und 16). DOB wirkt unter den drei getesteten sHG's am stärksten hypertherm, was sich statistisch in einem höheren Signifikanzniveau bezüglich Hypersalivation sowie in einem Trend zur HYPER bereits bei normaler RT (22 °C) bemerkbar macht (Abb. 13 und 16).

Ähnliches zeigt die Literatur zu den DOB-Schwestersubstanzen DOI und DOM. Beide induzieren bei SpD-Ratten bereits bei normaler RT HYPER, wobei die Wirkung von DOI durch ambiente Wärme potenziert und durch ambiente Kälte blockiert wird (Zhang & Tao, 2011; Serafine & France, 2014). Da ihre hypertherme Wirkung ebenfalls Ketanserin- bzw. Cinanserin-sensitiv ist (Horita & Hill, 1972; Mazzola-Pomietto et al., 1995), sprechen die Befunde zu den drei Dimethoxyamphetaminen für die obengenannte Vermutung, dass halluzinogene HYPER primär 5-HT_{2(A)}erg ist. Die MDL100907-Sensitivität der LSD- und DMT-induzierten HYPER und – so für LSD gezeigt – der damit assoziierten Hypersalivation (Abb. 15 und 16) verdichtet selbigen Schluss in Richtung 5-HT_{2A} vor 5-HT_{2C} und unterstreicht somit die Validität der sHG-induzierten, durch umweltliche Wärme gebahnten HYPER als Tiermodell der ebenfalls 5-HT_{2A}-begründeten psychedelischen Humanwirkung.

4.2.3 Differentielle Toleranz gegenüber LSD- und DMT-induzierter Hyperthermie (HYPER) und assoziierte Rezeptor-Regulation im zentralen Nervensystem

Bei Menschen rufen LSD und DMT bei normaler Raumtemperatur (RT) einen leichten Anstieg der Körpertemperatur (T_C) hervor (Strassman & Qualls, 1994; Dolder et al., 2015; Schmid et al., 2015). Toleranz gegenüber LSD-induzierter HYPER (wenn auch nur in einer von drei Publikationen statistisch abgesichert) ist nach zweiwöchiger Behandlung beobachtet worden (rev. Buchborn et al., 2016). Da in nämlichen Arbeiten nur *Prä*- und *Post*-Wert erfasst wurden, ist jedoch unklar, in welcher Weise sich Toleranz während der zwei Wochen ausbildete. Für DMT-induzierte HYPER ist *in humano* selbst bei zeitlich stark gedrängter Wiederholungsapplikation keine Toleranz festzustellen (Strassman et al., 1996).

Trotz des gleichen Behandlungsschemas, welches unsere SpD-Ratten (mit morgendlich 0.025-mg/kg und abendlich 0.25-mg/kg) hinsichtlich *Shaking Behaviour* (SB) tolerant werden ließ (Abb. 12b), ist die bei erhöhter RT durch LSD (0.025 mg/kg, i.p.) hervorgerufene HYPER über die vier Beobachtungstage keiner Toleranz unterworfen (Abb. 17). Dass sich Toleranz gegenüber SB einstellt, während HYPER erhalten bleibt, ist ebenfalls für DOI demonstriert worden (Pranzatelli & Pluchino, 1991). Die gefundene differentielle Toleranzentwicklung weist darauf hin, dass die an SB bzw. HYPER beteiligten 5-HT_{2(A)}-Rezeptor-Populationen in Agonist-Sensitivität (Zhang et al., 2009) und/oder Regionalität möglicherweise nicht vollständig miteinander kongruent sind. Fungiert LSD-Wärme-Interaktion zudem als akuter Stressor, könnte ferner eine durch diesen gebahnte 5-HT_{2A}-Hochregulation (HoR) (Torda et al., 1988) Toleranz-nivellierend wirken. Dem Szenario der Hitzestress-bedingten

Gegen-Sensibilisierung sowie der Dosisabhängigkeit von Toleranz Rechnung tragend wurde das viertägige Applikationsschema im nächsten Schritt dahingehend moduliert, dass (a) die Tiere ausschließlich an Tag 1 und 4 der erhöhten RT ausgesetzt wurden und dass (b) an den Tagen 2 und 3 nicht nur die abendliche, sondern auch die morgendliche LSD-Dosis auf 0.25 mg/kg gesteigert wurde. Derart injiziert ist die durch LSD ausgelöste HYPERSALIVATION an Tag 4 um knapp 54 % geringer ausgeprägt als an Tag 1 und der sich einstellende T_c -Anstieg kaum größer als jener, den die Kontrolltiere an Tag 1 in Reaktion auf die warme Umgebung zeigten (+0.64 °C [Kochsalzlösung] vs. +0.80 °C [LSD]) (Abb. 18a). Diese nahezu komplette Toleranz gegenüber LSD, welche auch in fehlender Hypersalivation Manifestierung findet (Abb. 18b), steht im Gegensatz zum weitgehend gleichbleibenden Ansprechen auf das analog zu LSD eingesetzte DMT, dessen Thermoaktivität bei erhaltenem Speichelfluss an Tag 4 bei rund 85% der Tag-1-Wirkung liegt. Unter Korrektur der Tag1-Tag4-Differenz entlang der bei den Kontrollratten beobachteten Akklimatisierung wird das Ausbleiben der Toleranz gegenüber DMT zusätzlich verdeutlicht (Abb. 18a und b). Die bei Kaninchen durch LSD und DMT hervorgerufene HYPERSALIVATION – wenn auch bisher nie innerhalb einer Studie parallel untersucht – entwickelt innerhalb von vier bis fünf Tagen circa 64% bzw. 40%ige Toleranz. Dass für LSD eine Einmal-Pro-Tag-Applikation ausreicht (Gogerty & Dille, 1956), wohingegen für DMT eine Zweimal-Pro-Tag-Applikation von Nöten scheint (Quock et al., 1981), unterstreicht die verminderte Toleranz-Anfälligkeit gegenüber DMT. Bei Affen ist Toleranz gegenüber LSD- und DMT-induziertem SB vergleichbar differentiell gestaltet (Schlemmer & Davis, 1986). Da SB bei Affen (ähnlich HYPERSALIVATION bei Nagern sowie Psychedelia bei Menschen) sensitiv gegenüber 5-HT_{2A}-Blockade ist (Schlemmer et al., 1979), weisen die hier diskutierten Befunde insgesamt stark darauf hin, dass LSD und DMT 5-HT_{2A}-Rezeptoren differentiell regulieren.

Dies wird auch durch die Ergebnisse unserer Radioligand-Bindungsuntersuchungen gestützt. So zeigt sich im frontalen Kortex (FC) der LSD-toleranten Ratten eine kleine, aber signifikante Abnahme der 5-HT₂-G-Protein-Kopplung, während bei den DMT-behandelten, nicht-toleranten Tieren erhöhte 5-HT_{2A}-Bindungskapazität zu beobachten ist (Abb. 21a). Dass eine viertägige Behandlung mit LSD nicht ausreicht, um kortikale 5-HT_{2A}-Bindungsstellen zu regulieren, ist bereits im Zusammenhang mit SB festgestellt und diskutiert worden (s. Abschn. 4.1.3). Auffällig ist jedoch, dass LSD bei den HYPERSALIVATION-, nicht jedoch SB-Versuchen 5-HT₂-Rezeptoren im FC desensibilisiert. Da sich die Versuchsanordnung zur *Thermotoleranz* nur hinsichtlich der morgendlichen Dosis-Erhöhung an Tag 2 und 3 von jener der SB-Toleranz unterscheidet, scheint es, dass neben der Länge der Behandlung auch die Dosen der Einzel-

applikationen von regulatorischer Relevanz sind. In der Tat gibt es Hinweise, dass fünftägige Behandlung mit 0.13 mg/kg, nicht jedoch 0.065 mg/kg LSD kortikale 5-HT_{2(A)}-Rezeptoren herabreguliert (Buckholtz et al., 1990). sHG-induzierte 5-HT_{2A}-Hochregulation (HoR) scheint zunächst ungewöhnlich, ist regional und Zelltyp-abhängig jedoch auch für Dimethoxyamphetamine beschrieben worden (Chen et al., 1995; Doat-Meyerhoefer et al., 2005). Dass DMT die 5-HT_{2A}-Bindungskapazität im FC erhöht, trägt gegebenenfalls dazu bei, dass einige psychische Effekte bei wiederholter Ayahuasca-Gabe *in humano* eher zu- als abnehmen (Dos Santos et al., 2012). Die sich als Trend im FC abzeichnende Desensitisierung (DES) der glutamatergen Signaltransduktion (Abb. 21a) ist dabei – wie in Abschnitt 4.1.3 bereits für LSD vorgeschlagen – gegebenenfalls ein Versuch, dem 5-HT_{2A}-bedingten Glutamat-Überangebot homöostatisch entgegenzuwirken. sHGs können in die Thermoregulation eingreifen, indem sie über vermutlich hypothalamisch und/oder spinal gelegene (Lin et al., 1998; Maeshima et al., 1998) sympathische 5-HT_{2A}-Rezeptoren braunes Fettgewebe bzw. kutane Vasokonstriktion für Thermogenese und -konservierung rekrutieren (Blessing & Seaman, 2003; Ootsuka & Blessing, 2006). Da durch unsere [³⁵S]GTPγS-Bindungsuntersuchungen weder im Hypothalamus noch im Rückenmark 5-HT₂-DES aufgezeigt werden konnte und selbige im Hirnstamm nur als Trend zu beobachten ist (Abb. 21b), muss differentielle Toleranz hier zunächst jedoch vor dem Hintergrund kortikaler (und/oder Hirnstamm-sässiger) Rezeptor-Adaptationen verstanden werden. sHGs interferieren über somatodendritische 5-HT_{1A}-Autorezeptoren, aber auch über auf frontokortikalen Projektionsneuronen sitzende 5-HT_{2A}-Rezeptoren (Vázquez-Borsetti et al., 2008) mit der Aktivität der serotonergen Raphe-Kerne (Martín-Ruiz et al., 2001; Sharp et al., 2007). Dies untergräbt deren Funktion als Thermorelais (Dickenson, 1977) und trägt zu LSD-induzierter HYPERTHERMIE bei (Murakami et al., 1980). Fällt infolge wiederholter LSD-, nicht jedoch DMT-Applikation die *Top-Down*-Interferenz frontokortikaler 5-HT_{2A}-Rezeptoren weg, ist dies gegebenenfalls ein Grund dafür, dass sich *Thermotoleranz* gegenüber den beiden sHGs differentiell entwickelt. Auch dass LSD anders als DMT im Trend 5-HT₂-Rezeptoren im Hirnstamm desensitisiert (Abb. 21b), mag ergänzend Beitrag leisten. sHGs modulieren mitunter über Hirnstamm-sässige 5-HT_{2(A)}-Rezeptoren die Aktivität des noradrenergen Locus Coeruleus (rev. Szabo & Blier, 2001). Da der Locus Coeruleus als Teil des Fieberternetzes thermorelevante Areale des Hypothalamus innerviert (Jones & Moore, 1977; Almeida et al., 2004), kann das Wegfallen des 5-HT₂ergen Einflusses LSD hier gegebenenfalls einen weiteren Angriffspunkt zur Thermointerferenz nehmen. Obwohl der *Top-Down*-Einfluss von 5-HT_{2(A)}-Rezeptoren im FC auf die Raphe-Kerne wie oben vorgeschlagen

durchaus thermorelevant sein mag (Beig et al., 2009; Nakamura, 2015), sei jedoch zu betonen, dass es unwahrscheinlich ist, dass halluzinogene Thermoregulation primär kortikal vermittelt ist (Neuhold et al., 1957). Dass unsere Radiomessung zur DOB-induzierten [³⁵S]GTPγS-Bindung keine signifikanten 5-HT₂-Adaptationen jenseits des FC aufgedeckt hat, ist vielleicht vermindert methodischer Sensitivität in Arealen geringer 5-HT_{2A}-Expression geschuldet (Regard et al., 2008) oder darauf zurückzuführen, dass DOB nicht zwischen 5-HT_{2A}- und 5-HT_{2C/2B}-Rezeptoren diskriminiert. 5-HT₂-Subtypen adaptieren bisweilen unterschiedlich (Mazzola-Pomietto et al., 1996; Smith et al., 1998), sodass sich die differentiellen Kopplungskapazitäten in der gemessenen DOB-Transduktion gegebenenfalls nivellieren.

4.3 Untersuchungen zur Agonist-induzierten 5-HT_{2A}-Regulation in Zellsystemen

4.3.1 Agonist-induzierte HA-h5-HT_{2A}-Kopplung an Extrazellulär-Signal-regulierte Kinasen (ERK1/2) in stabil transfizierten HEK293-Zellen

Zum Nachweis der Funktionalität des in den Folgeversuchen eingesetzten HA-markierten h5-HT_{2A}-Konstruktes wurde die Agonist-induzierte Phosphorylierung der Mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPKs) ERK1 und 2 untersucht. ERK1 und 2 sind in einer Vielzahl von Zellsystemen als Komponenten der 5-HT_{2A}-Transduktion beschrieben worden. Involviert sind mitunter die kanonische Ras-Raf-MEK-Kaskade sowie die Tyrosinkinase-Aktivität von Wachstumsfaktor-Rezeptoren oder Src (Garnovskaya et al., 2004; Gööz et al., 2006; Tsuchioka et al., 2008). 5-HT_{2A}-ERK-Interaktionen finden sich in Prozessen wie Aorten-Konstriktion (Florian & Watts, 1998), Neurotrophin-Regulation (Tsuchioka et al., 2008) oder NMDA-Rezeptor-Transport innerhalb von Pyramidenzellen (Gonzalez-Maeso et al., 2008). Auch DOI-induziertes *Shaking Behaviour* (SB) ist von ERK-Phosphorylierung im frontalen Kortex (FC) begleitet (Abbas et al., 2009). Während Serotonin (5-HT) in non-transfizierten HEK293-Zellen keine ERK-Phosphorylierung stimuliert (Knauer et al., 2009), ruft es in Gegenwart von HA-h5-HT_{2A}-Rezeptoren einen durch Antikörper nachweisbaren Anstieg des intrazellulären phosphoERK-Gehaltes hervor (10 μM, 2 bis 30 min); dieser ist nach fünf Minuten maximal und nimmt dann wieder ab (Abb. 22b). Der mitogene Effekt 5-HTs wird durch den selektiven 5-HT₂-Agonisten DOI (100 nM, 2 bis 30 min) rekapituliert, wobei dieser bereits nach zwei Minuten maximal wirkt (Abb. 22a). Dass 5-HT und/oder DOI in 5-HT_{2A}-exprimierenden Systemen ERK-Phosphorylierung stimulieren, ist in ähnlicher Weise in C6-

Glioma (Tsuchioka et al., 2008), im FC (Schmid et al., 2008) sowie in mit Wildtyp- oder mit HA-markierten 5-HT_{2A}-Rezeptoren transfizierten HEK293-Zellen demonstriert worden (Knaauer et al., 2009; Karaki et al., 2014). Letzteres und die Tatsache, dass sich das hier verwendete HA-h5-HT_{2A}-Konstrukt auch in Hinblick auf Bindungsstellen sowie Phospholipase-C/D-Aktivität nicht vom Wildtyp-Rezeptor unterscheidet (Robertson et al., 1999), unterstreicht dessen Tauglichkeit für die folgend diskutierten funktionellen Versuche.

