

Aus dem  
Institut für Anatomie II – Experimentelle Morphologie  
Direktor: Prof. Dr. med. Udo Schumacher  
  
des Zentrums für Experimentelle Medizin  
des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf

**Die Wirkung von Statinen und Ionenkanalblockern  
auf kleinzellige Bronchialkarzinomzellen  
*in vitro***

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von  
**Eva Nagel**  
aus München

Hamburg 2008

Angenommen von der Medizinischen Fakultät  
der Universität Hamburg am:  
15.04.2010

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen  
Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. U. Schumacher

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: Prof. Dr. H.-E. Laack

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: Prof. Dr. T. Eschenhagen

Meinen Eltern gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>3</b>
<b>1 Arbeitshypothese und Fragestellung</b> .....	<b>6</b>
<b>2 Einleitung</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1 Das Bronchialkarzinom</b> .....	<b>7</b>
2.1.1 Epidemiologie und Ätiologie.....	7
2.1.2 Klassifikation.....	7
2.1.3 Stadieneinteilung.....	8
<b>2.2 Das kleinzellige Bronchialkarzinom</b> .....	<b>11</b>
2.2.1 Epidemiologie, Pathologie, Diagnostik und Therapie.....	11
<b>2.3 HMG-CoA-Reduktase-Hemmer als Therapeutika</b> .....	<b>14</b>
2.3.1 Atorvastatin.....	14
2.3.2 Lovastatin.....	16
<b>2.4 Antihistaminika als Therapeutika</b> .....	<b>16</b>
2.4.1 Astemizol.....	16
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1 Material</b> .....	<b>18</b>
3.1.1 Chemikalien.....	18
3.1.2 Lösungen und Puffer.....	18
3.1.3 Verbrauchsmaterial.....	19
3.1.4 Geräte.....	19
3.1.5 Software.....	20
<b>3.2 Methoden</b> .....	<b>20</b>
3.2.1 Zellkultur.....	20
3.2.1.1 Zelllinien.....	20
3.2.1.2 Kultivierung der Zelllinien.....	23
3.2.1.3 Detektion von Mykoplasmen-Kontamination in der Zellkultur.....	23
3.2.2 Zellzahlbestimmung mit dem Zellanalysegerät CASY.....	24
3.2.3 XTT-Proliferationsassay.....	24
3.2.4 Erstellung der Eichkurven.....	25
3.2.5 Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin, und Astemizol auf kleinzellige Bronchialkarzinomzelllinien und humane Fibroblasten.....	26
3.2.6 Elektronenmikroskopische Analyse.....	28
3.2.7 Zellzyklusanalyse mit dem <i>Laser Scanning Cytometer</i> .....	28
3.2.8 Statistische Analyse.....	29
<b>4 Ergebnisse</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1 Humane Fibroblasten</b> .....	<b>30</b>

4.1.1	Der Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf humane Fibroblasten.....	30
4.1.2	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf humane Fibroblasten.....	30
4.1.3	Der Einfluss von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf humane Fibroblasten.....	32
<b>4.2</b>	<b>H69-Zellen.....</b>	<b>36</b>
4.2.1	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol auf H69-Zellen.....	36
4.2.2	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf H69-Zellen.....	36
<b>4.3</b>	<b>H82-Zellen.....</b>	<b>39</b>
4.3.1	Der Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf H82-Zellen.....	39
4.3.2	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf H82-Zellen.....	39
4.3.3	Der Einfluss von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf H82-Zellen.....	42
<b>4.4</b>	<b>OH1-Zellen.....</b>	<b>45</b>
4.4.1	Der Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf OH1-Zellen.....	45
4.4.2	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf OH1-Zellen.....	45
4.4.3	Der Einfluss von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf OH1-Zellen.....	47
<b>4.5</b>	<b>OH3-Zellen.....</b>	<b>51</b>
4.5.1	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol auf OH3-Zellen.....	51
4.5.2	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf OH3-Zellen.....	51
<b>4.6</b>	<b>SW2-Zellen.....</b>	<b>54</b>
4.6.1	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol auf SW2-Zellen.....	54
4.6.2	Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf SW2-Zellen.....	54
<b>4.7</b>	<b>Elektronenmikroskopische Analyse.....</b>	<b>57</b>
<b>4.8</b>	<b>Zellzyklusanalyse.....</b>	<b>58</b>
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>60</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>74</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>75</b>
<b>8</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>87</b>
	<b>Danksagung.....</b>	<b>113</b>
	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>114</b>
	<b>Selbstständigkeitserklärung.....</b>	<b>115</b>

## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µl	Mikroliter
µM	Mikromolar
AADC	Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase
Abb.	Abbildung
aIP	alkalische Phosphatase
ANNA	<i>antineuronal nuclear antibody</i> (Antineuronaler nukleärer Antikörper)
Aqua dest.	Aqua destillata
Aste	Astemizol
Ator	Atorvastatin
BLI	<i>Bombesin-like immunoreactivity</i> (Bombesin ähnliche Immunreaktivität)
bzw.	beziehungsweise
Ca <sup>2+</sup>	Calcium
CaCl <sub>2</sub>	Calciumchlorid
CFE	<i>colony-forming efficiency</i> (Anwachsrate)
CgA	Chromogranin A
CK-BB	Creatin-Kinase, Hirntyp
cm <sup>2</sup>	Quadratcentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
CoA	Coenzym A
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindol
DD	Dopa Decarboxylase
DMSO	Dimethylsulfoxid
DPBS	Dulbecco's PBS
E	Einheiten
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> (Enzymgekoppelter Immunadsorptionstest)
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
et al.	<i>et alii</i> (und andere)
G-CSF	<i>Granulocyte Colony-Stimulating Factor</i> (Granulozyten koloniestimulierender Faktor)

GM-CSF	<i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i> (Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierender Faktor)
GTP	Guanosintriphosphat
Gy	Gray
h	Stunde
hEAG	<i>human Ether à go-go</i> (menschlicher <i>Ether à go-go</i> )
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl-Coenzym A
k	klassisch
k.E.	kein Effekt
kg	Kilogramm
Ko	Kontrolle
k.U.	keine Untersuchung
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> (Lipoprotein geringer Dichte)
Lova	Lovastatin
MDR	<i>Multi-Drug-Resistance-Proteins</i>
Mevalonsr.	Mevalonsäure
mg	Milligramm
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
min	Minute / Minuten
ml	Milliliter
N	Normalität
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydroxid
NCAM	<i>neural cell adhesion molecule</i> (neurales Zelladhäsionsmolekül)
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NOSaD	NOS-assozierte Diaphorase
NSE	neuronenspezifische Enolase
OATP	organische Anionen Transporter
PBS	<i>phosphate buffered saline</i> (phosphatgepufferte Salzlösung)
PFA	Paraformaldehyd
PI3K	Phosphatidylinositol 3-kinase
pmol	Picomol
POB	N-(Pyridoxyl)-Ornithin-Di-tert-butyldicarbonat
RT	Raumtemperatur
SEM	Standardfehler des Mittelwertes

TBS	<i>Tris Buffered Saline</i> (trisgepufferte Salzlösung)
TNF- $\alpha$	<i>Tumor necrosis factor alpha</i> (Tumor-Nekrose-Faktor alpha)
U / min	Umdrehungen pro Minute
v	variant
vs	<i>versus</i> (gegen)
WHO	<i>World Health Organization</i> (Weltgesundheitsorganisation)
XTT	2,3-Bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide
ZNS	zentrales Nervensystem

## **1 Arbeitshypothese und Fragestellung**

Das kleinzellige Bronchialkarzinom ist ein häufiger maligner Tumor, der klinisch durch ein rasches aggressives Wachstum mit frühzeitiger Metastasierung und einer äußerst ungünstigen Prognose gekennzeichnet ist. Die Standardtherapie des kleinzelligen Bronchialkarzinoms besteht in einer kombinierten Chemotherapie. Da ein Rezidiv des kleinzelligen Bronchialkarzinoms keine Chemosensibilität mehr aufweist, ist es von großer Bedeutung neue Therapieansätze zu finden. Sowohl bei den HMG-CoA-Reduktase-Hemmer Atorvastatin und Lovastatin als auch bei dem Antihistaminikum Astemizol wurde eine antiproliferative Wirkung auf verschiedene andere Malignome festgestellt.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war daher:

- die Wirkung von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol einzeln auf kleinzellige Bronchialkarzinomzellen sowie
- die Wirkung von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol in Kombination auf kleinzellige Bronchialkarzinomzellen mithilfe eines Zellproliferationsassays, einer elektronenmikroskopischen Analyse und einer Zellzyklusanalyse zu untersuchen.

Im Anschluss sollten mögliche Unterschiede zwischen den Statinen in Kombination mit Astemizol überprüft und in ihrer Relevanz bewertet werden.

## 2 Einleitung

### 2.1 Das Bronchialkarzinom

#### 2.1.1 Epidemiologie und Ätiologie

Das Bronchialkarzinom ist immer noch das häufigste tödlich verlaufende Krebsleiden der Welt. Im Jahre 2002 erkrankten weltweit 1,35 Millionen Menschen neu an einem Bronchialkarzinom, das entspricht 12,4 % aller Krebsneuerkrankungen. Auch die meisten Krebstodesfälle pro Jahr sind auf das Bronchialkarzinom zurückzuführen. 2002 verursachte es mit weltweit 1,18 Millionen Toten 17,6 % der von Krebs verursachten Tode (Parkin *et al.*, 2005).

In 90 % der Fälle bei Männern und in 60 % der Fälle bei Frauen ist aktives Rauchen die Ursache für ein Bronchialkarzinom. Das Erkrankungsrisiko steigt mit „Packungsjahren“, Inhalationstiefe sowie Teer- und Nikotinkonzentration. Auch Passivrauchen erhöht das Risiko, an einem Bronchialkarzinom zu erkranken. Andere Risikofaktoren sind unter anderem die Exposition gegenüber Asbest, ionisierender Strahlung (Radon) und Quarzstäuben sowie eine bestehende Silikoseerkrankung. Synergetische Effekte von Kanzerogenen und Rauchen sind ebenfalls beschrieben worden (<http://www.krebsregister-rheinland-pfalz.de/doc/kid2006.pdf>).

#### 2.1.2 Klassifikation

Es sind verschiedene Typen des Bronchialkarzinoms bekannt. Um eine weltweit einheitliche Klassifikation der Karzinome zu gewährleisten, veröffentlichte die *World Health Organization* (WHO) im Jahre 1999 eine Klassifikation des Bronchialkarzinoms. Eine Übersicht über die histologischen Typen des Bronchialkarzinoms ist Tabelle 1.1 zu entnehmen. Aufgrund der unterschiedlichen Therapierbarkeit werden klinisch vor allem zwei Gruppen unterschieden: Das kleinzellige Bronchialkarzinom (engl. *small cell lung cancer* = SCLC), das chemosensibel ist, und das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (engl. *non-small cell lung cancer* = NSCLC), das primär operativ behandelt wird. (<http://www.medizin.uni-tuebingen.de/itz/pdfinhal/bronch.pdf>)

Die histologische Diagnose des kleinzelligen Bronchialkarzinoms basiert zunächst auf dem morphologischen Bild von kleinen, zytoplasmaarmen Zellen mit hyperchromatischen, pleomorphen und nackten Zellkernen (Junker *et al.*, 2000). Histogenetisch wird das kleinzellige Bronchialkarzinom als neuroendokriner Tumor eingestuft (Höfler, 1997, Müller, 1999, Travis *et al.*, 1998). Immunhistochemisch sind niedermolekulare Zytokeratine, neuronenspezifische Enolase (NSE), Synaptophysin, Chromogranin und CD56 (auch *neural cell adhesion molecule*, NCAM) nachweisbar (Junker *et al.*, 2000).

Typ	Subtyp	Anteil an allen Bronchialkarzinomen
Plattenepithelkarzinom	<ul style="list-style-type: none"> <li>• papilläres Plattenepithelkarzinom</li> <li>• klarzelliges Plattenepithelkarzinom</li> <li>• kleinzelliges Plattenepithelkarzinom</li> <li>• basaloides Plattenepithelkarzinom</li> </ul>	30 – 40 %
Kleinzelliges Karzinom	<ul style="list-style-type: none"> <li>• kombiniertes kleinzelliges Karzinom</li> </ul>	20 – 30 %
Adenokarzinom	<ul style="list-style-type: none"> <li>• azinäres Adenokarzinom</li> <li>• papilläres Adenokarzinom</li> <li>• bronchioloalveoläres Karzinom</li> <li>• solides Karzinom mit Schleimbildung</li> <li>• andere</li> </ul>	30 %
Großzelliges Karzinom	<ul style="list-style-type: none"> <li>• großzelliges neuroendokrines Karzinom</li> <li>• basaloides Karzinom</li> <li>• lymphoepitheliales Karzinom</li> <li>• klarzelliges Karzinom</li> <li>• großzelliges Karzinom mit rhabdoidem Phänotyp</li> </ul>	10 %

**Tab 2.1: Histologische Typen des Bronchialkarzinoms.** Nach der Klassifikation der WHO 1999. Anteil an Bronchialkarzinomen nach (<http://www.krebsregister-rheinland-pfalz.de/doc/kid2006.pdf>).

### 2.1.3 Stadieneinteilung

Für die Behandlung von Patienten und die klinische Forschung ist eine genaue und reproduzierbare Stadieneinteilung unerlässlich. Daher wird heute für maligne Tumoren die von Denoix 1946 eingeführte Klassifikation nach Tumorausdehnung, Lymphknotenbefall und Fernmetastasen, die TNM-Klassifikation, benutzt (Mountain, 1997). Die TNM-Klassifikation für das Bronchialkarzinom wird in Tabelle 2.2 dargestellt.

Im Jahre 1997 erarbeitete Mountain anhand der TNM-Klassifikation eine Stadieneinteilung, die sich auf gleiche Prognose und Therapiemöglichkeiten gründet (Mountain, 1997). Die Stadien nach Mountain und die zugehörigen 5-Jahres-Überlebensraten zeigt Tabelle 2.3.

Primärtumor (T)	T0	<ul style="list-style-type: none"> <li>kein Anhalt für Primärtumor</li> </ul>
	TX	<ul style="list-style-type: none"> <li>Primärtumor nicht beurteilbar oder nachgewiesen durch maligne Zellen in Sputum oder Bronchiallavage aber weder radiologisch noch bronchoskopisch sichtbar</li> </ul>
	Tis	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>Carcinoma in situ</i></li> </ul>
	T1	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor ≤ 3 cm in der größten Ausdehnung, umgeben von Lunge oder viszeraler Pleura ohne bronchoskopischen Anhalt für einen Befall proximal eines Lobärbronchus</li> </ul>
	T2	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor mit einem der folgenden Merkmale bezüglich Größe oder Ausbreitung: <ul style="list-style-type: none"> <li>3 cm in der größten Ausdehnung</li> <li>Befall des Hauptbronchus ≥ 2 cm distal der Carina</li> <li>Infiltration der viszeralen Pleura</li> </ul> </li> <li>assoziierte Atelektase oder obstruktive Entzündung bis zum Hilus, aber nicht der ganzen Lunge</li> </ul>
T3	T3	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor jeder Größe, der eine der folgenden Strukturen direkt infiltriert: <ul style="list-style-type: none"> <li>Brustwand (einschließlich Tumoren des <i>Sulcus superior</i>)</li> <li>Zwerchfell</li> <li>mediastinale Pleura</li> <li>parietales Perikard</li> </ul> </li> <li>oder Tumor mit Befall des Hauptbronchus &lt; 2 cm distal der Carina, aber ohne Befall der Carina selbst</li> <li>oder Tumor mit assoziierter Atelektase oder obstruktiver Entzündung der gesamten Lunge</li> </ul>
	T4	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tumor jeder Größe mit Infiltration einer der folgenden Strukturen: <ul style="list-style-type: none"> <li>Mediastinum</li> <li>Herz</li> <li>große Gefäße</li> <li>Trachea</li> <li>Oesophagus</li> <li>Wirbelkörper</li> <li>Carina</li> </ul> </li> <li>oder Tumor mit malignem Pleura- oder Perikarderguss oder mit Satellitentumoren im gleichen Lungenlappen</li> </ul>
Regionäre Lymphknoten (N)	NX	<ul style="list-style-type: none"> <li>regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar</li> </ul>
	N0	<ul style="list-style-type: none"> <li>keine regionären Lymphknotenmetastasen nachweisbar</li> </ul>
	N1	<ul style="list-style-type: none"> <li>Metastasen in ipsilateralen peribronchialen und / oder ipsilateralen hilären Lymphknoten auch bei direkter Invasion in die Lymphknoten</li> </ul>
	N2	<ul style="list-style-type: none"> <li>Metastasen in ipsilateralen mediastinalen und / oder subcarinalen Lymphknoten</li> </ul>
	N3	<ul style="list-style-type: none"> <li>Metastasen in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen hilären, ipsi- oder kontralateralen Skalenus- oder supraklavikulären Lymphknoten</li> </ul>
Fernmetastasen (M)	MX	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vorkommen von Fernmetastasen nicht beurteilbar</li> </ul>
	M0	<ul style="list-style-type: none"> <li>keine Fernmetastasen nachweisbar</li> </ul>
	M1	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fernmetastasen vorhanden</li> </ul>

Tab. 2.2: TNM-Klassifikation des Bronchialkarzinoms. Verändert nach (Mountain, 1997).

Stadium	TNM	5-Jahres-Überlebensrate in %					
		klinische Klassifikation	pathologische Klassifikation				
<b>0</b>	<i>Carcinoma in situ</i>						
<b>IA</b>	T1 N0 M0	61	67				
<b>IB</b>	T2 N0 M0	38	57				
<b>IIA</b>	T1 N1 M0	34	55				
<b>IIB</b>	T2 N1 M0	24	39				
	T3 N0 M0	22	38				
<b>IIIA</b>	T3 N1 M0	}	9	}	25		
	T1 N2 M0		}		13	}	23
	T2 N2 M0						
	T3 N2 M0						
<b>IIIB</b>	T4 N0 M0	}	7	}	< 5		
	T4 N1 M0						
	T4 N2 M0						
	T1 N3 M0	}	3	}	< 3		
	T2 N3 M0						
	T3 N3 M0						
	T4 N3 M0						
<b>IV</b>	jedes T jedes N M1		1		< 1		

Tab 2.3: Stadieneinteilung des Bronchialkarzinoms. Verändert nach (Mountain, 1997).

Diese TNM-Klassifikation wird beim kleinzelligen Bronchialkarzinom nicht verwendet, stattdessen wird das kleinzellige Bronchialkarzinom mithilfe eines von der *Veterans Administration Lung Group* entwickelten Systems klassifiziert (Gatzemeier, 2002, Simon & Wagner 2003, Maghfoor, 2005). Man unterscheidet:

- *Very Limited Disease*
  - T1 oder T2 ohne ipsilaterale hiläre Lymphknotenmetastasen
- *Limited Disease*
  - die Krankheit ist auf einen Hemithorax beschränkt
  - mit oder ohne Befall der ipsilateralen mediastinalen oder supraklavikulären oder Skalenus-Lymphknoten
  - Pleuraerguss, auch bei positiver Zytologie
- *Extensive Disease*
  - Jede Erkrankung, die über eine *Limited Disease* hinausgeht.

## 2.2 Das kleinzellige Bronchialkarzinom

### 2.2.1 Epidemiologie, Pathologie, Diagnostik und Therapie

Das kleinzellige Bronchialkarzinom macht etwa 20-25 % der Bronchialkarzinome aus (Le Pécoux *et al.*, 2004) und ist der aggressivste Lungenkrebs mit einer medianen Überlebenszeit ohne Behandlung von 2-4 Monaten (Simon & Wagner, 2003), mit Behandlung erhöht sich die mediane Überlebenszeit auf 9-12 Monate (Bülzebruck 1998, Wolf, 1998). Mit 3-8 % weist das kleinzellige Bronchialkarzinom die niedrigste 5-Jahre-Überlebensrate unter den Lungentumoren auf (Bülzebruck, 1998).

Symptome treten spät auf und bestehen ca. 8-12 Wochen, bevor der Patient den Arzt aufsucht. Sie sind Folge von intrapulmonalem Tumorwachstum (Symptome wie Husten, pfeifendes Atemgeräusch, Dyspnoe, Hämatoptysis), extrapulmonaler intrathorakaler Ausbreitung (mediastinale Symptome wie Obstruktion der *Vena cava superior*, Dysphagie), fortgeschrittener Ausbreitung und / oder paraneoplastischen Syndromen (Cooper & Spiro, 2006). Das kleinzellige Bronchialkarzinom ist die häufigste Neoplasie, die mit neurologischen paraneoplastischen Syndromen assoziiert ist (Honnorat & Cartalat-Carel, 2004).

Zur Diagnostik des kleinzelligen Bronchialkarzinoms gehören Anamnese, klinische Untersuchungen, Labor- und Biopsiediagnostik sowie bildgebende und endoskopische Verfahren (Thomas *et al.*, 2000)

Die Prognose wird von verschiedenen Faktoren bestimmt. Einer der bedeutsamsten Faktoren ist die Leistungsfähigkeit der Patienten. So ist mit einer besseren Prognose bei einer *Limited Disease* zu rechnen, wenn ein Karnofsky-Index von  $\geq 70$  vorliegt. Andere wichtige Faktoren sind der Hämoglobin-Wert, die Leukozytenzahl, die Höhe der Neuronenspezifischen Enolase und des LDH. Bei einer *Extensive Disease* ist der begünstigende Faktor eine minimale Gewichtsabnahme, d. h. weniger als 5 kg in sechs Monaten vor Therapie (Davis *et al.*, 1981, Souhami & Bradbury, 1985, Sagman *et al.*, 1991, Quoix *et al.*, 1993, Fizazi *et al.*, 1998, Paesmans *et al.*, 2000, Bremnes *et al.*, 2003).

Bei der Diagnosestellung befindet sich das kleinzellige Bronchialkarzinom meist in einem disseminierten oder zumindest in einem lokal fortgeschrittenen Stadium, was eine Resektion unmöglich macht. Daher ist die Chemotherapie die Therapie der Wahl. Viele Studien haben zytotoxische Substanzen in verschiedenen Kombinationen untersucht und gezeigt, dass die meisten Chemotherapie-Regimen ähnliche Resultate lieferten, solange zwei verschiedene Medikamente für mindestens vier Zyklen gegeben werden (Spiro & Porter, 2002).

Die Wahl des Chemotherapie-Regimens hängt von den Vorerkrankungen des Patienten ab. Zum Beispiel kann eine eingeschränkte Nierenfunktion oder eine periphere Neuropathie eine Kontraindikation für Cisplatin darstellen. Ebenfalls können Herzerkrankungen eine mögliche Therapie mit platinhaltigen Substanzen infrage stellen, da bei diesen Therapien eine Überhydratation nötig ist. Vincaalkaloide sollten bei einer vorbestehenden Neuropathie

vermieden werden. Doxorubicin erhöht die Wahrscheinlichkeit einer radiogenen Pneumonitis, daher sollte der Einsatz dieser Substanz vermieden werden (Cooper & Spiro, 2006). Die momentane *First-Line* Chemotherapie besteht aus 4-6 Zyklen Etoposid und Cisplatin (Christodoulou & Skarlos, 2005).

Die Schwierigkeit in der Behandlung des kleinzelligen Bronchialkarzinoms liegt darin, dass der Tumor resistent gegen die Chemotherapie wird. Zur Lösung dieses Problems wurden verschiedene Ansätze ausprobiert: Dosiserhöhung (Cohen *et al.*, 1977), verschiedene Schemata, darunter auch wöchentliche Gaben (Souhami *et al.*, 1998), Schutz des Knochenmarks durch den Granulozyten-Makrophagen koloniestimulierenden Faktor (GM-CSF) (Steward *et al.*, 1998) sehr hoch dosierte Therapie mit nachfolgender Reinfusion von vor der Therapie entnommenem Knochenmark (Souhami *et al.*, 1983, Souhami *et al.*, 1989). All diese Versuche brachten allerdings keinen Überlebensvorteil und es war schwierig, die Gaben zu gewährleisten, da die hämatologischen Nebenwirkungen eine Verabreichung der angestrebten Dosis oft nicht erlaubten (Sculier *et al.*, 1993, Furuse *et al.*, 1998, Souhami *et al.*, 1998, Murray *et al.*, 1999, Sekine *et al.*, 2003), wobei Patienten mit *Extensive Disease* die intensiven Dosen noch schlechter tolerierten (Hande *et al.*, 1982, Ihde *et al.*, 1994).

Allerdings wurde ein signifikant höheres Überleben gezeigt, wenn die Patienten statt der herkömmlichen Dosis von Cisplatin, Cyclophosphamid, Etoposid und Doxorubicin eine um 20 % erhöhte Dosis von Cisplatin und Cyclophosphamid im ersten Zyklus erhielten. Die Zwei-Jahres-Überlebensrate war signifikant höher und stieg von 26 % auf 43 % (Arrigaida *et al.*, 1993).

Bei einem Rezidiv oder einer Progression ist eine *Second-Line* Chemotherapie sehr viel weniger effektiv als die erste Behandlung. Der Erfolg hängt von den bei der *First-Line* Therapie verabreichten Substanzen, dem Ansprechen auf die *First-Line* Therapie und der Länge des tumorfreien bzw. progressionsfreien Intervalls ab (Huisman *et al.*, 1999, Simon & Wagner, 2003). Trotzdem verbesserte eine *Second-Line* Therapie das mediane Überleben von 2,2 auf 5,3 Monate (Sundstrom *et al.*, 2005). Eine aggressive Therapie ist dann in Erwägung zu ziehen, wenn sich der Tumor für mindestens sechs Monate in Remission befindet, da dann eine zweite komplette Remission erlangt werden kann, was zu einem Überlebensvorteil führt (Poplin *et al.*, 1982, Sculier *et al.*, 2002)

Um der Neutropenie entgegenzuwirken, wurde in einigen Studien den Patienten Granulozyten koloniestimulierender Faktor (G-CSF) verabreicht. Es konnte aber weder eine Minderung der Häufigkeit von Knochenmarksdepression noch ein Überlebensvorteil nachgewiesen werden (Steward *et al.*, 1998, Berghmans *et al.*, 2002, Sculier *et al.*, 2001, Frasci *et al.*, 2005). Allerdings erholte sich das Knochenmark besser, weswegen man bei Behandlung mit G-CSF eine Erhöhung der Strahlungsintensität in Erwägung ziehen kann (Spiro & Porter, 2002).

In den 80er Jahren wurde versucht, die Strahlentherapie als Ergänzung zur Chemotherapie zu etablieren. Eine Steigerung der Zwei-Jahre-Überlebensrate um 4 % wurde belegt. Seitdem wird eine Strahlentherapie zusätzlich zur Chemotherapie eingesetzt, wenn diese den Tumor in eine totale Remission oder zumindest in eine gute Teilremission bringt (Warde & Payne, 1984, Huncharek *et al.*, 2004)

Über die dabei optimale Strahlendosis wird noch diskutiert. Studien mit einer Strahlendosis von 70 Gy (Bogart *et al.*, 2004), aber auch mit 45 Gy zeigten gute Erfolge (Turrisi *et al.*, 1999, Han *et al.*, 2005). Um die Effektivität zu steigern, zeigte sich in einer *in vitro* Studie eine zweimalige Bestrahlung pro Tag wirkungsvoll, da dadurch die Zellen keine Zeit haben, subletale Schäden zu reparieren (Huncharek *et al.*, 2004).

Um einen Überlebensvorteil zu ermöglichen, sollte eine Strahlentherapie gleichzeitig mit der Chemotherapie verabreicht werden (Payne *et al.*, 1994, Fried *et al.*, 2004, Stuschke & Pottgen, 2004). Wenn die Bestrahlung nach der Chemotherapie erfolgte, gab es keinen Überlebensvorteil, auch wenn der bestrahlte Bereich auf das Tumolvolumen begrenzt war (Souhami *et al.*, 1984, Osterlind *et al.*, 1986, Gregor *et al.*, 1997).

Eine operative Therapie des kleinzelligen Bronchialkarzinoms sollte nur bei Patienten mit Tumoren im Stadium I oder evtl. IIA in Erwägung gezogen werden. Dabei ist aber zu bedenken, dass diagnostische Mittel wie Bronchoskopie und Feinnadelbiopsie nur kleine Proben liefern. Dadurch besteht die Gefahr, ein Karzinoid zu übersehen, das allerdings chemoresistent ist und eine chirurgische Therapie erfordert, sofern es peripher liegt. Zu der adjuvanten Chemotherapie bei reseziertem kleinzelligen Bronchialkarzinom liegen bislang wenige Zahlen vor, diese wird aber empfohlen (Waddell & Shepherd, 2004).

Lebensqualität, Linderung der Symptome und eine einfach zu verabreichende Therapie sind von großer Bedeutung in der Behandlung des kleinzelligen Bronchialkarzinoms, zumal die Lebenserwartung der Patienten deutlich reduziert ist (Plunkett *et al.*, 2003). Stehen verschiedene Therapiemöglichkeiten zur Wahl, kann die Lebensqualität eine Entscheidungshilfe sein, besonders, wenn das Ergebnis der zur Alternative stehenden Therapien sehr ähnlich bezüglich der Lebenserwartung ist (Gower *et al.*, 1995).

Wegen der Schwierigkeiten in der Behandlung des kleinzelligen Bronchialkarzinoms ist es wichtig, neue Therapien zu finden, die nicht belastend sind wie Chemotherapeutika und Strahlentherapie sowie Möglichkeiten zu erschließen, Rezidive befriedigend zu behandeln.

## 2.3 HMG-CoA-Reduktase-Hemmer als Therapeutika

### 2.3.1 Atorvastatin

Atorvastatin gehört zu der Gruppe der HMG-CoA-Reduktase-Hemmer (Statine), die zur Therapie der Hyperlipidämie eingesetzt werden (Abb. 2.1). Die Wirkung der HMG-CoA-Reduktase-Hemmer beruht auf der Hemmung der körpereigenen Cholesterinsynthese in der Leber durch Hemmung der Reduktion des 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A (HMG-CoA) zu Mevalonat. Dadurch werden in der Leberzelle vermehrt LDL-Rezeptoren exprimiert, was eine Senkung des LDL-Spiegels im Blut zur Folge hat (Lennernäs & Fager, 1997). Außer der Cholesterinsynthese wird durch die Hemmung der HMG-CoA-Reduktase auch die Synthese von Isoprenoiden wie Farnesyl-Pyrophosphat und Geranylgeranyl-Pyrophosphat inhibiert. Beide spielen eine wichtige Rolle in der durch GTP-bindende Proteine vermittelte intrazelluläre Signaltransduktion, die dadurch beeinflusst werden kann (Werner *et al.*, 2002, Bonetti *et al.*, 2003).

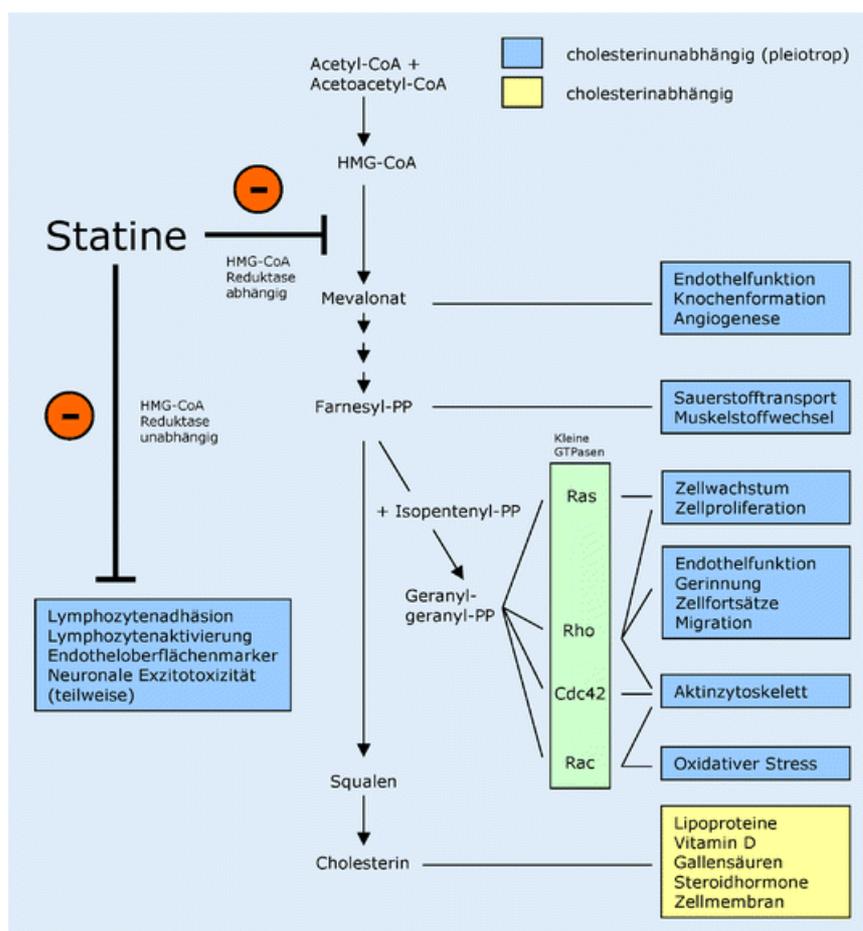


Abb. 2.1: Molekulare Wirkmechanismen von Statinen. Verändert nach (Bösel & Endres, 2006).

Atorvastatin wird in einer Dosis von 10-80 mg pro Tag verabreicht ([http://www.akdae.de/35/95\\_Fettstoffwechsel\\_1999\\_2Auflage\\_K.pdf](http://www.akdae.de/35/95_Fettstoffwechsel_1999_2Auflage_K.pdf)). Die oral applizierte Atorvastatinsäure wird komplett resorbiert (Lennernäs, 2003). Atorvastatin besitzt eine Bioverfügbarkeit von 40 % (Demierre *et al.*, 2005). Zum Abbau der Substanz wird Atorvastatin im Darm und in der Leber laktonisiert, oxidiert und glucuronidiert um dann durch biliäre oder direkte Sekretion in den Darm abgegeben zu werden. Die Plasmaclearance liegt bei 625 ml / min und die Plasma-Halbwertszeit bei sieben Stunden.

In die Zelle gelangt Atorvastatin über organische Anionen Transporter (OATP), Transportproteine der *Multi-Drug-Resistance-Proteins*-Familie (MDR), das Glykoprotein-P sowie den H<sup>+</sup>-Säure-Kotransporter. Zwei aktive Metaboliten werden durch das Cytochrom-P-450-Isoenzym CYP3A4 gebildet. Uridindiphosphat-Glucuronyltransferasen (UGT) 1A1 und 1A3 sind für die Glucuronidation von Atorvastatin und seinen Metaboliten zuständig (Lennernäs, 2003).

Neben dem cholesterinsenkenden Effekt hat Atorvastatin auch andere, pleiotrope (nichtlipidsenkende), Wirkungen der Statine nachgewiesen. Diese sind:

- verstärkte endotheliale NO-Freisetzung (Rauch *et al.*, 2000, Laufs *et al.*, 2001, Werner *et al.*, 2002, Bonetti *et al.*, 2003)
- Hemmung der Endothelin-1-Synthese (Rauch *et al.*, 2000, Laufs *et al.*, 2001, Werner *et al.*, 2002, Bonetti *et al.*, 2003)
- antioxidative Effekte (Werner *et al.*, 2002, Bonetti *et al.*, 2003)
- antiinflammatorische Effekte (Werner *et al.*, 2002, Bonetti *et al.*, 2003)
- dosisabhängige Inhibition oder Förderung der Neovaskularisation (Weis *et al.*, 2002, Bonetti *et al.*, 2003)
- Inhibition der durch Angiotensin II vermittelten myokardialen Hypertrophie (Bauersachs *et al.*, 2001, Bonetti *et al.*, 2003).

Diese pleiotropen Effekte auf Zellen und Gewebe lassen sich zum Teil zur Hemmung von Tumoren nutzen.

So konnte für Atorvastatin *in vivo* eine Hemmung der Angiogenese bei hohen Konzentrationen (2,5 mg / kg / Tag) nachgewiesen werden. Allerdings zeigten niedrige Atorvastatin-Konzentrationen (0,5 mg / kg / Tag) ein gesteigertes Wachstum von Endothelzellen (Weis *et al.*, 2002). Bei Melanomzellen wurde eine verminderte Metastasierung durch Atorvastatin festgestellt (Collisson *et al.*, 2003).

Auch das Tumorwachstum selbst kann durch Atorvastatin inhibiert werden. Bei Harnblasenkarzinom-Zellen konnte neben einer Hemmung der Proliferation und der DNA-Synthese auch die Induktion der Apoptose beobachtet werden (Kamat & Nelkin, 2005).

### 2.3.2 Lovastatin

Auch Lovastatin gehört zur Gruppe der HMG-CoA-Reduktase-Hemmer zur Therapie der Hypercholesterinämie. Der Wirkungsmechanismus dieser Stoffgruppe ist unter 2.3.1 beschrieben.

Lovastatin wird in einer Tagesdosis von 10-80 mg appliziert ([http://www.akdae.de/35/95\\_Fettstoffwechsel\\_1999\\_2Auflage\\_K.pdf](http://www.akdae.de/35/95_Fettstoffwechsel_1999_2Auflage_K.pdf)). In der Leber und im Darm erfolgt die Verstoffwechslung durch CYP-Enzyme der Subfamilie 3A zu drei aktiven Metaboliten (Watkins *et al.*, 1985, Greenspan *et al.*, 1988, Vyas *et al.*, 1990 a, b, c, Wang *et al.*, 1991, Halpin *et al.*, 1993).

Für Lovastatin wurden ebenfalls Effekte auf Tumorzellen nachgewiesen. Es wurde gezeigt, dass Lovastatin die zyklin-abhängigen Kinase-Inhibitoren p21 und p27 stabilisierte und dadurch den Zellzyklus von Brustkrebszellen in der G<sub>1</sub>-Phase anhielt (Rao *et al.*, 1998).

Eine weitere Wirkung auf Tumorzellen war eine Induktion der Apoptose. Lovastatin konnte eine Apoptose bei Zellen aus juveniler monomyelozytärer Leukämie, Rhabdomyosarkom, Medulloblastom, malignem Mesotheliom, Astrozytom und Plattenepithelkarzinomen der Zervix, des Kopfes und des Halses bewirken (Rubins *et al.*, 1998, Bouterfa *et al.*, 2000, Dimitroulakos *et al.*, 2001, Dimitroulakos *et al.*, 2002). Der Mechanismus hinter dieser induzierten Apoptose könnte die Hochregulation von proapoptotischen Proteinen wie Bax oder Bim sein (Agarwal *et al.*, 1999). Eine Steigerung von Bim und eine dadurch induzierte Apoptose durch Lovastatin konnte für Glioblastomzelllinien nachgewiesen werden (Jiang *et al.*, 2004). Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass Lovastatin eine Apoptose durch Aktivierung von Kaspase-3 bzw. Kaspase-7 induzierte (Wang *et al.*, 1991, Marcelli *et al.*, 1998).

Metastasierung kann durch Lovastatin ebenfalls vermindert werden. *In vivo* Versuche zeigten, dass durch Lovastatin weniger Leber-Metastasen eines Pankreaskarzinoms entstanden und bei bereits bestehenden das Wachstum vermindert wurde (Kusama *et al.*, 2002). Andererseits zeigte Lovastatin jedoch keine Wirkung auf die Migration und Invasion von Kolonkarzinom- und Glioblastomzellen (Mehta *et al.*, 1998).

## 2.4 Antihistaminika als Therapeutika

### 2.4.1 Astemizol

Astemizol ist ein potentes Antihistaminikum, das den H<sub>1</sub>-Rezeptor antagonisiert (Richards *et al.*, 1984). Die Substanz wird schnell im Gastrointestinaltrakt aufgenommen und wird zum aktiven Metaboliten Desmethylastemizol verstoffwechselt (Meuldermans *et al.*, 1986), der eine Halbwertszeit von 12 Tagen hat (Vorperian *et al.*, 1996). In der Leber wird Astemizol durch verschiedene Isoformen des Cytochroms P450 metabolisiert (Matsumoto & Yamazoe, 2001).

Sowohl Astemizol als auch Desmethylastemizol hemmen Kalium-Kanäle im Herzen, wodurch Arrhythmien hervorgerufen werden (Vorperian *et al.*, 1996). Heute wird Astemizol häufig bei *in vitro* Versuchen als Blocker des hEAG-K<sup>+</sup>-Kanals eingesetzt (García-Ferreiro *et al.*, 2004, Borowiec *et al.*, 2007).

Diese spannungsabhängigen Kalium-Kanäle (hEAG) wurden auch im kleinzelligen Bronchialkarzinom gefunden (Pancrazio *et al.*, 1989, Pardo *et al.*, 2005). Dabei reduzierte sich das Wachstum der kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen, wenn der K<sup>+</sup>-Kanal blockiert wurde (Pancrazio *et al.*, 1993). In einer anderen Studie wurde in humanen Melanomzellen bei Behandlung mit Astemizol Kaspase-2 abhängig eine Apoptose induziert (Jangi *et al.*, 2006).

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Chemikalien

0,5 % Trypsin – EDTA	Gibco
100 E / ml Penicillin	Gibco
100 µg / ml Streptomycin	Gibco
Astemizol	Sigma-Aldrich
Atorvastatin	Pfizer
DRAQ5	Biostatus
Casyton	Schärfe Systems
<i>Cell Proliferation Kit II</i>	Roche
<i>Clarion Mounting Medium</i>	Biomeda
<i>Flourescence-Mounting-Medium</i>	DAKO
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Serva
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ )	Merck
Dinatriumhydrogenphosphat-Monohydrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ )	Merck
Dulbecco's PBS (DPBS, ohne $\text{CaCl}_2$ und $\text{MgCl}_2$ )	Gibco
Ethanol <i>pro Analysis</i>	Merck
<i>Fetal Bovine Serum</i>	Gibco
Lovastatin	Sigma
Mevalonsäure	Sigma
Natriumchlorid (NaCl)	Merck
Natriumhydroxid (NaOH)	Merck
Paraformaldehyd (PFA)	Merck
RPMI-1640 Medium (+ L-Glutamin)	Gibco
<i>Vectashield mounting medium</i>	Vector Laboratories
Salzsäure (HCl) 2N	Merck
Trizma Base	Sigma
<b>3.1.2 Lösungen und Puffer</b>	
Paraformaldehyd (PFA) 4%	4 g Paraformaldehyd, 30 ml <i>Aqua dest.</i> , 50 ml 0,2 M Phosphatpuffer, 1N NaOH <i>ad</i> 100 ml <i>Aqua dest.</i>
0,2 M Phosphatpuffer	28,42 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ und 2,76 g

	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O ad 1 l Aqua dest., pH 7,2 – 7,4
<i>Tris Buffered Saline (TBS)</i>	30,29 g Trizma Base, 43,54 g NaCl und 100 ml HCl 2N ad 5 l Aqua dest., pH 7,6
Zell-Kulturmedium	10 % <i>Fetal Bovine Serum</i> und 1 % Penicillin / Streptomycin in 500 ml RPMI- 1640

### **3.1.3 Verbrauchsmaterial**

2,5 ml Eppendorfgefäße	Eppendorf
10 ml Einmalpipetten	Falcon
7 ml Röhrchen	Dunn Labortechnik
30 ml Röhrchen	Greiner Bio-One
50 ml Röhrchen	Sarstedt
Casycup	Schärfe Systems
<i>Cell-Strainer Cap</i>	Falcon
Deckgläser	Menzel
Glaspipetten 10 ml	Brand
Lab-Tek <i>Chamber Slide System 2 Well</i>	Nunc
Objekträger	Marienfeld
Pipettenspitzen, 10 µl	Sarstedt
Pipettenspitzen, 200 µl	Sarstedt
Pipettenspitzen, 1000 µl	Sarstedt
96-well-Mikrotiterplatte	Sarstedt
Zellkulturflaschen 50 ml (25 cm <sup>2</sup> )	Sarstedt
Zellkulturflaschen 250 ml (75 cm <sup>2</sup> )	Sarstedt
Zellkulturflaschen 600 ml (175 cm <sup>2</sup> )	Nunc
Zellkulturflaschen 650 ml (175 cm <sup>2</sup> )	Sarstedt

### **3.1.4 Geräte**

Absaugpumpe	HLC
Analysewaage ALS 120-4	Kern
Autoklav Varioklav	H + P Labortechnik
Casy-Zellzählgerät	Schärfe Systems
Dynatech MR 3.13 Mikroelisa Reader	Dynex Technologies
Finnpipetten, 0,5 – 10 µl	Labsystems
Finnpipetten, 200 – 1000 µl	Labsystems
Finnpipetten, 40 – 200 µl	Labsystems

Heracell Wärmeschrank	Heraeus
Laborfuge A	Heraeus Sepatech
<i>Laser Scanning Cytometer</i>	CompuCyte
Mehrfachpipette Research	Eppendorf
Mikroskop Axioplan 2	Zeiss
Mikroskop Axiovert 35	Zeiss
Mikroskop Axiovert 40C	Zeiss
Mikroskop Olympus BX50	Olympus
Pipetus Akku	Hirschmann Laborgeräte
Sterilbank SterilGARD	The Baker Company
Universal 32R Zentrifuge	Hettich Zentrifugen
Wärmeplatte	Medax

### **3.1.5 Software**

GraphPad Prism 4.0	GraphPad Software, Inc.
MS Excel	Microsoft
MS Word	Microsoft
WinCyte v. 3.4	CompuCyte

## **3.2 Methoden**

### **3.2.1 Zellkultur**

#### **3.2.1.1 Zelllinien**

Die in den Untersuchungen verwendeten kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien wurden freundlicherweise von Prof. Dr. Uwe Zangemeister-Wittke von der Universität Bern zur Verfügung gestellt. Bei den Zellen handelte es sich um nichtadhärente Zellen (Suspensionszellen). Die Eigenschaften der Zelllinien sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst. Die in der vorliegenden Arbeit genutzten humanen Fibroblasten stammen aus dem Institut für Anatomie II des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf.

Tab. 3.1: Eigenschaften der kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien.

			Literatur
<b>H69</b>	klassisch	- gewonnen aus weißem, männlichem Patienten, 56 Jahre, vorher therapiert	Gazdar <i>et al.</i> , 1980
		- aus Pleuraerguss	Gazdar <i>et al.</i> , 1980
		- wachsen als schwebende Zellaggregate	ATCC
		- aneuploid	Gazdar <i>et al.</i> , 1980
		- exprimiert epitheliales Glykoprotein 2	Jožović <i>et al.</i> , 1998
		- exprimiert alpha 7 nicotinenen Acetylcholin-Rezeptor	Plummer <i>et al.</i> , 2005
		- hohe Bcl-2 – Expression	Zangemeister-Wittke <i>et al.</i> , 1998
		- erhöhte Expression von c-myc, raf, ras	Gazdar & Minna, 1996
		- erhöhte Expression von Recoverin in Anwesenheit von Butyrat	Bazhin <i>et al.</i> , 2004
<b>H82</b>	variant	- nichtadhärentes Wachstum	Carney <i>et al.</i> , 1985 Gazdar <i>et al.</i> , 1985 ATCC
		- niedrige neuroendokrine Marker	Carney <i>et al.</i> , 1985
		- gesteigerte Wachstumsrate	Carney <i>et al.</i> , 1985
		- erhöhte DNA-Konzentration und Expression von c-myc	Gazdar <i>et al.</i> , 1985
		- erhöhte Effizienz beim Klonieren	Gazdar <i>et al.</i> , 1985
		- zytotoxische Antwort auf Verringerung von Polyamin durch 2-Diflourmethylornithin (F <sub>2</sub> MeOrn)	Casero <i>et al.</i> , 1986 Luk <i>et al.</i> , 1981, 1982
		- durch v-Ha-ras phänotypische Veränderung in Richtung großzelliges undifferenziertes Karzinom	Mabry <i>et al.</i> , 1988
		- niedrige Bcl-2 – Expression	Zangemeister-Wittke <i>et al.</i> , 1998
		- exprimiert alpha 7 nicotinenen Acetylcholin-Rezeptor	Plummer <i>et al.</i> , 2005
		- erhöhte Expression von c-myc, raf, ras	Gazdar & Minna, 1996
		- erhöhte Expression von Recoverin in Anwesenheit von Butyrat	Bazhin <i>et al.</i> , 2004
		- TNF- $\alpha$ induziert neuroendokrine Zelldifferenzierung, welche durch das Notch-1 Gen reguliert wird	Shan <i>et al.</i> , 2007

<b>OH1</b>	klassisch	-	gewonnen aus weißem, männlichem Patienten, 43 Jahre, vorher therapiert	Gazdar <i>et al.</i> , 1980
		-	aus Pleuraerguss	Gazdar <i>et al.</i> , 1980
		-	hohe L-Dopa Decarboxylase Aktivität	Carney <i>et al.</i> , 1985
		-	nichtadhärentes Wachstum	Griffin & Baylin, 1985
				Gazdar <i>et al.</i> , 1981
				Rein <i>et al.</i> , 1982
		-	aneuploid	Gazdar <i>et al.</i> , 1980
		-	geringe c-myc-Genexpression	Gazdar <i>et al.</i> , 1985
		-	keine vermehrte c-myc-DNA	Little <i>et al.</i> , 1983
				Nau <i>et al.</i> , 1985
		-	kein phänotypischer Effekt durch v-Ha-ras-Expression	Marby <i>et al.</i> , 1988
		-	Enzymmarker L-Dopa Decarboxylase	Luk <i>et al.</i> , 1981
		-	erhöhte L-Dopa Decarboxylase Spiegel	Gazdar <i>et al.</i> , 1980
		-	$\alpha$ -Difluoromethylornithin inhibiert Zellwachstum	Luk <i>et al.</i> , 1981
		-	reduzierte Spiegel von Lamin A und C	Kaufmann <i>et al.</i> , 1991
-	fehlen der Adhäsionsrezeptoren für alle Matrix-Proteine außer Thrombospondin-1	Guo <i>et al.</i> , 2000		
<b>OH3</b>	klassisch	-	nichtadhärentes Wachstum	Gazdar <i>et al.</i> , 1985
				Rein <i>et al.</i> , 1982
				Gazdar <i>et al.</i> , 1981
				Griffin & Baylin, 1985
		-	hohe L-Dopa Decarboxylase Aktivität	Carney <i>et al.</i> , 1985
		-	Inhibition der Polyamin Biosynthese durch 2-Difluormethylornithin (F <sub>2</sub> MeOrn)	Luk <i>et al.</i> , 1981, 1982
		-	geringe c-myc-Genexpression	Little <i>et al.</i> , 1983
		-	keine vermehrte c-myc-DNA	Nau <i>et al.</i> , 1985
		-	kein phänotypischer Effekt durch v-Ha-ras-Expression	Marby <i>et al.</i> , 1988
		-	exprimiert epitheliales Glykoprotein 2	Jojović <i>et al.</i> , 1998
		-	Beta-D-Glucuronidase-, NOSaD-, aIP-Aktivität	Schumacher <i>et al.</i> , 1996
		-	geringe c-myc Expression	Falco <i>et al.</i> , 1990
		-	reduzierte Spiegel von Lamin A und C	Kaufmann <i>et al.</i> , 1991

<b>SW2</b>	variant	-	aus Knochenmarksaspirat	Zimmermann <i>et al.</i> , 1997
		-	exprimiert epitheliales Glykoprotein 2	Zimmermann <i>et al.</i> , 1997
				Jojović <i>et al.</i> , 1998
		-	POB hemmt durch Hemmung der Ornithindecaboxylase das Zellwachstum	Wu <i>et al.</i> , 2007
		-	Bcl-2-Expression	Zangemeister-Wittke <i>et al.</i> , 1998
		-	Beta-D-Glucuronidase-, NOSaD-, aIP-Aktivität	Schumacher <i>et al.</i> , 1996

### 3.2.1.2 Kultivierung der Zelllinien

Die Kultivierung der Zellen aller Linien erfolgte bei einer Temperatur von 37°C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100 % und einem CO<sub>2</sub>-Gehalt von 5 %. Für die Kultivierung der kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien wurden Kulturflaschen in der Größe von 75 cm<sup>2</sup> verwendet, während für die Kultivierung der humanen Fibroblasten Kulturflaschen mit einer Größe von 175 cm<sup>2</sup> genutzt wurden. Die Passage der Zellen wurde bei ungefähr 90 %iger Konfluenz der Zellen durchgeführt.

Die kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien wurden einmal wöchentlich passagiert. Das Ablösen der Zellen vom Boden der Zellkulturflasche erfolgte bei Raumtemperatur (RT) durch Resuspension. Anschließend wurden 20 ml der Zellsuspension in ein 30 ml Weißkappenröhrchen pipettiert und 7 Minuten bei 1500 Umdrehungen pro Minute (U / min) zentrifugiert. Das Zellpellet wurde in 10 ml frischem Zell-Kulturmedium resuspendiert und in einem Verhältnis von 1:2 bis 2:3 ausgesät.

Ein Wechsel des Kulturmediums für die humanen Fibroblasten erfolgte einmal pro Woche. Das Kulturmedium wurde abgenommen und die Zellen zweimal mit 15 ml gepufferter Salzlösung (DPBS) gewaschen. Das Ablösen der Zellen vom Boden der Zellkulturflasche erfolgte im Brutschrank bei 37°C durch eine Inkubation mit 10 ml Trypsin für 10 Minuten. Die vollständige Ablösung der Zellen wurde unter dem Mikroskop kontrolliert. Anschließend wurden 10 ml Zell-Kulturmedium hinzugegeben, um die Wirkung des Trypsins zu stoppen. Die Hälfte der Zellsuspension (1:2) wurde in eine neue mit Zell-Kulturmedium gefüllte Flasche überführt.