4.3.2 Agonist-induzierte HA-h5-HT_{2A}-Internalisierung (INT) sowie Aktivierung der Phospholipase D (PLD) in stabil transfizierten HEK293-Zellen

INT ist für einen Großteil der Serotonin-(5-HT-)Rezeptor-Subtypen beschrieben worden (rev. Darmon et al., 2015) und wird zum Beispiel für μ -Opioid- und CB₁-Cannabinoid-Rezeptoren als wichtiges Regulativ für Toleranzentwicklung gegenüber Opioiden bzw. Tetrahydrocannabinol (THC) diskutiert (Martin et al., 2004; Koch & Höllt, 2008). Unsere Ergebnisse zum 5-HT_{2A}-Rezeptor zeigen, dass LSD, DOI und Quipazin eine mittlere bis starke, mit dem vollen Agonisten 5-HT (1.0 bzw. 10 μ M, 1 h) vergleichbare INT hervorrufen. Unter Behandlung mit DMT und Methysergid (1.0 bzw. 10 μ M, 1 h) hingegen bleiben 5-HT_{2A}-Rezeptoren überwiegend mit der Plasmamembran assoziiert (Abb. 23). Dass die Endozytose von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) Agonist-spezifisch abläuft, ist unter anderem auch für μ - und CB₁-Rezeptoren bekannt (Hsieh et al., 1999; Koch et al., 2005). Für 5-HT_{2A}-Rezeptoren ist Ligand-selektive INT durch Antagonisten beobachtet worden (Willins et al., 1999). In unserer Studie wird DOI-stimulierte 5-HT_{2A}-INT durch den 5-HT_{2A}-Antagonisten Ketanserin sowie den inversen Agonisten Ritanserin (je 10 μ M) blockiert (Abb. 23b und c), was auf homologe Regulation hinweist. Dass Ketanserin, welches auch Quipazin-induzierter 5-HT_{2A}-INT entgegenwirkt, dabei anders als zum Beispiel der 5-HT_{2A}-Antagonist Clozapin keine oder nur geringe INT hervorruft (Berry et al., 1996; Raote et al., 2013), kann durch unsere Beobachtung bestätigt werden (nicht gezeigt). Eine Studie zur Frage warum die 5-HT_{2A}-Agonisten Ergotamin und Lisurid nicht halluzinogen wirken, legt nahe, dass diese *anders* als LSD und DOI in der Lage sind, 5-HT_{2A}-Rezeptoren zu internalisieren (Karaki et al., 2014). Eine derartige Systematik kann durch unsere Ergebnisse jedoch nicht gestützt werden. Der starke Internalisierer DOI, der mittelstarke Internalisierer LSD und der Nicht-Internalisierer DMT wirken alle halluzinogen (Shulgin & Shulgin, 1997). Der 5-HT_{2A/3}-Agonist und starke Internalisierer Quipazin scheint in ausreichender Dosis und unter Blockade 5-HT₃-assoziierter Emesis ebenfalls halluzinogen zu wirken (Shulgin et al., 2011). Das nicht-internalisierende

Methysergid – ein schwacher, früher in der prophylaktischen Migräne-Therapie eingesetzter 5-HT_{2A}-Agonist (Rothman et al., 2000) – weist in suprathérapeutischer Dosis ebenfalls Psychoaktivität auf (Abramson & Rolo, 1965), welche jedoch wahrscheinlich dessen aktivem Metaboliten Methylergonovin zuzuschreiben ist (Ott & Neely, 1980). Warum unsere Ergebnisse von jenen von *Karaki* et al. abweichen, ist unklar. Dass DOI 5-HT_{2A}-Rezeptoren internalisiert, ist jedoch bereits in HEK293-Zellen (Soman et al., 2019), Mäuse-Fibroblasten (Schmid et al., 2008) sowie im Rattenhirn demonstriert worden. Auch LSD internalisiert zu unseren Daten passend kortikale 5-HT_{2A}-Rezeptoren (Martin & Nichols, 2016). DOI-vermittelte 5-HT_{2A}-INT ist Sucrose-sensitiv (Abb. 23b und c), sodass Endozytose in Clathrin-Käfigen wahrscheinlich ist (Hansen et al., 1993). Dass Quipazin-internalisierte 5-HT_{2A}-Rezeptoren mit Clathrin, nicht jedoch Caveolin kolokalisieren (Willins et al., 1998) und dass die über 5-HT_{2A}-INT erfolgende Polyomavirus-Infektion von HEK293-Zellen durch genetische Clathrin-Defizienz verhindert wird, deckt sich mit diesem Schluss (Mayberry et al., 2019). Innerhalb der Zelle kolokalisieren internalisierte 5-HT_{2A}-Rezeptoren mit Transferrin-(Tf-)Rezeptoren in perinukleären Kompartimenten (Abb. 23d), was ebenfalls auf Clathrin-vermittelte Endozytose sowie auf Sequestrierung in späten Endosomen hinweist (Ullrich et al., 1996; Christofides et al., 2018). Dass internalisierte 5-HT_{2A}-Rezeptoren mit Rab11 (Ras-assoziiertes Bindungsprotein 11), nicht jedoch mit LAMP1 (Lysosom-assoziiertes Membranprotein 1) kolokalisieren (Baldys & Raymond, 2011), lässt ferner vermuten, dass zunächst kein lysosomaler Abbau, sondern Rezyklisierung erfolgt. DOI-stimulierte 5-HT_{2A}-INT wird durch den Kinase-Hemmer Staurosporin blockiert und in Abwesenheit von DOI durch den Proteinkinase-C-(PKC-)Aktivator PMA rekapituliert (Abb. 23b und c). PKC-Beteiligung wird auch dadurch impliziert, dass 5-HT_{2A}-INT Sensitivität gegenüber selektiver PKC-Inhibition aufweist (Bhattacharyya et al., 2002) und mit PKC-Translokation zur Plasmamembran, 5-HT_{2A}-Serine²⁹¹-Phosphorylierung sowie 5-HT_{2A}-PKC-Kosequestrierung in Rab11-positiven perinukleären Kompartimenten einhergeht (Idkowiak-Baldys et al., 2009; Raote et al., 2013). 5-HT_{2A}-PKC-Kopplung erfolgt über das Gq-PLC-Diazylglyzerol-(DAG-)Modul (Carr et al., 2002). Da DOI, LSD und DMT in diesem Modul ähnlich effizient sind (Braden & Nichols, 2007), kann ihre differentielle INT-Leistung allerdings nicht primär PKC-bedingt sein. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Internalisierer DOI, LSD und Quipazin die PLD-unterstellte Transphosphatidylisierung (TRANS-P) anstoßen, während die Nicht-Internalisierer DMT und Methysergid scheitern (je 1.0 bzw. 10 µM, 30 min) (Abb. 25a). Die Potenz von LSD liegt bei 2.5 nM (EC₅₀) (Abb. 24) und ist somit jener nahe, die in r5-HT_{2A}-transfizierten

NIH/3T3-Zellen bestimmt wurde ($EC_{50}=9.7$ nM) (Parrish & Nichols, 2006). Dass die PLD-Aktivierung 5-HT_{2A}-bedingt ist, wird durch die 5-HT₂-Selektivität DOI's sowie das Ausbleiben der LSD-stimulierten Reaktion in untransfizierten Zellen impliziert (Abb. 25a und b). Im FC der Ratte wird DOI-induzierte PLD-Aktivierung durch MDL100907 blockiert (Barclay et al., 2011), was eine 5-HT_{2A}-Beteiligung fernerhin untermauert. Ähnlich der 5-HT_{2A}-INT selbst wird TRANS-P auch in Abwesenheit eines 5-HT_{2A}-Agonisten durch PMA stimuliert (100 nM, 30 min) (Abb. 25b), sodass ein PLD-PKC-Dialog im INT-Prozess wahrscheinlich erscheint. Dass 5-HT_{2A}-INT und PLD-Aktivität in Ausmaß über die verschiedenen Behandlungen (einschließlich PMA) hinweg hoch korrelieren (Abb. 25c) und dass sowohl 5-HT_{2A}- als auch PKC-Sequestrierung PLD-abhängig abläuft (Becker & Hannun, 2004; Idkowiak-Baldys et al., 2009), bekräftigt diese Annahme. 5-HT_{2A}-PLD1-Kopplung erfolgt Gq-unabhängig unter Wechselwirkung mit der GTPase ARF1 (Adenosyl-Ribosylierungsfaktor 1), welche Agonist-stimuliert zur Membran transloziert, wo 5-HT_{2A} und PLD1 konstitutiv assoziiert sind (Robertson et al., 2003; Barclay et al., 2011); auch endosomal ist 5-HT_{2A}-PLD1-Kolokalisation zu beobachten (Idkowiak-Baldys et al., 2009). Das Portfolio potentieller PLD1-Bindungspartner lässt vermuten, dass die primäre Funktion des Enzyms Vesikelvermittelte Endo-/Exozytose ist (Jang et al., 2012). PLD-Beteiligung an INT ist neben 5-HT_{2A}- mitunter für CB₁- und μ -Rezeptoren demonstriert worden (Koch et al., 2006). Hinsichtlich letzterer, unsere Ergebnisse zu 5-HT_{2A}-Rezeptoren spiegelnd, erweisen sich ausschließlich PLD-aktive Agonisten als starke Internalisierer (rev. Williams et al., 2013). Welche Rolle der PLD und ihrem PKC-Dialog bei Rezeptor-INT zukommt, ist nicht vollends verstanden. PLC, primärer Interaktionspartner der kanonischen 5-HT_{2A}-Gq-Transduktion, und PLD generieren die Membran-ständigen Lipid-Effektoren DAG und Phosphatidsäure (PA) (rev. Becker & Hannun, 2005). Beide Lipide begünstigen eine Negativkrümmung der Membran (Szule et al., 2002; Kooijman et al., 2005), wie sie im Halsbereich eines sich formenden Vesikels von Nöten ist. PKC bindet an DAG, wird durch dieses aktiviert und scheint bei der Bildung des Rezyklisierungsperezentrions sowie der *post*-endozytotischen Sortierung internalisierter Proteine involviert zu sein (Alvi et al., 2007; Callender & Newton, 2017). PLD bindet mitunter an das eigene Substrat PA, um so ihre Bindungsstelle für den Clathrin-Lipid-Adapter 2 (AP2) freizulegen. Zudem kann sie unabhängig von ihrer Lipase-Aktivität als GTPase-aktivierendes Protein fungieren und die Zuschnürung des Dynamin-Polymerringes um den Vesikel-Hals bahnen (Lee et al., 2006; Lee et al., 2009). Die Agonist-induzierte Herbeiführung dieser, den PLD-PKC-Dialog umgebenden Prozesse ist es dann womöglich, welche über

das Zustandekommen der 5-HT_{2A}-INT entscheidet. Warum DMT hier hinsichtlich der PLD-Komponente scheitert, kann nur spekuliert werden. Interessant ist, dass die Bindung des für die PLD-Aktivierung bedeutsamen Arf1 in Gegenwart des multifunktionalen Lipid-AP2-Clathrin-Adapters β -Arrestin 2 begünstigt wird (Robertson, 2005; Tian et al., 2014); anders als LSD (Wacker et al., 2017) rekrutiert DMT nämlich kein β -Arrestin 2 (Blough et al., 2014).

4.3.3 Agonist-induzierte 5-HT_{2A}-Transkript-Regulation in nativen C6-Zellen

Einer der ersten Schritte im Weg zum funktionalen, Membran-inkorporierten G-Proteingekoppelten Rezeptor (GPCR) ist die Transkription des GPCR-kodierenden Gens zu mRNA, wobei GPCRs dabei Einfluss auf die Synthese von Proteinen ihres eigenen Subtyps nehmen können (z.B. Yu et al., 2003; Villares, 2007). Dass C6-Zellen nativ 5-HT_{2A}-Rezeptoren exprimieren, ist bekannt (Elliott et al., 1995) und von uns zusätzlich zu dem im Folgenden besprochenen Transkript-Vorkommen anhand eines 5-HT_{2A}-spezifischen Antikörpers nachgewiesen worden (Abb. 26f); die Identität des 5-HT_{2A}-Transkript-Amplikons wurde mittels Restriktions- und Schmelztemperatur-Analyse verifiziert (Abb. 26d und e). Bei vierstündiger Behandlung mit LSD (1.0 μ M) kommt es zu signifikanter Abnahme des zellulären 5-HT_{2A}-Transkript-Gehaltes (Abb. 26a und b). Präliminäre Daten um Ketanserin und Ritanserin weisen in Einklang mit Befunden zu Mianserin (Toth & Shenk, 1994) darauf hin, dass 5-HT_{2A}-Antagonismus *per se* ebenfalls Transkript-herabregulatorisch wirkt (nicht gezeigt), sodass der Effekt von LSD pharmakologisch hier nicht eindeutig auf dessen 5-HT_{2A}-Interaktion zurückgeführt werden kann. Da es der selektive 5-HT₂-Agonist DOB (1.0 μ M, 4 h) LSD jedoch gleicht tut, scheint eine homologe Komponente wahrscheinlich. DMT ist – obwohl es relativ zu LSD und DOB in erhöhter Konzentration (10 μ M, 4 h) eingesetzt wurde – inaktiv (Abb. 26a und b). Eine Reduktion des C6-zellulären 5-HT_{2A}-Transkript-Vorkommens ist in der Literatur auch infolge von Serotonin-(5-HT-)Behandlung beschrieben worden, wobei parallel eine Herunterregulation (HR) von 5-HT_{2A}-Bindungsstellen zu verzeichnen war (Toth & Shenk, 1994; Anji et al., 2001). LSD hat keinen Einfluss auf das 5-HT_{2A}-Transkript-Vorkommen in humanen Blutzellen (Dolder et al., 2017) und führt in hypophysären Tumor-Zellkulturen der Ratte zur Hochregulation (HoR) desgleichen. Dass vor allem das zelluläre Milieu entscheidend dafür ist, wie 5-HT_{2A}-Transkripte auf Agonist-Behandlung ansprechen, zeigt sich darin, dass auch 5-HT in P11-Zellen nicht herab-, sondern hochregulierend wirkt (Ferry et al., 1994). Die Mechanismen der Agonist-induzierten 5-HT_{2A}-Transkript-Regulation sind nicht gut verstanden, scheinen in C6-Zellen jedoch eher transkriptionell als über Modulation der

Transkript-Stabilität zu laufen. PMA reguliert 5-HT_{2A}-Transkripte Agonist-unabhängig herab (Abb. 26a) und die 5-HT-bedingte HR ist von Proteinkinase-(PKC-)Translokation zum Zellkern begleitet (Anji et al., 2001). Der Promoter des 5-HT_{2A}-Gens HTR2A trägt eine Konsensus-Sequenz für das Aktivator-Protein 1 (AP-1) (Garlow et al., 1994), dessen Untereinheiten c-fos und/oder c-jun mitunter hemmend auf 5-HT_{2A}-Transkription wirken (Garlow & Ciaranello, 1995). LSD und DOB induzieren AP-1-Komponenten infolge ihrer 5-HT_{2A}-Aktivität (González-Maeso et al., 2007). Da PMA in C6-Zellen gleiches tut (Lee et al., 2001), ist die durch die beiden serotonergen Halluzinogene hervorgerufene Transkript-HR gegebenenfalls auf eine über 5-HT_{2A}-PKC-AP-1 vermittelte Hemmung der HTR2A-Transkription zurückzuführen. Warum DMT keinen solchen Effekt ausübt, ist unklar. Anders als in HEK293-Zellen (Vindis et al., 2001) ist in C6-Glioma (Aktivität der) Monoaminoxidase nachweisbar (Nagatsu et al., 1981), sodass hier zusätzlich zu pharmakodynamischen auch metabolische Faktoren um unterschiedlich lange Wirkdauern eine Rolle spielen können.

4.4 Abschließendes Resümee und Ausblick

Mit den wichtigsten unserer Ergebnisse demonstrieren wir, dass die wiederholte Applikation des serotonergen Halluzinogens (sHG) LSD in SpD-Ratten mit Toleranz gegenüber dessen 5-HT_{2(A)}erge Effekte auf *Shaking Behaviour* (SB) und Thermoregulation einhergeht. Toleranz bildet sich differentiell aus, sodass bei LSD-induzierter Hyperthermie (HYPER) ein stärkeres Applikationsschema mit höheren Zwischendosen von Nöten ist als bei SB. Differentielle Toleranz gegenüber unterschiedlichen Effekten eines sHG birgt wichtige Sicherheitsimplikationen, da eine Überdosierung mit dem Ziel, psychedelische Toleranz zu überwinden, gerade bei sHGs geringeren therapeutischen Fensters mitunter gravierende somatische Nebenwirkungen haben kann (Eichorn, 1981). Toleranz gegenüber LSD, so lassen unsere Daten zur SB-Tachyphylaxie vermuten, hängt nicht nur von der Dosis, sondern auch vom Intervall der Applikation ab. Dabei ist Toleranz wahrscheinlicher, wenn die Intervalle eng gewählt sind, die Gegenwart von LSD also kontinuierlich ist. Toleranz gegenüber DOB-induziertem SB, welche sich LSD-gleich nur bei Zweimal-, nicht jedoch Einmal-Pro-Tag-Applikation einstellt, steht in Einklang mit diesem Schluss. DMT, welches aufgrund seiner dem Serotoninsyndrom nahen Pharmakodynamik nicht bezüglich SB untersucht werden konnte, weist in Bezug auf seine 5-HT_{2A}erge Thermoaktivität anders als LSD keine Toleranz-Anfälligkeit auf. Differentielle Toleranz macht sich somit nicht nur für verschiedene Effekte einer Substanz, sondern

auch für den gleichen Effekt verschiedener Substanzen einer Klasse bemerkbar. Toleranz gegenüber LSD und DOB geht mit 5-HT_{2(A)}-regulatorischen Prozessen einher, die Ligand-Bindungs- und/oder G-Protein-Kopplungskapazität im frontalen Kortex (FC) vermindern; DMT führt hingegen zu erhöhten 5-HT_{2A}-Bindungen. Nach möglichen Ursachen gefragt, zeigen unsere *In-Vitro*-Versuche, dass LSD und DOB bzw. DOI 5-HT_{2A}-Rezeptoren internalisieren und das HTR2A-Transkript zur 5-HT_{2A}-Synthese herunterregulieren, DMT jedoch nicht. Paradoxaerweise, so lassen Cannabis- und Opioid-Forschung vermuten, steht Internalisierung (INT) der zellulären Desensibilisierung (DES) eher entgegen als diese zu begünstigen (Koch et al., 2005; Wu et al., 2008); auch 5-HT_{2A}-Rezeptoren scheinen nach INT zunächst zu rezyklisieren (Baldys & Raymond, 2011). In den überwiegend in heterologen Zellsystemen durchgeführten Versuchen ist jedoch anders als in nativen Systemen im Zuge von 5-HT_{2A}-INT nie auch 5-HT_{2A}-Herunterregulation (HR) festgestellt worden (z.B. Berry et al., 1996); gegebenenfalls müssen 5-HT_{2A}-Rezeptoren hier in bisher nicht abgedeckten Zeitfenstern wiederholt zyklisieren, um lysosomal abgebaut zu werden. Da 5-HT_{2A}-Rezeptoren in nativen C6-Zellen infolge von Agonist-Behandlung herunterregulieren (Anji et al., 2001) und 5-HT_{2A}-DES in selbigen, aber auch in Kortex-Zellen Sensitivität gegenüber INT-Interferenz aufweist (Rahman & Neuman, 1993; Hanley & Hensler, 2002), erscheint eine Toleranz-bahnende Rolle der 5-HT_{2A}-INT allgemein sowie bei den von uns gefundenen Adaptationen im FC indes als wahrscheinlich. Gestützt wird diese Schlussfolgerung dadurch, dass LSD und DOI 5-HT_{2A}-Rezeptoren auch in Pyramidenzellen des FC internalisieren (Martin & Nichols, 2016) und dass SB-bezogene Toleranz gegenüber den Internalisierern DOI und Quipazin mit kortikaler 5-HT_{2(A)}-HR einhergeht (Eison et al., 1989; Chaouloff et al., 1993). Unseren Befunden im FC ähnlich, gibt es zudem Hinweise, dass das *In-Vitro*-Ansprechen von 5-HT_{2A}-Rezeptoren auf den Nicht-Internalisierer DMT anders als das auf LSD und DOB (Arvanov et al., 1999) über die Zeit hinweg keiner DES unterworfen ist (Smith et al., 1998). Neben INT mag 5HT_{2A}-Transkript-HR – so von uns in C6-Zellen für LSD und DOB, nicht jedoch DMT gefunden – Beitrag zur differentiellen Toleranz leisten. In der Tat geht der Agonist-induzierten HR von 5-HT_{2A}-Bindungsstellen sowohl in C6-Zellen als auch im FC der Ratte ein reduziertes 5-HT_{2A}-Transkript-Vorkommen voraus (Anji et al., 2000; Anji et al., 2001). Jenseits des 5-HT_{2A}-Moleküls selbst weisen unsere *In-Vitro*-Ergebnisse ferner auf Toleranz-relevante Funktionen des 5-HT_{2A}-Signalenzym Proteinkinase C (PKC) hin. PKC transloziert bei DOI-Behandlung zur Membran kortikaler Zellen (Wang & Friedman, 1990), erhöht im Zuge von 5-HT_{2A}-HR ihre Aktivität und desensibilisiert womöglich durch phosphorylierungs-