### 3.2.1.3 Detektion von Mykoplasmen-Kontamination in der Zellkultur

Zur Überprüfung der Zellkultur auf Kontamination durch Mykoplasmen wurde ein optischer Test durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden von den kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien Zytospins hergestellt. Hierfür wurden 5 ml der Zellsuspension 7 Minuten bei 1500 U / min zentrifugiert und der Überstand anschließend abgenommen. Das Zellpellet wurde mit 7 ml DPBS aufgeschwemmt. Von dieser Suspension wurden 200 µl in

die für Zytospins vorgesehene Vorrichtung gegeben und erneut zentrifugiert (3 Minuten bei 1500 U / min). Der Überstand wurde abgenommen und die Objektträger trockneten 24 Stunden bei RT. Die Zellen wurden in absolutem Ethanol 15 Minuten bei RT fixiert. Danach wurde 1 Tropfen *Vectashield mounting medium* mit 4',6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) auf die Zellen gegeben und unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet. Der Fluoreszenzfarbstoff DAPI bindet selektiv an die DNA und bildet stark fluoreszierende DNA-DAPI-Komplexe mit hoher Spezifität. DAPI wird von Zellen sehr rasch in die DNA aufgenommen, wodurch stark fluoreszierende Zellkerne entstehen. Bei einer Mykoplasmen-Kontamination von Zellkulturen sind einzelne fluoreszierende Punkte im Zytoplasma nachweisbar und bisweilen auch im interzellulären Raum (Homepage Roche: <http://www.roche-applied-science.com/pack-insert/0236276b.pdf>).

Die humanen Fibroblasten wurden in *Zwei-Kammer-Chamber Slides* ausgesät. Hierfür wurden die Zellen vom Flaschenboden gelöst (Abschnitt 3.2.1.2). In jede Kammer wurden 200 µl Zellsuspension und 1 ml Kulturmedium gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden (37°C und 5 % CO<sub>2</sub>) wurde der Überstand abgenommen. Die Zellen wurden mit DPBS gespült und mit absolutem Ethanol 15 Minuten bei RT fixiert. Nach der Trockenzeit von 24 Stunden wurden die Zellkerne mit 1 Tropfen *Vectashield mounting medium* eingeschlossen und unter dem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet.

Vor Beginn aller Versuche wurden alle Zelllinien auf Mykoplasmen getestet. Bei keiner der verwendeten Zelllinien konnte eine Kontamination durch Mykoplasmen detektiert werden.

### **3.2.2 Zellzahlbestimmung mit dem Zellanalysegerät CASY**

Für die Untersuchungen war es notwendig, die Anzahl der in einer Zellsuspension enthaltenen Zellen zu bestimmen. Dies erfolgte mit Hilfe des Zellanalysegerätes CASY.

Die kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen wurden vor der Messung resuspendiert und anschließend durch ein Zellsieb gegeben. Die humanen Fibroblasten wurden vor der Messung trypsiniert und resuspendiert. Für die Messung wurde eine 1:100 – Verdünnung der zu untersuchenden Zellpopulation verwendet (100 µl Zellsuspension + 10 ml CASYton).

### **3.2.3 XTT-Proliferationsassay**

Der XTT-Proliferationsassay wird für die Quantifizierung von Zellen eingesetzt. Das Prinzip des Tests basiert auf der Metabolisierung eines gelben Tetrazoliums Salzes (XTT) in den orangefarbenen Formazan-Farbstoff durch mitochondriale Dehydrogenasen stoffwechselaktiver Zellen. Der Farbstoff ist wasserlöslich und kann quantitativ im ELISA-Reader bestimmt werden. Die Menge an gebildetem Farbstoff ist direkt proportional zur Anzahl vitaler Zellen (Mosmann, 1983).

Für die Messung wurde der *Cell Proliferation Kit II* verwendet. Pro 96-well-Mikrotiterplatte wurden 5 ml XTT *labeling reagent* und 0,1 ml *electron coupling reagent* gemischt, was einer XTT Endkonzentration von 0,3 mg / ml entspricht. Von dieser Konzentration wurden jeweils 50 µl pro *well* in eine 96-well-Mikrotiterplatte gegeben und die Platten zur weiteren Inkubation in den Brutschrank gestellt. Die Extinktion wurde nach 4 und 6 Stunden im Dynatech MR 3.13 Mikroelisa Reader gemessen. Da sich der 4 Stunden Wert als optimales Zeitfenster für die Auswertung des XTT-Proliferationsassays herausstellte, erfolgten alle Messungen nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden. Die Messung der Extinktion erfolgte bei einer Wellenlänge von 490 nm und einer Referenzwellenlänge von 630 nm.

### **3.2.4 Erstellung der Eichkurven**

Um den Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf das Wachstum verschiedener kleinzelliger Bronchialkarzinomzelllinien zu untersuchen, war es zu Beginn der Untersuchung notwendig, diejenige Zellzahl zu bestimmen, die ein optimales Wachstumsverhalten über die Versuchsdauer von 4 Tagen gewährleistet.

Ein optimales Wachstumsverhalten liegt vor, wenn sich die Zellen im exponentiellen Wachstum befinden. Das bedeutet, die Zellzahl darf nicht zu groß sein, damit innerhalb der 4 Tage keine Wachstumshemmung aufgrund einer erhöhten Zellzahl auftritt. Die Zellzahl darf aber auch nicht zu klein sein, wodurch eine maximale Hemmung verschleiert werden könnte. Daher wurde für jede kleinzellige Bronchialkarzinom-Zelllinie und für die humanen Fibroblasten eine Eichkurve erstellt (Abb. 3.1).

Für jede kleinzellige Bronchialkarzinom-Zelllinie wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt (Konzentrationen: 31.250 Zellen / ml, 62.500 Zellen / ml, 125.000 Zellen / ml, 250.000 Zellen / ml, 500.000 Zellen / ml und 1.000.000 Zellen / ml). Für die humanen Fibroblasten wurde ebenfalls eine Verdünnungsreihe erstellt (Konzentrationen: 1.953,125 Zellen / ml, 3.906,25 Zellen / ml, 7.812,5 Zellen / ml, 15.625 Zellen / ml, 31.250 Zellen / ml, 62.500 Zellen / ml, 125.000 Zellen / ml, 250.000 Zellen / ml, 500.000 Zellen / ml und 1.000.000 Zellen / ml).

Es wurde pro Zelllinie für jede Zellzahl eine Fünffachbestimmung durchgeführt, dabei wurden jeweils 90 µl Zellsuspension in jedes *well* einer 96-well-Mikrotiterplatte gegeben. Zudem wurde pro 96-well-Mikrotiterplatte ein Fünffachansatz mit jeweils 90 µl Zell-Kulturmedium als Leerwert für den ELISA-Reader pipettiert. Anschließend erfolgte eine Inkubation im Brutschrank für 24 Stunden unter den bereits beschriebenen Standardbedingungen. Danach wurde in jedes *well* einer 96-well-Mikrotiterplatte 10 µl DPBS pipettiert. Abschließend wurde die 96-well-Mikrotiterplatte für weitere 3 Tage inkubiert und der XTT-Proliferationsassay wurde durchgeführt (Abschnitt 3.2.3). Die Bestimmung der Extinktion erfolgte nach 4 und 6 Stunden im Dynatech MR 3.13 Mikroelisa Reader. Die optimale Zellzahl lag bei 150.000 Zellen / ml für alle verwendeten kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien und bei 60.000

Zellen / ml für die humanen Fibroblasten, da sich bei diesen Zellzahlen die Zellen im exponentiellen Wachstum befanden (Abb. 3.1).

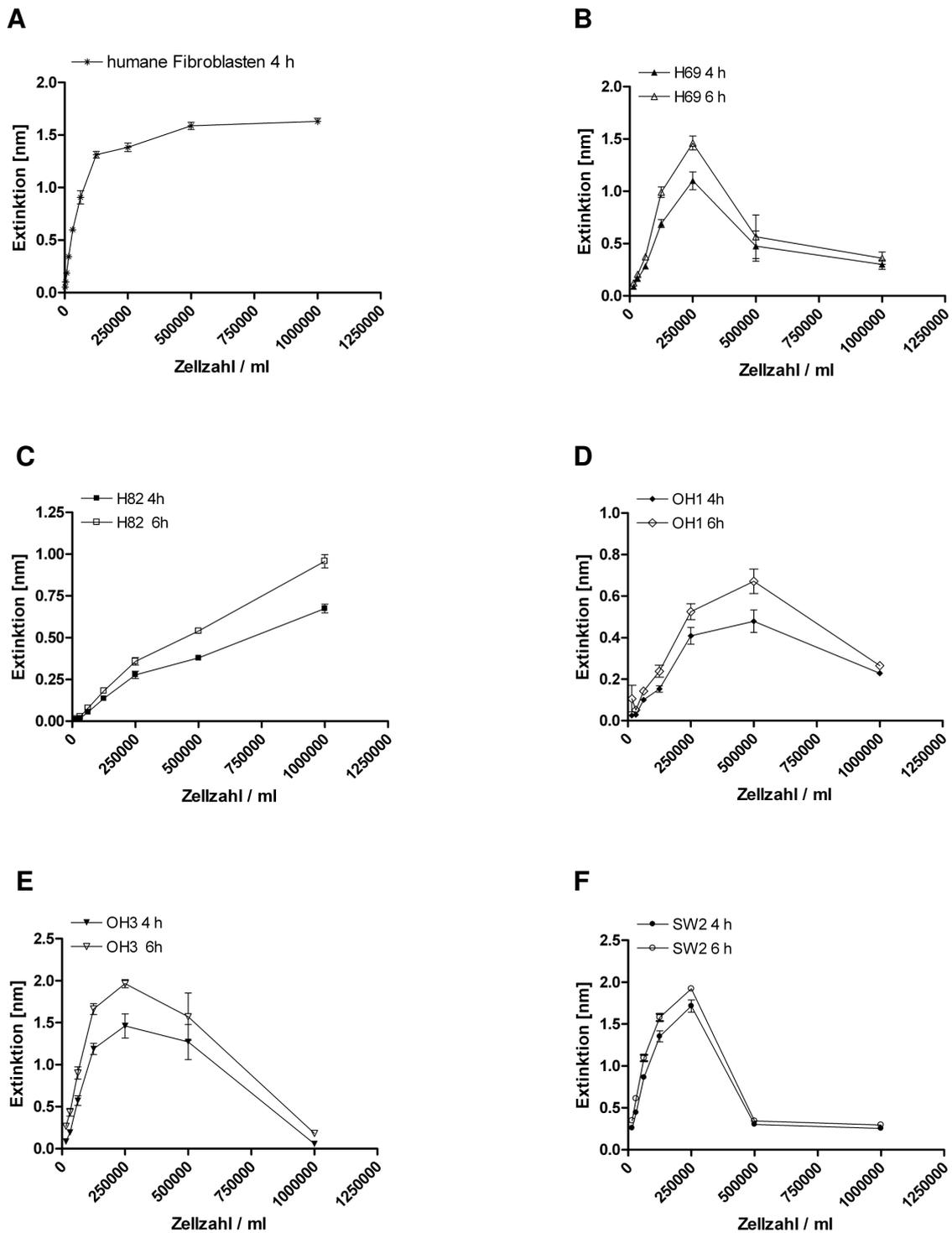
### **3.2.5 Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf kleinzellige Bronchialkarzinomzelllinien und humane Fibroblasten**

Um den Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf die Proliferation der kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien sowie auf die humanen Fibroblasten zu untersuchen, wurden die Zellen 3 Tage in 96-well-Mikrotiterplatten mit verschiedenen Konzentrationen der Substanzen allein und in Kombination inkubiert.

Es wurden 150.000 Zellen / ml für jede kleinzellige Bronchialkarzinom-Zelllinie und 60.000 Zellen / ml für die humanen Fibroblasten ausgesät. Zuerst wurde in jedes *well* einer 96-well-Mikrotiterplatte 90  $\mu$ l Zellsuspension gegeben. Anschließend wurden die 96-well-Mikrotiterplatten im Brutschrank für 24 Stunden inkubiert, um ein optimales Wachstum der Zellen am Boden der *wells* zu gewährleisten. Nach dieser Anwachsphase wurden Atorvastatin, Astemizol bzw. Lovastatin der Zellsuspension in den *wells* zugesetzt.

Für die Messung der einzelnen Substanzen (Atorvastatin, Lovastatin oder Astemizol) wurden pro *well* der 96-well-Mikrotiterplatte 5  $\mu$ l der zu messenden Substanz sowie 5  $\mu$ l der Lösungsmittelkontrolle pipettiert. Um die Kombination aus Atorvastatin und Astemizol bzw. Lovastatin und Astemizol zu bestimmen, wurden pro *well* der 96-well-Mikrotiterplatte jeweils 5  $\mu$ l einer Verdünnung von Atorvastatin bzw. Lovastatin und 5  $\mu$ l einer Verdünnung von Astemizol pipettiert. Es wurden folgende Konzentrationen verwendet: für Atorvastatin und Lovastatin 1,0  $\mu$ M, 0,5  $\mu$ M, 0,05  $\mu$ M, 0,01  $\mu$ M und 0,001  $\mu$ M sowie für Astemizol 5,0  $\mu$ M, 2,5  $\mu$ M, 1,25  $\mu$ M, 0,6  $\mu$ M und 0,3  $\mu$ M. 72 Stunden nach Inkubation im Brutschrank erfolgte die Zugabe des XTT-Reagenzes (50  $\mu$ l / *well*) (Abschnitt 3.2.3). Nach 4 Stunden Inkubationszeit erfolgte die Messung bei 490 nm und einer Referenzwellenlänge von 630 nm im Dynatech MR 3.13 Mikroelisa Reader.

Die Substanzen waren in verschiedenen Lösungsmitteln gelöst. Das Lösungsmittel für Atorvastatin und Astemizol war DMSO und wurde 1:500 in Kulturmedium verdünnt. Lovastatin war in absolutem Ethanol gelöst, das ebenfalls 1:500 in Kulturmedium verdünnt wurde.



**Abb. 3.1: Eichkurven für kleinzellige Bronchialkarzinomzellen und humane Fibroblasten.** Dargestellt ist die Zellzahl / ml von humanen Fibroblasten (A), H69-Zellen (B), H82-Zellen (C), OH1-Zellen (D), OH3-Zellen (E) sowie SW2-Zellen (F). Gemessen wurde die Extinktion in nm nach 4 und 6 Stunden. Abgebildet sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM. Die humanen Fibroblasten erreichten das Extinktionsmaximum nach bei einer Zellzahl von 500.000 / ml. H69-Zellen zeigten bei einer Zellzahl von 250.000 / ml die höchste Extinktion. H82-Zellen wiesen bis zu der maximal eingesetzten Zellzahl von 1.000.000 / ml einen stetigen Anstieg der Extinktion auf. Bei OH1-Zellen lag das Extinktionsmaximum bei einer Zellzahl von 500.000 / ml. Die maximale Extinktion wurde bei OH3-Zellen bei einer Zellzahl von 250.000 / ml gemessen. SW2-Zellen wiesen bei einer Zellzahl von 250.000 / ml die maximale Extinktion auf.

Um einen möglichen Einfluss des Zell-Kulturmediums und der Lösungsmittel auszuschließen wurde bei allen Versuchen eine Leerwertkontrolle (90 µl Zell-Kulturmedium + 10 µl verdünntes Lösungsmittel) und Lösungsmittelkontrolle (90 µl Zellsuspension + 10 µl verdünntes Lösungsmittel) mitgeführt. Auf den 96-well-Mikrotiterplatten wurde jeder Versuch in einem Vierfachansatz durchgeführt und jeder Versuch wurde in mindestens drei unabhängigen Versuchen wiederholt. Dies wurde für alle fünf kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien sowie für die humanen Fibroblasten durchgeführt. So lagen am Ende für jeden einzelnen Versuch insgesamt mindestens 12 Messwerte vor.

### 3.2.6 Elektronenmikroskopische Analyse

Die Anzahl der apoptotischen Zellen nach der Einwirkung von Atorvastatin und Astemizol sollte anhand der morphologischen Veränderungen der kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen dargestellt werden. Zu diesem Zweck wurden die kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien sowie die humanen Fibroblasten zunächst geteilt und 9 ml Zellsuspension 24 Stunden im Brutschrank inkubiert. Nach dieser Zeit wurden je 1 ml Atorvastatin und Astemizol in der Kombination der höchsten bzw. der niedrigsten Konzentrationen hinzugefügt (1,0 µM Atorvastatin / 5,0 µM Astemizol bzw. 0,001 µM Atorvastatin / 0,3 µM Astemizol). Eine Lösungsmittelkontrolle wurde ebenfalls pipettiert. Im Anschluss an die Behandlung wurden die Zelllinien erneut im Brutschrank für 72 Stunden inkubiert und nachfolgend für die Elektronenmikroskopie fixiert. Hierzu wurden die Zellen in DPBS gewaschen und anschließend mit 3%igem Glutaraldehyd resuspendiert.

Anhand der elektronenmikroskopischen Fotografien wurden anschließend die Zellkerne sowie die Zellmembranen beurteilt, die apoptotischen Zellen gezählt und im Verhältnis zu den vitalen Zellen ausgewertet.

### 3.2.7 Zellzyklusanalyse mit dem *Laser Scanning Cytometer*

Um eine Zellzyklusanalyse mittels des *Laser Scanning Cytometers* durchzuführen, wurden von den Zellen zunächst Zytospins hergestellt. Dafür wurden die kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen zuerst aufgeteilt, wobei 3 ml Zellsuspension und 15 ml Zellkulturmedium zusammen in eine Zellkulturflasche gegeben wurden. Die kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen wurden danach für 24 Stunden im Brutschrank inkubiert. Nach dieser Inkubationszeit wurden jeweils 1 ml Atorvastatin (1,0 µM) und Astemizol (5,0 µM) hinzugefügt. Es wurde ebenfalls eine Lösungsmittelkontrolle pipettiert, bei der statt der Pharmaka 2 ml des Verdünnungsmediums zur Zellsuspension gegeben wurden. Nach weiteren Inkubationszeiten von 24 und 72 Stunden wurden die Zellen wie unter 3.2.2 beschrieben gezählt, um dann die Menge an Zellsuspension zu zentrifugieren (5 Minuten bei 1500 U / min), die für eine Zellzahl von 80.000 / ml nötig war. Anschließend wurde der

Überstand abgenommen und das Zellpellet mit 4 %igem PFA aufgeschwemmt. Von dieser Suspension wurden 500 µl in die für Zytospins vorgesehene Vorrichtung gegeben und nochmals zentrifugiert (3 Minuten bei 1500 U / min). Die Zytospins wurden über Nacht bei RT getrocknet. Im Anschluss wurden die Zytospins zweimal mit TBS gewaschen, mit dem DNA Farbstoff DRAQ5 gefärbt sowie mit jeweils einem Tropfen *Flourescence-Mounting-Medium versetzt*. Danach wurden die Zytospins eingedeckelt und auf der Wärmeplatte bei 30 °C trocknen gelassen.

Die humanen Fibroblasten wurden zum Zweck der Zellzyklusanalyse auf Zwei-Kammer-*Chamber Slides* mit einer Zellzahl von 60.000 / ml und einem Volumen von 1,8 ml pro Kammer ausgesät und 24 Stunden in Brutschrank inkubiert. Im Anschluss wurden die humanen Fibroblasten mit jeweils 0,1 ml Atorvastatin (1,0 µM) und Astemizol (5,0 µM) bzw. als Kontrolle mit 0,2 ml Verdünnungsmedium für weitere 24 Stunden im Brutschrank inkubiert. Hiernach wurde der Überstand abgenommen, die Zellen zweimal mit DPBS gewaschen und für 10 Minuten mit 4 %igem PFA fixiert. Nach erneutem Waschen mit TBS wurden die *Chamber Slides* über Nacht bei RT getrocknet und anschließend mit 500 µl DRAQ5 gefärbt.

Um zu analysieren, welche Anzahl von kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen bzw. humanen Fibroblasten sich in den verschiedenen Zellzyklusphasen befanden, wurden sie von einem *Laser Scanning Cytometer* gezählt, wobei ein 20-fach Objektiv verwendet wurde. Ein Helium-Neon-Laser regte die Fluoreszenz bei einer Wellenlänge von 630 nm an, die anschließend bei 650 nm gemessen wurde.

### **3.2.8 Statistische Analyse**

Die Rohdaten wurden mit GraphPad Prism 4.0 ausgewertet und als Histogramm dargestellt. Die statistisch signifikanten Unterschiede der Mittelwerte wurden durch eine *one-way ANOVA* (einfaktorielle Varianzanalyse) mit darauf folgendem Bonferroni's Multiple Comparison Test nachgewiesen und als signifikant betrachtet, wenn  $p < 0,05$  war. Alle errechneten Daten der ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Test sind im Anhang (Abschnitt 8A-F) aufgeführt. Ein signifikanter Unterschied der Stichproben wurde in der Graphik gekennzeichnet (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,001$ ) und im Text erwähnt. Alle graphisch dargestellten Daten sind als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes (SEM) aufgeführt. Messwerte können untypische Datenpunkte und Ausreißer enthalten, z.B. infolge von Fehlmessungen oder methodischer Fehler. Anhand einer graphischen Inspektion der Messwerteverteilung wurden Ausreißer detektiert und die entsprechenden Werte aus der Gesamtheit entfernt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Humane Fibroblasten

#### 4.1.1 Der Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf humane Fibroblasten

Um den Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf humane Fibroblasten zu untersuchen, wurden die Zellen mit verschiedenen Konzentrationen der Substanzen inkubiert.

Die humanen Fibroblasten wurden mit verschiedenen Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$ ) behandelt. Es zeigte sich, dass bei allen verwendeten Atorvastatin-Konzentrationen keine signifikante Veränderung der Proliferation gegenüber der Kontrolle nachzuweisen war (Abb. 4.1A).

Lovastatin wurde in den Konzentrationen 0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$  mit humanen Fibroblasten inkubiert. Es wurde eine signifikante Proliferationshemmung bei den beiden höchsten Konzentrationen (0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$ ) beobachtet ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.1B):

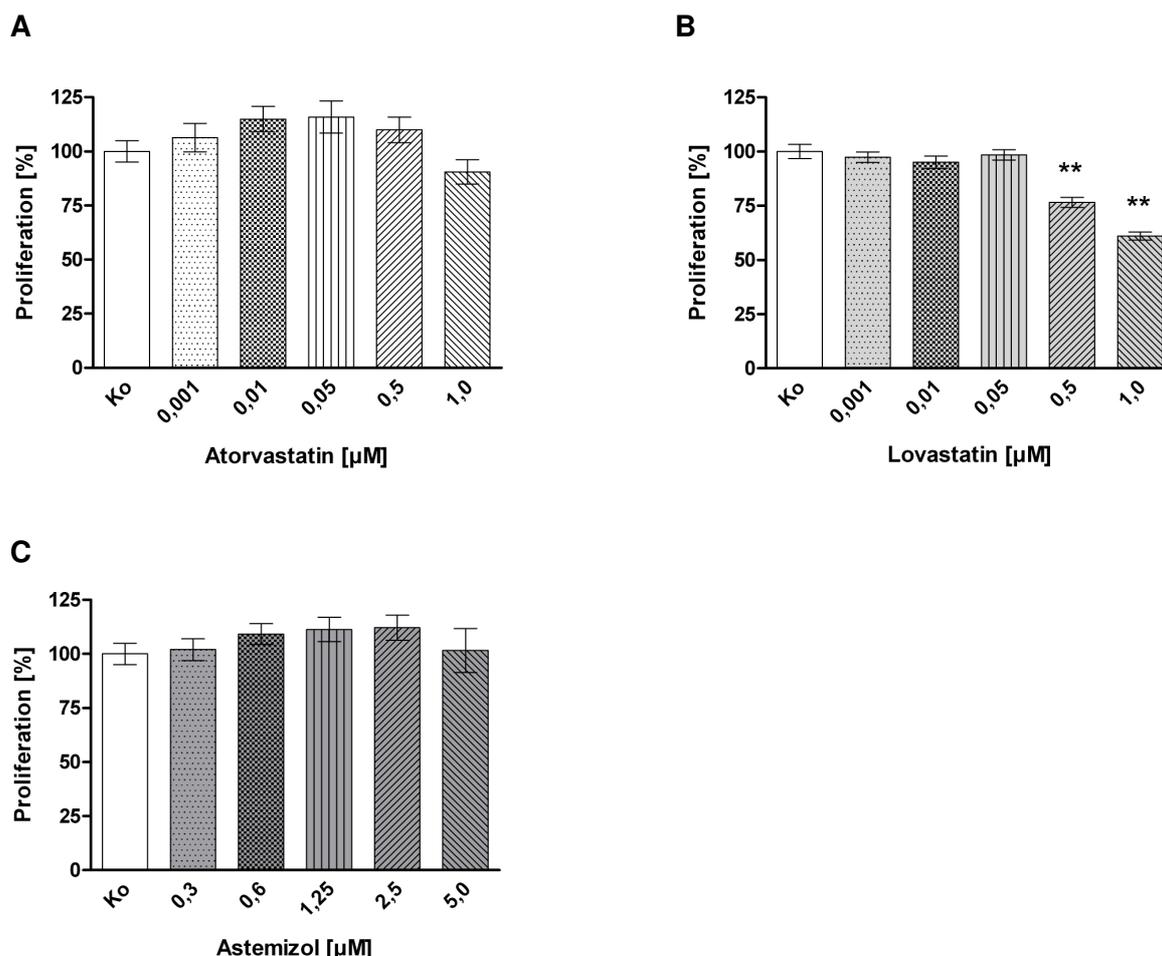
- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin um 23,4 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin um 38,9 %

Bei den niedrigeren Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$  und 0,05  $\mu\text{M}$ ) wurde ein ähnliches Wachstum wie bei der Kontrolle festgestellt (Abb. 4.1B).

Die Behandlung mit Astemizol erfolgte mit den Konzentrationen 0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$ . Die verwendeten Astemizol-Konzentrationen wiesen ein ähnliches Wachstum wie die Kontrolle auf (Abb. 4.1C).

#### 4.1.2 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf humane Fibroblasten

Die gemeinsame Wirkung von Atorvastatin und Astemizol auf humane Fibroblasten sollte geprüft werden. Zu diesem Zweck wurden die Zellen mit verschiedenen Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit unterschiedlichen Astemizol-Konzentrationen (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) inkubiert.



**Abb. 4.1: Wirkung von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf humane Fibroblasten.** Abgebildet ist die Behandlung von humanen Fibroblasten mit verschiedenen Konzentrationen von Atorvastatin (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) (**A**), Lovastatin (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) (**B**) und Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) (**C**). Dargestellt ist die Proliferation in %. Atorvastatin und Astemizol zeigten gegenüber der Kontrolle keine Veränderung der Proliferation. Lovastatin zeigte in den höchsten Konzentrationen eine signifikante Proliferationshemmung. Gezeigt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle, n = 12, \*\* p < 0,001).

Dabei wurde beobachtet, dass die Kombinationen mit einer Atorvastatin-Konzentration  $\leq 0,5$   $\mu\text{M}$  stets ähnliche Resultate zeigten, eine signifikante Inhibition des Wachstums wurde nur in der Kombination mit der höchsten Astemizol-Konzentration (5,0  $\mu\text{M}$ ) erreicht (p < 0,05) (Abb. 4.2A, 4.2B, 4.2C, 4.2D):

- 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 87,4 %
- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 91,5 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 75,5 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 82,4 %

Niedrigere Konzentrationen von Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ ) zeigten in den Kombinationen mit Atorvastatin-Konzentrationen  $\leq 0,5$   $\mu\text{M}$  keinen wesentlichen Effekt auf humane Fibroblasten (Abb. 4.2A, 4.2B, 4.2C, 4.2D).

Die höchste Atorvastatin-Konzentration (1,0  $\mu\text{M}$ ) hemmte in Kombination mit den Astemizol-Konzentrationen 0,3  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$  das Wachstum signifikant ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.2E):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 0,3  $\mu\text{M}$  Astemizol um 31,0%
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 63,3 %

Mevalonsäure wird im Organismus aus 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl-Coenzym A (HMG-CoA) unter Einfluss der HMG-CoA-Reduktase gebildet. Dieser Stoffwechselfvorgang wird durch Atorvastatin gehemmt (Lennernäs & Fager, 1997), daher wurde getestet, ob Mevalonsäure eine Wirkung auf die Wachstumshemmung hat.

Dafür wurden humane Fibroblasten mit 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure alleine und in Kombination mit den höchsten Konzentrationen von Atorvastatin (1,0  $\mu\text{M}$ ) und Astemizol (5,0  $\mu\text{M}$ ) behandelt. Hierbei wies die reine Mevalonsäure keine Wirkung auf die Proliferation auf. Mit der Kombination aus den höchsten Substanzkonzentrationen (1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol) war die Proliferation signifikant erniedrigt gegenüber der Kontrolle ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.2F):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol / 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure um 77,1 %

Dieses Ergebnis war gegenüber dem Effekt von 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol nicht signifikant verändert.

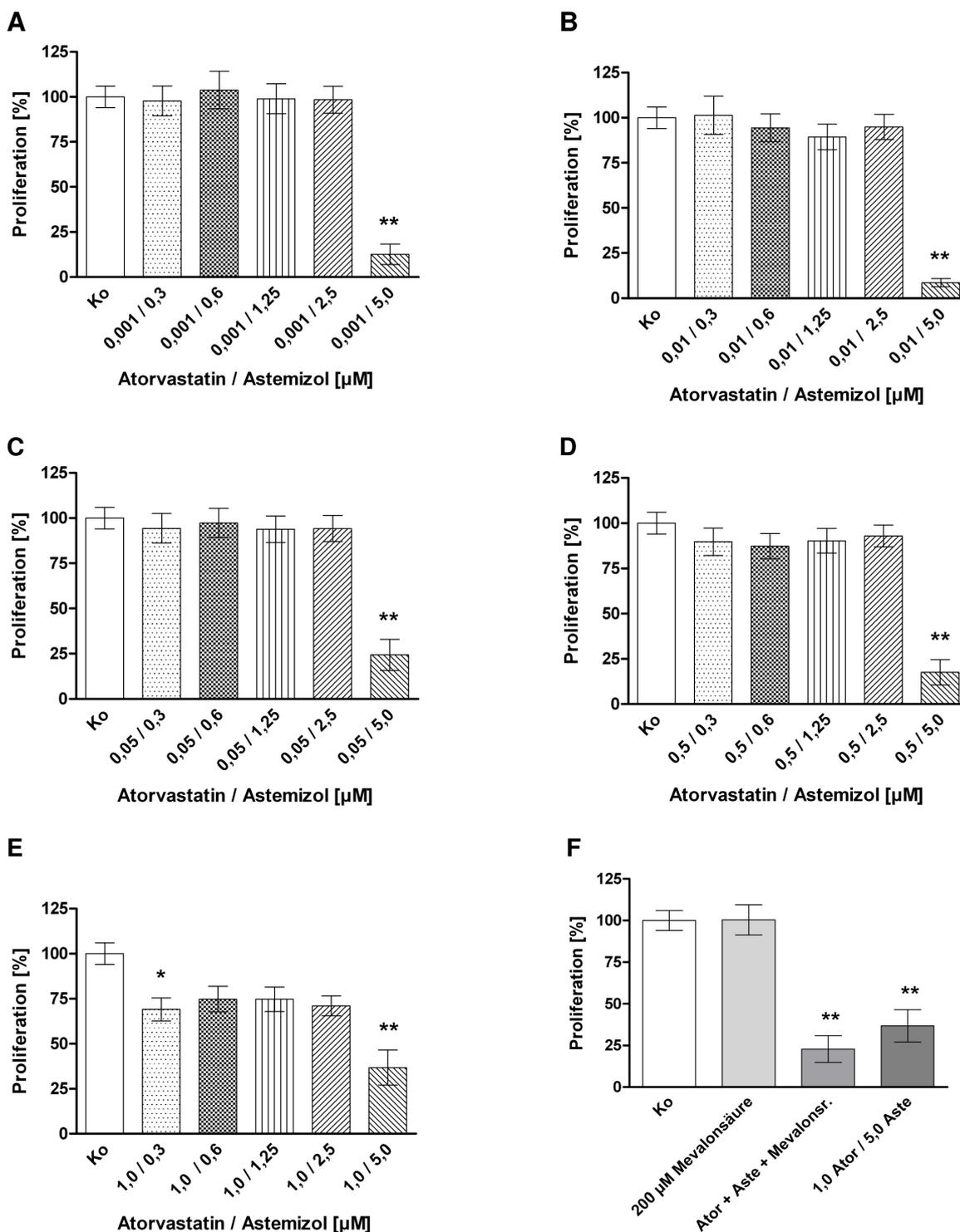
#### **4.1.3 Der Einfluss von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf humane Fibroblasten**

Um die gemeinsame Wirkung von Lovastatin und Astemizol auf humane Fibroblasten zu untersuchen, wurden die Zellen mit Lovastatin in verschiedenen Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit verschiedenen Astemizol-Konzentrationen (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) behandelt.

Dabei bewirkte Lovastatin in einer Konzentration von  $\leq 0,05$   $\mu\text{M}$  in der Kombination mit 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol eine signifikante Erniedrigung der Proliferation ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.3A, 4.3B, 4.3C):

- 0,001  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 79,3 %
- 0,01  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 91,4 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 69,2 %

Indessen war das Wachstum unter Einfluss der Kombinationen von Lovastatin-Konzentrationen von  $\leq 0,05$   $\mu\text{M}$  mit Astemizol-Konzentrationen  $\leq 2,5$   $\mu\text{M}$  ähnlich der Kontrolle (Abb. 4.3C, 4.3D, 4.3E).



**Abb. 4.2: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf humane Fibroblasten.** Dargestellt ist die Behandlung von humanen Fibroblasten mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit Atorvastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001  $\mu\text{M}$  (A), 0,01  $\mu\text{M}$  (B), 0,05  $\mu\text{M}$  (C), 0,5  $\mu\text{M}$  (D), 1,0  $\mu\text{M}$  (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf humane Fibroblasten allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol (F). Abgebildet ist die Proliferation in %. Die höchste Astemizol-Konzentration zeigte eine deutliche Hemmung der Proliferation. Gezeigt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 8$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$ ).

Die nächsthöhere Lovastatin-Konzentration (0,5  $\mu\text{M}$ ) zeigte in Kombination mit der höchsten (5,0  $\mu\text{M}$ ) sowie der niedrigsten (0,3  $\mu\text{M}$ ) Astemizol-Konzentration eine signifikante Verminderung des Wachstums ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.3D):

- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 0,3  $\mu\text{M}$  Astemizol um 23,9 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 86,1 %

Dagegen zeigten die anderen untersuchten Astemizol-Konzentrationen (0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$  und 2,5  $\mu\text{M}$ ) keinen signifikanten Effekt (Abb. 4.3D).

Die höchste Lovastatin-Konzentration von 1,0  $\mu\text{M}$  wies nur kombiniert mit einer Astemizol-Konzentration von 2,5  $\mu\text{M}$  keine signifikante Veränderung der Proliferation auf (Abb. 4.3A).

Alle anderen Kombinationen hemmten das Wachstum der humanen Fibroblasten signifikant ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.3E):

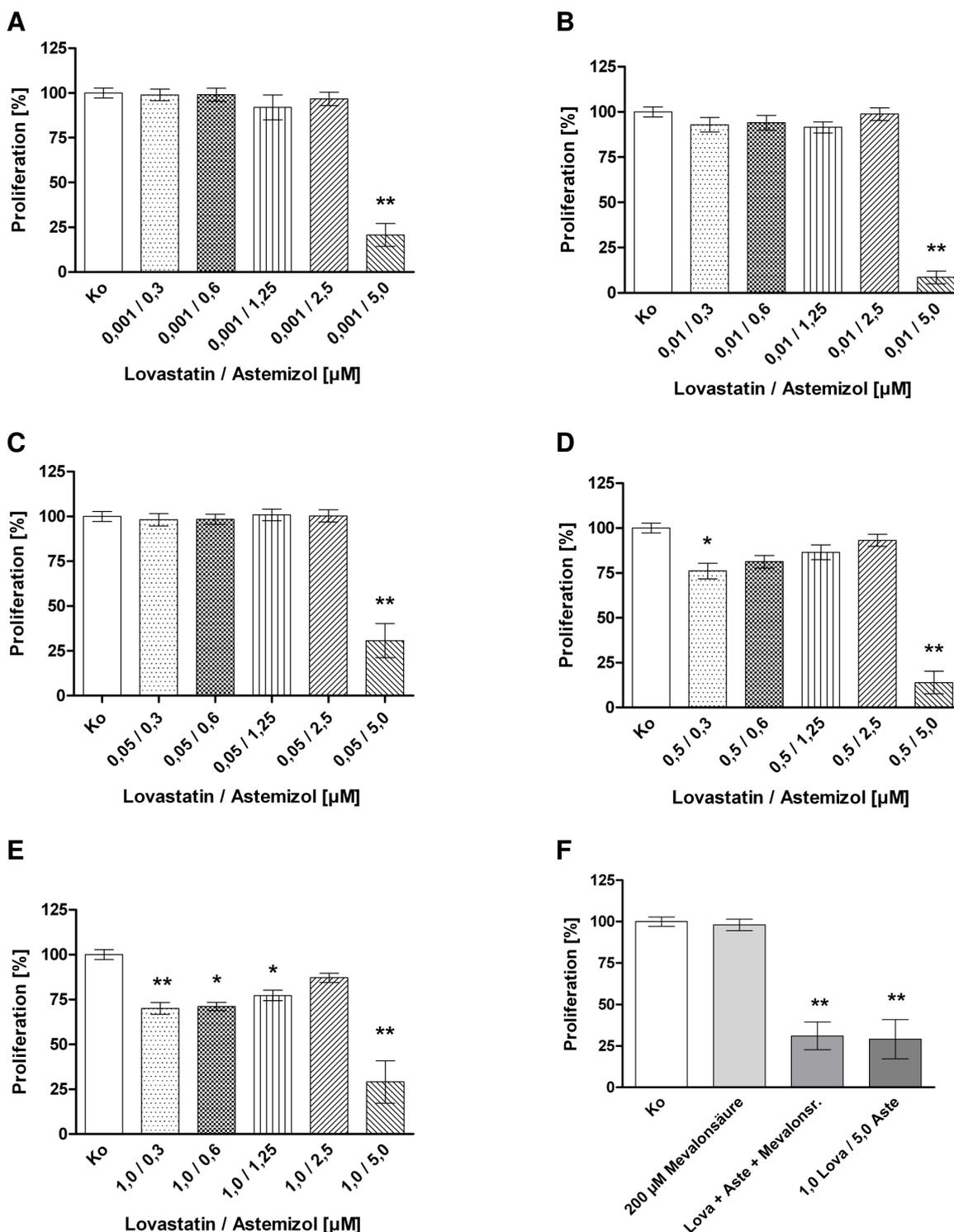
- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 0,3  $\mu\text{M}$  Astemizol um 30,1 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 0,6  $\mu\text{M}$  Astemizol um 28,9 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 1,25  $\mu\text{M}$  Astemizol um 22,8 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 70,9 %

Ebenfalls untersucht werden sollte die Wirkung von Mevalonsäure, daher wurden die humanen Fibroblasten mit 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol inkubiert.

Dabei wurde beobachtet, dass Mevalonsäure keinen Effekt auf das Wachstum der humanen Fibroblasten hatte, jedoch die Kombination mit den höchsten Wirkstoffkonzentrationen die Proliferation signifikant hemmte ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.3 F):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol / 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure um 68,9 %

Dies bedeutete keinen signifikanten Einfluss auf den Effekt der Kombination aus 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol.



**Abb. 4.3: Wirkung von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf humane Fibroblasten.**

Dargestellt ist die Behandlung von humanen Fibroblasten mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit Lovastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001  $\mu\text{M}$  (A), 0,01  $\mu\text{M}$  (B), 0,05  $\mu\text{M}$  (C), 0,5  $\mu\text{M}$  (D), 1,0  $\mu\text{M}$  (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf humane Fibroblasten allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol (F). Gezeigt ist die Proliferation in %. Kombinationen mit einer hohen Astemizol-Konzentration zeigten eine Verminderung des Wachstums. Hohe Lovastatin-Konzentrationen wiesen zudem in Kombination mit niedrigen Astemizol-Konzentrationen eine Proliferationshemmung auf. Abgebildet sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle, n = 12, \*\* p < 0,001, \* p < 0,05).

## 4.2 H69-Zellen

### 4.2.1 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol auf H69-Zellen

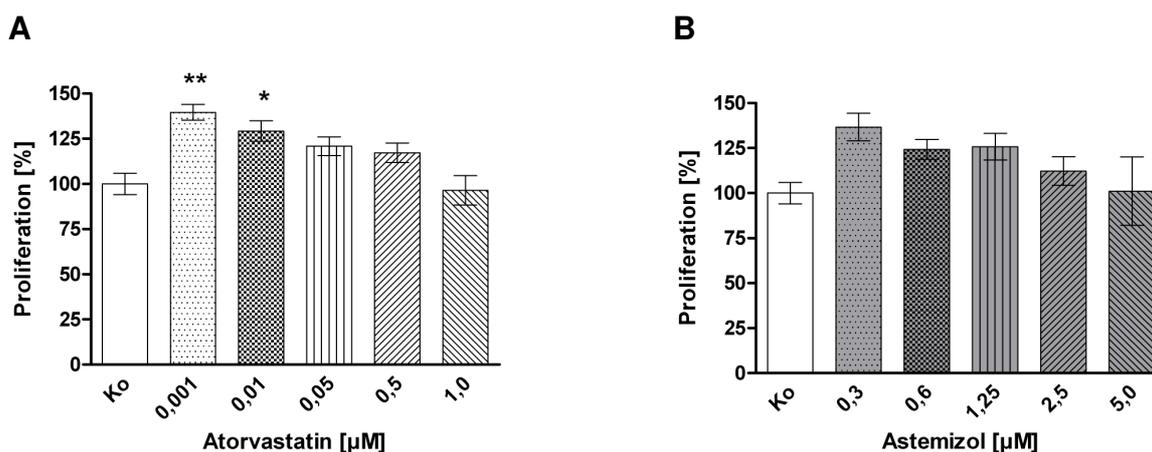
Der Effekt von Atorvastatin und Astemizol auf H69-Zellen sollte untersucht werden. Verschiedene Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$ ) wurden getestet.

Dabei wiesen die niedrigen Atorvastatin-Konzentrationen 0,001  $\mu\text{M}$  und 0,01  $\mu\text{M}$  eine signifikante Erhöhung des Zellwachstums auf ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.4A):

- 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin um 39,6 %
- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin um 29,2 %

Die Atorvastatin-Konzentrationen ab 0,05  $\mu\text{M}$  zeigten keine Veränderung der Proliferation ( $p > 0,05$ ) (Abb. 4.4A).

Astemizol wurde ebenfalls in unterschiedlichen Konzentrationen untersucht (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$ ). Keine der getesteten Astemizol-Konzentrationen zeigte eine signifikante Wirkung auf das Wachstum der H69-Zellen (Abb. 4.4B).



**Abb. 4.4: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol auf H69-Zellen.** Dargestellt ist die Behandlung von H69-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Atorvastatin (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) (A) und Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) (B). Abgebildet ist die Proliferation in %. Atorvastatin bewirkte in den niedrigsten Konzentrationen einen Anstieg der Proliferation. Gezeigt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 11$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$ ).

### 4.2.2 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf H69-Zellen

Um den Einfluss beider Pharmaka zusammen auf H69-Zellen zu testen, wurden die Zellen mit verschiedenen Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit unterschiedlichen Astemizol-Konzentrationen (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) behandelt.

Bei den niedrigen Atorvastatin-Konzentrationen (0,01  $\mu\text{M}$  und 0,001  $\mu\text{M}$ ) zeigte sich eine signifikante Wachstumshemmung der H69-Zellen nur in Kombination mit der höchsten Astemizol-Konzentration ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5A, 4.5B):

- 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 81,3 %
- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 80,5 %

Hingegen kam es in Kombination mit Konzentrationen  $\leq 2,5 \mu\text{M}$  Astemizol zu keiner signifikanten Veränderung der Proliferation (Abb. 4.5A, 4.5B).

Bei einer Atorvastatin-Konzentration von 0,05  $\mu\text{M}$  wurde eine signifikante Verminderung des Zellwachstums bei den Kombinationen mit 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol nachgewiesen ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5C):

- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 23,4 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 88,5 %

Die Kombinationen mit Astemizol-Konzentrationen von  $\leq 1,25 \mu\text{M}$  hatten jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Proliferation (Abb. 4.5C).

Eine höhere Atorvastatin-Konzentration von 0,5  $\mu\text{M}$  inhibierte in Kombination mit hohen Astemizol-Konzentrationen ( $\geq 1,25 \mu\text{M}$ ) die Proliferation signifikant ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5D):

- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 1,25  $\mu\text{M}$  Astemizol um 25,6 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 66,3 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 99,9 %

Allerdings konnte für die Kombinationen mit niedrigen Astemizol-Konzentrationen ( $< 1,25 \mu\text{M}$ ) kein signifikanter Effekt auf die Zellproliferation beobachtet werden (Abb. 4.5D).

Die Kombinationen mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin zeigten ähnliche Resultate. In Kombination mit 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol wurde die Proliferation signifikant gehemmt ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5E):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 1,25  $\mu\text{M}$  Astemizol um 17,6 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 58,9 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 99,0 %

Hingegen hatten Astemizol-Konzentrationen, die kleiner als 1,25  $\mu\text{M}$  waren, in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin keinen Einfluss auf das Wachstum der H69-Zellen (Abb. 4.5E).

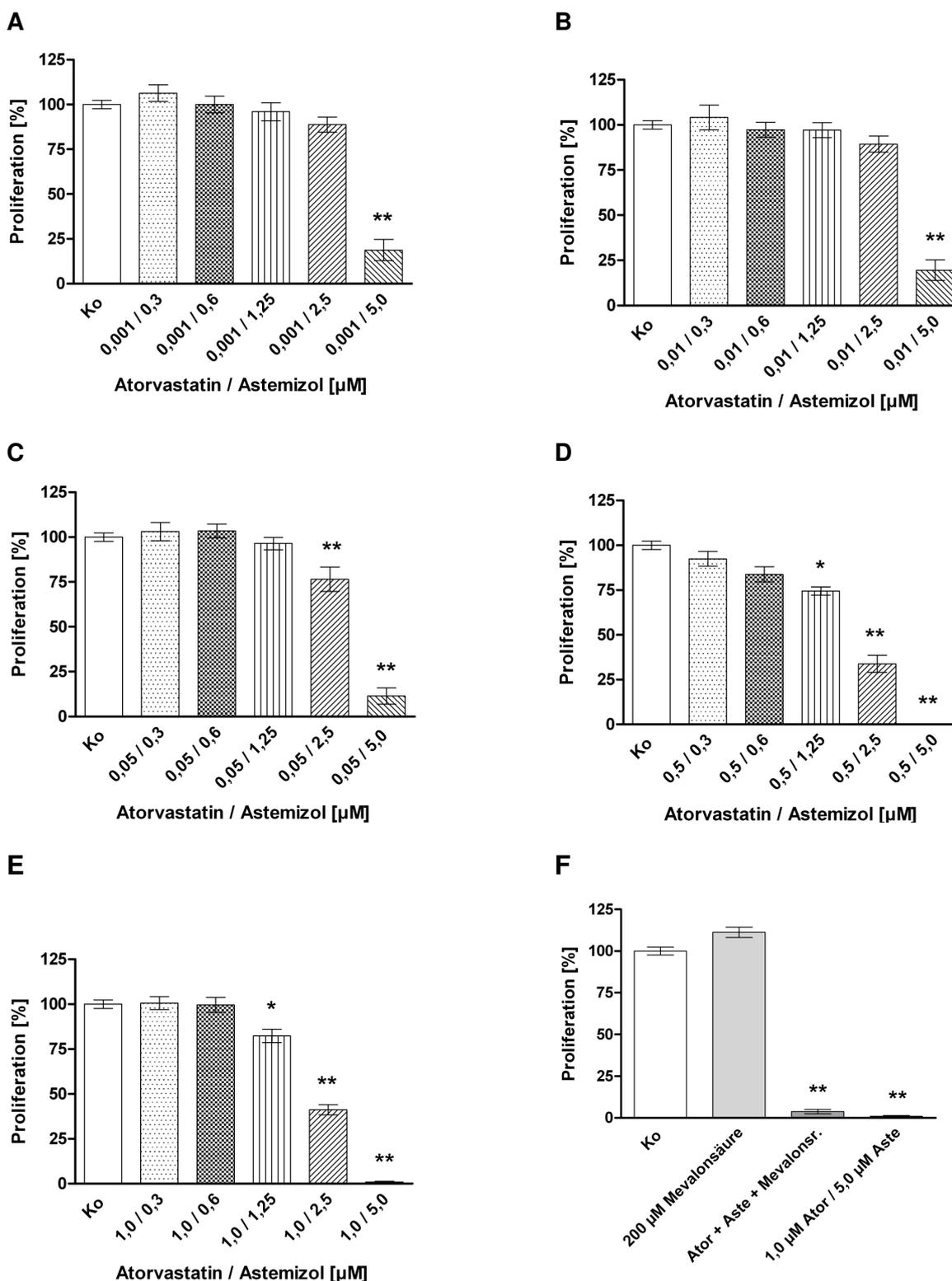
Zudem wurde geprüft, ob Mevalonsäure als Stoffwechselprodukt des durch Atorvastatin gehemmten Schrittes der Cholesterinsynthese einen Einfluss auf das Ergebnis hatte.

Hierfür wurde Mevalonsäure in einer Konzentration von 200  $\mu\text{M}$  einmal alleine und einmal mit der Kombination 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol auf H69-Zellen getestet.

Es zeigte sich, dass 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure gegenüber der Kontrolle keine Wirkung auf das Wachstum aufwies. Für die Kombination der höchsten Atorvastatin- und Astemizol-Konzentrationen mit 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure wurde eine signifikante Verminderung der Proliferation nachgewiesen ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.5F):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol / 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure um 96,2 %

Im Vergleich zur Kombination 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin mit 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol war keine signifikante Änderung zu messen.



**Abb. 4.5: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf H69-Zellen.** Dargestellt ist die Behandlung von H69-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit Atorvastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001  $\mu\text{M}$  (A), 0,01  $\mu\text{M}$  (B), 0,05  $\mu\text{M}$  (C), 0,5  $\mu\text{M}$  (D), 1,0  $\mu\text{M}$  (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf H69-Zellen allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol (F). Abgebildet ist die Proliferation in %. Hohe Konzentrationen der Stoffe bewirkten ein deutlich niedrigeres Wachstum als die Kontrolle. Gezeigt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 10$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$ ).

### 4.3 H82-Zellen

#### 4.3.1 Der Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf H82-Zellen

Die Wirkung von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf H82-Zellen sollte getestet werden. Zu diesem Zweck wurden die Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Atorvastatin (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ), Lovastatin (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) und Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) behandelt.

Dabei konnte beobachtet werden, dass keine der getesteten Atorvastatin-Konzentrationen eine Wirkung auf H82-Zellen zeigten, die Extinktionen lagen im Bereich der Kontrolle (Abb. 4.6A). Auch Lovastatin zeigte in keiner der eingesetzten Konzentrationen Wirkung auf das Zellwachstum (Abb. 4.6B). Dagegen rief Astemizol in der höchsten Konzentration eine deutliche Hemmung des Wachstums hervor ( $p < 0,01$ ) (Abb. 4.6C):

- 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 54,6 %

Die anderen Astemizol-Konzentrationen wiesen keinen signifikanten Effekt auf H82-Zellen auf (Abb. 4.6C).

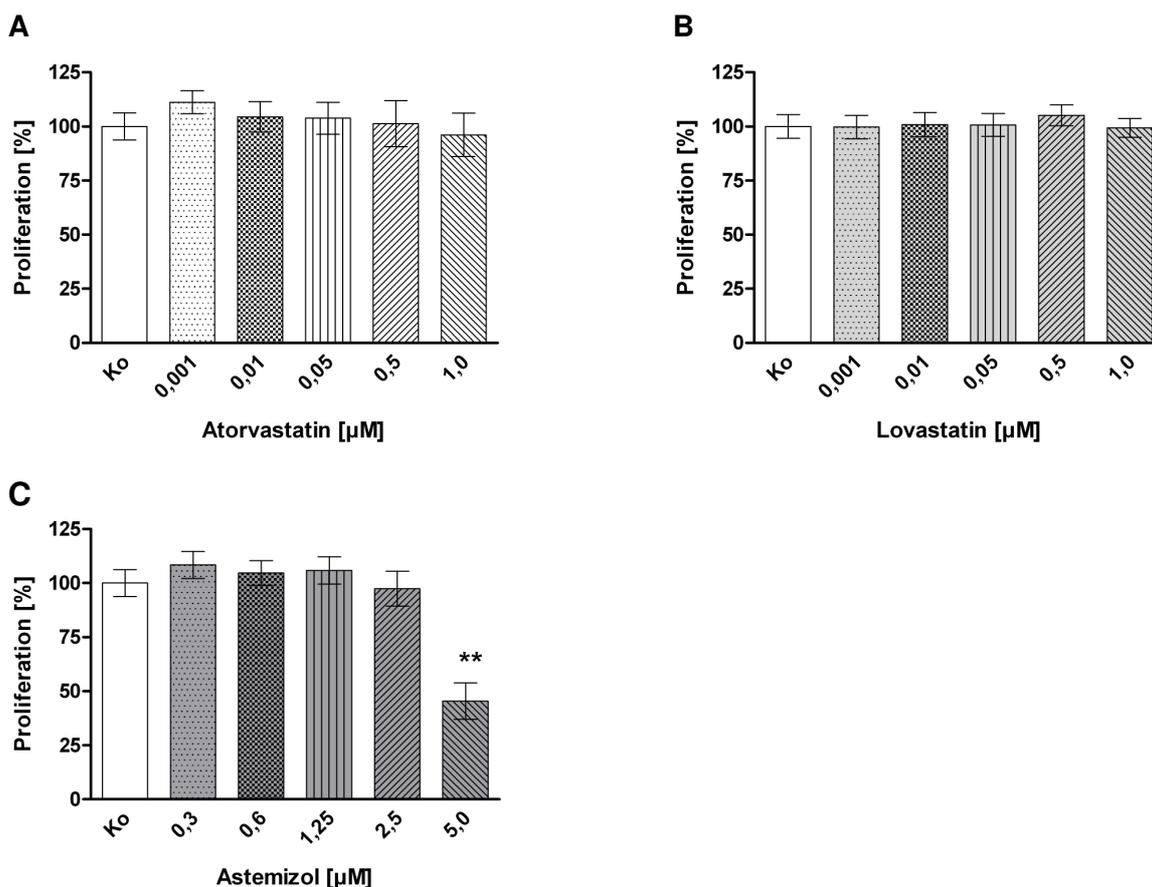
#### 4.3.2 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf H82-Zellen

Es wurde ebenfalls untersucht, welche Wirkung Atorvastatin und Astemizol miteinander auf H82-Zellen hatten. Hierfür wurde Atorvastatin (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) mit Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) in verschiedenen Konzentrationen kombiniert auf die Zellen gegeben.