bedingte Gq-Protein-Entkopplung 5-HT_{2(A)}-Transduktion (Rahman & Neuman, 1993; Shi et al., 2007). Interessant ist, dass DMT in unseren *In-Vitro*-Versuchen anders als LSD und DOI keine Phospholipase-(PLD-)Aktivität anregt. Neben dem weiter oben diskutierten Beitrag der PLD zur INT gibt es nämlich Hinweise, dass das initial aus Gq-PLC-Aktivität hervorgehende Diazylglyzerol (DAG) im späteren Verlauf durch Dephosphorylierung der PLD-stämmigen Phosphatidsäure (PA) ergänzt wird, um so das PKC-Wirken zeitlich auszudehnen (Nishizuka, 1992). Wenn DMT hier versagt, trägt dies neben fehlender INT und Transkript-Regulation gegebenenfalls dazu bei, dass es anders als LSD und DOB keine 5-HT_{2(A)}-DES im FC hervorruft. Ein letzter hier zu diskutierender Punkt ist die Möglichkeit, dass sHG-Toleranz gegebenenfalls aus Komplementär-Adaptionen jenseits des primären 5-HT_{2A}-Umfeldes erwachsen kann. Anders als bei HYPER, wo ein stärkeres Applikationsschema eingesetzt wurde, ist Toleranz gegenüber LSD-induziertem SB nämlich nur im Trend von 5-HT_{2A}-Regulation begleitet. Stattdessen kommt es zur HR glutamaterger Transmission, welche zwar nicht in der primären Pharmakodynamik von LSD liegt, jedoch sekundär zu dessen 5-HT_{2A}-Aktivität Wirkungsrelevanz hat. Dass systemisch-glutamaterge Adaptionen jene um den primären Bindungspartner einer Droge ergänzen, wird auch durch die Opioid-Forschung nahegelegt (rev. Ueda & Ueda, 2009). Ferner könnten Rezeptoren, die sich innerhalb des individuellen Bindungsprofils eines sHGs befinden, unterschiedlich 5-HT_{2A}-regulatorisch wirken. DMT ist das einzige bisher bekannte sHG, das das Ligand-gesteuerte *Chaperon* σ_1 aktiviert. Wenn σ_1 konformationale instabile Proteine stabilisiert (Su et al., 2010), erklärt dies gegebenenfalls, warum DMT *in vivo* die 5-HT_{2A}-Bindungskapazität im FC hochreguliert, obwohl *in vitro* keine H₀R der 5-HT_{2A}-Transkripte festzustellen ist.

Aktuell stehen sHGs, vor allem LSD und Psilocybin, in diversen Studien auf dem Prüfstand zur therapeutischen Wirksamkeit bei Störungen wie Depression, Ess-, Angst- und Zwangserkrankungen oder Migräne. Auch zum DMT-haltigen Ayahuasca ist jüngst eine Placebo-kontrollierte Studie zur Therapie von behandlungsresistenten Depressionen (TRD) abgeschlossen worden (<https://clinicaltrials.gov>; Aufruf: 23.11.2019). Es gibt Hinweise, dass sHGs akute Clusterkopfschmerz-(KS-)Attacken unterbrechen und prophylaktisch wirkend die Remissionsphasen verlängern (Sewell et al., 2006). Den *Triptanen* ähnlich hängt dabei die akut analgetische sHG-Wirkung womöglich mit ihrer Affinität zu Zerebralfäß-konstringierenden 5-HT_{1B/1D}-Rezeptoren zusammen (Tepper et al., 2002; Ray, 2010). 5-HT_{2(A)}-Rezeptoren scheinen hingegen Migräne-begünstigend in das trigeminovaskuläre System einzugreifen (Srikiatkachorn et al., 2002). Gegebenenfalls lassen sich zu unseren Befunden analoge

5-HT_{2A}-regulatorische Prozesse im Bereich perivaskulärer Nozizeption finden, die die Schmerz-prophylaktische Wirkung von sHG_s bei KS erklären. Kortikale 5-HT_{2(A)}-HR und SB-Toleranz gelten als verlässliche Marker für das (sub-)chronische Wirken verschiedenster Antidepressiva beim Nager (Goodwin et al., 1984; Gray & Roth, 2001). In einem Tiermodell der Depression haben wir vorausgehend gezeigt, dass wiederholte LSD-Behandlung die für dieses Model charakteristischen Vermeidungslern-Defizite von Ratten normalisiert. Parallel stellte sich eine Normalisierung hippokampaler 5-HT₂-Transduktion ein (Buchborn et al., 2014). 5-HT_{2(A)}-HoR steht im Zusammenhang mit Suizidalität bzw. kardiovaskulären Komplikationen der Depression (Hrdina et al., 1993; Mendelson, 2000; Schins et al., 2003). Psilocybin induziert eine mitunter über sechs Monate andauernde antidepressive Wirkung bei Patienten mit TRD (Carhart-Harris et al., 2018). Die Wirkung ist bereits einen Tag nach Applikation des sHG nah-maximal und von erhöhter Integrität des FC-enhaltenden zerebralen *Ruhezustand-Netzwerkes* (DMN) begleitet (Carhart-Harris et al., 2016a; Carhart-Harris et al., 2017). Da sHG_s die DMN-Integrität in ihrer Akutwirkung untergaben (Carhart-Harris et al., 2012; Palhano-Fontes et al., 2015; Carhart-Harris et al., 2016b), ist dessen post-akut erhöhte Integrität gegebenenfalls Ausdruck von Toleranz-adaptiven Prozessen. Hier hat differentielle 5-HT_{2A}-Regulation also möglicherweise therapeutische Implikationen. Auch für den einleitend erwähnten Trend zur *Mikrodosierung* ergeben sich Implikationen. Dass chronisch applizierte, gering-dosierte sHG_s Wohlbefinden und Konzentration verbessern, wird aktuell nur durch Anekdoten und retro- bzw. prospektiv angelegte Feldstudien nahegelegt; dies belegende Plazebo-kontrollierte Experimente fehlen indes (rev. Kuypers et al., 2019; Passie, 2019). Unsere Versuche zeigen, dass Toleranz-assoziierte Prozesse Dosis- und Intervall-abhängig ablaufen. Da Mikrodosierung üblich alle zwei bis drei Tage durchgeführt wird, ist wahrscheinlich, dass dies Toleranzentwicklung zusätzlich zur nur geringen Dosis erschwert. Langfristig eingenommen sind physiologische Adaptationen jedoch nicht auszuschließen. So sind in einer Ratten-Studie, in denen *normal* dosiertes LSD jeden zweiten Tag über drei Monate injiziert wurde, beispielsweise diverse Veränderungen in Verhalten und Gen-Expression im FC beobachtet worden. Letztere betreffen 5-HT_{2A}-Effektoren wie PLC oder die NMDA-Untereinheit NR2B, erstrecken sich jedoch weit über Transmitter- und andere Funktionsbereiche (Marona-Lewicka et al., 2011; Martin et al., 2014). Es ist bis dato ungeklärt, ob die postulierte Wirksamkeit von Mikrodosen tatsächlich 5-HT_{2A}-Rezeptoren zuzuschreiben ist. In Hinblick auf Langzeit-Adaptationen sind experimentell deshalb 5-HT_{2A}-Rezeptoren und Rezeptoren, an die sHG_s höher-affin binden als an 5-HT_{2A}, Aufmerksamkeit zu schenken. Viele

Monoamin-Rezeptoren werden auch in der Peripherie, zum Beispiel im kardiovaskulären System exprimiert (Watts et al., 2012; Hein, 2015). Etwaig regulatorische Prozesse um diese Rezeptoren werden daher in der Kosten-Nutzen-Analyse um chronische sHG-Mikrodosierung mit zu bedenken sein.

Verhalten, Thermoregulation, Ligand-Bindungs- und/oder G-Proteinkopplungskapazität, Translozierung, PLD-Aktivität sowie Transkript-Expression: Auf allen von uns untersuchten Ebenen induzieren LSD und/oder DOB bzw. DOI Prozesse, die auf Toleranz-relevante 5-HT_{2(A)}-HR schließen lassen, während DMT (jenseits des für dieses sHG nicht messbaren Verhaltensparameters) inaktiv oder gar hochregulierend ist. *In toto* liefern unsere Daten somit multimethodal begründeten Grund zur Annahme, dass Toleranz gegenüber sHG eine stark 5-HT_{2A}erg-pharmakodynamische Komponente aufweist und dass somit auch die *in humano* beschriebene differentielle Toleranz gegenüber dem ebenfalls 5-HT_{2A}erg vermittelten psychedelischen Effekt von LSD und DMT differentieller 5-HT_{2A}-Regulation zuzuschreiben ist. Warum es zu diesen Regulationsunterschieden kommt, ist hier nicht abschließend zu klären. DMT hat *in vivo* eine deutlich kürzere Wirkdauer als LSD und DOB/DOI, was eine Rolle spielen mag. Da Toleranz gegenüber DMT jedoch auch dann ausbleibt, wenn dessen Abbau durch Monoaminoxidase-Hemmung blockiert wird (Dos Santos et al., 2012), scheint die Dauer der Wirkung nicht alleiniger Faktor zu sein. Aufgrund von Moleküleigenheiten weisen LSD, DOB und DMT unterschiedliche 5-HT_{2A}-Bindungsverhalten auf (Gómez-Jeria & Robles-Navarro, 2015), welche sich vermutlich auch in Form abweichender Konformationsänderungen bemerkbar machen. In diesem Zusammenhang wäre 5-HT_{2A}-Kopplung an das weiter oben diskutierte Arrestin-Arf-PLD-Modul gegebenenfalls ein ergiebig zu vertiefender Forschungsansatz. Auch Untersuchungen zum Aufdröseln der von uns gefundenen glutamatergen HR in relevante Rezeptor-Subtypen (zum Beispiel AMPA und NR2B-NMDA) könnte weiterer mechanistischer Aufklärung dienen; ebenso die Ausarbeitung der der *Thermotoleranz* zugrundeliegenden Adaptationen jenseits des FC, einschließlich peripherer 5-HT_{2A}-Rezeptoren. Die bedeutendste Fortführung unserer Arbeit läge indes im Test auf translationale Validität: Wenn differentielle Toleranz tatsächlich aus differentieller 5-HT_{2A}-Regulation erwächst, müsste die 5-HT_{2A}erg begründete Wirkung von LSD und DMT auf kortikale Pyramidenzellen differentiell adaptieren wie es parallel ihr putatives Verhaltens- und/oder Bewusstseinsmanifest tut. Auch klinisch eröffnet differentielle halluzinogene 5-HT_{2A}-Regulation hier, sei es bei Migräne, Depression oder Mikrodosierung eine Ertragsversprechende, gänzlich unbegangene Forschungslandschaft.

5 Literaturverzeichnis

- Abbas A. I., Yadav P. N., Yao W.-D., Arbuckle M. I., et al.** (2009). PSD-95 is essential for hallucinogen and atypical antipsychotic drug actions at serotonin receptors. *J Neurosci*, 29, 7124-7136.
- Abramson H., Rolo A.** (1965). Comparison of LSD with methysergide and psilocybin on test subjects. *J Asthma Res*, 3, 81-96.
- Abramson H. A., Jarvik M. E., Kaufman M. R., Kornetsky C., et al.** (1955). Lysergic Acid Diethylamide (LSD-25): I. Physiological and Perceptual Responses. *J Psychol*, 39, 3-60.
- Adams L. M., Geyer M. A.** (1985a). Effects of DOM and DMT in a proposed animal model of hallucinogenic activity. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 9, 121-132.
- Adams L. M., Geyer M. A.** (1985b). A proposed animal model for hallucinogens based on LSD's effects on patterns of exploration in rats. *Behav Neurosci*, 99, 881-900.
- Aggernæs A.** (1972). The difference between the experienced reality of hallucinations in young drug abusers and schizophrenic patients. *Acta Psychiatr Scand*, 48, 287-299.
- Aghajanian G. K.** (2009). Modeling "psychosis" in vitro by inducing disordered neuronal network activity in cortical brain slices. *Psychopharmacology (Berl)*, 206, 575-585.
- Aghajanian G. K., Marek G. J.** (1999). Serotonin and hallucinogens. *Neuropsychopharmacology*, 21, 16S.
- Almeida M. C., Steiner A. A., Coimbra N. C., Branco L. G.** (2004). Thermoeffector neuronal pathways in fever: a study in rats showing a new role of the locus coeruleus. *J Physiol*, 558, 283-294.
- Aloyo V. J., Dave K. D.** (2007). Behavioral response to emotional stress in rabbits: role of serotonin and serotonin2A receptors. *Behav Pharmacol*, 18, 651-659.
- Alvi F., Idkowiak-Baldys J., Baldys A., Raymond J., et al.** (2007). Regulation of membrane trafficking and endocytosis by protein kinase C: emerging role of the pericentration, a novel protein kinase C-dependent subset of recycling endosomes. *Cell Mol Life Sci*, 64, 263-270.
- Amsterdam J. v., Opperhuizen A., Brink W. v. d.** (2011). Harm potential of magic mushroom use: A review. *Regul Toxicol Pharmacol*, 59, 423-429.
- Anderson T., Petranker R., Rosenbaum D., Weissman C. R., et al.** (2019). Microdosing Psychedelics: Personality, mental health, and creativity differences in microdosers. *Psychopharmacology (Berl)*, 236, 731-740.
- Andrade R., Weber E. T.** (2010). Htr2a gene and 5-HT2A receptor expression in the cerebral cortex studied using genetically modified mice. *Front Neurosci*, 4, 36.
- Angrist B., Rotrosen J., Gershon S.** (1974). Assessment of tolerance to the hallucinogenic effects of DOM. *Psychopharmacologia*, 36, 203-207.
- Anji A., Hanley N. R. S., Kumari M., Hensler J. G.** (2001). The role of protein kinase C in the regulation of serotonin-2A receptor expression. *J Neurochem*, 77, 589-597.
- Anji A., Kumari M., Hanley N. S., Bryan G., et al.** (2000). Regulation of 5-HT2A receptor mRNA levels and binding sites in rat frontal cortex by the agonist DOI and the antagonist mianserin. *Neuropharmacology*, 39, 1996-2005.
- Arvanov V. L., Liang X., Russo A., Wang R. Y.** (1999). LSD and DOB: interaction with 5-HT2A receptors to inhibit NMDA receptor-mediated transmission in the rat prefrontal cortex. *Eur J Neurosci*, 11, 3064-3072.
- Asher J.** (1975). Whatever happened to psychedelic research. *APA Monitor*, 4-5.
- Baggott M. J., Coyle J. R., Erowid E., Erowid F., et al.** (2011). Abnormal visual experiences in individuals with histories of hallucinogen use: a Web-based questionnaire. *Drug Alcohol Depend*, 114, 61-67.
- Baldys A., Raymond J. R.** (2011). Role of c-Cbl carboxyl terminus in serotonin 5-HT2A receptor recycling and resensitization. *J Biol Chem*, 286, 24656-24665.
- Barclay Z., Dickson L., Robertson D. N., Johnson M. S., et al.** (2011). 5-HT2A receptor signalling through phospholipase D1 associated with its C-terminal tail. *Biochem J*, 436, 651-660.