Wurde Atorvastatin in einer Konzentration von 0,05  $\mu\text{M}$  oder geringer (0,01  $\mu\text{M}$ , 0,001  $\mu\text{M}$ ) eingesetzt, war eine signifikante Abnahme des Wachstums der H82-Zellen nur bei den Kombinationen mit den hohen Astemizol-Konzentrationen ( $> 1,25 \mu\text{M}$ ) nachweisbar ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.7A, 4.7B, 4.7C):

- 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 33,7 %
- 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 82,4 %
- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 25,7%
- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 85,8 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 46,6 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 98,8 %

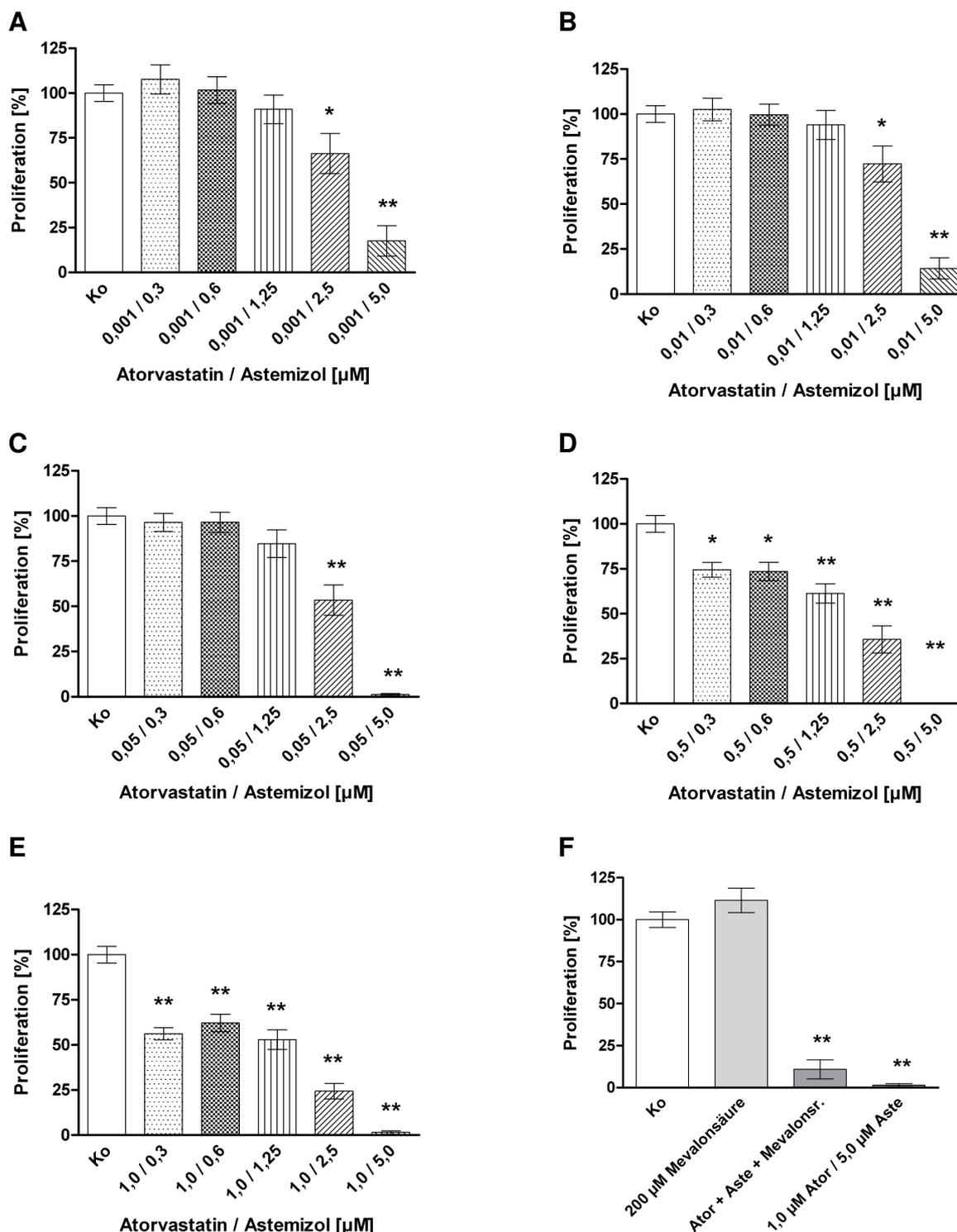
Bei den Kombinationen von Atorvastatin-Konzentrationen  $\leq 0,05 \mu\text{M}$  mit geringen Astemizol-Konzentrationen ( $\leq 1,25 \mu\text{M}$ ) zeigten sich Ergebnisse ähnlich der Kontrolle (Abb. 4.7A, 4.7B, 4.7C).



**Abb. 4.6: Wirkung von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf H82-Zellen.** Gezeigt ist die Behandlung von H82-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Atorvastatin (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) (**A**), Lovastatin (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) (**B**) und Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) (**C**). Abgebildet ist die Proliferation in %. Die höchste Konzentration von Astemizol bedingte ein deutlich geringeres Wachstum als die Kontrolle. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 10$ , \*\*  $p < 0,001$ ).

Eine Atorvastatin-Konzentration von 0,5  $\mu\text{M}$  zeigte in Kombination mit allen Astemizol-Konzentrationen eine deutliche Hemmung der Proliferation, wobei die geringen Astemizol-Konzentrationen (< 1,25  $\mu\text{M}$ ) eine schwächere Wirkung hatten als die hohen ( $\geq 1,25 \mu\text{M}$ ) ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.7D):

- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 0,3  $\mu\text{M}$  Astemizol um 25,6 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 0,6  $\mu\text{M}$  Astemizol um 26,5 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 1,25  $\mu\text{M}$  Astemizol um 38,8 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 64,3 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 99,8 %



**Abb. 4.7: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf H82-Zellen.** Abgebildet ist die Behandlung von H82-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit Atorvastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001  $\mu\text{M}$  (A), 0,01  $\mu\text{M}$  (B), 0,05  $\mu\text{M}$  (C), 0,5  $\mu\text{M}$  (D), 1,0  $\mu\text{M}$  (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf H82-Zellen allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol (F). Gezeigt ist die Proliferation in %. Die hohen Atorvastatin-Konzentrationen zeigten in allen Kombinationen eine Wachstumshemmung, die niedrigeren Konzentrationen zeigten nur in Kombination mit hohen Astemizol-Konzentrationen einen hemmenden Effekt. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 12$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$ ).

Eine ausgeprägte Reduktion des Wachstums wurde bei der Kombination von der höchsten Atorvastatin-Konzentration (1,0  $\mu\text{M}$ ) mit jeder Astemizol-Konzentration nachgewiesen ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.7E):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 0,3  $\mu\text{M}$  Astemizol um 43,9 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 0,6  $\mu\text{M}$  Astemizol um 37,9 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 1,25  $\mu\text{M}$  Astemizol um 47,2 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 75,7 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 98,5 %

Außerdem sollte der Effekt von Mevalonsäure untersucht werden. Während Mevalonsäure alleine keine Wirkung auf die Proliferation der H82-Zellen zeigte, wurde das Wachstum deutlich reduziert, wenn Mevalonsäure mit 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol und 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin kombiniert wurde ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.7F):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol / 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure um 89,15 %

Dies bedeutete keinen signifikanten Effekt auf die Wachstumshemmung durch 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol.

### 4.3.3 Der Einfluss von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf H82-Zellen

Um zu prüfen, wie Lovastatin und Astemizol zusammen auf H82-Zellen wirkten, wurde Lovastatin in den Konzentrationen 0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$  mit verschiedenen Astemizol-Konzentrationen (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$ ) kombiniert und auf die H82-Zellen gegeben.

Hierbei führten bei der niedrigsten Lovastatin-Konzentration (0,001  $\mu\text{M}$ ) nur die Kombinationen mit 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol zu einer signifikanten Verminderung der Proliferation ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.8A):

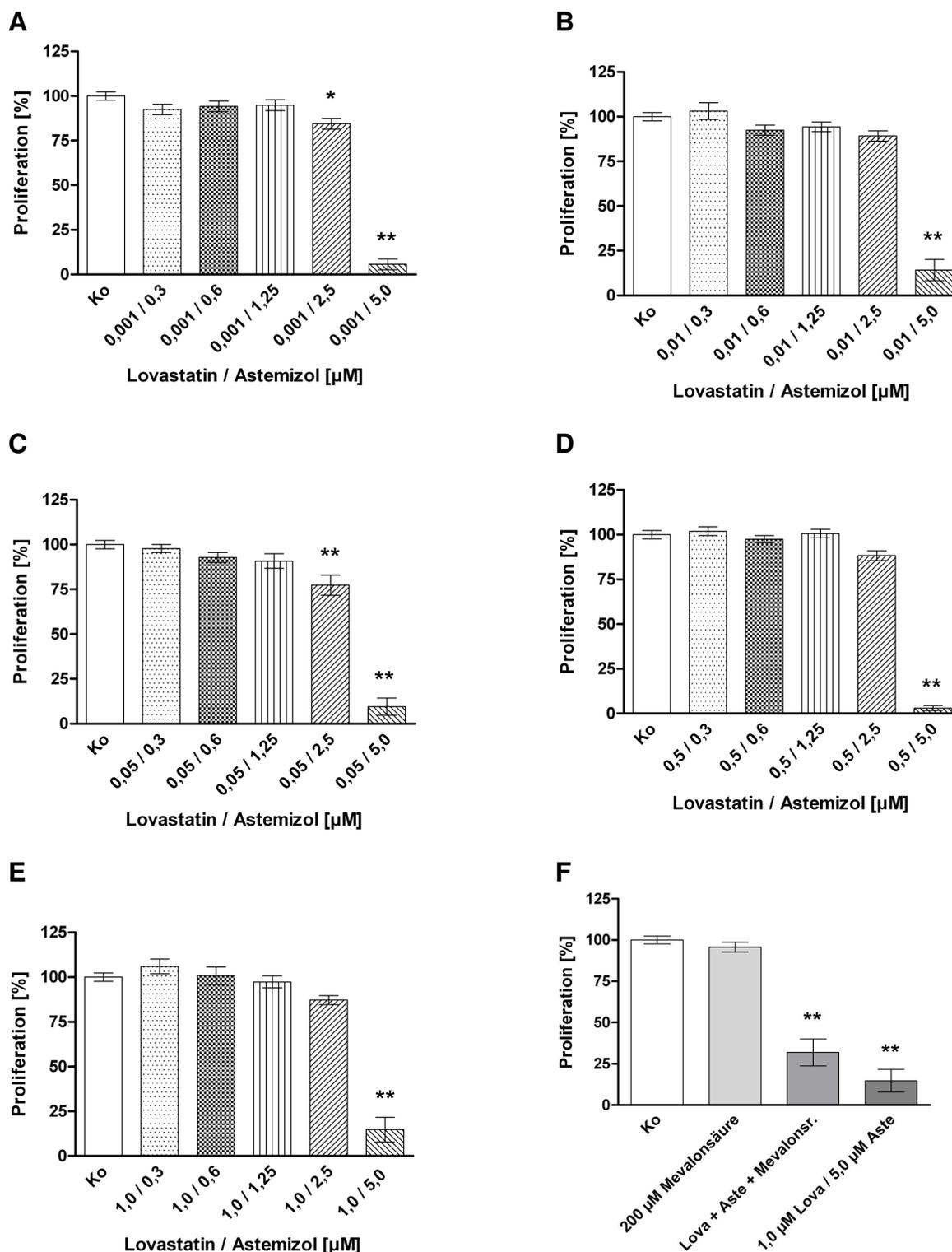
- 0,001  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 15,6 %
- 0,001  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 94,3 %

Kombinationen mit 0,001  $\mu\text{M}$  Lovastatin und niedrigeren Astemizol-Konzentrationen ( $\leq 1,25$   $\mu\text{M}$ ) hemmten das Wachstum nicht (Abb. 4.8A).

Die Kombination aus 0,01  $\mu\text{M}$  Lovastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol zeigte eine signifikante Wachstumshemmung ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.8B).

- 0,01  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 85,8 %

Die anderen untersuchten Astemizol-Konzentrationen wiesen zusammen mit 0,01  $\mu\text{M}$  Lovastatin keine deutliche Wirkung auf H82-Zellen auf (Abb. 4.8B).



**Abb. 4.8: Wirkung von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf H82-Zellen.** Dargestellt ist die Behandlung von H82-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3 μM, 0,6 μM, 1,25 μM, 2,5 μM, 5,0 μM) in Kombination mit Lovastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001 μM (A), 0,01 μM (B), 0,05 μM (C), 0,5 μM (D), 1,0 μM (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf H82-Zellen allein und in Kombination mit 1,0 μM Atorvastatin und 5,0 μM Astemizol (F). Abgebildet ist die Proliferation in %. Hohe Konzentrationen von Astemizol bewirkten eine Verminderung der Proliferation. Gezeigt sind die Mittelwerte ± SEM (Ko = Kontrolle, n ≥ 12, \*\* p < 0,001, \* p < 0,05).

Während die Proliferation der Kombinationen von 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin mit Astemizol-Konzentrationen  $\leq 1,25 \mu\text{M}$  im Bereich der Kontrolle lag, zeigte die Kombination mit 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$  eine deutliche Reduktion der Proliferation ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.8C):

- 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 22,6 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 90,5 %

Bei den hohen Lovastatin-Konzentrationen (1,0  $\mu\text{M}$  und 0,5  $\mu\text{M}$ ) führte nur die Kombination mit 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol zu einer signifikanten Hemmung der Proliferation ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.8D, 4.8E):

- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 97,1 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 85,3 %

Dagegen hatten die Kombinationen von 1,0  $\mu\text{M}$  und 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin mit niedrigeren Astemizol-Konzentrationen keine Wirkung auf das Wachstum (Abb. 4.8D, 4.8E).

Überdies sollte untersucht werden, wie Mevalonsäure auf die Vermehrung der H82-Zellen wirkte. Daher wurden die Zellen mit 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin sowie 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol behandelt. Während Mevalonsäure alleine keine Wirkung auf das Wachstum der H82-Zellen hatte, verminderte die Kombination die Proliferation signifikant ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.8F):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol / 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure um 68,1 %

Damit lag die Hemmung dieser Kombination im Bereich des Effekts, den 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol in Kombination ohne Mevalonsäure bewirkten.

## 4.4 OH1-Zellen

### 4.4.1 Der Einfluss von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf OH1-Zellen

Um den Effekt von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf OH1-Zellen zu testen, wurden die Zellen mit Atorvastatin in den Konzentrationen 0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$ , mit Lovastatin in den Konzentrationen 0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$  sowie mit Astemizol in den Konzentrationen 0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$  behandelt.

Hierbei konnte beobachtet werden, dass keine der verwendeten Atorvastatin-Konzentrationen eine Wirkung auf die Proliferation hatte (Abb. 4.9A). Lovastatin bewirkte in den höchsten Konzentrationen (0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$ ) bei OH1-Zellen eine signifikante Verminderung des Wachstums ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.9B):

- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin um 20,8 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin um 21,0 %

Die Zugabe von 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure zu der Behandlung mit 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Proliferationshemmung (Abb. 4.9C).

Ab einer Konzentration von 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin zeigte sich kein Effekt mehr auf die OH1-Zellen (Abb. 4.9B). Astemizol zeigte in keiner untersuchten Konzentration eine signifikante Veränderung des Wachstums ( $p > 0,05$ ) (Abb. 4.9D).

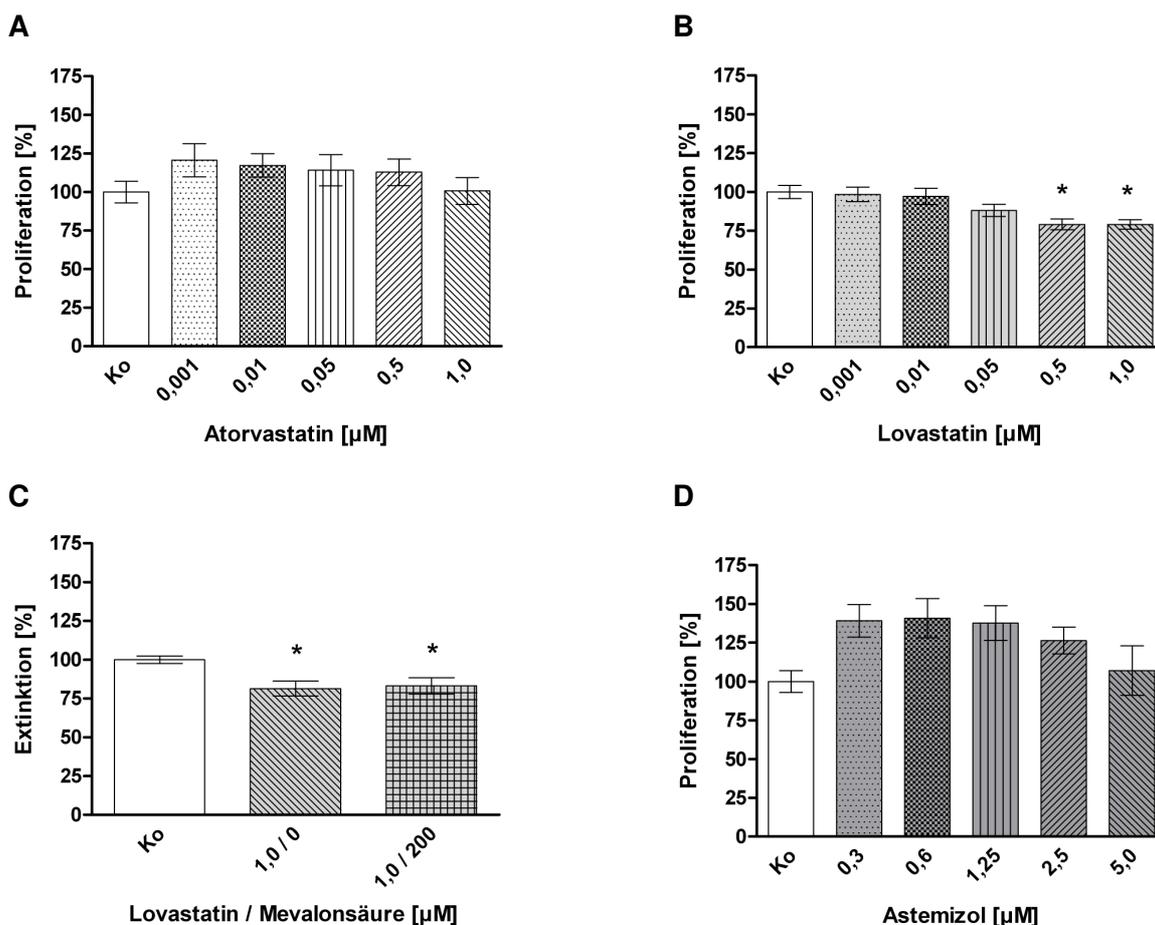
### 4.4.2 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf OH1-Zellen

OH1-Zellen wurden mit verschiedenen Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit verschiedenen Astemizol-Konzentrationen (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$ ) behandelt, um die Wirkung der Substanzen auf die Zellen zu testen.

Dabei zeigte sich, dass bei der geringsten Atorvastatin-Konzentration (0,001  $\mu\text{M}$ ) ein signifikanter Effekt auf das Zellwachstum nur bei der Kombination mit 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol nachgewiesen werden konnte ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.10A):

- 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 90,7 %

Alle anderen untersuchten Astemizol-Konzentrationen zeigten in Kombination mit 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin keine signifikante Veränderung (Abb. 4.10A).



**Abb. 4.9: Wirkung von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol auf OH1-Zellen.** Abgebildet ist die Wirkung von Atorvastatin (A), Lovastatin (B), Lovastatin und Mevalonsäure (C) sowie Astemizol (D) auf OH1-Zellen. Dargestellt ist die Proliferation in %. Atorvastatin und Astemizol zeigen keine signifikante Änderung der Proliferation im Vergleich zur Kontrolle. Die hohen Konzentrationen von Lovastatin hemmen die Zellproliferation. Gezeigt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 8$ , \*  $p < 0,05$ ).

Die Atorvastatin-Konzentrationen von 0,01  $\mu\text{M}$  und 0,05  $\mu\text{M}$  zeigten mit den höchsten Astemizol-Konzentrationen ( $> 1,25 \mu\text{M}$ ) eine signifikante Verminderung des Wachstums ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.10B, 4.10C):

- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 17,1 %
- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 85,7 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 30,5 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 94,2 %

Dagegen hatten die niedrigeren Astemizol-Konzentrationen ( $\leq 1,25 \mu\text{M}$ ) kombiniert mit 0,01  $\mu\text{M}$  und 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin nur noch einen geringen inhibierenden Effekt auf OH1-Zellen (Abb. 4.10B, 4.10C).

Die höchsten Atorvastatin-Konzentrationen (0,5  $\mu$ M und 1,0  $\mu$ M) bewirkten in Kombination mit allen Astemizol-Konzentrationen eine deutliche Proliferationshemmung ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.10D, 4.10E):

- 0,5  $\mu$ M Atorvastatin / 0,3  $\mu$ M Astemizol um 17,5 %
- 0,5  $\mu$ M Atorvastatin / 0,6  $\mu$ M Astemizol um 14,7 %
- 0,5  $\mu$ M Atorvastatin / 1,25  $\mu$ M Astemizol um 21,8 %
- 0,5  $\mu$ M Atorvastatin / 2,5  $\mu$ M Astemizol um 38,3 %
- 0,5  $\mu$ M Atorvastatin / 5,0  $\mu$ M Astemizol um 93,0 %
- 1,0  $\mu$ M Atorvastatin / 0,3  $\mu$ M Astemizol um 19,8 %
- 1,0  $\mu$ M Atorvastatin / 0,6  $\mu$ M Astemizol um 18,5 %
- 1,0  $\mu$ M Atorvastatin / 1,25  $\mu$ M Astemizol um 22,6 %
- 1,0  $\mu$ M Atorvastatin / 2,5  $\mu$ M Astemizol um 47,7 %
- 1,0  $\mu$ M Atorvastatin / 5,0  $\mu$ M Astemizol um 97,6 %

Um zu testen, ob Mevalonsäure einen Effekt auf die Proliferationshemmung der Substanzen hat, wurde 200  $\mu$ M Mevalonsäure allein sowie kombiniert mit 1,0  $\mu$ M Atorvastatin und 5,0  $\mu$ M Astemizol auf OH1-Zellen untersucht.

Während 200  $\mu$ M Mevalonsäure alleine keinen Effekt auf die OH1-Zellen hatte, wurde eine deutliche Inhibition der Proliferation bei der Kombination von 1,0  $\mu$ M Atorvastatin und 5,0  $\mu$ M Astemizol mit 200  $\mu$ M Mevalonsäure beobachtet ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.10F):

- 1,0  $\mu$ M Atorvastatin / 5,0  $\mu$ M Astemizol / 200  $\mu$ M Mevalonsäure um 98,9 %

Damit war keine signifikante Veränderung gegenüber der Kombination aus 1,0  $\mu$ M Atorvastatin und 5,0  $\mu$ M Astemizol zu beobachten.

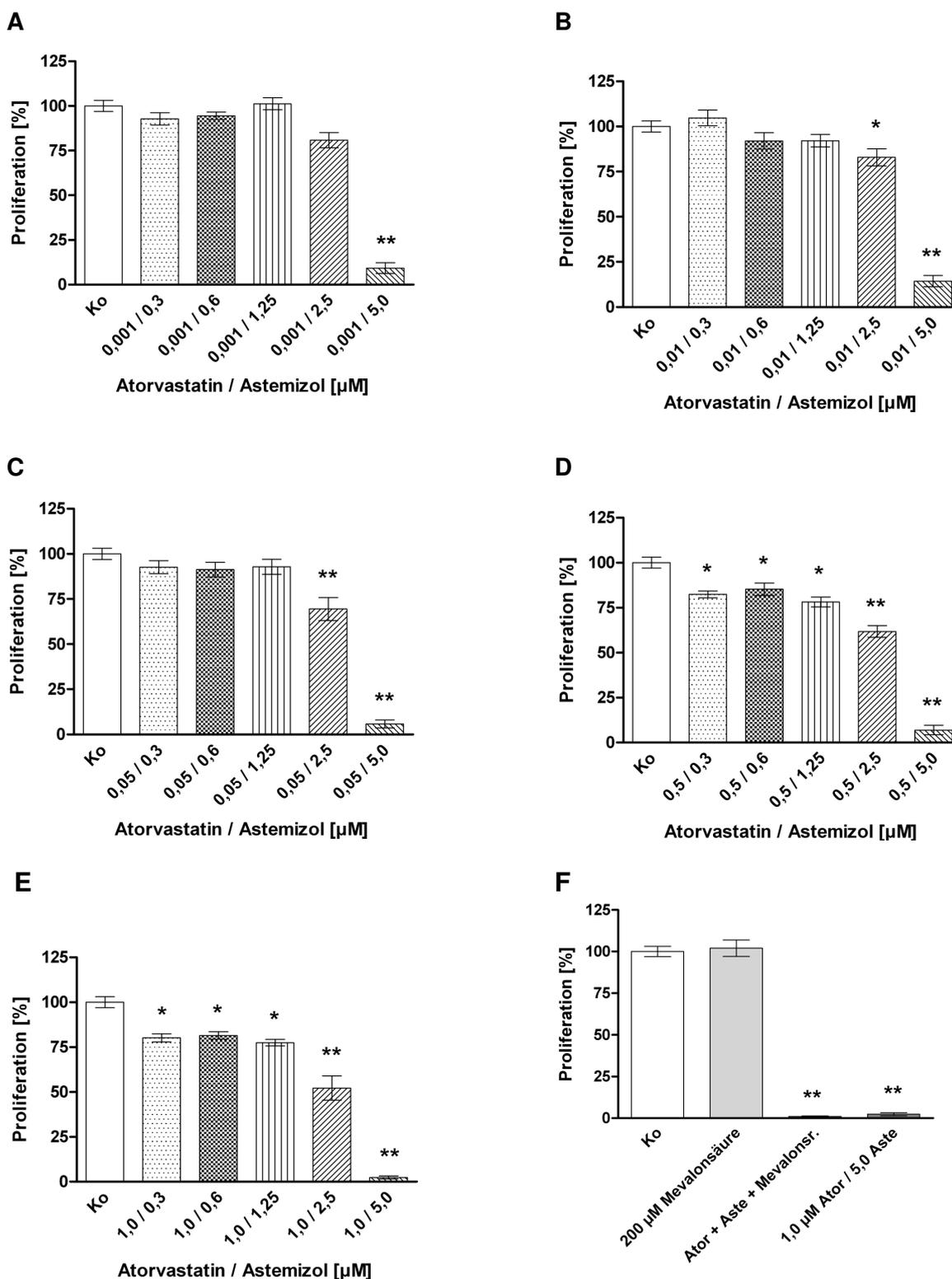
#### 4.4.3 Der Einfluss von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf OH1-Zellen

Um die Wirkung der Kombination aus Lovastatin und Astemizol zu untersuchen, wurden OH1-Zellen mit verschiedenen Lovastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu$ M, 0,01  $\mu$ M, 0,05  $\mu$ M, 0,5  $\mu$ M und 1,0  $\mu$ M) kombiniert mit verschiedenen Astemizol-Konzentrationen (0,3  $\mu$ M, 0,6  $\mu$ M, 1,25  $\mu$ M, 2,5  $\mu$ M und 5,0  $\mu$ M) inkubiert.