- Barker S. A., McIlhenny E. H., Strassman R.** (2012). A critical review of reports of endogenous psychedelic N, N-dimethyltryptamines in humans: 1955-2010. *Drug Test Anal*, 4, 617-635.
- Barker S. A., Monti J. A., Christian S. T.** (1981). N, N-dimethyltryptamine: an endogenous hallucinogen. *Int Rev Neurobiol*, 22, 83-110.
- Becker A., Grecksch G., Schröder H.** (2006). Pain sensitivity is altered in animals after subchronic ketamine treatment. *Psychopharmacology (Berl)*, 189, 237-247.
- Becker K., Hannun Y.** (2005). Protein kinase C and phospholipase D: intimate interactions in intracellular signaling. *Cell Mol Life Sci*, 62, 1448-1461.
- Becker K. P., Hannun Y. A.** (2004). Isoenzyme-specific Translocation of Protein Kinase C (PKC) β II and not PKC β I to a Juxtannuclear Subset of Recycling Endosomes - Involvement of Phospholipase D. *J Biol Chem*, 279, 28251-28256.
- Behan W. M., Bakheit A. M., Behan P. O., More I. A.** (1991). The muscle findings in the neuroleptic malignant syndrome associated with lysergic acid diethylamide. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 54, 741-743.
- Beig M., Baumert M., Walker F., Day T., et al.** (2009). Blockade of 5-HT_{2A} receptors suppresses hyperthermic but not cardiovascular responses to psychosocial stress in rats. *Neuroscience*, 159, 1185-1191.
- Benda P., Lightbody J., Sato G., Levine L., et al.** (1968). Differentiated rat glial cell strain in tissue culture. *Science*, 161, 370-371.
- Benneyworth M. A., Smith R. L., Sanders-Bush E.** (2008). Chronic Phenethylamine Hallucinogen Treatment Alters Behavioral Sensitivity to a Metabotropic Glutamate 2/3 Receptor Agonist. *Neuropsychopharmacology*, 33, 2206-2216.
- Benneyworth M. A., Xiang Z., Smith R. L., Garcia E. E., et al.** (2007). A selective positive allosteric modulator of metabotropic glutamate receptor subtype 2 blocks a hallucinogenic drug model of psychosis. *Mol Pharmacol*, 72, 477-484.
- Benvenga M. J., Chaney S. F., Baez M., Britton T. C., et al.** (2018). Metabotropic Glutamate₂ Receptors Play a Key Role in Modulating Head Twitches Induced by a Serotonergic Hallucinogen in Mice. *Front Pharmacol*, 9, 208.
- Berendsen H. H., Broekkamp C. L.** (1990). Behavioural evidence for functional interactions between 5-HT-receptor subtypes in rats and mice. *Br J Pharmacol*, 101, 667-673.
- Berry S. A., Shah M. C., Khan N., Roth B. L.** (1996). Rapid agonist-induced internalization of the 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor occurs via the endosome pathway in vitro. *Mol Pharmacol*, 50, 306-313.
- Beyer A., Koch T., Schröder H., Schulz S., et al.** (2004). Effect of the A118G polymorphism on binding affinity, potency and agonist-mediated endocytosis, desensitization, and resensitization of the human μ -opioid receptor. *J Neurochem*, 89, 553-560.
- Bhattacharyya S., Puri S., Miledi R., Panicker M. M.** (2002). Internalization and recycling of 5-HT_{2A} receptors activated by serotonin and protein kinase C-mediated mechanisms. *PNAS*, 99, 14470-14475.
- Blair J. B.** (1997). Synthesis and pharmacological evaluation of fluorinated hallucinogenic tryptamine analogs and thienopyrrole bioisosteres of N, N-dimethyltryptamine. *Dissertation*. Purdue University.
- Blessing W. W., Seaman B.** (2003). 5-Hydroxytryptamine_{2A} receptors regulate sympathetic nerves constricting the cutaneous vascular bed in rabbits and rats. *Neuroscience*, 117, 939-948.
- Blough B. E., Landavazo A., Decker A. M., Partilla J. S., et al.** (2014). Interaction of psychoactive tryptamines with biogenic amine transporters and serotonin receptor subtypes. *Psychopharmacology (Berl)*, 231, 4135-4144.
- Börner C., Höllt V., Kraus J.** (2006). Cannabinoid receptor type 2 agonists induce transcription of the μ -opioid receptor gene in Jurkat T cells. *Mol Pharmacol*, 69, 1486-1491.
- Börner C., Höllt V., Kraus J.** (2012). Mechanisms of the inhibition of nuclear factor- κ B by morphine in neuronal cells. *Mol Pharmacol*, 81, 587-597.
- Bouso J. C., Riba J.** (2014). Ayahuasca and the Treatment of Drug Addiction. In: Labate BC, Cavnar C, editors. *The Therapeutic Use of Ayahuasca*. Berlin: Springer pp 95-109.

- Braden M. R., Nichols D. E.** (2007). Assessment of the roles of serines 5.43 (239) and 5.46 (242) for binding and potency of agonist ligands at the human serotonin 5-HT_{2A} receptor. *Mol Pharmacol*, 72, 1200-1209.
- Breitmaier E.** (2008). *Alkaloide: Betäubungsmittel, Halluzinogene und andere Wirkstoffe, Leitstrukturen aus der Natur*. Stuttgart: Vieweg & Teubner Verlag.
- Buchborn T., Grecksch G., Dieterich D. C., Höllt V.** (2016). Tolerance to Lysergic Acid Diethylamide: Overview, Correlates, and Clinical Implications. In: Preedy V, editor. *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse*. San Diego: Academic Press, pp 846-858.
- Buchborn T., Lyons T., Knöpfel T.** (2018). Tolerance and tachyphylaxis to head twitches induced by the 5-HT_{2A} agonist 25CN-NBOH in mice. *Front Pharmacol*, 9, 17.
- Buchborn T., Schröder H., Dieterich D. C., Grecksch G., et al.** (2015). Tolerance to LSD and DOB induced shaking behaviour: differential adaptations of frontocortical 5-HT_{2A} and glutamate receptor binding sites. *Behav Brain Res*, 281, 62-68.
- Buchborn T., Schröder H., Höllt V., Grecksch G.** (2014). Repeated lysergic acid diethylamide in an animal model of depression: Normalisation of learning behaviour and hippocampal serotonin 5-HT₂ signalling. *J Psychopharmacol*, 28, 545-552.
- Buckholtz N. S., Freedman D. X., Middaugh L. D.** (1985). Daily LSD administration selectively decreases serotonin₂ receptor binding in rat brain. *Eur J Pharmacol*, 109, 421-425.
- Buckholtz N. S., Zhou D., Freedman D. X., Potter W. Z.** (1990). Lysergic acid diethylamide (LSD) administration selectively downregulates serotonin₂ receptors in rat brain. *Neuropsychopharmacology*, 3, 137-148.
- Buckholtz N. S., Zhou D. F., Freedman D. X.** (1988). Serotonin₂ agonist administration downregulates rat brain serotonin₂ receptors. *Life Sci*, 42, 2439-2445.
- Bunzow J. R., Sonders M. S., Arttamangkul S., Harrison L. M., et al.** (2001). Amphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, lysergic acid diethylamide, and metabolites of the catecholamine neurotransmitters are agonists of a rat trace amine receptor. *Mol Pharmacol*, 60, 1181-1188.
- Callaway J. C., Raymon L. P., Hearn W. L., McKenna D. J., et al.** (1996). Quantitation of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids in human plasma after oral dosing with ayahuasca. *J Anal Toxicol*, 20, 492-497.
- Callender J. A., Newton A. C.** (2017). Conventional protein kinase C in the brain: 40 years later. *Neuronal Signal*, 1, NS20160005.
- Carhart-Harris R. L.** (2018). The entropic brain-revisited. *Neuropharmacology*, 142, 167-178.
- Carhart-Harris R. L., Bolstridge M., Day C., Rucker J., et al.** (2018). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: six-month follow-up. *Psychopharmacology (Berl)*, 235, 399-408.
- Carhart-Harris R. L., Bolstridge M., Rucker J., Day C. M., et al.** (2016a). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. *Lancet Psychiatr*, 3, 619-627.
- Carhart-Harris R. L., Erritzoe D., Williams T., Stone J. M., et al.** (2012). Neural correlates of the psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin. *PNAS*, 109, 2138-2143.
- Carhart-Harris R. L., Goodwin G. M.** (2017). The therapeutic potential of psychedelic drugs: past, present, and future. *Neuropsychopharmacology*, 42, 2105-2113.
- Carhart-Harris R. L., Muthukumaraswamy S., Roseman L., Kaelen M., et al.** (2016b). Neural correlates of the LSD experience revealed by multimodal neuroimaging. *PNAS*, 113, 4853-4858.
- Carhart-Harris R. L., Roseman L., Bolstridge M., Demetriou L., et al.** (2017). Psilocybin for treatment-resistant depression: fMRI-measured brain mechanisms. *Sci Rep*, 7, 13187.
- Carino M., Horita A.** (1977). Rapid development of tolerance upon central injection of LSD. *Life Sci*, 20, 49-55.
- Carr D. B., Cooper D. C., Ulrich S. L., Spruston N., et al.** (2002). Serotonin receptor activation inhibits sodium current and dendritic excitability in prefrontal cortex via a protein kinase C-dependent mechanism. *J Neurosci*, 22, 6846-6855.

- Cerletti A.** (1956). Lysergic acid diethylamide (LSD) and related compounds. In: Abramson HA, editor. *Neuropharmacology. Transactions of the second conference*. New York: Josiah Macy, Jr. Foundation, pp 9-84.
- Chaouloff F., Baudrie V., Coupry I.** (1993). Behavioural and biochemical evidence that glucocorticoids are not involved in DOI-elicited 5-HT₂ receptor down-regulation. *Eur J Pharmacol*, 249, 117-120.
- Chen H., Li H., Chuang D.-M.** (1995). Role of second messengers in agonist up-regulation of 5-HT_{2A} (5-HT₂) receptor binding sites in cerebellar granule neurons: involvement of calcium influx and a calmodulin-dependent pathway. *J Pharmacol Exp Ther*, 275, 674-680.
- Cholden L. S., Kurland A., Savage C.** (1955). Clinical reactions and tolerance to LSD in chronic schizophrenia. *J Nerv Ment Dis*, 122, 211-221.
- Christofides K., Menon R., Jones C. E.** (2018). Endocytosis of G Protein-Coupled Receptors and Their Ligands: Is There a Role in Metal Trafficking? *Cell Biochem Biophys*, 76, 329-337.
- Cohen S.** (1960). Lysergic acid diethylamide: side effects and complications. *J Nerv Ment Dis*, 130, 30-40.
- Cohen S.** (1985). LSD: the varieties of psychotic experience. *J Psychoactive Drugs*, 17, 291-296.
- Commissaris R. L., Lyness W. H., Cordon J. J., Moore K. E., et al.** (1980). Behavioral tolerance to the effects of LSD in the rat. *Subst Alcohol Actions Misuse*, 1, 203-207.
- Connor M., Osborne P. B., Christie M. J.** (2004). μ -Opioid receptor desensitization: Is morphine different? *Br J Pharmacol*, 143, 685-696.
- Corne S., Pickering R.** (1967). A possible correlation between drug-induced hallucinations in man and a behavioural response in mice. *Psychopharmacologia*, 11, 65-78.
- Craft B. B., Lustyk M. K. B.** (2013). Tolerance and Withdrawal. In: Miller PM, editor. *Principles of Addiction*. San Diego: Academic Press, pp 177-186.
- Cromer J. R., Cromer J. A., Maruff P., Snyder P. J.** (2010). Perception of alcohol intoxication shows acute tolerance while executive functions remain impaired. *Exp Clin Psychopharmacol*, 18, 329-339.
- Dang V. C., Christie M. J.** (2012). Mechanisms of rapid opioid receptor desensitization, resensitization and tolerance in brain neurons. *Br J Pharmacol*, 165, 1704-1716.
- Darmani N. A., Martin B. R., Glennon R. A.** (1992). Behavioral evidence for differential adaptation of the serotonergic system after acute and chronic treatment with (+/-)-1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) or ketanserin. *J Pharmacol Exp Ther*, 262, 692-698.
- Darmon M., Al Awabdh S., Emerit M.-B., Masson J.** (2015). Insights into serotonin receptor trafficking: cell membrane targeting and internalization. In: Wu G, editor. *Trafficking of GPCRs*. Amsterdam: Elsevier, pp 97-126.
- Davis M., Bear H. D.** (1972). Effects of N-N-Dimethyltryptamine on retention of startle response habituation in the rat. *Psychopharmacologia*, 27, 29-44.
- Davis M., Sheard M. H.** (1974). Biphasic dose-response effects of N-N-dimethyltryptamine on the rat startle reflex. *Pharmacol Biochem Behav*, 2, 827-829.
- Dawson P., Moffatt J. D.** (2012). Cardiovascular toxicity of novel psychoactive drugs: Lessons from the past. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 39, 244-252.
- de Lima Osório F., de Macedo L. R. H., de Sousa J. P. M., Pinto J. P., et al.** (2011). The therapeutic potential of harmine and ayahuasca in depression: Evidence from exploratory animal and human studies. In: Dos Santos RE, editor. *The ethnopharmacology of ayahuasca*. Trivandrum, India: Transworld Research Network, pp 75-85.
- Dickenson A.** (1977). Specific responses of rat raphé neurones to skin temperature. *J Physiol*, 273, 277-293.
- Dilling H.** (2011). *Internationale Klassifikation psychischer Störungen: ICD-10 Kapitel V (F) ; klinisch-diagnostische Leitlinien*. Bern: Huber.
- Dittrich A.** (1994). Psychological aspects of altered states of consciousness of the lsd type: Measurement of their basic dimensions and prediction of individual differences. In: Ladewig D, Pletscher A, editors. *Fifty Years of LSD: Current Status and Perspectives of Hallucinogens*. New York: Taylor & Francis, pp 101-118.

- Doat-Meyerhoefer M., Hard R., Winter J., Rabin R.** (2005). Effects of clozapine and 2, 5-dimethoxy-4-methylamphetamine [DOM] on 5-HT_{2A} receptor expression in discrete brain areas. *Pharmacol Biochem Behav*, 81, 750-757.
- Dolder P. C., Grünblatt E., Müller F., Borgwardt S. J., et al.** (2017). A single dose of LSD does not alter gene expression of the serotonin 2A receptor gene (HTR2A) or early growth response genes (EGR1-3) in healthy subjects. *Front Pharmacol*, 8, 423.
- Dolder P. C., Schmid Y., Haschke M., Rentsch K. M., et al.** (2015). Pharmacokinetics and Concentration-Effect Relationship of Oral LSD in Humans. *Int J Neuropsychopharmacol*, 19, 1-7.
- Domino E., Gahagan S., Adinoff B., Kovacic B.** (1977). Effects of various neuroleptics on rabbit hyperthermia induced by N, N-Dimethyltryptamine (DMT) and d-amphetamine. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 226, 30-47.
- Domino E. F.** (1976). Indole hallucinogens as animal models of schizophrenia. In: Serban G, Kling A, editors. *Animal Models in Human Psychobiology*: Springer, pp 239-259.
- Dos Santos R. G., Grasa E., Valle M., Ballester M. R., et al.** (2012). Pharmacology of ayahuasca administered in two repeated doses. *Psychopharmacology (Berl)*, 219, 1039-1053.
- Dos Santos R. G., Osorio F. L., Crippa J. A. S., Riba J., et al.** (2016). Antidepressive, anxiolytic, and antiaddictive effects of ayahuasca, psilocybin and lysergic acid diethylamide (LSD): a systematic review of clinical trials published in the last 25 years. *Ther Adv Psychopharmacol*, 6, 193-213.
- Dougherty J., Aloyo V.** (2011). Pharmacological and behavioral characterization of the 5-HT_{2A} receptor in C57BL/6N mice. *Psychopharmacology (Berl)*, 215, 581-593.
- Egan C., Grinde E., Dupre A., Roth B. L., et al.** (2000). Agonist high and low affinity state ratios predict drug intrinsic activity and a revised Ternary complex mechanism at serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Synapse*, 35, 144-150.
- Eichorn G.** (1981). DOB-on the street. *San Francisco Bay Area Poison Control Newsletter*, 3, 3.
- Eison A. S., Eison M. S., Yocca F. D., Gianutsos G.** (1989). Effects of imipramine and serotonin-2 agonists and antagonists on serotonin-2 and beta-adrenergic receptors following noradrenergic or serotonergic denervation. *Life Sci*, 44, 1419-1427.
- Elliott J., Newberry N., Cholewinski A., Bartrup J., et al.** (1995). Characterization of the 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor-activated cascade in rat C6 glioma cells. *Neuroscience*, 69, 1119-1131.
- Fantegrossi W., Harrington A., Kiessel C., Eckler J., et al.** (2006). Hallucinogen-like actions of 5-methoxy-N, N-diisopropyltryptamine in mice and rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 83, 122-129.
- Ferguson S.** (2001). Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling. *Pharmacol Rev*, 53, 1-24.
- Ferry R. C., Unsworth C. D., Artymyshyn R. P., Molinoff P. B.** (1994). Regulation of mRNA encoding 5-HT_{2A} receptors in P11 cells through a post-transcriptional mechanism requiring activation of protein kinase C. *J Biol Chem*, 269, 31850-31857.
- File S. E.** (1977). Effects of N, N-dimethyltryptamine on behavioural habituation in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 6, 163-168.
- Fink M., Simeon J., Haque W., Itil T.** (1966). Prolonged adverse reactions to LSD in psychotic subjects. *Arch Gen Psychiatry*, 15, 450-454.
- Fiorella D., Rabin R., Winter J.** (1995). The role of the 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors in the stimulus effects of hallucinogenic drugs I: Antagonist correlation analysis. *Psychopharmacology (Berl)*, 121, 347-356.
- Florian J. A., Watts S. W.** (1998). Integration of mitogen-activated protein kinase activation in vascular 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor signal transduction. *J Pharmacol Exp Ther*, 284, 346-355.
- Foltin R. W., Ward A. S., Haney M., Hart C. L., et al.** (2003). The effects of escalating doses of smoked cocaine in humans. *Drug Alcohol Depend*, 70, 149-157.

- Fontanilla D., Johannessen M., Hajipour A. R., Cozzi N. V., et al.** (2009). The Hallucinogen N,N-Dimethyltryptamine (DMT) Is an Endogenous Sigma-1 Receptor Regulator. *Science*, 323, 934-937.
- Forrer G. R., Goldner R. D.** (1951). Experimental physiological studies with lysergic acid diethylamide (LSD-25). *AMA Arch Neurol Psychiatry*, 65, 581-588.
- Frecska E., Szabo A., Winkelman M., Luna L., et al.** (2013). A possibly sigma-1 receptor mediated role of dimethyltryptamine in tissue protection, regeneration, and immunity. *J Neural Transm*, 120, 1295-1303.
- Fugelstad A., Ahlner J., Brandt L., Ceder G., et al.** (2003). Use of morphine and 6-monoacetylmorphine in blood for the evaluation of possible risk factors for sudden death in 192 heroin users. *Addiction*, 98, 463-470.
- Gable R. S.** (1993). Toward a comparative overview of dependence potential and acute toxicity of psychoactive substances used nonmedically. *Am J Drug Alcohol Abuse*, 19, 263-281.
- Gable R. S.** (2004). Comparison of acute lethal toxicity of commonly abused psychoactive substances. *Addiction*, 99, 686-696.
- Gable R. S.** (2007). Risk assessment of ritual use of oral dimethyltryptamine (DMT) and harmala alkaloids. *Addiction*, 102, 24-34.
- Gáborik Z., Hunyady L.** (2004). Intracellular trafficking of hormone receptors. *Trends Endocrinol Metab*, 15, 286-293.
- Gainetdinov R. R., Premont R. T., Bohn L. M., Lefkowitz R. J., et al.** (2004). Desensitization of G protein-coupled receptors and neuronal functions. *Annu Rev Neurosci*, 27, 107-144.
- Garlow S. J., Chin A. C., Marinovich A. M., Heller M. R., et al.** (1994). Cloning and functional promoter mapping of the rat serotonin-2 receptor gene. *Mol Cell Neurosci*, 5, 291-300.
- Garlow S. J., Ciaranello R. D.** (1995). Transcriptional control of the rat serotonin-2 receptor gene. *Mol Brain Res*, 31, 201-209.
- Garnovskaya M. N., Mukhin Y. V., Vlasova T. M., Grewal J. S., et al.** (2004). Mitogen-induced rapid phosphorylation of serine 795 of the retinoblastoma gene product in vascular smooth muscle cells involves ERK activation. *J Biol Chem*, 279, 24899-24905.
- Gasser P.** (1996). Die psycholytische Therapie in der Schweiz von 1988-1993. Eine katamnestiche Erhebung. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr*, 2, 59-65.
- Gasser P., Holstein D., Michel Y., Doblin R., et al.** (2014). Safety and Efficacy of Lysergic Acid Diethylamide-Assisted Psychotherapy for Anxiety Associated With Life-threatening Diseases. *J Nerv Ment Dis*, 202, 513-520.
- Gatch M. B., Rutledge M. A., Carbonaro T., Forster M. J.** (2009). Comparison of the discriminative stimulus effects of dimethyltryptamine with different classes of psychoactive compounds in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 204, 715-724.
- Geyer M. A., Vollenweider F. X.** (2008). Serotonin research: contributions to understanding psychoses. *Trends Pharmacol Sci*, 29, 445-453.
- Gillin C., Stoff D. M., Wyatt R. J.** (1978). Transmethylation hypothesis: A review of progress. In: Lipton MA, DiMascio A, Killam KF, editors. *Psychopharmacology: A generation of progress*. New York: Raven Press, pp 1097-1112.
- Gillin J. C., Kaplan J., Stillman R., Wyatt R. J.** (1976). The psychedelic model of schizophrenia: the case of N,N-dimethyltryptamine. *Am J Psychiatry*, 133, 203-208.
- Glennon R. A.** (1999). Arylalkylamine Drugs of Abuse: An Overview of Drug Discrimination Studies. *Pharmacol Biochem Behav*, 64, 251-256.
- Glennon R. A.** (2008). Neurobiology of hallucinogens. In: Galanter M, Kleber HD, editors. *The American Psychiatric Publishing Textbook of Substance Abuse Treatment*, 4. ed. Washington: American Psychiatric Press, pp 181-189.
- Glennon R. A., Titeler M., McKenney J.** (1984). Evidence for 5-HT₂ involvement in the mechanism of action of hallucinogenic agents. *Life Sci*, 35, 2505-2511.
- Glennon R. A., Young R., Jacyno J. M., Slusher M., et al.** (1983a). DOM-stimulus generalization to LSD and other hallucinogenic indolealkylamines. *Eur J Pharmacol*, 86, 453-459.

- Glennon R. A., Young R., Rosecrans J. A.** (1983b). Antagonism of the effects of the hallucinogen DOM and the purported 5-HT agonist quipazine by 5-HT₂ antagonists. *Eur J Pharmacol*, 91, 189-196.
- Gogerty J. H., Dille J. M.** (1956). Tolerance to the pyretogenic effects of lysergic acid diethylamide. *J Pharmacol Exp Ther*, 116, 450-452.
- Gómez-Jeria J. S., Robles-Navarro A.** (2015). A Note on the Docking of some Hallucinogens to the 5-HT_{2A} Receptor. *J Comput Methods Mol Des*, 5, 45-57.
- Gonzalez-Maeso J., Ang R. L., Yuen T., Chan P., et al.** (2008). Identification of a serotonin/glutamate receptor complex implicated in psychosis. *Nature*, 452, 93-97.
- González-Maeso J., Weisstaub N. V., Zhou M., Chan P., et al.** (2007). Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT_{2A} receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. *Neuron*, 53, 439-452.
- Gonzalez R., Löffelholz K., Klein J.** (1996). Adrenergic activation of phospholipase D in primary rat astrocytes. *Neurosci Lett*, 219, 53-56.
- Goodwin G. M., Green A. R., Johnson P.** (1984). 5-HT₂ receptor characteristics in frontal cortex and 5-HT₂ receptor-mediated head-twitch behaviour following antidepressant treatment to mice. *Br J Pharmacol*, 83, 235-242.
- Gööz M., Gööz P., Luttrell L. M., Raymond J. R.** (2006). 5-HT_{2A} receptor induces ERK phosphorylation and proliferation through ADAM-17 tumor necrosis factor- α -converting enzyme (TACE) activation and heparin-bound epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) shedding in mesangial cells. *J Biol Chem*, 281, 21004-21012.
- Gorodetzky C., Isbell H.** (1964). A comparison of 2,3-dihydro-lysergic acid diethylamide with LSD-25. *Psychopharmacologia*, 6, 229-233.
- Gouzoulis-Mayfrank E., Heekeren K., Neukirch A., Stoll M., et al.** (2005). Psychological effects of (S)-ketamine and N,N-dimethyltryptamine (DMT): a double-blind, cross-over study in healthy volunteers. *Pharmacopsychiatry*, 38, 301-311.
- Gouzoulis-Mayfrank E., Schreckenberger M., Sabri O., Arning C., et al.** (1999). Neurometabolic effects of psilocybin, 3, 4-methylenedioxyethylamphetamine (MDE) and d-methamphetamine in healthy volunteers A double-blind, placebo-controlled PET study with [¹⁸F] FDG. *Neuropsychopharmacology*, 20, 565-581.
- Grady E., Bohm S., Bunnett N.** (1997). Turning off the signal: mechanisms that attenuate signaling by G protein-coupled receptors. *Am J Physiol*, 273, G586-G601.
- Graham F. L., Smiley J., Russell W., Nairn R.** (1977). Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5. *J Gen Virol*, 36, 59-72.
- Gray J. A., Roth B. L.** (2001). Paradoxical trafficking and regulation of 5-HT_{2A} receptors by agonists and antagonists. *Brain Res Bull*, 56, 441-451.
- Green A. R., Heal D. J.** (1985). The effects of drugs on serotonin-mediated behavioural models. In: Green AR, editor. *Neuropharmacology of serotonin*. Amsterdam: Elsevier, pp 326-365.
- Gresch P. J., Smith R. L., Barrett R. J., Sanders-Bush E.** (2005). Behavioral Tolerance to Lysergic Acid Diethylamide is Associated with Reduced Serotonin-2A Receptor Signaling in Rat Cortex. *Neuropsychopharmacology*, 30, 1693-1702.
- Guan X.-M., Kobilka T. S., Kobilka B.** (1992). Enhancement of membrane insertion and function in a type IIIb membrane protein following introduction of a cleavable signal peptide. *J Biol Chem*, 267, 21995-21998.
- Hainsworth F.** (1967). Saliva spreading, activity, and body temperature regulation in the rat. *Am J Physiol-Legacy C*, 212, 1288-1292.
- Hainsworth F., Stricker E.** (1970). Salivary cooling by rats in the heat. *Physiological and behavioral temperature regulation*: Thomas, pp 611-626.
- Halpern J., Suzuki J., Huertas P., Passie T.** (2011). Hallucinogens. In: Johnson BA, editor. *Addiction Medicine*: Springer New York, pp 1083-1098.
- Halpern J. H., Lerner A. G., Passie T.** (2016). A review of hallucinogen persisting perception disorder (HPPD) and an exploratory study of subjects claiming symptoms of HPPD. *Behavioral Neurobiology of Psychedelic Drugs*: Springer, pp 333-360.

- Halpern J. H., Pope H. G., Jr.** (2003). Hallucinogen persisting perception disorder: what do we know after 50 years? *Drug Alcohol Depend*, 69, 109-119.
- Handley S. L., Singh L.** (1986). Neurotransmitters and shaking behaviour—more than a ‘gut-bath’ for the brain? *Trends Pharmacol Sci*, 7, 324-328.
- Hanley N. R. S., Hensler J. G.** (2002). Mechanisms of ligand-induced desensitization of the 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor. *J Pharmacol Exp Ther*, 300, 468-477.
- Hansen S. H., Sandvig K., Van Deurs B.** (1993). Clathrin and HA2 adaptors: effects of potassium depletion, hypertonic medium, and cytosol acidification. *J Cell Biol*, 121, 61-72.
- Hanyaloglu A. C., Von Zastrow M.** (2008). Regulation of GPCRs by endocytic membrane trafficking and its potential implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 48, 537-568.
- Hartogsohn I.** (2016). Set and setting, psychedelics and the placebo response: an extra-pharmacological perspective on psychopharmacology. *J Psychopharmacol*, 30, 1259-1267.
- Hasler F., Bourquin D., Brenneisen R., Vollenweider F. X.** (2002). Renal excretion profiles of psilocin following oral administration of psilocybin: a controlled study in man. *J Pharm Biomed Anal*, 30, 331-339.
- Hein L.** (2015). The Neuroendocrine Adrenergic System and Cardiovascular Function. In: Lymperopoulos A, editor. *The Cardiovascular Adrenergic System*. Heidelberg: Springer, pp 117-132.
- Herin D. V., Liu S., Ullrich T., Rice K. C., et al.** (2005). Role of the serotonin 5-HT_{2A} receptor in the hyperlocomotive and hyperthermic effects of (+)-3, 4-methylenedioxymethamphetamine. *Psychopharmacology (Berl)*, 178, 505-513.
- Hermle L., Fünfgeld M., Oepen G., Botsch H., et al.** (1992). Mescaline-induced psychopathological, neuropsychological, and neurometabolic effects in normal subjects: experimental psychosis as a tool for psychiatric research. *Biol Psychiatry*, 32, 976-991.
- Hermle L., Gouzoulis-Mayfrank E., Spitzer M.** (1998). Blood flow and cerebral laterality in the mescaline model of psychosis. *Pharmacopsychiatry*, 31 Suppl 2, 85-91.
- Hermle L., Kovar K.-A., Hewer W., Ruchow M.** (2008). Halluzinogen-induzierte psychische Störungen. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 76, 334-342.
- Hermle L., Ruchow M., Täschner K.** (2015). Halluzinogen-induzierte Persistierende Wahrnehmungsstörung (HPPD) und Flashback-Phänomene—Differenzialdiagnose und Erklärungsmodelle. *Fortschr Neurol Psychiatr*, 83, 506-515.
- Hintzen A., Passie T.** (2010). *The pharmacology of LSD*. New York: Oxford University Press.
- Hislop J. N., von Zastrow M.** (2005). Regulated Membrane Trafficking and Proteolysis of GPCRs. In: Devi L, editor. *The G Protein-Coupled Receptors Handbook*. Totowa: Humana Press, pp 95-105.
- Hoch P.** (1956). Studies in routes of administration and counteracting drugs. In: Cholden L, editor. *Lysergic Acid Diethylamide and Mescaline in Experimental Psychiatry*. New York: Grune and Stratton, pp 8-12.
- Hoffer A., Osmond H.** (1967). *The Hallucinogens*. London: Academic Press.
- Hoffmeister F.** (1975). Negative reinforcing properties of some psychotropic drugs in drug-naive rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther*, 192, 468-477.
- Hofmann A.** (2010). *LSD - mein Sorgenkind: Die Entdeckung einer "Wunderdroge"*. 3. ed. Stuttgart: Klett-Cotta.
- Hongu T., Kanaho Y.** (2014). Mammalian Phospholipase D: Structure, Regulation, and Physiological Function of Phospholipase D and its Link to Pathology. In: Tappia PS, Dhalla NS, editors. *Phospholipases in Health and Disease*. New York: Springer, pp 343-358.
- Horita A., Hill H.** (1972). Hallucinogens, amphetamines and temperature regulation. *The pharmacology of thermoregulation. Symposium, San Francisco*, pp 417-431.
- Hrdina P. D., Demeter E., Vu T. B., Sótónyi P., et al.** (1993). 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in brain of antidepressant-free suicide victims/depressives: increase in 5-HT₂ sites in cortex and amygdala. *Brain Res*, 614, 37-44.
- Hsieh C., Brown S., Derleth C., Mackie K.** (1999). Internalization and recycling of the CB₁ cannabinoid receptor. *J Neurochem*, 73, 493-501.

- Idkowiak-Baldys J., Baldys A., Raymond J. R., Hannun Y. A.** (2009). Sustained receptor stimulation leads to sequestration of recycling endosomes in a classical protein kinase C-and phospholipase D-dependent manner. *J Biol Chem*, 284, 22322-22331.
- Isbell H.** (1959). Comparison of the reactions induced by psilocybin and LSD-25 in man. *Psychopharmacologia*, 1, 29-38.
- Isbell H., Belleville R., Fraser H., Wikler A., et al.** (1956). Studies on lysergic acid diethylamide (LSD-25). I. Effects in former morphine addicts and development of tolerance during chronic intoxication. *AMA Arch Neurol Psychiatry*, 76, 468-478.
- Isbell H., Jasinski D. R.** (1969). A comparison of LSD-25 with (-)- Δ 9-trans-tetrahydrocannabinol (THC) and attempted cross tolerance between LSD and THC. *Psychopharmacology (Berl)*, 14, 115-123.
- Isbell H., Wolbach A. B., Wikler A., Miner E. J.** (1961). Cross tolerance between LSD and psilocybin. *Psychopharmacologia*, 2, 147-159.
- Jacob J., Lafille C.** (1963). Caractérisation et detection pharmacologiques des substances hallucinogènes. *Arch Int Pharmacodyn*, 145, 528-545.
- Jang J.-H., Lee C. S., Hwang D., Ryu S. H.** (2012). Understanding of the roles of phospholipase D and phosphatidic acid through their binding partners. *Prog Lipid Res*, 51, 71-81.
- Jenner P., Marsden C., Thanki C.** (1980). Behavioural changes induced by N, N-dimethyltryptamine in rodents. *Br J Pharmacol*, 69, 69-80.
- Johnson M. S., Lutz E. M., Firbank S., Holland P. J., et al.** (2003). Functional interactions between native Gs-coupled 5-HT receptors in HEK-293 cells and the heterologously expressed serotonin transporter. *Cell Signal*, 15, 803-811.
- Johnson M. W., Griffiths R. R.** (2017). Potential therapeutic effects of psilocybin. *Neurotherapeutics*, 14, 734-740.
- Jones B. E., Moore R. Y.** (1977). Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. II. Autoradiographic study. *Brain Res*, 127, 23-53.
- Kalant H., Khanna J.** (1990). Methods for the study of tolerance. In: Adler M, Cowan A, editors. *Testing and evaluation of drugs of abuse*. New York: Wiley-Liss, pp 43-66.
- Karaki S., Becamel C., Murat S., la Cour C. M., et al.** (2014). Quantitative phosphoproteomics unravels biased phosphorylation of serotonin 2A receptor at Ser280 by hallucinogenic versus nonhallucinogenic agonists. *Mol Cell Proteomics*, 13, 1273-1285.
- Katz M. M., Waskow I. E., Olsson J.** (1968). Characterizing the psychological state produced by LSD. *J Abnorm Psychol*, 73, 1-14.
- Kehne J. H., Baron B. M., Carr A. A., Chaney S. F., et al.** (1996). Preclinical characterization of the potential of the putative atypical antipsychotic MDL 100,907 as a potent 5-HT_{2A} antagonist with a favorable CNS safety profile. *J Pharmacol Exp Ther*, 277, 968-981.
- Khanna J., Le A.** (1996). Cross-Tolerance: Theoretical and Experimental Issues. In: Begleiter H, Kissin B, editors. *The Pharmacology of Alcohol and Alcohol Dependence*. New York: Oxford University Press, pp 110-142.
- Kim H., Sablin S. O., Ramsay R. R.** (1997). Inhibition of Monoamine Oxidase A by β -Carboline Derivatives. *Arch Biochem Biophys*, 337, 137-142.
- Klee G. D., Bertino J., Weintraub W., Callaway E.** (1961). The influence of varying dosage on the effects of lysergic acid diethylamide (LSD-25) in humans. *J Nerv Ment Dis*, 132, 404-409.
- Klock J. C., Boerner U., Becker C. E.** (1974). Coma, hyperthermia and bleeding associated with massive LSD overdose. A report of eight cases. *West J Med*, 120, 183-188.
- Knauer C. S., Campbell J. E., Chio C. L., Fitzgerald L. W.** (2009). Pharmacological characterization of mitogen-activated protein kinase activation by recombinant human 5-HT_{2C}, 5-HT_{2A}, and 5-HT_{2B} receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 379, 461-471.
- Knight A. R., Misra A., Quirk K., Benwell K., et al.** (2004). Pharmacological characterisation of the agonist radioligand binding site of 5-HT 2A, 5-HT 2B and 5-HT 2C receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 370, 114-123.