Dabei zeigten die niedrigsten Lovastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu$ M und 0,01  $\mu$ M) nur in Kombination mit 5,0  $\mu$ M ein signifikant geringeres Wachstum der OH1-Zellen ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.11A, 4.11B):

- 0,001  $\mu$ M Lovastatin / 5,0  $\mu$ M Astemizol um 88,7 %
- 0,01  $\mu$ M Lovastatin / 5,0  $\mu$ M Astemizol um 89,4 %

Die anderen Kombinationen hatten keine signifikante hemmende Wirkung (Abb. 4.11A, 4.11B).



**Abb. 4.10: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf OH1-Zellen.** Gezeigt ist die Behandlung von OH1-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit Atorvastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001  $\mu\text{M}$  (A), 0,01  $\mu\text{M}$  (B), 0,05  $\mu\text{M}$  (C), 0,5  $\mu\text{M}$  (D), 1,0  $\mu\text{M}$  (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf OH1-Zellen allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol (F). Dargestellt ist die Proliferation in %. Die Kombinationen mit hohen Konzentrationen von Astemizol führten zu einer Reduktion des Wachstums. Gezeigt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 10$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$ ).

Bei einer Konzentration von 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin hemmten die Kombinationen mit den hohen Astemizol-Konzentrationen ( $\geq 1,25 \mu\text{M}$ ) die Proliferation signifikant ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.11C):

- 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 1,25  $\mu\text{M}$  Astemizol um 16,0 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 32,5 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 95,9 %

Geringere Astemizol-Konzentrationen bewirkten in Kombination mit 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin keine signifikante Veränderung des Wachstums der OH1-Zellen (Abb. 4.11C).

Lovastatin in einer Konzentration von 0,5  $\mu\text{M}$  bewirkte in Kombination mit jeglicher Astemizol-Konzentration eine signifikante Verringerung der Proliferation ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.11D).

Das Wachstum der OH1-Zellen wurde wie folgt reduziert:

- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 0,3  $\mu\text{M}$  Astemizol um 15,4 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 0,6  $\mu\text{M}$  Astemizol um 16,2 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 1,25  $\mu\text{M}$  Astemizol um 15,4 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 28,7 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 94,0 %

Wurde Lovastatin in einer Konzentration von 1,0  $\mu\text{M}$  eingesetzt, wurde ein deutlicher proliferationshemmender Effekt nur beobachtet, wenn Lovastatin mit den höchsten Astemizol-Konzentrationen (2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$ ) kombiniert wurde (Abb. 4.11E):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 2,5  $\mu\text{M}$  Astemizol um 30,8 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 90,7 %

In Kombination mit anderen Astemizol-Konzentrationen zeigte 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin keine signifikante Modulation des Zellwachstums ( $p > 0,05$ ) (Abb. 4.11E).

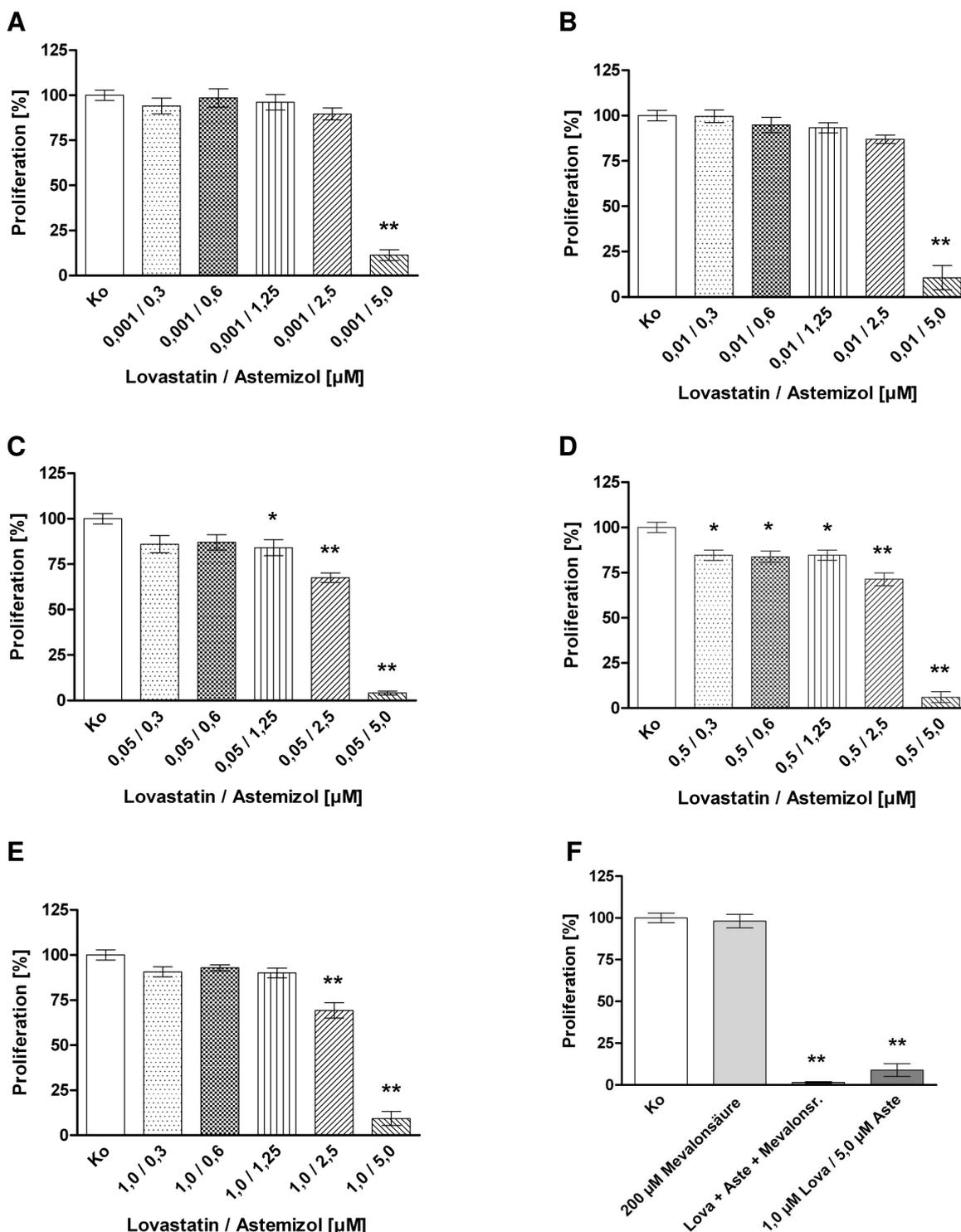
Außerdem wurde untersucht, ob Mevalonsäure einen Einfluss auf die Wirkung Lovastatins hatte. Hierfür wurden die Zellen mit 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure allein sowie in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol behandelt.

Es zeigte sich, dass die Kombination 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure mit 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol ein signifikant geringeres Wachstum bewirkte ( $p < 0,05$ ):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol / 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure um 98,5 %

Dieser Effekt lag im Bereich der Proliferationshemmung durch 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol ohne Mevalonsäure.

Alleine hatte Mevalonsäure keinen Effekt auf die OH1-Zellen (Abb. 4.11F).



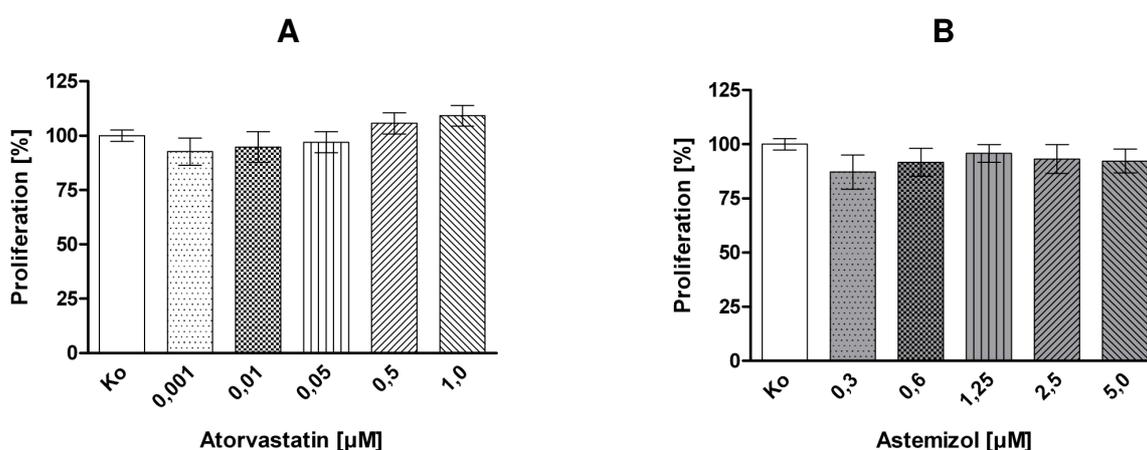
**Abb. 4.11: Wirkung von Lovastatin und Astemizol in Kombination auf OH1-Zellen.** Dargestellt ist die Behandlung von OH1-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit Lovastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001  $\mu\text{M}$  (A), 0,01  $\mu\text{M}$  (B), 0,05  $\mu\text{M}$  (C), 0,5  $\mu\text{M}$  (D), 1,0  $\mu\text{M}$  (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf OH1-Zellen allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Lovastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol (F). Abgebildet ist die Proliferation in %. 0,5  $\mu\text{M}$  Lovastatin zeigte in jeglicher Kombination eine signifikante Wachstumshemmung. Bei den andern Lovastatin-Konzentrationen zeigte sich eine signifikante Proliferationshemmung nur mit hohen Astemizol-Konzentrationen. Gezeigt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 8$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$ ).

## 4.5 OH3-Zellen

### 4.5.1 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol auf OH3-Zellen

Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol auf OH3-Zellen sollte geprüft werden. Dazu wurden die Zellen mit Atorvastatin in den Konzentrationen 0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$  sowie mit Astemizol in den Konzentrationen 0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$  behandelt.

Dabei konnte beobachtet werden, dass weder die Zugabe von Atorvastatin noch die von Astemizol zu einer signifikanten Änderung der Proliferation führte (Abb. 4.12A, 4.12B).



**Abb. 4.12: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol auf OH3-Zellen.** Dargestellt ist die Wirkung von Atorvastatin (**A**) und Astemizol (**B**) auf OH3-Zellen. Die Substanzen zeigten in keiner Konzentration einen signifikanten Effekt auf das Wachstum der OH3-Zellen. Abgebildet sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 8$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$ ).

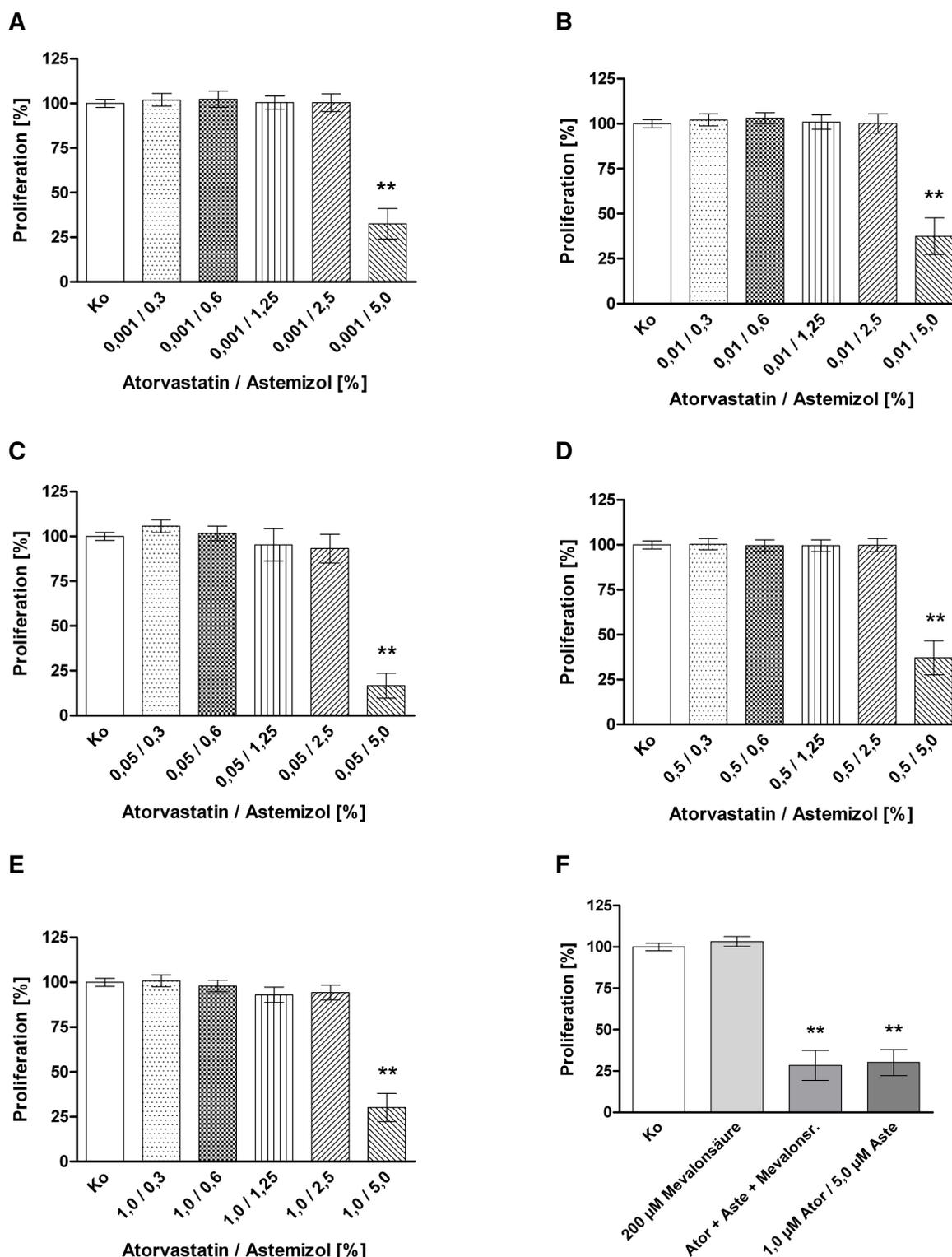
### 4.5.2 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf OH3-Zellen

Um zu testen, wie Atorvastatin und Astemizol zusammen auf OH3-Zellen wirkten, wurde Atorvastatin in den Konzentrationen 0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$  mit verschiedenen Astemizol-Konzentrationen (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$ ) kombiniert und auf die OH3-Zellen gegeben.

Dabei führte bei allen Atorvastatin-Konzentrationen nur die Kombination mit 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol zu einer signifikanten Hemmung der Proliferation ( $p < 0,05$ ):

- 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 67,4 %
- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 62,5 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 83,3 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 62,9 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 69,9 %

Dagegen führte keine der anderen Kombinationen zu einem Effekt auf das Wachstum der OH3-Zellen (Abb. 4.13A, 4.13B, 4.13C, 4.13D, 4.13E).



**Abb. 4.13: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf OH3-Zellen.** Demonstriert ist die Behandlung von OH3-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3 μM, 0,6 μM, 1,25 μM, 2,5 μM, 5,0 μM) in Kombination mit Atorvastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001 μM (A), 0,01 μM (B), 0,05 μM (C), 0,5 μM (D), 1,0 μM (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf OH3-Zellen allein und in Kombination mit 1,0 μM Lovastatin und 5,0 μM Astemizol (F). Die höchste Astemizol-Konzentration zeigte eine Proliferationshemmung. Gezeigt sind die Mittelwerte ± SEM (Ko = Kontrolle, n ≥ 11, \*\* p < 0,001, \* p < 0,05).

Zudem sollte der Einfluss von Mevalonsäure auf die Proliferation der OH3-Zellen geprüft werden. Dafür wurden die Zellen mit 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure allein und in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin sowie 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol behandelt. Während Mevalonsäure alleine keine Wirkung auf das Wachstum der OH3-Zellen hatte, verminderte die Kombination die Proliferation signifikant ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.13F):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol / 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure um 71,6 %.

Dieses Ergebnis war nicht signifikant verändert gegenüber der Kombination 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol ohne Mevalonsäure.

## 4.6 SW2-Zellen

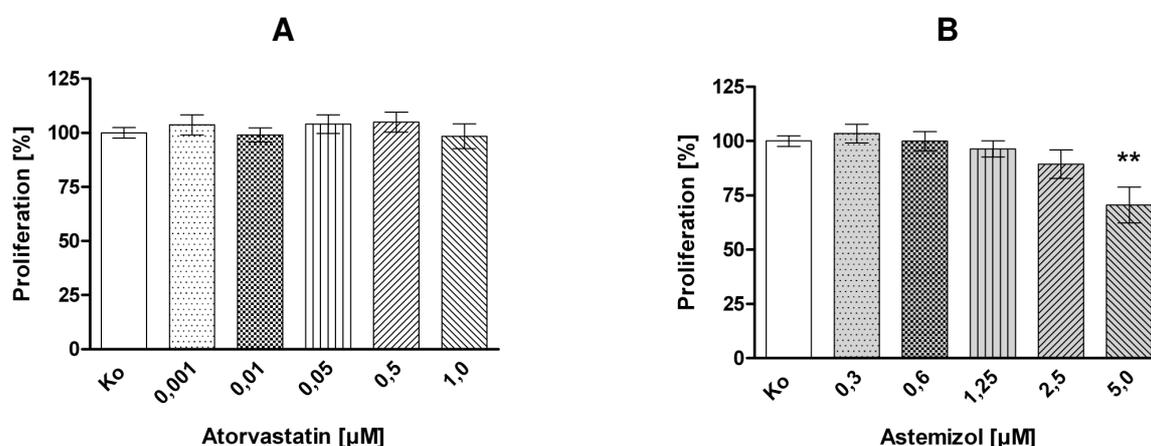
### 4.6.1 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol auf SW2-Zellen

Um den Effekt von Atorvastatin und Astemizol auf SW2-Zellen zu testen, wurden die Zellen mit verschiedenen Konzentrationen der Substanzen behandelt.

Die SW2-Zellen wurden mit verschiedenen Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$ ) inkubiert. Es zeigte sich, dass die ermittelten Extinktionen bei allen Atorvastatin-Konzentrationen etwa im Bereich der Kontrolle lagen (Abb. 4.14A).

Die Behandlung mit Astemizol erfolgte mit den Konzentrationen 0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$  und 5,0  $\mu\text{M}$ . Es wurde eine signifikante Reduktion des Wachstums nur bei der höchsten Astemizol-Konzentration (5,0  $\mu\text{M}$ ) nachgewiesen ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.14B):

- 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 29,4 %



**Abb. 4.14: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol auf SW2-Zellen.** Gezeigt ist die Wirkung von Atorvastatin (A) und Astemizol (B) auf SW2-Zellen. Abgebildet ist die Proliferation in %. Atorvastatin zeigte keine signifikante Wirkung auf die Proliferation der Zellen. Astemizol bewirkte in der höchsten Konzentration eine signifikante Reduktion des Wachstums. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 12$ , \*\*  $p < 0,001$ ).

### 4.6.2 Der Einfluss von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf SW2-Zellen

Die gemeinsame Wirkung beider Substanzen auf SW2-Zellen sollte untersucht werden. Hierfür wurden die Zellen mit verschiedenen Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ , 1,0  $\mu\text{M}$ ) in Kombination mit unterschiedlichen Astemizol-Konzentrationen (0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$ , 1,25  $\mu\text{M}$ , 2,5  $\mu\text{M}$ , 5,0  $\mu\text{M}$ ) inkubiert.

Dabei zeigten nur die Kombinationen mit 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol eine signifikante Proliferationshemmung ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.15A, 4.15B, 4.15C, 4.15D, 4.15E):

- 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 38,7 %
- 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 56,9 %
- 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 72,6 %
- 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 77,7 %
- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol um 78,3 %

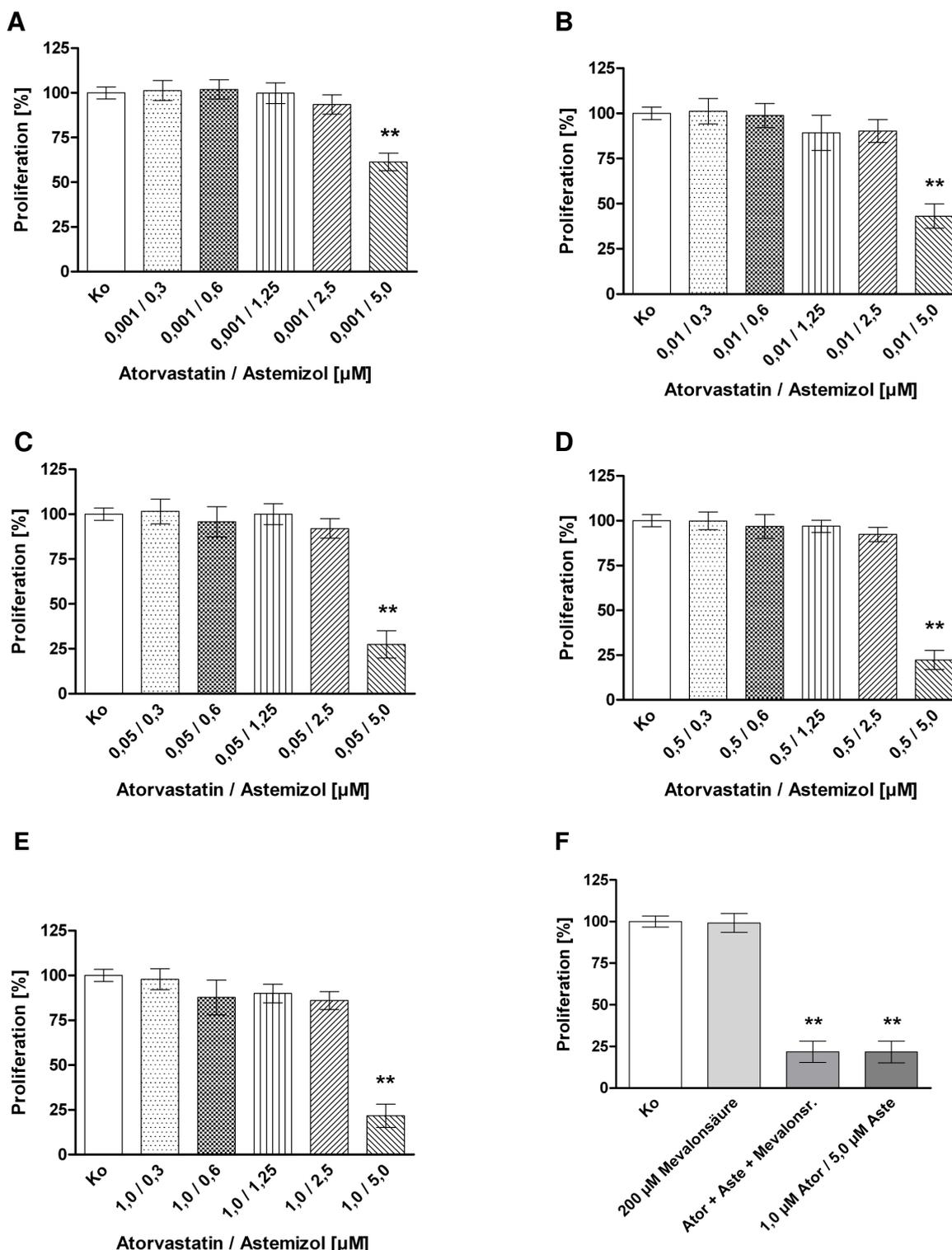
Die Werte aller anderen Kombinationen lagen im Größenbereich der Kontrolle (Abb. 4.15A, 4.15B, 4.15C, 4.15D, 4.15E).

Auch die Wirkung von Mevalonsäure auf das Wachstum der SW2-Zellen wurde getestet. Für diesen Zweck wurden 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure allein sowie in Kombination mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol auf die Zellen gegeben (Abb. 4.15F).