- Koch T., Brandenburg L.-O., Schulz S., Liang Y., et al.** (2003). ADP-ribosylation factor-dependent phospholipase D2 activation is required for agonist-induced μ -opioid receptor endocytosis. *J Biol Chem*, 278, 9979-9985.
- Koch T., Höllt V.** (2008). Role of receptor internalization in opioid tolerance and dependence. *Pharmacol Ther*, 117, 199-206.
- Koch T., Schulz S., Schröder H., Wolf R., et al.** (1998). Carboxyl-terminal splicing of the rat μ opioid receptor modulates agonist-mediated internalization and receptor resensitization. *J Biol Chem*, 273, 13652-13657.
- Koch T., Widera A., Bartzsch K., Schulz S., et al.** (2005). Receptor endocytosis counteracts the development of opioid tolerance. *Mol Pharmacol*, 67, 280-287.
- Koch T., Wu D. F., Yang L. Q., Brandenburg L. O., et al.** (2006). Role of phospholipase D2 in the agonist-induced and constitutive endocytosis of G-protein coupled receptors. *J Neurochem*, 97, 365-372.
- Kometer M., Schmidt A., Bachmann R., Studerus E., et al.** (2012). Psilocybin biases facial recognition, goal-directed behavior, and mood state toward positive relative to negative emotions through different serotonergic subreceptors. *Biol Psychiatry*, 72, 898-906.
- Kooijman E. E., Chupin V., Fuller N. L., Kozlov M. M., et al.** (2005). Spontaneous curvature of phosphatidic acid and lysophosphatidic acid. *Biochemistry*, 44, 2097-2102.
- Kopnisky K., Hyman S.** (2002). Molecular and cellular biology of addiction. In: Davis K, Charney D, Coyle J, Nemeroff C, editors. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp 1367-1379.
- Krebs T. S., Johansen P. O.** (2012). Lysergic acid diethylamide (LSD) for alcoholism: meta-analysis of randomized controlled trials. *J Psychopharmacol*, 26, 994-1002.
- Kurrasch-Orbaugh D. M., Watts V. J., Barker E. L., Nichols D. E.** (2003). Serotonin 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor-coupled phospholipase C and phospholipase A₂ signaling pathways have different receptor reserves. *J Pharmacol Exp Ther*, 304, 229-237.
- Kuypers K. P., Ng L., Erritzoe D., Knudsen G. M., et al.** (2019). Microdosing psychedelics: More questions than answers? An overview and suggestions for future research. *J Psychopharmacol*, 33, 1039-1057.
- Laemmli U. K.** (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lê A. D., Khanna J. M.** (1989). Dispositional Mechanisms in Drug Tolerance and Sensitization. In: Goudie AJ, Emmett-Oglesby MW, editors. *Psychoactive Drugs: Tolerance and Sensitization*. Totowa, NJ: Humana Press, pp 281-351.
- Lee C. S., Kim I. S., Park J. B., Lee M. N., et al.** (2006). The phox homology domain of phospholipase D activates dynamin GTPase activity and accelerates EGFR endocytosis. *Nat Cell Biol*, 8, 477.
- Lee J.-K., Won J.-S., Choi M.-R., Kim Y.-H., et al.** (2001). Differential effects of forskolin and phobol 12-myristate-13-acetate on the c-fos and c-jun mRNA expression in rat C6 glioma cells. *Mol Cells*, 12, 11-16.
- Lee J. S., Kim I. S., Kim J. H., Cho W., et al.** (2009). Determination of EGFR Endocytosis Kinetic by Auto-Regulatory Association of PLD1 with μ 2. *PLoS One*, 4, e7090.
- Leysen J., Awouters F., Kennis L., Laduron P., et al.** (1981). Receptor binding profile of R 41 468, a novel antagonist at 5-HT₂ receptors. *Life Sci*, 28, 1015-1022.
- Leysen J. E., Janssen P. F. M., Niemegeers C. J. E.** (1989). Rapid desensitization and down-regulation of 5-HT₂ receptors by DOM treatment. *Eur J Pharmacol*, 163, 145-149.
- Lin M., Tsay H., Su W., Chueh F.** (1998). Changes in extracellular serotonin in rat hypothalamus affect thermoregulatory function. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*, 274, R1260-R1267.
- Linton H. B., Langs R. J.** (1962). Subjective reactions to lysergic acid diethylamide (LSD-25): Measured by a questionnaire. *Arch Gen Psychiatry*, 6, 352-368.
- Lowry O., Farr A., Randall R.** (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193, 265.
- Lucki I.** (1990). Behavioral responses associated with serotonin receptors. In: Thompson T, Dews PB, Barrett JE, editors. *Advances in behavioral pharmacology*. New York: Erlbaum, pp 119-148.

- Ludwig A. M., Levine J.** (1965). Patterns of hallucinogenic drug abuse. 191, 92-96.
- Luna L. E.** (2011). Indigenous and mestizo use of Ayahuasca. An overview. In: Guimarães dos Santos R, editor. *The ethnopharmacology of ayahuasca*. Kerala: Transworld Research Network, pp 1-21.
- Ly C., Greb A. C., Cameron L. P., Wong J. M., et al.** (2018). Psychedelics promote structural and functional neural plasticity. *Cell reports*, 23, 3170-3182.
- Maeshima T., Ito R., Hamada S., Senzaki K., et al.** (1998). The cellular localization of 5-HT_{2A} receptors in the spinal cord and spinal ganglia of the adult rat. *Brain Res*, 797, 118-124.
- Magalhaes A. C., Holmes K. D., Dale L. B., Comps-Agrar L., et al.** (2010). CRF receptor 1 regulates anxiety behavior via sensitization of 5-HT₂ receptor signaling. *Nat Neurosci*, 13, 622.
- Manders E., Verbeek F., Aten J.** (1993). Measurement of co-localization of objects in dual-colour confocal images. *J Microsc*, 169, 375-382.
- Manske R. H. F.** (1931). A synthesis of the methyltryptamines and some derivatives. *Can J Res*, 5, 592-600.
- Marchese A., Paing M. M., Temple B. R., Trejo J.** (2008). G protein-coupled receptor sorting to endosomes and lysosomes. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 48, 601-629.
- Marek G. J.** (2017). Interactions of hallucinogens with the glutamatergic system: permissive network effects mediated through cortical layer V pyramidal neurons. In: Halberstadt A, Vollenweider FX, Nichols D, editors. *Behavioral Neurobiology of Psychedelic Drugs*. Heidelberg: Springer, pp 107-135.
- Marona-Lewicka D., Nichols C. D., Nichols D. E.** (2011). An animal model of schizophrenia based on chronic LSD administration: old idea, new results. *Neuropharmacology*, 61, 503-512.
- Martín-Ruiz R., Puig M. V., Celada P., Shapiro D. A., et al.** (2001). Control of serotonergic function in medial prefrontal cortex by serotonin-2A receptors through a glutamate-dependent mechanism. *J Neurosci*, 21, 9856-9866.
- Martin B. R., Sim-Selley L. J., Selley D. E.** (2004). Signaling pathways involved in the development of cannabinoid tolerance. *Trends Pharmacol Sci*, 25, 325-330.
- Martin D. A., Marona-Lewicka D., Nichols D. E., Nichols C. D.** (2014). Chronic LSD alters gene expression profiles in the mPFC relevant to schizophrenia. *Neuropharmacology*, 83, 1-8.
- Martin D. A., Nichols C. D.** (2016). Psychedelics recruit multiple cellular types and produce complex transcriptional responses within the brain. *EBioMedicine*, 11, 262-277.
- Martin W., Vaupel D., Nozaki M., Bright L.** (1978). The identification of LSD-like hallucinogens using the chronic spinal dog. *Drug Alcohol Depend*, 3, 113-123.
- Mayberry C. L., Soucy A. N., Lajoie C. R., DuShane J. K., et al.** (2019). JC Polyomavirus Entry by Clathrin-Mediated Endocytosis is Driven by β -arrestin. *J Virol*, JVI. 01948-01918.
- Mazzola-Pomietto P., Aulakh C. S., Wozniak K. M., Hill J. L., et al.** (1995). Evidence that 1-(2, 5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI)-induced hyperthermia in rats is mediated by stimulation of 5-HT_{2A} receptors. *Psychopharmacology (Berl)*, 117, 193-199.
- Mazzola-Pomietto P., Aulakh C. S., Wozniak K. M., Murphy D. L.** (1996). Evidence that m-chlorophenylpiperazine-induced hyperthermia in rats is mediated by stimulation of 5-HT_{2C} receptors. *Psychopharmacology (Berl)*, 123, 333-339.
- McKenna D., Riba J.** (2018). New world tryptamine hallucinogens and the neuroscience of ayahuasca. *Behavioral Neurobiology of Psychedelic Drugs*: Springer, pp 283-311.
- McKenna D. J., Nazarali A. J., Himeno A., Saavedra J. M.** (1989). Chronic treatment with (+/-)DOI, a psychotomimetic 5-HT₂ agonist, downregulates 5-HT₂ receptors in rat brain. *Neuropsychopharmacology*, 2, 81-87.
- McKenna D. J., Towers G. H. N., Abbott F.** (1984). Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: Tryptamine and β -carboline constituents of Ayahuasca. *J Ethnopharmacol*, 10, 195-223.
- McKim W. A., Hancock S. D.** (2013). How we adapt to drugs - Tolerance, sensitization, and expectation. In: McKim WA, Hancock SD, editors. *Drugs and Behavior: An Introduction to Behavioral Pharmacology*. New Jersey: Pearson, pp 40-55.

- Meier K. E., Gibbs T. C., Knoepf S. M., Ella K. M.** (1999). Expression of phospholipase D isoforms in mammalian cells. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 1439, 199-213.
- Mendelson S. D.** (2000). The current status of the platelet 5-HT_{2A} receptor in depression. *J Affect Disord*, 57, 13-24.
- Mercieca J., Brown E. A.** (1984). Acute renal failure due to rhabdomyolysis associated with use of a straitjacket in lysergide intoxication. *Br Med J*, 288, 1949-1950.
- Meyer J. S., Quenzer L. F.** (2013). *Psychopharmacology: Drugs, the Brain, and Behavior*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Miksys S., Hoffmann E., Tyndale R. F.** (2000). Regional and cellular induction of nicotine-metabolizing CYP2B1 in rat brain by chronic nicotine treatment. *Biochem Pharmacol*, 59, 1501-1511.
- Mishor Z., McKenna D. J., Callaway J.** (2011). DMT and human consciousness. In: Cardena E, Winkelman M, editors. *Altered States of Consciousness: A Multidisciplinary Perspective*. California: Praeger, pp 85-118.
- Misra A. L., Pontani R. B., Mule S. J.** (1974). (2-14C) amobarbital metabolism in tolerant rats. *Xenobiotica*, 4, 409-423.
- Moore R., Demetriou S., Domino E.** (1975). Effects of iproniazid, chlorpromazine and methiothepin on DMT-induced changes in body temperature, pupillary dilatation, blood pressure and EEG in the rabbit. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 213, 64-72.
- Murakami N., Sakai Y., Ooki S.** (1980). Behavioral thermoregulation in rats during hyperthermia induced by lysergic acid diethylamide. *Neurosci Lett*, 20, 105-108.
- Murray T. F., Craigmill A. L., Fischer G. J.** (1977). Pharmacological and behavioral components of tolerance to LSD and mescaline in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 7, 239-244.
- Muschamp J. W., Regina M. J., Hull E. M., Winter J. C., et al.** (2004). Lysergic acid diethylamide and [-]-2,5-dimethoxy-4-methylamphetamine increase extracellular glutamate in rat prefrontal cortex. *Brain Res*, 1023, 134-140.
- Muthukumaraswamy S. D., Carhart-Harris R. L., Moran R. J., Brookes M. J., et al.** (2013). Broadband cortical desynchronization underlies the human psychedelic state. *J Neurosci*, 33, 15171-15183.
- Nagatsu T., Nakano T., Kato T., Higashida H.** (1981). Expression of A and B types of monoamine oxidase in neuroblastoma hybrid cells. *Neurochem Int*, 3, 137-142.
- Nakamura K.** (2015). Neural circuit for psychological stress-induced hyperthermia. *Temperature*, 2, 352-361.
- Neuhold K. v., Taeschler M., Cerletti A.** (1957). Beitrag zur zentralen Wirkung von LSD: Versuche über die Lokalisation von LSD-Effekten. *Helv Physiol Pharmacol Acta*, 15, 1-7.
- Nichols D. E.** (2004). Hallucinogens. *Pharmacol Ther*, 101, 131-181.
- Nichols D. E.** (2016). Psychedelics. *Pharmacol Rev*, 68, 264-355.
- Nichols D. E., Grob C. S.** (2018). Is LSD toxic? *Forensic Sci Int*, 284, 141-145.
- Nielson J. L., Megler J. D.** (2014). Ayahuasca as a Candidate Therapy for PTSD. In: Labate BC, Cavnar C, editors. *The Therapeutic Use of Ayahuasca*. Berlin: Springer pp 41-58.
- Nishizuka Y.** (1992). Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science*, 258, 607-614.
- Nutt D., King L. A., Saulsbury W., Blakemore C.** (2007). Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *Lancet*, 369, 1047-1053.
- Nutt D. J., King L. A., Nichols D. E.** (2013). Effects of Schedule I drug laws on neuroscience research and treatment innovation. *Nat Rev Neurosci*, 14, 577-585.
- Ootsuka Y., Blessing W. W.** (2006). Thermogenesis in brown adipose tissue: increase by 5-HT_{2A} receptor activation and decrease by 5-HT_{1A} receptor activation in conscious rats. *Neurosci Lett*, 395, 170-174.
- Ott J., Neely P.** (1980). Entheogenic (hallucinogenic) effects of methylergonovine. *J Psychedelic Drugs*, 12, 165.
- Ouagazzal A. M., Grottick A. J., Moreau J. L., Higgins G. A.** (2001). Effect of LSD on Prepulse Inhibition and Spontaneous Behavior in the Rat: A Pharmacological Analysis and Comparison between Two Rat Strains. *Neuropsychopharmacology*, 25, 565-575.

- Pachter I. J., Zacharias D. E., Ribeiro O.** (1959). Indole Alkaloids of *Acer saccharinum* (the Silver Maple), *Dictyoloma incanescens*, *Piptadenia colubrina*, and *Mimosa hostilis*. *J Org Chem*, 24, 1285-1287.
- Palhano-Fontes F., Andrade K. C., Tofoli L. F., Santos A. C., et al.** (2015). The psychedelic state induced by ayahuasca modulates the activity and connectivity of the default mode network. *PLoS One*, 10, e0118143.
- Parker L. A.** (1996). LSD produces place preference and flavor avoidance but does not produce flavor aversion in rats. *Behav Neurosci*, 110, 503-508.
- Parrish J. C., Nichols D. E.** (2006). Serotonin 5-HT_{2A} receptor activation induces 2-arachidonoylglycerol release through a phospholipase c-dependent mechanism. *J Neurochem*, 99, 1164-1175.
- Passie T.** (2019). *Science of microdosing psychedelics*. London: Psychedelic Press.
- Passie T., Halpern J. H., Stichtenoth D. O., Emrich H. M., et al.** (2008). The pharmacology of lysergic acid diethylamide: a review. *CNS Neurosci Ther*, 14, 295-314.
- Passie T., Seifert J., Schneider U., Emrich H. M.** (2002). The pharmacology of psilocybin. *Addict Biol*, 7, 357-364.
- Pinel J. P. J., Pfaus J. G., Christensen B. K.** (1992). Contingent tolerance to the disruptive effects of alcohol on the copulatory behavior of male rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 41, 133-137.
- Popov N., Pohle W., Lössner B., Schulzeck S., et al.** (1973). Regional distribution of RNA and protein radioactivity in the rat brain after intraventricular application of labeled precursors. *Acta Biol Med Ger*, 31, 51.
- Porter R. H. P., Benwell K. R., Lamb H., Malcolm C. S., et al.** (1999). Functional characterization of agonists at recombinant human 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} and 5-HT_{2C} receptors in CHO-K1 cells. *Br J Pharmacol*, 128, 13-20.
- Post R. M.** (1981). Central Stimulants. In: Israel Y, Glaser FB, Kalant H, Popham RE, Schmidt W, Smart RG, editors. *Research Advances in Alcohol and Drug Problems*. Boston, MA: Springer US, pp 1-65.
- Pranzatelli M., Pluchino R.** (1991). The relation of central 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptors: Low dose agonist-induced selective tolerance in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 39, 407-413.
- Preller K. H., Herdener M., Pokorny T., Planzer A., et al.** (2017). The Fabric of Meaning and Subjective Effects in LSD-Induced States Depend on Serotonin 2A Receptor Activation. *Current Biology*, 27, 451-457.
- Preller K. H., Vollenweider F. X.** (2016). Phenomenology, structure, and dynamic of psychedelic states. *Behavioral Neurobiology of Psychedelic Drugs*: Springer, pp 221-256.
- Quednow B. B., Geyer M. A., Halberstadt A. L.** (2010). Serotonin and Schizophrenia. In: Müller CP, Jacobs BL, editors. *Handbook of Behavioral Neuroscience*. Amsterdam: Elsevier, pp 585-620.
- Quock R., Lum M., Ngoi S.** (1981). N, N-Dimethyltryptamine antagonism and tolerance in the rabbit. *Res Commun Subst Abuse*, 2, 229-238.
- Rahman S., Neuman R. S.** (1993). Multiple mechanisms of serotonin 5-HT₂ receptor desensitization. *Eur J Pharmacol*, 238, 173-180.
- Rankovic M., Jacob L., Rankovic V., Brandenburg L.-O., et al.** (2009). ADP-ribosylation factor 6 regulates mu-opioid receptor trafficking and signaling via activation of phospholipase D2. *Cell Signal*, 21, 1784-1793.
- Raote I., Bhattacharyya S., Panicker M. M.** (2013). Functional selectivity in serotonin receptor 2A (5-HT_{2A}) endocytosis, recycling, and phosphorylation. *Mol Pharmacol*, 83, 42-50.
- Ray T. S.** (2010). Psychedelics and the human receptorome. *PloS one*, 5, e9019.
- Regard J. B., Sato I. T., Coughlin S. R.** (2008). Anatomical profiling of G protein-coupled receptor expression. *Cell*, 135, 561-571.
- Riba J., Rodriguez-Fornells A., Urbano G., Morte A., et al.** (2001). Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage Ayahuasca in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berlin)*, 154, 85-95.
- Riba J., Romero S., Grasa E., Mena E., et al.** (2006). Increased frontal and paralimbic activation following ayahuasca, the pan-Amazonian inebriant. *Psychopharmacology (Berl)*, 186, 93-98.

- Riba J., Valle M., Urbano G., Yritia M., et al.** (2003). Human Pharmacology of Ayahuasca: Subjective and Cardiovascular Effects, Monoamine Metabolite Excretion, and Pharmacokinetics. *J Pharmacol Exp Ther*, 306, 73-83.
- Ring J. R., Randall W. C.** (1947). The distribution and histological structure of sweat glands in the albino rat and their response to prolonged nervous stimulation. *Anat Rec*, 99, 7-19.
- Rinkel M., Deshon H. J., Hyde R. W., Solomon H. C.** (1952). Experimental schizophrenia-like symptoms. *Am J Psychiatry*, 108, 572-578.
- Rivier L., Lindgren J.-E.** (1972). "Ayahuasca," the South American hallucinogenic drink: An ethnobotanical and chemical investigation. *Econ Bot*, 26, 101-129.
- Robertson D., Johnson M., McCulloch D., Lutz E., et al.** (1999). Divergent pathways of phospholipase D activation in the human 5-HT_{2A} receptor and its N376D mutant. *Biochem Soc Trans*, 27, A117-A117.
- Robertson D. N.** (2005). Novel interactions of the 5-HT_{2A} and related receptors with intracellular signalling proteins. *Dissertation*. University of Edinburgh.
- Robertson D. N., Johnson M. S., Moggach L. O., Holland P. J., et al.** (2003). Selective interaction of ARF1 with the carboxy-terminal tail domain of the 5-HT_{2A} receptor. *Mol Pharmacol*, 64, 1239-1250.
- Robinson M. J., Robinson T. E., Berridge K. C.** (2013). Incentive salience and the transition to addiction. In: Miller PM, editor. *Biological Research on Addiction*. Amsterdam: Academic Press, pp 391-399.
- Robinson T. E., Berridge K. C.** (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev*, 18, 247-291.
- Rosenberg D. E., Isbell H., Miner E. J.** (1963). Comparison of a placebo, N-dimethyltryptamine, and 6-hydroxy-N-dimethyltryptamine in man. *Psychopharmacologia*, 4, 39-42.
- Ross J. D., Herin D. V., Frankel P. S., Thomas M. L., et al.** (2006). Chronic treatment with a serotonin(2) receptor (5-HT_{2R}) agonist modulates the behavioral and cellular response to (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine [(+)-MDMA]. *Drug Alcohol Depend*, 81, 117-127.
- Rothman R. B., Baumann M. H., Savage J. E., Rauser L., et al.** (2000). Evidence for possible involvement of 5-HT_{2B} receptors in the cardiac valvulopathy associated with fenfluramine and other serotonergic medications. *Circulation*, 102, 2836-2841.
- Sadzot B., Baraban J. M., Glennon R. A., Lyon R. A., et al.** (1989). Hallucinogenic drug interactions at human brain 5-HT₂ receptors: implications for treating LSD-induced hallucinogenesis. *Psychopharmacology (Berl)*, 98, 495-499.
- Sai-Halász A. S., Brunecker G., Szára S.** (1958). Dimethyltryptamin: ein neues Psychoticum. *Eur Neurol*, 135, 285-301.
- Sambrook J., Russell D. W.** (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schins A., Honig A., Crijns H., Baur L., et al.** (2003). Increased coronary events in depressed cardiovascular patients: 5-HT_{2A} receptor as missing link? *Psychosom Med*, 65, 729-737.
- Schlemmer R., Heinze W., Davis J.** (1979). Evidence For Serotonin Mediation Of LSD-induced Abnormal Behavior In Monkeys. *Fed Proc*, 38, 862-862.
- Schlemmer R. F., Davis J. M.** (1983). A comparison of three psychotomimetic-induced models of psychosis in nonhuman primate social colonies. *Prog Clin Biol Res*, 131, 33-78.
- Schlemmer R. F., Davis J. M.** (1986). A primate model for the study of hallucinogens. *Pharmacol Biochem Behav*, 24, 381-392.
- Schlemmer R. F., Nawara C., Heinze W. J., Davis J. M., et al.** (1986). Influence of environmental context on tolerance to LSD-induced behavior in primates. *Biol Psychiatry*, 21, 314-317.
- Schmid C. L., Raehal K. M., Bohn L. M.** (2008). Agonist-directed signaling of the serotonin 2A receptor depends on β -arrestin-2 interactions in vivo. *PNAS*, 105, 1079-1084.
- Schmid Y., Enzler F., Gasser P., Grouzmann E., et al.** (2015). Acute effects of lysergic acid diethylamide in healthy subjects. *Biol Psychiatry*, 78, 544-553.
- Schoepp D. D., Johnson B. G., Wright R. A., Salhoff C. R., et al.** (1997). LY354740 is a Potent and Highly Selective Group II Metabotropic Glutamate Receptor Agonist in Cells Expressing Human Glutamate Receptors. *Neuropharmacology*, 36, 1-11.

- Schöneberg T.** (2008). Tolerance and Desensitization. In: Offermanns S, Rosenthal W, editors. *Encyclopedia of Molecular Pharmacology*. Berlin: Springer, pp 1203-1207.
- Schreiber R., Brocco M., Audinot V., Gobert A., et al.** (1995). (1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane)-induced head-twitches in the rat are mediated by 5-hydroxytryptamine (5-HT) 2A receptors: modulation by novel 5-HT_{2A/2C} antagonists, D1 antagonists and 5-HT_{1A} agonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 273, 101-112.
- Schroeder H., Grecksch G., Becker A., Bogerts B., et al.** (1999). Alterations of the dopaminergic and glutamatergic neurotransmission in adult rats with postnatal ibotenic acid hippocampal lesion. *Psychopharmacology (Berl)*, 145, 61-66.
- Schuster C., Dockens W., Woods J.** (1966). Behavioral variables affecting the development of amphetamine tolerance. *Psychopharmacologia*, 9, 170-182.
- Scruggs J. L., Schmidt D., Deutch A. Y.** (2003). The hallucinogen 1-[2,5-dimethoxy-4-iodophenyl]-2-aminopropane (DOI) increases cortical extracellular glutamate levels in rats. *Neurosci Lett*, 346, 137-140.
- Seaman S., Brettle R., Gore S.** (1998). Mortality from overdose among injecting drug users recently released from prison: database linkage study. *Br Med J*, 316, 426-428.
- Serafine K. M., France C. P.** (2014). Restricted access to standard or high fat chow alters sensitivity of rats to the 5-HT_{2A/2C} receptor agonist 1-(2, 5-dimethoxy-4-methylphenyl)-2-aminopropane (DOM). *Behav Pharmacol*, 25, 44.
- Sewell R. A., Halpern J. H., Pope H. G.** (2006). Response of cluster headache to psilocybin and LSD. *Neurology*, 66, 1920-1922.
- Shah N. S., Hedden M. P.** (1978). Behavioral effects and metabolic fate of N,N-dimethyltryptamine in mice pretreated with beta-diethylaminoethyl-diphenylpropylacetate (SKF 525-A), imiproniazid and chlorpromazine. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 8, 351-356.
- Sharp T., Boothman L., Raley J., Quéree P.** (2007). Important messages in the 'post': recent discoveries in 5-HT neurone feedback control. *Trends Pharmacol Sci*, 28, 629-636.
- Shemano I., Nickerson M.** (1958). Effect of ambient temperature on thermal responses to drugs. *Can J Biochem Physiol*, 36, 1243-1249.
- Shi J., Damjanoska K. J., Singh R. K., Carrasco G. A., et al.** (2007). Agonist induced-phosphorylation of G α 11 protein reduces coupling to 5-HT_{2A} receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 323, 248-256.
- Shulgin A.** (1981). Profiles of psychedelic drugs: 10. DOB. *J Psychoactive Drugs*, 13, 99.
- Shulgin A., Shulgin A.** (1991). *PIHKAL: A chemical love story*. Berkeley: Transform Press.
- Shulgin A., Shulgin A.** (1997). *TIHKAL: the continuation*. Berkeley: Transform Press.
- Shulgin A. T., Manning T., Daley P. F.** (2011). *The Shulgin Index: Volume One: Psychedelic Phenethylamines and Related Compounds*. Berkeley: Transform Press.
- Siegel S.** (1983). Classical Conditioning, Drug Tolerance, and Drug Dependence. *Research Advances in Alcohol and Drug Problems*. Boston: Springer, pp 207-246.
- Sim-Selley L. J.** (2003). Regulation of cannabinoid CB₁ receptors in the central nervous system by chronic cannabinoids. *Crit Rev Neurobiol*, 15.
- Sitaram B. R., Lockett L., Talomsin R., Blackman G. L., et al.** (1987). In vivo metabolism of 5-methoxy-N, N-dimethyltryptamine and N, N-dimethyltryptamine in the rat. *Biochem Pharmacol*, 36, 1509-1512.
- Slater P. E., Morimoto K., Hyde R. W.** (1957). The Effect of Group Administration upon Symptom Formation under LSD. *J Nerv Ment Dis*, 125, 312-315.
- Sloviter R. S., Drust E. G., Damiano B. P., Connor J. D.** (1980). A common mechanism for lysergic acid, indolealkylamine and phenethylamine hallucinogens: serotonergic mediation of behavioral effects in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 214, 231-238.
- Smith D. A., Bailey J. M., Williams D., Fantegrossi W. E.** (2014). Tolerance and cross-tolerance to head twitch behavior elicited by phenethylamine-and tryptamine-derived hallucinogens in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 351, 485-491.
- Smith R. L., Canton H., Barrett R. J., Sanders-Bush E.** (1998). Agonist properties of N, N-dimethyltryptamine at serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Pharmacol Biochem Behav*, 61, 323-330.

- Soman S., Bhattacharya A., Panicker M. M.** (2019). Dopamine Requires Unique Residues to Signal via the Serotonin 2A Receptor. *Neuroscience*, doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.1003.1056.
- Spain A., Howarth C., Khrapitchev A. A., Sharp T., et al.** (2015). Neurovascular and neuroimaging effects of the hallucinogenic serotonin receptor agonist psilocin in the rat brain. *Neuropharmacology*, 99, 210-220.
- Sprenkel K.** (1822). *Theophrast's Naturgeschichte der Gewächse*. Altona: Hammerich.
- Srikiatkhachorn A., Suwattanasophon C., Ruangpattanatawee U., Phansuwan-Pujito P.** (2002). 5-HT_{2A} receptor activation and nitric oxide synthesis: a possible mechanism determining migraine attacks. *Headache: J Head Face Pain*, 42, 566-574.
- Stahelin H., Taeschler M.** (1959). Beitrag zur Differenzierung der Fieberwirkung von Lipopolysaccharid-Pyrogen und D-Lysergsäurediäthylamid (LSD). *Helv Physiol Pharmacol Acta*, 17, 23-33.
- Stewart J., Badiani A.** (1993). Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behav Pharmacol*, 4, 289-312.
- Stoll W.** (1947). Lysergsäurediäthylamid, ein Phantastikum aus der Mutterkorngruppe. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr*, 60, 279-323.
- Stone A. L., O'Brien M. S., De La Torre A., Anthony J. C.** (2007). Who is becoming hallucinogen dependent soon after hallucinogen use starts? *Drug Alcohol Depend*, 87, 153-163.
- Strang J., McCambridge J., Best D., Beswick T., et al.** (2003). Loss of tolerance and overdose mortality after inpatient opiate detoxification: follow up study. *Br Med J*, 326, 959-960.
- Strassman R. J.** (1984). Adverse reactions to psychedelic drugs. A review of the literature. *J Nerv Ment Dis*, 172, 577-595.
- Strassman R. J.** (1995). Human psychopharmacology of N,N-dimethyltryptamine. *Behav Brain Res*, 73, 121-124.
- Strassman R. J., Qualls C. R.** (1994). Dose-response study of N,N-dimethyltryptamine in humans: I. Neuroendocrine, autonomic, and cardiovascular effects. *Arch Gen Psychiatry*, 51, 85-97.
- Strassman R. J., Qualls C. R., Berg L. M.** (1996). Differential tolerance to biological and subjective effects of four closely spaced doses of N,N-dimethyltryptamine in humans. *Biol Psychiatry*, 39, 784-795.
- Strassman R. J., Qualls C. R., Uhlenhuth E. H., Kellner R.** (1994). Dose-response study of N,N-dimethyltryptamine in humans. II. Subjective effects and preliminary results of a new rating scale. *Arch Gen Psychiatry*, 51, 98-108.
- Studerus E., Gamma A., Komater M., Vollenweider F. X.** (2012). Prediction of psilocybin response in healthy volunteers. *PLoS One*, 7, e30800.
- Studerus E., Komater M., Hasler F., Vollenweider F. X.** (2011). Acute, subacute and long-term subjective effects of psilocybin in healthy humans: a pooled analysis of experimental studies. *J Psychopharmacol*, 25, 1434-1452.
- Su T.-P., Hayashi T., Maurice T., Buch S., et al.** (2010). The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator. *Trends Pharmacol Sci*, 31, 557-566.
- Szabo S. T., Blier P.** (2001). Serotonin 1A receptor ligands act on norepinephrine neuron firing through excitatory amino acid and GABA_A receptors: A microiontophoretic study in the rat locus coeruleus. *Synapse*, 42, 203-212.
- Szara S.** (1957). The Comparison of the Psychotic Effect of Tryptamine Derivatives with the Effects of Mescaline and LSD-25 in Self-Experiments. In: Garattini S, Ghetti V, editors. *Psychotropic drugs*. Amsterdam: Elsevier, pp 460-467.
- Szára S.** (1956). Dimethyltryptamin: Its metabolism in man; the relation of its psychotic effect to the serotonin metabolism. *Experientia*, 12, 441-442.
- Szule J. A., Fuller N. L., Rand R. P.** (2002). The effects of acyl chain length and saturation of diacylglycerols and phosphatidylcholines on membrane monolayer curvature. *Biophys J*, 83, 977-984.
- Tagliazucchi E., Roseman L., Kaelen M., Orban C., et al.** (2016). Increased global functional connectivity correlates with LSD-Induced ego dissolution. *Curr Biol*, 26, 1043-1050.