Hier wies die Mevalonsäure allein eine ähnliche Extinktion wie die Kontrolle auf. Gleichzeitig wurde für die Kombination eine signifikante Proliferationshemmung nachgewiesen ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4.15F):

- 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol / 200  $\mu\text{M}$  Mevalonsäure um 78,2 %

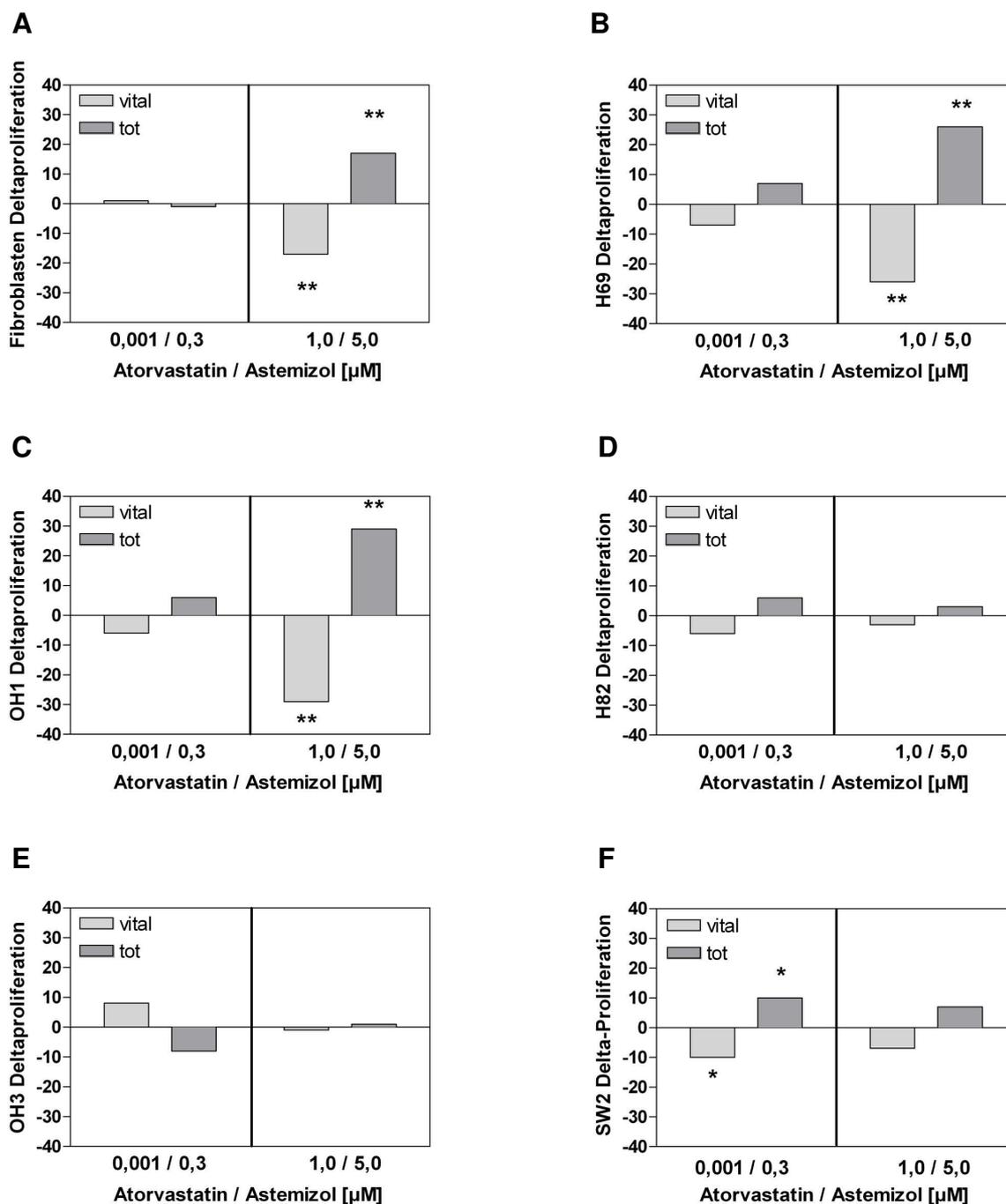
Diese Proliferationshemmung entsprach der durch 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin in Kombination mit 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol ohne Mevalonsäure verursachten.



**Abb. 4.15: Wirkung von Atorvastatin und Astemizol in Kombination auf SW2-Zellen.** Abgebildet ist die Behandlung von SW2-Zellen mit verschiedenen Konzentrationen von Astemizol (0,3 µM, 0,6 µM, 1,25 µM, 2,5 µM, 5,0 µM) in Kombination mit Atorvastatin in folgenden Konzentrationen: 0,001 µM (A), 0,01 µM (B), 0,05 µM (C), 0,5 µM (D), 1,0 µM (E), sowie die Wirkung von Mevalonsäure auf SW2-Zellen allein und in Kombination mit 1,0 µM Lovastatin und 5,0 µM Astemizol (F). Gezeigt ist die Proliferation in %. Die Kombinationen mit der höchsten Astemizol-Konzentration zeigten eine signifikante Wachstumshemmung. Dargestellt sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM (Ko = Kontrolle,  $n \geq 12$ , \*\*  $p < 0,001$ , \*  $p < 0,05$ ).

#### 4.7 Elektronenmikroskopische Analyse

Alle mit Atorvastatin und Astemizol behandelten Zelllinien wurden mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen dargestellt, um die morphologischen Veränderungen bei der höchsten (1,0  $\mu$ M Atorvastatin / 5,0  $\mu$ M Astemizol) und der niedrigsten Kombination (0,001  $\mu$ M Atorvastatin / 0,3  $\mu$ M Astemizol) zu bewerten (Abb. 4.16).



**Abb. 4.16:  $\Delta$ -Proliferation der kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien nach Auswertung der elektronenmikroskopischen Bilder.** Gezeigt ist die  $\Delta$ -Proliferation der humanen Fibroblasten (A), H69- (B), OH1- (C), H82- (D), OH3- (E) und SW2-Zellen (F). Die Kontrolle ist gleich Null gesetzt. Bei humanen Fibroblasten, H69- und OH1-Zellen treten bei der höchsten Wirkstoffkonzentration signifikant mehr tote Zellen auf. SW2-Zellen weisen bei der niedrigsten Wirkstoffkonzentration signifikant mehr apoptotische Zellen auf (n  $\geq$  69, \*\* p < 0,001, \* p < 0,05).

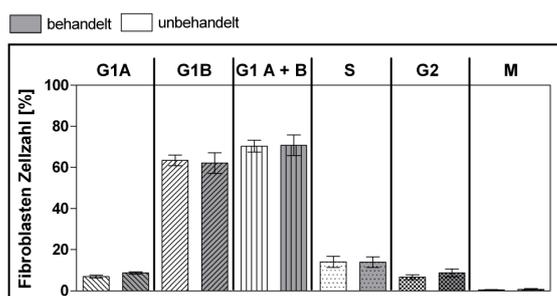
Dabei ergab sich bei humanen Fibroblasten, H69- und OH1-Zellen eine signifikante Erhöhung der toten Zellen bei gleichzeitiger Verminderung der vitalen Zellen (Abb. 4.16A, 4.16B, 4.16C). Bei H82-Zellen sowie bei OH3-Zellen kam es zu keiner signifikanten Änderung der Anteile der toten bzw. der vitalen Zellen (Abb. 4.16D, 4.16E). Bei SW2-Zellen zeigte sich eine signifikante Steigerung der toten Zellen bei der Kombination der niedrigsten Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 0,3  $\mu\text{M}$  Astemizol) (Abb. 4.16F).

#### 4.8 Zellzyklusanalyse

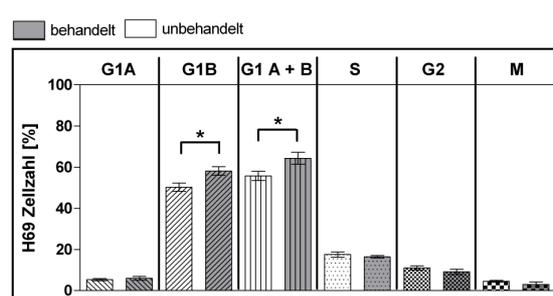
Um die Wirkung von Atorvastatin und Astemizol auf den Zellzyklus der kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen und der humanen Fibroblasten zu untersuchen, wurden die kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien H69, H82 und OH3 sowie humane Fibroblasten mit den höchsten Konzentrationen von Atorvastatin und Astemizol (1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol) behandelt und die unterschiedliche Fluoreszenz der Zellkerne in den verschiedenen Phasen des Zellzyklus' mit dem *Laser Scanning Cytometer* gemessen. Es wurden Messungen nach 24 und nach 72 Stunden durchgeführt. Dabei waren nach 72 Stunden zu viele Zellen apoptotisch als dass die Ergebnisse auswertbar gewesen wären (Daten nicht gezeigt).

Bei der Auswertung der Messwerte nach 24 Stunden zeigte sich, dass es bei H69- und bei H82-Zellen zu einem Anstieg der behandelten Zellen in der G<sub>1</sub>-Phase kam (Abb. 4.17B, 4.17C), der allerdings nur bei H69-Zellen signifikant war (Abb. 4.17B). In den anderen Zellzyklusphasen zeigte sich keine wesentliche Änderung der Zellzahl gegenüber der Kontrolle. OH3-Zellen reagierten mit einer signifikanten Zellzahlabnahme in der G<sub>1</sub>-Phase auf die Behandlung mit 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol. Auch hier lag die Anzahl der Zellen in den anderen Zellzyklusphasen im Bereich der Kontrolle (Abb. 4.17D). Auf den Zellzyklus der humanen Fibroblasten hatte die Kombination 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin / 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol keinen Einfluss (Abb. 4.17A).

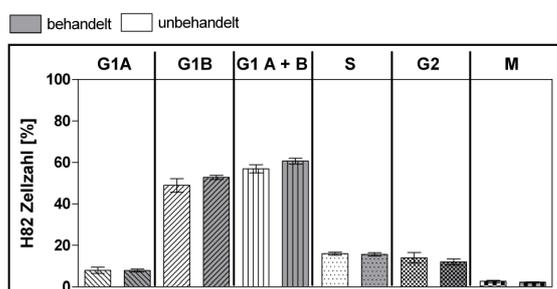
A



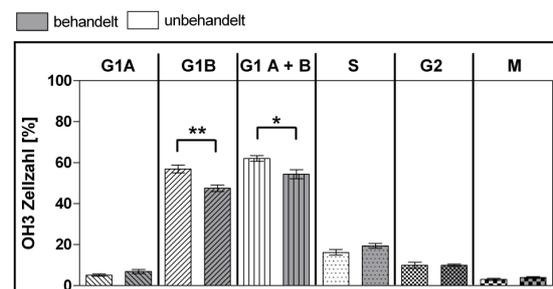
B



C



D



**Abb. 4.17: Wirkung von Atorvastatin / Astemizol auf den Zellzyklus von kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen.** Gezeigt ist die Wirkung von Atorvastatin / Astemizol (1,0  $\mu$ M / 5,0  $\mu$ M) in Kombination auf den Zellzyklus humaner Fibroblasten (A) sowie der kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien H69 (B), H82 (C) und OH3 (D). H69-Zellen zeigten einen erhöhten Anteil der behandelten Zellen, die sich in der G<sub>1</sub>-Phase befanden. OH3-Zellen zeigten einen verminderten Anteil an behandelten Zellen in der G<sub>1</sub>-Phase. Dargestellt ist die Zellzahl in %. Abgebildet sind die Mittelwerte  $\pm$  SEM. (n = 6, \*\* p < 0,001, \* p < 0,05).

## 5 Diskussion

Etwa ein Fünftel aller Bronchialkarzinome sind kleinzellige Bronchialkarzinome, die sich durch ein sehr schnelles Wachstum sowie durch die Tendenz zur frühzeitigen Metastasierung auszeichnen. Daraus resultiert eine sehr kurze mediane Überlebenszeit von unbehandelt 2-4 bzw. 9-12 Monaten behandelt (Bülzebruck, 1998, Wolf, 1998, Simon & Wagner, 2003). Aufgrund dieser beiden Eigenschaften wird der Tumor meist einer systemischen Therapie unterzogen. Die momentan empfohlene Chemotherapie besteht aus 4-6 Zyklen Etoposid und Cisplatin (Christodoulou & Skarlos, 2005). Zunächst reagiert das kleinzellige Bronchialkarzinom sensibel auf die Therapie, tritt jedoch ein Rezidiv auf, ist eine Chemotherapie zumeist nicht mehr wirksam. Aufgrund dieser Resistenzentwicklung und der schwerwiegenden Nebenwirkungen einer konventionellen Chemotherapie ist es dringend notwendig, neue Therapien für das kleinzellige Bronchialkarzinom zu entwickeln.

Da sich das kleinzellige Bronchialkarzinom so schlecht mit den klassischen Chemotherapeutika und deren Kombination untereinander behandeln lässt, ist auch die Suche nach eher ungewöhnlichen Therapieansätzen gerechtfertigt. Eine solche mögliche Therapie könnte die Kombination von Statinen mit Antihistaminika darstellen, da gezeigt werden konnte, dass Simvastatin *in vivo* und *in vitro* die Zellproliferation der humanen kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinie H69 inhibiert (Khanzada *et al.*, 2006). Zudem werden maligne Tumoren wie das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (Maksimova *et al.*, 2008), Harnblasenkarzinom (Kamat & Nelkin, 2005) und Kolonkarzinom (Xiao *et al.*, 2008) *in vitro* durch Statine in ihrer Proliferation gehemmt. Malignome wie Mammakarzinom (Ouadid-Ahidouch *et al.*, 2004, Borowiec *et al.*, 2007) und Melanom (Jangi *et al.*, 2006) reagieren hingegen sensibel auf Antihistaminika.

Diese Vorbefunde ausnutzend wurde in dieser Arbeit die Wirkung der Statine Atorvastatin und Lovastatin sowie des Antihistaminikums Astemizol und die Kombination beider Wirkstoffgruppen auf die Proliferation von kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien (H69, H82, OH1, OH3, SW2) charakterisiert.

HMG-CoA-Reduktase-Hemmer (Statine) inhibieren die HMG-CoA-Reduktase, das limitierende Enzym im Mevalonsäurestoffwechsel (Xiao *et al.*, 2008) und werden hauptsächlich zur Behandlung von Hyperlipidämie und bei koronarer Herzerkrankung eingesetzt (Reddy *et al.*, 2006). Zudem inhibieren Statine *in vitro* die Proliferation von Mammakarzinomzellen (Rao *et al.*, 1999), Kolonkarzinomzellen (Ukomadu & Dutta, 2003) und Melanomzellen (Collisson *et al.*, 2003). *In vivo* Untersuchungen am Kolonkarzinom (Narisawa *et al.*, 1996) und am Mammakarzinom (Alonso *et al.*, 1998, Esserman *et al.*, 2004)

demonstrierten, dass Statine die Tumorbildung reduzieren und die Metastasierung inhibieren (Demierre *et al.*, 2005).

In der vorliegenden Arbeit konnte erstmals die Wirkung der Statine Atorvastatin und Lovastatin auf kleinzellige Bronchialkarzinomzellen dargestellt werden. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse über die Behandlung kleinzelliger Bronchialkarzinomzellen mit Statinen zeigt Tab 5.1. Diese neuen Ergebnisse können mit der aktuellen Literatur nicht direkt verglichen werden, da es keine Hinweise für die Wirkung von Atorvastatin und Lovastatin auf die Proliferation von kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen gibt.

	Atorvastatin	Lovastatin
<b>Humane Fibroblasten</b>	k.E.	↓ 0,5 µM** ↓ 1,0 µM**
<b>H69</b>	↑ 0,001 µM** ↑ 0,01 µM*	k.U.
<b>H82</b>	k.E.	k.E.
<b>OH1</b>	k.E.	↓ 0,5 µM* ↓ 1,0 µM*
<b>OH3</b>	k.E.	k.U.
<b>SW2</b>	k.E.	k.U.

**Tab. 5.1: Zusammenfassende Darstellung über die Behandlung kleinzelliger Bronchialkarzinomzellen mit Statinen.** Gezeigt ist eine Zusammenfassung der Wirkung von Atorvastatin und Lovastatin auf humane Fibroblasten sowie die Zelllinien H69, H82, OH1, OH3 und SW2. Aufgeführt sind die Konzentrationen, die einen signifikanten Effekt bewirkten (k.E. = kein Effekt, k.U. = keine Untersuchung, ↑ = proliferationsfördernd, ↓ = proliferationsinhibierend, \* p < 0,05, \*\* p < 0,001).

Die eigenen Untersuchungen zeigten, dass Atorvastatin und Lovastatin (0,001 – 1,0 µM) keinen Effekt auf die Proliferation der kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien H82 (Abb. 4.6A, 4.6B), OH3 (Abb. 4.12A) und SW2 (Abb. 4.14A) besitzen (Tab. 5.1). Allerdings zeigten Rao *et al.* (1999) eine proliferationsinhibierende Wirkung von Lovastatin (0 – 160 µM) auf die Mammakarzinomzelllinie MDA-MB-157. Einen ähnlichen Befund demonstrierten Collisson *et al.* (2003) an der humanen Melanomzelllinie A375M durch Atorvastatin (3 µM). Während Xiao *et al.* (2008) in einer Studie beobachteten, dass Atorvastatin keinen inhibitorischen Effekt auf die Proliferation der humanen Kolonkarzinomzellen HCT116 (0,125 – 4 µM) und HT29 (2,5 – 20 µM) hat. Unterschiedlich eingesetzte Atorvastatin- und Lovastatin-Konzentrationen können als Ursache für die Divergenz in den Befunden ausgeschlossen werden, da die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Konzentrationen im gleichen Bereich liegen wie die in der Literatur. Möglicherweise ist eine abweichende Sensibilität der Zelllinien für die Statine die Erklärung für die Resultate, zumal die in der

vorliegenden Arbeit verwendeten kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien unterschiedliche Eigenschaften in Bezug auf Wachstum und Onkogenexpression aufweisen (Tab. 3.1).

Überraschenderweise konnte in der vorliegenden Arbeit eine proliferationsfördernde Wirkung von geringen Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$  und 0,01  $\mu\text{M}$ ) demonstriert werden, die auf H69-Zellen beschränkt blieb (Abb. 4.4). Eine durch Statine induzierte Steigerung der Proliferation von Tumorzellen ist bislang noch nicht beschrieben. Allerdings zeigten Assmus *et al.* (2003) eine gesteigerte Proliferation und eine verminderte Seneszenz bei der Inkubation mit 0,1  $\mu\text{M}$  Atorvastatin in endothelialen Vorläuferzellen. Dieser Effekt ist damit erklärbar, dass Atorvastatin eine veränderte Genexpression über den PI3K / Akt-Signalweg induziert, der die Synthese von Zellzyklus aktivierenden Proteinen beeinflusst und eine verminderte Expression des Zellzyklus inhibierenden Proteins p27 verursacht (Assmus *et al.*, 2003). Weis *et al.* (2002) beschrieben ebenfalls eine dosisabhängige proliferationsfördernde Wirkung von Atorvastatin auf Endothelzellen. Die Arbeitsgruppe beobachtete, dass Atorvastatin-Konzentrationen von 0,005  $\mu\text{M}$  bis 0,01  $\mu\text{M}$  die endotheliale Proliferation erhöhen, während höhere Konzentrationen (0,05  $\mu\text{M}$  bis 1,0  $\mu\text{M}$ ) inhibierend wirken. Als Grund für die Proliferationssteigerung vermuten die Autoren eine Aktivierung der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) (Weis *et al.*, 2002). Diese und die eigenen Ergebnisse lassen vermuten, dass eine Beeinflussung des PI3K / Akt / eNOS-Signalweges für die Proliferationssteigerung von H69-Zellen mit 0,001  $\mu\text{M}$  und 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin verantwortlich ist.

Außerdem zeigten die eigenen Untersuchungen, dass Lovastatin bei Konzentrationen von 0,5  $\mu\text{M}$  und 1,0  $\mu\text{M}$  proliferationsinhibierend auf humane Fibroblasten (Abb. 4.1B) sowie OH1-Zellen (Abb. 4.9B) wirkt (Tab. 5.1). Der Einfluss von Lovastatin auf die Proliferation von kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen ist bisher ebenfalls noch nicht getestet worden. Allerdings beobachteten Rao *et al.* (1999) eine proliferationsinhibierende Wirkung von Lovastatin auf die Mammakarzinomzelllinie MDA-MB-157. Zudem stellten Maksimova *et al.* (2008) bei der Inkubation von Lovastatin auf nicht-kleinzellige Bronchialkarzinomzellen einen signifikanten Anstieg der Apoptose und der Nekrose *in vitro* fest. Die Autoren vermuteten, dass die Triggerung eines Zellzyklus Checkpoints durch Induktion von p21, p27 oder beiden für die proapoptotische Wirkung verantwortlich ist, da eine Inhibition der Cyclin D1 Expression in der G<sub>1</sub>-Phase verursacht wird (Maksimova *et al.*, 2008). Der antiproliferative Effekt von Statinen auf Fibroblasten ist bereits untersucht worden, dabei sind die eigenen Ergebnisse (Abb. 4.1) im Einklang mit der Literatur. Moiseeva *et al.* (2007) zeigten, dass Pravastatin die Proliferation von kardialen Fibroblasten und deren phänotypische Transformation in Myofibroblasten unterdrückt. Yokota *et al.* (2006) demonstrierten, dass Simvastatin die Zellproliferation in Synoviozyten (fibroblastenähnliche Zellen) inhibiert. Außerdem beobachteten Ikeuchi *et al.* (2004), dass Fluvastatin die Proliferation der renalen

Fibroblasten NRK-49F reduziert. Die Autoren vermuteten, dass Fluvastatin den Mevalonsäurestoffwechsel hemmt und damit zu einer Rho Inaktivierung führt (Abb. 2.1), welche die Herunterregulierung von Cyclin A und die Heraufregulierung von p27 bewirkt und somit in einer Inhibition des Zellwachstums resultiert (Ikeuchi *et al.*, 2004). Diese Ursache kann jedoch für die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ausgeschlossen werden, da Mevalonsäure die wachstumshemmende Wirkung der Statine nicht beeinflusste (Abb. 4.9C).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien H69, H82, OH1, OH3 und SW2 eine unterschiedliche Sensibilität für die proliferationshemmende Wirkung von Atorvastatin und Lovastatin besitzen. Allerdings bedarf es weiterer Untersuchungen, um die molekularen und physiologischen Mechanismen, welche die beobachtete Wachstumsinhibition induzieren, aufzuklären.

Das Antihistaminikum Astemizol ist als Blocker von spannungsabhängigen K<sup>+</sup>-Kanälen bekannt, insbesondere des hEAG-K<sup>+</sup>-Kanals (Pardo *et al.*, 1999, García-Ferreiro *et al.*, 2004, Ouadid-Ahidouch *et al.*, 2004, Borowiec *et al.*, 2007), der durch die Hyperpolarisation des Membranpotentials die Progression des Zellzyklus in die G<sub>1</sub>-Phase bewirkt (Ouadid-Ahidouch *et al.*, 2001, 2004). In der vorliegenden Arbeit konnte erstmals der Einfluss von Astemizol auf kleinzellige Bronchialkarzinomzellen dargestellt werden (Tab. 5.2).

<b>Humane Fibroblasten</b>	k.E.
<b>H69</b>	k.E.
<b>H82</b>	↓ 5,0 μM*
<b>OH1</b>	k.E.
<b>OH3</b>	k.E.
<b>SW2</b>	↓ 5,0 μM*

**Tab. 5.2: Zusammenfassende Darstellung über die Behandlung kleinzelliger Bronchialkarzinomzellen mit Astemizol.** Dargestellt ist eine Zusammenfassung der Wirkung von Astemizol auf humane Fibroblasten sowie die Zelllinien H69, H82, OH1, OH3 und SW2. Aufgeführt sind die Konzentrationen, die einen signifikanten Effekt bewirkten (k.E. = kein Effekt, ↓ = proliferationsinhibierend, \* p < 0,05)

Die eigenen Untersuchungen zeigten, dass Astemizol keinen Effekt auf humane Fibroblasten (Abb. 4.1C) und die kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien H69 (Abb. 4.4B), OH1 (Abb. 4.9D) und OH3 (Abb. 4.12B) hat (Tab. 5.2). Der Einfluss von Astemizol auf die Proliferation von kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen wurde bislang noch nicht getestet. Allerdings zeigten Kurokawa *et al.* (1995) in *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen, dass Astemizol keinen Einfluss auf das Zellwachstum des humanen HMV-1 Melanoms und des HT1080 Fibrosarkoms hat.

Weiterhin konnte eine Proliferationsinhibition durch 5,0  $\mu\text{M}$  Astemizol bei H82- (Abb. 4.6C) und SW2-Zellen (Abb. 4.14B) induziert werden (Tab. 5.2). Eine proliferationsinhibierende Wirkung von Astemizol ist bereits für die humane Mammakarzinomzelllinie MCF-7 beschrieben worden (Oquadid-Ahidouch *et al.*, 2004, Borowiec *et al.*, 2007). Die Autoren vermuteten, dass die Hemmung der Proliferation durch die Blockade der hEAG-Kanäle hervorgerufen wird (Oquadid-Ahidouch *et al.*, 2004, Borowiec *et al.*, 2007), da durch das Blockieren des hEAG-Kanals, eines spannungsabhängigen  $\text{K}^+$ -Kanals, eine Depolarisation des Membranpotentials und dadurch ein Arrest in der frühen  $\text{G}_1$ -Phase ausgelöst wird (Wonderlin & Strobl, 1996, Oquadid-Ahidouch *et al.*, 2001). Pancrazio *et al.* (1993) zeigten, dass eine Proliferationshemmung der kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen durch die Blockade von spannungsabhängigen  $\text{K}^+$ -Kanälen durch 4-Aminopyridin induziert werden kann. Auch wenn in der Literatur die Wachstumsinhibition durch Astemizol auf die Blockade des hEAG-Kanals zurück geführt wird (Oquadid-Ahidouch *et al.*, 2004, Borowiec *et al.*, 2007), so lässt die Tatsache, dass die in der vorliegenden Arbeit eingesetzte maximale Konzentration (5.0  $\mu\text{M}$ ) den  $\text{IC}_{50}$ -Wert um den Faktor 1000 übersteigt (Dubin *et al.*, 2008), an dieser Erklärung zweifeln. Zudem zeigen neuere Untersuchungen mit dem spezifischen hEAG-Blocker E-4031, dass eine gezielte Blockade dieses hEAG- $\text{K}^+$ -Kanals keinen Effekt auf die Proliferation von kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen hat (eigene unveröffentlichte Ergebnisse). Für die genaue Ermittlung der zugrundeliegenden Mechanismen der wachstumsinhibitorischen Wirkung von Astemizol sind daher weitere Untersuchungen erforderlich.

In der vorliegenden Arbeit konnte erstmals der kombinatorische Effekt von Atorvastatin und Astemizol auf kleinzellige Bronchialkarzinomzellen demonstriert werden (Tab. 5.3). Es konnte gezeigt werden, dass die höchsten Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen (1,0  $\mu\text{M}$  / 5,0  $\mu\text{M}$ ) eine Reduktion der Proliferation in allen untersuchten kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien bewirken (Tab. 5.3). Ein ähnliches Ergebnis konnte bei geringen Atorvastatin-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$ , 0,01  $\mu\text{M}$ , 0,05  $\mu\text{M}$ , 0,5  $\mu\text{M}$ ) kombiniert mit der höchsten Astemizol-Konzentration (5,0  $\mu\text{M}$ ) erreicht werden (Tab. 5.3). Zudem zeigten die eigenen Versuche, dass 1,0  $\mu\text{M}$  Atorvastatin kombiniert mit verschiedenen Astemizol-Konzentrationen (0,3 – 5,0  $\mu\text{M}$ ) eine proliferationsinhibierende Wirkung ausschließlich auf H69-, H82- und OH1-Zellen aufweist (Tab. 5.3).