- Tanowitz M., von Zastrow M.** (2010). Agonist-induced desensitization and endocytosis of G-protein-coupled receptors. In: Bradshaw R, Dennis E, editors. *Handbook of Cell Signaling*: Elsevier, pp 177-183.
- Tepper S. J., Rapoport A. M., Sheftell F. D.** (2002). Mechanisms of action of the 5-HT_{1B/1D} receptor agonists. *Arch Neurol*, 59, 1084-1088.
- Tian X., Kang D. S., Benovic J. L.** (2014). β -arrestins and G protein-coupled receptor trafficking. In: Gurevich V, editor. *Arrestins - Pharmacology and Therapeutic Potential*. Berlin: Springer, pp 173-186.
- Torda T., Culman J., Cechova E., Murgas K.** (1988). 3-H-ketanserin (serotonin type 2) binding in the rat frontal cortex: effect of immobilization stress. *Endocrinol Exp*, 22, 99-105.
- Toth M., Shenk T.** (1994). Antagonist-mediated down-regulation of 5-hydroxytryptamine type 2 receptor gene expression: modulation of transcription. *Mol Pharmacol*, 45, 1095-1100.
- Trulson M. E., Jacobs B. L.** (1977). Usefulness of an animal behavioral model in studying the duration of action of LSD and the onset and duration of tolerance to LSD in the cat. *Brain Res*, 132, 315-326.
- Tsao P., von Zastrow M.** (2000). Downregulation of G protein-coupled receptors. *Curr Opin Neurobiol*, 10, 365-369.
- Tsuchioka M., Takebayashi M., Hisaoka K., Maeda N., et al.** (2008). Serotonin (5-HT) induces glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) mRNA expression via the transactivation of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) in rat C6 glioma cells. *J Neurochem*, 106, 244-257.
- Turner W. J., Merlis S.** (1959). Effect of some indolealkylamines on man. *AMA Arch Neurol Psychiatry*, 81, 121-129.
- Ueda H., Ueda M.** (2009). Mechanisms underlying morphine analgesic tolerance and dependence. *Front Biosci*, 14, 5260-5272.
- Ullrich O., Reinsch S., Urbé S., Zerial M., et al.** (1996). Rab11 regulates recycling through the pericentriolar recycling endosome. *J Cell Biol*, 135, 913-924.
- Valle M., Maqueda A. E., Rabella M., Rodríguez-Pujadas A., et al.** (2016). Inhibition of alpha oscillations through serotonin-2A receptor activation underlies the visual effects of ayahuasca in humans. *Eur Neuropsychopharmacol*, 26, 1161-1175.
- Vázquez-Borsetti P., Cortés R., Artigas F.** (2008). Pyramidal neurons in rat prefrontal cortex projecting to ventral tegmental area and dorsal raphe nucleus express 5-HT_{2A} receptors. *Cereb Cortex*, 19, 1678-1686.
- Villares J.** (2007). Chronic use of marijuana decreases cannabinoid receptor binding and mRNA expression in the human brain. *Neuroscience*, 145, 323-334.
- Vindis C., Séguélas M.-H., Lanier S., Parini A., et al.** (2001). Dopamine induces ERK activation in renal epithelial cells through H₂O₂ produced by monoamine oxidase. *Kidney Int*, 59, 76-86.
- Vollenweider F. X., Csomor P. A., Knappe B., Geyer M. A., et al.** (2007). The Effects of the Preferential 5-HT_{2A} Agonist Psilocybin on Prepulse Inhibition of Startle in Healthy Human Volunteers Depend on Interstimulus Interval. *Neuropsychopharmacology*, 32, 1876-1887.
- Vollenweider F. X., Leenders K. L., Scharfetter C., Maguire P., et al.** (1997). Positron emission tomography and fluorodeoxyglucose studies of metabolic hyperfrontality and psychopathology in the psilocybin model of psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 16, 357-372.
- Vollenweider F. X., Vollenweider-Scherpenhuyzen M. F., Bäbler A., Vogel H., et al.** (1998). Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. *Neuroreport*, 9, 3897-3902.
- Wacker D., Wang S., McCorvy J. D., Betz R. M., et al.** (2017). Crystal structure of an LSD-bound human serotonin receptor. *Cell*, 168, 377-389. e312.
- Wang H., Friedman E.** (1990). Central 5-hydroxytryptamine receptor-linked protein kinase C translocation: a functional postsynaptic signal transduction system. *Mol Pharmacol*, 37, 75-79.
- Watts S. W., Morrison S. F., Davis R. P., Barman S. M.** (2012). Serotonin and blood pressure regulation. *Pharmacol Rev*, 64, 359-388.

- West M. A., Bright N. A., Robinson M. S.** (1997). The Role of ADP-ribosylation Factor and Phospholipase D in Adaptor Recruitment. *J Cell Biol*, 138, 1239-1254.
- Wieland S., Kreider M. S., McGonigle P., Lucki I.** (1990). Destruction of the nucleus raphe obscurus and potentiation of serotonin-mediated behaviors following administration of the neurotoxin 3-acetylpyridine. *Brain Res*, 520, 291-302.
- Wilkinson L. O., Dourish C. T.** (1991). Serotonin and animal behavior. In: Peroutka SJ, editor. *Serotonin receptor subtypes: Basic and clinical aspects*. New York: Wiley, pp 147-210.
- Williams J. T., Ingram S. L., Henderson G., Chavkin C., et al.** (2013). Regulation of μ -opioid receptors: Desensitization, phosphorylation, internalization, and tolerance. *Pharmacol Rev*, 65, 223-254.
- Willins D., Alsayegh L., Berry S., Backstrom J., et al.** (1998). Serotonergic Antagonist Effects on Trafficking of Serotonin 5-HT_{2A} Receptors in Vitro and in Vivo a. *Ann N Y Acad Sci*, 861, 121-127.
- Willins D., Berry S., Alsayegh L., Backstrom J., et al.** (1999). Clozapine and other 5-hydroxytryptamine-2A receptor antagonists alter the subcellular distribution of 5-hydroxytryptamine-2A receptors in vitro and in vivo. *Neuroscience*, 91, 599-606.
- Willins D. L., Meltzer H. Y.** (1997). Direct injection of 5-HT_{2A} receptor agonists into the medial prefrontal cortex produces a head-twitch response in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 282, 699-706.
- Winter J. C.** (1971). Tolerance to a behavioral effect of lysergic acid diethylamide and cross-tolerance to mescaline in the rat: absence of a metabolic component. *J Pharmacol Exp Ther*, 178, 625-630.
- Winter J. C., Kieres A. K., Zimmerman M. D., Reissig C. J., et al.** (2005). The stimulus properties of LSD in C57BL/6 mice. *Pharmacol Biochem Behav*, 81, 830-837.
- Wischhof L., Koch M.** (2016). 5-HT_{2A} and mGlu_{2/3} receptor interactions: on their relevance to cognitive function and psychosis. *Behav Pharmacol*, 27, 1-11.
- Wolbach A. B., Jr., Isbell H., Miner E. J.** (1962). Cross tolerance between mescaline and LSD-25 with a comparison of the mescaline and LSD reactions. *Psychopharmacologia*, 3, 1-14.
- Wright M., Hogan T. P.** (1972). Repeated LSD ingestion and performance on neuropsychological tests. *J Nerv Ment Dis*, 154, 432-438.
- Wu D. F., Yang L. Q., Goschke A., Stumm R., et al.** (2008). Role of receptor internalization in the agonist-induced desensitization of cannabinoid type 1 receptors. *J Neurochem*, 104, 1132-1143.
- Yu X., Mao X., Blake A. D., Li W. X., et al.** (2003). Morphine and endomorphins differentially regulate μ -opioid receptor mRNA in SHSY-5Y human neuroblastoma cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 306, 447-454.
- Zhang G., Krishnamoorthy S., Ma Z., Vukovich N. P., et al.** (2009). Assessment of 5-hydroxytryptamine efflux in rat brain during a mild, moderate and severe serotonin-toxicity syndrome. *Eur J Pharmacol*, 615, 66.
- Zhang G., Tao R.** (2011). Enhanced responsivity of 5-HT_{2A} receptors at warm ambient temperatures is responsible for the augmentation of the 1-(2, 5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI)-induced hyperthermia. *Neurosci Lett*, 490, 68-71.
- Zukin S. R., Young A. B., Snyder S. H.** (1974). Gamma-aminobutyric acid binding to receptor sites in the rat central nervous system. *PNAS*, 71, 4802-4807.

Abkürzungsverzeichnis

25CN-NBOH	N-(2-Hydroxybenzyl)-2,5-dimethoxy-4-cyanophenylethylamin
³ H	Tritium (Radioaktives Isotop des Wasserstoffs)
³⁵ S	Radioaktives Isotop des Schwefels
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
5-HT _{1A}	Serotonin-Rezeptor, Subtyp 1A
5-HT _{1B}	Serotonin-Rezeptor, Subtyp 1B
5-HT _{1D}	Serotonin-Rezeptor, Subtyp 1D
5-HT ₂	Serotonin-Rezeptor, Familie 2
5-HT _{2(A)}	Serotonin-Rezeptor, Familie 2, tentative Subtypen-Zuordnung
5-HT _{2A}	Serotonin-Rezeptor, Subtyp 2A
5-HT _{2C}	Serotonin-Rezeptor, Subtyp 2C
5-HT ₃	Serotonin-Rezeptor, Subtyp 3
α ₁	(Nor-)Adrenalin-Rezeptor, Subtyp alpha 1
Δ	Veränderung
σ ₁	Sigma-Rezeptor, Subtyp 1
μ	Opioid-Rezeptor, Subtyp μ
ACTB	β-Aktin-kodierendes Gen
AK	Antikörper
Alexa	Alexa-488 (Fluoreszenzfarbstoff)
AluI	Endonuklease, Typ AluI
AMPA	Aminomethyl-Phosphonsäure(-Rezeptor)
AP-1	Aktivator-Protein, Subtyp 1 (Transkriptionsfaktor)
AP2	Adapter-Protein, Subtyp 2
APS	Ammoniumperoxodisulfat
ARF1	Adenosyl-Ribosylierungsfaktor, Subtyp 1
BFA	Bovines Serumalbumin
BGBI.	Bundesgesetzblatt
bp	Basenpaare
BtMG	Betäubungsmittelgesetz
C6	Gliale Gehirntumorzellen (Ratte)
CamKII	Calcium/Calmodulin-abhängige Proteinkinase, Subtyp 2
CB ₁	Cannabinoid-Rezeptor, Subtyp 1

cDNA	mRNA-komplementäre Desoxyribonukleinsäure
c-fos	Transkriptionsfaktor (zelluläres <i>Finkel-Biskis-Jinkins-Osteosarkom</i> -Protein)
CH ₃	Methylgruppe
c-jun	Transkriptionsfaktor (zelluläres <i>Jun</i> ; Vogel-Sarkom-Virus 17)
Cy3	Indocarbocyanin (Fluoreszenzfarbstoff)
DAG	Diazylglyzerol
DC	Dünnschichtchromatographie
ddH ₂ O	Bidestilliertes Wasser
DMEM	<i>Dulbecco's-Modified-Eagle's-Medium</i>
DMN	Ruhezustand-Netzwerk (<i>Default Mode network</i>)
DMT	N,N-Dimethyltryptamin
DOB	4-Bromo-2,5-dimethoxyamphetamin
DOI	4-Iodo-2,5-dimethoxyamphetamin
DOM	4-Methyl-2,5-dimethoxyamphetamin
DPX	<i>Distrene Plasticiser Xylene</i>
DSM-5	Diagnostisch statistisches Manual Psychischer Störungen, fünfte Edition
EC ₅₀	Mittlere effektive Konzentration
ECL	<i>Enhanced Chemiluminescence</i>
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EPSCs	Exzitatorische postsynaptische Ströme
ERK1/2	Extrazellulär-Signal-regulierte Kinasen, Subtypen 1 und 2
EtOH	Ethanol
Ex/Em	Erregung/Emission
FC	Frontaler Kortex
FKS	Fötale Kälberserum
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomographie
GABA	γ-Aminobuttersäure
GDP	Guanosindiphosphat
Glu	Glutamat
GPCR(s)	G-Protein-gekoppelte(r) Rezeptor(en)
G-Protein	Guanosintriphosphat-bindendes Protein
Gq	G-Protein, Subtyp q
GTP	Guanosintriphosphat

GTPase	GTP-hydrolysierendes Enzym
GTP γ S	Guanosin-5'-O-[γ -thio]triphosphat
H ₁	Histamin-Rezeptor, Subtyp 1
h5-HT _{2A}	Humaner 5-HT _{2A} -Rezeptor
HA	Hämagglutinin (Glykoprotein des Influenzavirus A)
HCl	Chlorwasserstoff (wässrige Lösung)
HEK293-Zellen	Humane embryonale Nierenzellen
HPPD	<i>Hallucinogen Persisting Perception Disorder</i>
H _o R	Hochregulation
HR	Herabregulation
HRP	Meerrettich-Peroxidase (<i>Horseradish Peroxidase</i>)
HT(s)	<i>Head Twitch(es)</i>
HTR2A	5-HT _{2A} -kodierendes Gen
HYPER	Hyperthermie
ICD10	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten, 10. Revision
IgG	Immunglobulin G
INT	Internalisierung
i.p.	Intraperitoneal
ISI	Interstimulus-Intervall (hier: Intervall zwischen Injektionen)
kDa	Kilodalton
KH ₂ PO ₄	Kaliumdihydrogenphosphat
K _{ntr}	Kontrolle
KS	Klusterkopfschmerzen
K _{ts}	Ketanserin
LAMP1	Lysosom-assoziiertes Membranprotein, Subtyp 1
LSC	<i>Liquid Scintillation Counting</i>
LSD	Lysergsäurediäthylamid
LVPC(s)	Pyramidenzelle(n) der Schicht 5 des Kortex
LY354740	(+)-2-Aminobicyclo[3.1.0]hexan-2,6-dicarbonsäure
LY379268	(-)-2-Oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexan-4, 6-dicarbonsäure
MAO	Monoaminoxidase
MAO-A	Monoaminoxidase, Subtyp A
MAPK(s)	Mitogen-aktivierte Proteinkinase(n)
MDL(100907)	[R-(+)-alpha-(2,3-dimethoxyphenyl)-1-[2-(4-fluorophenyl)]

	ethyl]-4-piperidinemethanol]
MEK	MAPK/ERK-Kinase
Methy	Methysergid
mGlu _{2/3}	Metabotroper Glutamatrezeptor, Subtyp 2/3
M-MLV	Muriner <i>Moloney</i> -Leukämie-Virus
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
MW-ANOVA	Varianzanalyse mit Messwiederholung
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid (Kochsalzlösung)
NHS	Normales Pferdeserum
NIH/3T3	Fibroblasten von (<i>National Health Institute</i>) Mäuseembryos
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat(-Rezeptor)
NR2B-NMDA	NMDA-Rezeptor, Untereinheit NR2B enthaltend
n.s.	Nicht signifikant
NS	Nicht signifikanter Trend
Oligo(dt)	Kurze Sequenz von Deoxythymidin-Nukleotiden (<i>Primer</i>)
P11	Hypophysen-Tumorzellen der Ratte
PA	Phosphatidsäure
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PC	Phosphatidylcholin
PCR	Polymerasekettenreaktion
pdN6	Hexamer-Zufalls <i>primer</i>
PET	Positronen-Emissionstomographie
phosphoERK1/2	Phosphorylierte ERK, Subtypen 1 und 2
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
PLD	Phospholipase D
PLD1	Phospholipase D, Subtyp 1
PLL	Poly-L-Lysin
PMA	Phorbol-12-myristat-13-acetat
p.o.	Per os (oral)
PtdEtOH	Phosphatidylethanol
PuvII	Endonuklease, Typ PuvII
Quipa	Quipazin

5-HT _{2A}	5-HT _{2A} -Rezeptor der Ratte
Rab11	Ras-assoziiertes Bindungsprotein, Subtyp 11
Raf	Fibrosarkom-Kinase (Ratte)
Ras	Monomeres G-Protein (Ratten-Sarkom)
rev.	<i>Review</i>
Rit	Ritanserin
rM	Retrograder <i>Messenger</i>
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur bzw. reverse Transkription/Transkriptase
RT-PCR	Reverse Transkription und Polymerasekettenreaktion
SB	<i>Shaking Behaviour</i>
SDS	Natriumdodecylsulfat (<i>Sodium-Dodecyl-Sulfate</i>)
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgel-Elektrophorese
SEM	Standardfehler des Mittelwerts
5HG(s)	Serotonerge(s) Halluzinogen(e)
siRNA	Kurze interferierende (<i>Small-Interfering</i>) Ribonukleinsäure
SpD	Sprague Dawley (Rattenstamm)
SPECT	Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie
Spiro	Spiroperidol
Src	Sarkom-Tyrosinkinase
St	Staurosporin
Suc	Sucrose
TACH	Tachyphylaxie
TBS	Tris-gepufferte Salzlösung
TBST	TBS mit <i>Tween</i>
T _c	Körperkerntemperatur
Tf(R)	Transferrin (Rezeptor)
THC	Tetrahydrocannabinol
TPBS	Tris/phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
TRANS-P	Transphosphatidylisierung
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethane
TRD	Behandlungsresistente (<i>Treatment-Resistant</i>) Depression
UC	Nicht restringiert (<i>Uncut</i>)
UT	Nicht transfiziert
WDS	<i>Wet Dog Shakes</i>

Wissenschaftliche Publikationen und Preise

- Buchborn T.**, Lyons T., Song C., Feilding A., et al. (2020). The 5-HT_{2A} agonist 25CN-NBOH increases murine heart rate and neck-arterial blood flow in a temperature-dependent manner. *J Psychopharmacol*, in Druck.
- Buchborn T.**, Lyons T., Knöpfel T. (2018). Tolerance and tachyphylaxis to head twitches induced by the 5-HT_{2A} agonist 25CN-NBOH in mice. *Front Pharmacol*, 9, 17.
- Buchborn T.**, Grecksch G., Dieterich D. C., Höllt V. (2016). Tolerance to Lysergic Acid Diethylamide: Overview, Correlates, and Clinical Implications. In: Preedy V, editor. *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse*. San Diego: Academic Press, S. 846-858.
- Buchborn T.**, Schröder H., Dieterich D. C., Grecksch G., et al. (2015). Tolerance to LSD and DOB induced shaking behaviour: differential adaptations of frontocortical 5-HT_{2A} and glutamate receptor binding sites. *Behav Brain Res*, 281, 62-68.
- Buchborn T.**, Schröder H., Höllt V., Grecksch G. (2014). Repeated lysergic acid diethylamide in an animal model of depression: Normalisation of learning behaviour and hippocampal serotonin 5-HT₂ signalling. *J Psychopharmacol*, 28, 545-552.

Marie Skłodowska-Curie Actions (MSCA) Fellowship (Europäische Kommission):
€ 183.454,80 (05/2016 – 06/2018)