Somit variiert die Sensibilität der kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen auf die eingesetzten Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen. Offenbar reagieren die kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien H69 (Abb. 4.5), H82 (Abb. 4.7) und OH1 (Abb. 4.10) am empfindlichsten auf die Wirkstoffkombination Atorvastatin / Astemizol (Tab. 5.3). Bei diesen Zelllinien handelt es sich um Suspensionszellen. Sie wachsen als schwebende

Zellaggregate (Gazdar *et al.*, 1980), während die Ziellinien OH3 und SW2 teiladhärent wachsen (eigene Beobachtung) und humane Fibroblasten adhärent (Broll *et al.*, 2002). Vielleicht ist die variierende Sensibilität der kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen für die verschiedenen Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen direkt oder indirekt auf die Suspensionszeleigenschaften zurückzuführen.

Humane Fibroblasten	H69	H82	OH1	OH3	SW2
↓ 0,001 µM / 5,0 µM**	↓ 0,001 µM / 5,0 µM**	↓ 0,001 µM / 2,5 µM*	↓ 0,001 µM / 5,0 µM**	↓ 0,001 µM / 5,0 µM**	↓ 0,001 µM / 5,0 µM**
↓ 0,01 µM / 5,0 µM**	↓ 0,01 µM / 5,0 µM**	↓ 0,001 µM / 5,0 µM**	↓ 0,01 µM / 2,5 µM*	↓ 0,01 µM / 5,0 µM**	↓ 0,01 µM / 5,0 µM**
↓ 0,05 µM / 5,0 µM**	↓ 0,05 µM / 2,5 µM**	↓ 0,01 µM / 2,5 µM*	↓ 0,01 µM / 5,0 µM**	↓ 0,05 µM / 5,0 µM**	↓ 0,05 µM / 5,0 µM**
↓ 0,5 µM / 5,0 µM**	↓ 0,05 µM / 5,0 µM**	↓ 0,01 µM / 5,0 µM**	↓ 0,05 µM / 2,5 µM**	↓ 0,5 µM / 5,0 µM**	↓ 0,5 µM / 5,0 µM**
↓ 1,0 µM / 0,3 µM*	↓ 0,5 µM / 1,25 µM*	↓ 0,05 µM / 2,5 µM**	↓ 0,05 µM / 5,0 µM**	↓ 1,0 µM / 5,0 µM**	↓ 1,0 µM / 5,0 µM**
↓ 1,0 µM / 5,0 µM**	↓ 0,5 µM / 2,5 µM**	↓ 0,05 µM / 5,0 µM**	↓ 0,5 µM / 0,3 µM*		
	↓ 0,5 µM / 5,0 µM**	↓ 0,5 µM / 0,3 µM*	↓ 0,5 µM / 0,6 µM*		
	↓ 1,0 µM / 1,25 µM**	↓ 0,5 µM / 0,6 µM*	↓ 0,5 µM / 1,25 µM*		
	↓ 1,0 µM / 2,5 µM**	↓ 0,5 µM / 1,25 µM**	↓ 0,5 µM / 2,5 µM**		
	↓ 1,0 µM / 5,0 µM**	↓ 0,5 µM / 2,5 µM**	↓ 0,5 µM / 5,0 µM**		
		↓ 0,5 µM / 5,0 µM**	↓ 1,0 µM / 0,3 µM*		
		↓ 1,0 µM / 0,3 µM**	↓ 1,0 µM / 0,6 µM*		
		↓ 1,0 µM / 0,6 µM**	↓ 1,0 µM / 1,25 µM*		
		↓ 1,0 µM / 1,25 µM**	↓ 1,0 µM / 2,5 µM**		
		↓ 1,0 µM / 2,5 µM**	↓ 1,0 µM / 5,0 µM**		
		↓ 1,0 µM / 5,0 µM**			

**Tab. 5.3: Zusammenfassende Darstellung über die Behandlung kleinzelliger Bronchialkarzinomzelllinien mit Atorvastatin und Astemizol in Kombination.** Abgebildet ist eine Zusammenfassung der Wirkung von **Atorvastatin / Astemizol** in Kombination auf humane Fibroblasten sowie die Zelllinien H69, H82, OH1, OH3 und SW2. Dargestellt sind die Konzentrationen, die einen signifikanten Effekt bewirkten (k.E. = kein Effekt, ↓ = proliferationsinhibierend, \* p < 0,05, \*\* p < 0,001).

Die Kombination aus Atorvastatin und Antihistaminika ist bislang noch nie auf normalen Kontrollzellen und Tumorzellen getestet worden. Allerdings ist der proliferationsinhibierende Effekt der Wirkstoffe alleine auf verschiedene Tumorzellen beschrieben. So inhibiert Astemizol das Zellwachstum der humanen Mammakarzinomzelllinie MCF-7 (Oquadid-Ahidouch *et al.*, 2004, Borowiec *et al.*, 2007), während Atorvastatin wachstumshemmend auf Melanomzellen wirkt (Collisson *et al.*, 2003).

Außerdem konnte in der vorliegenden Arbeit erstmals der kombinatorische Effekt von Lovastatin und Astemizol auf kleinzellige Bronchialkarzinomzellen beobachtet werden (Tab. 5.4). Hierbei konnte gezeigt werden, dass die OH1-Zellen am empfindlichsten auf die Kombination der beiden Wirkstoffe (Abb. 4.10B) reagieren, verglichen mit den anderen untersuchten kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien (H69, H82, OH3 und SW2) und den humanen Fibroblasten. Über die Ursache dieses unterschiedlichen Verhaltens kann nur spekuliert werden. So könnten die verschiedenen Zelleigenschaften in Bezug auf die Zellproliferation und Onkogenexpression als Ursache angenommen werden (Gazdar *et al.*, 1980, Kaufmann *et al.*, 1991, Gazdar & Minna, 1996). Allerdings bedarf es weiterer Untersuchungen zur Charakterisierung der kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien.

Untersuchungen der wachstumshemmenden Wirkung der Kombination aus Lovastatin und Astemizol sind noch nie in der Literatur beschrieben worden. Jedoch ist Proliferationsinhibition durch Lovastatin alleine in *in vitro* Untersuchungen auf die großzelligen Bronchialkarzinomzelllinien 3LL (Giermasz *et al.*, 2002) und H460 (Hawk *et al.*, 1996, Jin *et al.*, 2002) sowie die Kolonkarzinomzellen SW480 (Jin *et al.*, 2002) und Adenokarzinomzellen (Hawk *et al.*, 1996) demonstriert worden.

	H69	H82	OH1	OH3	SW2
<b>Humane Fibroblasten</b>					
↓ 0,001 µM / 5,0 µM**	k.U.	↓ 0,001 µM / 2,5 µM*	↓ 0,001 µM / 5,0 µM**	k.U.	k.U.
↓ 0,01 µM / 5,0 µM**		↓ 0,001 µM / 5,0 µM**	↓ 0,01 µM / 5,0 µM**		
↓ 0,05 µM / 5,0 µM**		↓ 0,01 µM / 5,0 µM**	↓ 0,05 µM / 1,25 µM*		
↓ 0,5 µM / 0,3 µM*		↓ 0,05 µM / 2,5 µM**	↓ 0,05 µM / 2,5 µM**		
↓ 0,5 µM / 5,0 µM**		↓ 0,05 µM / 5,0 µM**	↓ 0,05 µM / 5,0 µM**		
↓ 1,0 µM / 0,3 µM**		↓ 0,5 µM / 5,0 µM**	↓ 0,5 µM / 0,3 µM*		
↓ 1,0 µM / 0,6 µM*		↓ 1,0 µM / 5,0 µM**	↓ 0,5 µM / 0,6 µM*		
↓ 1,0 µM / 1,25 µM**			↓ 0,5 µM / 1,25 µM*		
↓ 1,0 µM / 5,0 µM**			↓ 0,5 µM / 2,5 µM**		
			↓ 0,5 µM / 5,0 µM**		
			↓ 1,0 µM / 2,5 µM**		
			↓ 1,0 µM / 5,0 µM**		

**Tab. 5.4: Zusammenfassende Darstellung über die Behandlung kleinzelliger Bronchialkarzinomzelllinien mit Lovastatin und Astemizol in Kombination.** Gezeigt ist eine Zusammenfassung der Wirkung von Lovastatin / Astemizol in Kombination auf humane Fibroblasten sowie die Zelllinien H69, H82, OH1, OH3 und SW2. Aufgeführt sind die Konzentrationen, die einen signifikanten Effekt bewirkten (k.E. = kein Effekt, k.U. = keine Untersuchung, ↓ = proliferationsinhibierend, \* p < 0,05, \*\* p < 0,001).

Ein Vergleich der Ergebnisse zeigt, dass der proliferationsinhibitorische Effekt von Atorvastatin / Astemizol (Tab. 5.3) auf kleinzellige Bronchialkarzinomzelllinien deutlich stärker ist als der von Lovastatin / Astemizol (Tab. 5.4). Eine Ursache hierfür könnte sein, dass sich beide Wirkstoffe hinsichtlich ihrer pharmakologischen Eigenschaften und ihrer Empfindlichkeit für Wirkstoffinteraktionen unterscheiden (Chan *et al.*, 2003, Klotz, 2003). So weist Lovastatin eine Bioverfügbarkeit von < 5 % auf, während Atorvastatin eine Bioverfügbarkeit von 40 % besitzt (Demierre *et al.*, 2005). Dieser Unterschied in der Bioverfügbarkeit resultiert daraus, dass Lovastatin zunächst als *Prodrug* vorliegt. Rao *et al.* (1999) vermuteten, dass das Prodrug ebenfalls in die Regulation des Zellzyklus' eingreift. Daneben konnten Turner *et al.* (2007) in einem Vergleich der Effizienz verschiedener Statine auf die Proliferation glatter Muskelzellen zeigen, dass innerhalb der lipophilen Statine Atorvastatin die Proliferation deutlich besser inhibiert als Lovastatin.

Diese und die eigenen Ergebnisse lassen vermuten, dass der Grund für die deutlich bessere Inhibition der Zellproliferation von kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien durch die Kombination Atorvastatin / Astemizol als durch die Kombination Lovastatin / Astemizol in den pharmakologischen Eigenschaften und Empfindlichkeiten für Wirkstoffinteraktionen der beiden Statine liegt.

Eine durch Statine induzierte Proliferationsinhibition von Tumorzellen und die anschließende Suppression dieses Effektes ist in der Literatur beschrieben. Atorvastatin und Lovastatin inhibieren das Wachstum von Pankreaskarzinomzellen (Gbelcová *et al.*, 2008). Zudem kann eine Proliferationsreduktion von Mammakarzinomzellen (Alonso *et al.*, 1998), Plattenepithelkarzinomzellen (Dimitroulakos *et al.*, 2002) sowie Leukämiezellen (Dudakovic *et al.*, 2008) durch Lovastatin induziert werden. Dieser Effekt kann durch die Addition von Mevalonsäure unterdrückt werden.

Als Ursache vermuteten die Autoren, dass die verschiedenen Statine die Mevalonsäuresynthese hemmen (Dimitroulakos *et al.*, 2002) und damit eine Inaktivierung kleiner GTP-asen wie Ras, Rho und Rac bewirken (Campbell *et al.*, 2006), welches eine Inhibition des Zellwachstums zur Folge hat. Die Suppression dieses Effektes wird durch die Addition von Mevalonsäure induziert (Ikeuchi *et al.*, 2004).

Allerdings konnte in der vorliegenden Arbeit bei allen untersuchten Zelllinien weder der durch Lovastatin (Abb. 4.9C) noch der durch Atorvastatin / Astemizol (Abb. 4.2F, 4.5F, 4.7F, 4.10F, 4.13F, 4.15F) bzw. Lovastatin / Astemizol (Abb. 4.3F, 4.8F, 4.11F) induzierte proliferationshemmende Effekt durch die Zugabe von 200 µM Mevalonsäure blockiert werden. Eine zu geringe Dosierung der Mevalonsäure kann als Ursache hierfür ausgeschlossen werden, da die verwendete Konzentration im Bereich der in der Literatur angegebenen Dosierungen liegt (Alonso *et al.*, 1998, Dimitroulakos *et al.*, 2002, Dudakovic *et al.*, 2008, Gbelcová *et al.*, 2008). So lässt sich vermuten, dass der Wirkungsmechanismus

der Kombination Atorvastatin / Astemizol bzw. Lovastatin / Astemizol unabhängig von der Mevalonsäure und ihren Stoffwechselwegen sein muss.

In den eigenen Untersuchungen konnte erstmals die Modifikation der Apoptose und des Zellzyklus' nach Behandlung mit verschiedenen Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen in humanen Fibroblasten und kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen demonstriert werden. So konnte gezeigt werden, dass hohe Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen (1,0  $\mu\text{M}$  / 5,0  $\mu\text{M}$ ) zu einer verstärkten Apoptose in humanen Fibroblasten, H69- und OH1-Zellen (Abb. 4.16A, 4.16B, 4.16C) führen. Zudem zeigen diese Konzentrationen bei H69-Zellen einen Zellzyklusarrest in der  $G_1$ -Phase (Abb. 4.17B). Diese Ergebnisse sind im Einklang mit den Proliferationsversuchen (Abb. 4.2E und 4.5E). Das bedeutet, dass die Kombination aus Atorvastatin und Astemizol in hohen Konzentrationen einen antiproliferativen und proapoptotischen Effekt auf humane Fibroblasten, H69- und OH1-Zellen hat sowie zusätzlich einen Zellzyklusarrest in der  $G_1$ -Phase verursacht.

Diese neuen Ergebnisse können mit der aktuellen Literatur nicht direkt verglichen werden, da es keine Hinweise für die Wirkung der Kombination Atorvastatin / Astemizol auf die Apoptose und den Zellzyklus von kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen gibt. Allerdings zeigten Hoque *et al.* (2008), dass Lovastatin und Simvastatin durch Induktion der Apoptose und des Zellzyklusarrestes in der  $G_1$ -Phase die Proliferation von Prostatazellen inhibieren. Bessler *et al.* (2007) wiesen eine Proliferationsinhibition und verstärkte Apoptose in EHEB- (B-Zelllinie; chronische lymphatische Leukämie vom B-Zell-Typ) und K562-Zellen (leukämische Zelllinie) nach Behandlung mit Atorvastatin, Lovastatin und Simvastatin nach. Die Autoren vermuteten, dass der antiproliferative und proapoptotische Effekt von Statinen durch die Inaktivierung von RhoA vermittelt wird, welcher wiederum die Caspase Aktivität (essentielle Rolle in der Apoptose) und den  $G_1$ -Zellzyklus induziert (Hoque *et al.*, 2008). Allerdings beobachteten Xiao *et al.* (2008), dass Atorvastatin keine Apoptose und keinen Zellzyklusarrest in der  $G_1$ -Phase in humanen Kolonkarzinomzellen induziert.

Zudem konnte in den eigenen Untersuchungen beobachtet werden, dass hohe (1,0  $\mu\text{M}$  / 5,0  $\mu\text{M}$ ) und niedrige (0,001  $\mu\text{M}$  / 0,3  $\mu\text{M}$ ) Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen einen marginalen Effekt auf die Apoptose von H82- (Abb. 4.16D) und OH3-Zellen (Abb. 4.16E) aufweisen. Allerdings widerspricht dies den Proliferationsversuchen, die bei H82-Zellen eine signifikante dosisabhängige Inhibition der Proliferation schon bei geringen Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen zeigten sowie bei OH3-Zellen eine signifikante Wachstumshemmung bei Kombinationen mit der höchsten Astemizol-Konzentration nachwies (Abb. 4.7E und 4.13E). Außerdem zeigte die Zellzyklusanalyse an H82-Zellen, dass hohe Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen die Zellpopulation in der  $G_1$ -Phase nur marginal erhöhen (Abb. 4.17C), während in OH3-Zellen die Zellzahl in der  $G_1$ -Phase

signifikant reduziert ist (Abb. 4.17D). Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass niedrige Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen (0,001  $\mu\text{M}$  / 0,3  $\mu\text{M}$ ) die Apoptose in SW2-Zellen signifikant fördern (Abb. 4.16F). Diese Ergebnisse sind im Widerspruch zu den eigenen Resultaten der Zellproliferation (Abb. 4.15E).

Über den Grund für die divergenten Ergebnisse von Proliferationsassay, Apoptosezählung und Zellzyklusanalyse kann nur spekuliert werden. So könnte eine mögliche Ursache für die niedrige Apoptoserate und den fehlenden Nachweis eines Zellzyklusarrests bei H82 sein, dass die Zellen im  $G_0$ -Stadium arretieren, das mit den angewandten Methoden nicht erfasst werden kann. Um dieses nachzuweisen, müsste der Zellzyklus mithilfe der Durchflusszytometrie bestimmt werden. Anhand dieser Methode ist es möglich auch das  $G_0$ -Stadium von Zellen zu bestimmen. Xiao *et al.* (2008) zeigten unter Anwendung der Durchflusszytometrie, dass die Kombination aus Atorvastatin und Celecoxib Kolonkarzinom-Zellen im  $G_0$ - /  $G_1$ -Stadium arretiert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass hohe Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen (1,0  $\mu\text{M}$  / 5,0  $\mu\text{M}$ ) die Proliferation von humanen Fibroblasten und kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen (H69, H82, OH1, OH3, SW2) inhibieren sowie die Apoptose und Zellzyklusprogression modulieren (Abschnitt 4).

Eine mögliche Ursache der gezeigten Ergebnisse könnte darin liegen, dass Atorvastatin bzw. Lovastatin und Astemizol in der  $G_1$ -Phase der kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen zusammenwirken, da sowohl für Astemizol als auch für Statine eine Blockierung des Zellzyklus' in der  $G_1$ -Phase beschrieben ist und dieser Effekt bei Statinen auch als HMG-CoA-Reduktase unabhängig geschildert wird (Brower, 2003, Ouadid-Ahidouch *et al.*, 2004, Maksimova *et al.*, 2008). Allerdings wurde ein Zellzyklusarrest in der  $G_1$ -Phase nur bei H69-Zellen beobachtet, was die Modifikation des Zellzyklus' als Ursache für die proliferationshemmende Wirkung von Statin / Astemizol infrage stellt.

Auch die Blockade von spannungsabhängigen  $K^+$ -Kanälen scheint nicht ursächlich an dem verminderten Zellwachstum unter Atorvastatin bzw. Lovastatin und Astemizol beteiligt zu sein. Zwar spielen spannungsabhängige  $K^+$ -Kanäle eine wichtige Rolle in der Zellproliferation, wobei der dabei zugrunde liegende Mechanismus noch nicht endgültig geklärt ist. Zum einen scheint die Hyperpolarisation der Zellmembran eine Rolle zu spielen, die eine Progression des Zellzyklus' in die  $G_1$ -Phase herbeiführt (Ouadid-Ahidouch *et al.*, 2001, 2004). Zum anderen ist anscheinend auch das Zellvolumen, das von den spannungsabhängigen  $K^+$ -Kanälen beeinflusst wird, an der Zellproliferation und der Apoptose beteiligt (Rouzair Dubois & Dubois, 1998, Lang *et al.*, 2007). Zu den spannungsabhängigen  $K^+$ -Kanälen gehören auch die Kanäle der *ether-à-go-go* (eag) - Familie (hEAG-Kanäle) (Pardo, 2004), die von Astemizol blockiert werden (Pardo *et al.*,

1999, García-Ferreiro *et al.*, 2004, Ouadid-Ahidouch *et al.*, 2004, Borowiec *et al.*, 2007). Auch für Atorvastatin und Lovastatin ist eine geringe Blockierung von spannungsabhängigen K<sup>+</sup>-Kanälen bewiesen (Katchman *et al.*, 2006, Vaquero *et al.*, 2007). Jedoch zeigt in der vorliegenden Arbeit Astemizol alleine nur in der höchsten Konzentration (5.0 µM) eine wachstumsinhibitorische Wirkung (Tab. 5.2), wobei diese Konzentration den IC<sub>50</sub>-Wert um den Faktor 1000 übersteigt (Dubin *et al.*, 2008). Deshalb ist eine Blockade des hEAG-Kanals als Ursache für die Proliferationsinhibition durch Astemizol alleine weitgehend auszuschließen, wodurch diese Erklärungsmöglichkeit auch für den proliferationsinhibitorischen Effekt der Kombination unwahrscheinlich ist.

Die Wirkung der Statine auf den Mevalonsäurestoffwechsel, der in der Literatur häufig den proliferationsinhibitorischen Effekt auf Zellen erklärt (Dimitroulakos *et al.*, 2002), kann ebenfalls nicht der Grund der wachstumshemmenden Wirkung der Kombination aus Statinen und Astemizol sein, da weder die inhibitorische Wirkung der Kombination noch die von Lovastatin alleine durch Mevalonsäure gehemmt werden konnte (Abb. 4.2F, 4.3F, 4.5F, 4.7F, 4.8F, 4.9C, 4.10F, 4.11F, 4.13F, 4.15F).

So scheint die in der vorliegenden Arbeit erstmalig gezeigte proliferationsinhibitorische Wirkung der Kombination aus Atorvastatin bzw. Lovastatin und Astemizol auf einem neuen Wirkungsweg bzw. auf eine neue Interaktion dieser Pharmaka zu beruhen. Daher bedarf es weiterer Untersuchungen, um den molekularen Wirkungsmechanismus der Kombination Statin / Astemizol aufzuklären.

Die vorliegende Arbeit zeigte erstmalig, dass beide verwendeten Statine, Atorvastatin und Lovastatin, in Kombination mit Astemizol die Proliferation kleinzelliger Bronchialkarzinomzellen vermindert. Zudem belegten die vorliegenden Ergebnisse, dass der wachstumsinhibitorische Effekt unabhängig vom Mevalonsäure-Signalweg ist. Dabei zeigte sich die Kombination Atorvastatin / Astemizol deutlich wirkungsvoller als die Kombination Lovastatin / Astemizol. Aufgrund dessen ist die Kombination aus Atorvastatin und Astemizol ein viel versprechender Ansatz für ein neues Therapiekonzept.

Zu beachten ist allerdings, dass die kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen unterschiedlich intensiv auf die Medikamente reagieren und auch die humanen Fibroblasten bei der höchsten eingesetzten Konzentration von Atorvastatin / Astemizol eine Wachstumshemmung aufweisen. Deswegen müsste eine mögliche Behandlung mit Atorvastatin / Astemizol-Konzentrationen erfolgen, die geringer als 1,0 µM / 5,0 µM sind. Da aber einige Zelllinien ebenfalls nur auf die Kombination mit den höchsten Atorvastatin- / Astemizol-Konzentrationen reagieren, gilt es abzuwägen, ob eine hohe Wirkstoffkonzentration angewandt werden kann, auch auf die Gefahr hin, gesunde Zellen zu schädigen, oder ob mit einer niedrigen Wirkstoffkonzentration behandelt wird. Hierfür wäre es zweckmäßig, den

genauen Wirkungsmechanismus der Kombination Atorvastatin / Astemizol zu kennen, um möglicherweise ein Kriterium zu finden, welches die Therapieempfindlichkeit des kleinzelligen Bronchialkarzinoms beurteilt. So könnte die Kombination Atorvastatin / Astemizol auch im Sinne der *Targeted Therapy* einsetzbar sein. Um dieses Ziel zu erreichen ist es förderlich, den Effekt der Statine in Kombination mit Astemizol in *in vivo* Versuchen zu testen und die antiproliferative Wirkung zu verifizieren sowie die molekularen Wirkmechanismen zu identifizieren.

## 6 Zusammenfassung

Das kleinzellige Bronchialkarzinom ist ein schnell wachsendes und früh metastasierendes Malignom, das zunächst gut mit konventionellen Chemotherapeutika therapierbar ist, jedoch bei Rezidivbildung nicht mehr chemosensibel reagiert. Daher ist es dringend notwendig, nach neuen Therapieansätzen zu suchen, wobei auch Statine und Antihistaminika in Betracht zu ziehen sind, da sie bereits antiproliferative Wirkungen auf verschiedene Krebszellen zeigten.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung von Atorvastatin, Lovastatin und Astemizol allein und in Kombination auf die kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien H69, H82, OH1, OH3 und SW2 sowie auf humane Fibroblasten zu testen. Dabei wurden die Proliferation und die Apoptose untersucht sowie der Zellzyklus anhand einer Zellzyklusanalyse bewertet.

Die Proliferationsuntersuchungen zeigten, dass Atorvastatin keinen Einfluss auf das Wachstum der kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien hat, während Lovastatin auf humane Fibroblasten sowie OH1-Zellen und Astemizol auf H82- sowie SW2-Zellen wachstumshemmend wirkten. Hingegen konnte für die Kombination aus Statinen und Astemizol eine Proliferationsinhibition bei allen untersuchten kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen beobachtet werden. Dabei war die Kombination aus Atorvastatin und Astemizol effektiver als die Kombination aus Lovastatin und Astemizol.

Die Apoptose-Untersuchungen zeigten einen signifikanten Anstieg der Apoptose bei den Zelllinien H69, OH1, OH3 sowie bei den humanen Fibroblasten. Für die anderen untersuchten kleinzelligen Bronchialkarzinomzelllinien wurde keine Veränderung der Apoptose nachgewiesen.

Die Zellzyklusanalyse zeigte für H69-Zellen nach Behandlung mit der Kombination aus Atorvastatin und Astemizol einen Zellzyklusarrest in der G<sub>1</sub>-Phase. Ein Zellzyklusarrest wurde bei den anderen untersuchten kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen und bei humanen Fibroblasten nicht belegt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen erstmalig, dass das Wachstum von kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen durch die Kombination von Atorvastatin / Astemizol bzw. Lovastatin / Astemizol *in vitro* inhibiert werden kann. Dadurch ist die Kombination aus Statinen und Astemizol eine viel versprechende Grundlage für neue Therapieansätze.

## 7 Literaturverzeichnis

Agarwal B, Bhendwal S, Halmos B, Moss SF, Ramey WG, Holt PR. (1999) Lovastatin augments apoptosis induced by chemotherapeutic agents in colon cancer cells. *Clin Cancer Res.* 5:2223-9.

Alonso DF, Farina HG, Skilton G, Gabri MR, De Lorenzo MS, Gomez DE. (1998) Reduction of mouse mammary tumor formation and metastasis by lovastatin, an inhibitor of the mevalonate pathway of cholesterol synthesis. *Breast Cancer Res Treat.* 50:83-93.

Arriagada R, Le Chevalier T, Pignon JP, Riviere A, Monnet I, Chomy P, Tuchais C, Tarayre M, Ruffie P. (1993) Initial chemotherapeutic doses and survival in patients with limited small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 329:1848-52.

Assmus B, Urbich C, Aicher A, Hofmann WK, Haendeler J, Rössig L, Spyridopoulos I, Zeiher AM, Dimmeler S. (2003) HMG-CoA reductase inhibitors reduce senescence and increase proliferation of endothelial progenitor cells via regulation of cell cycle regulatory genes. *Circ Res.* 92:1049-55.

Bauersachs J, Galuppo P, Fraccarollo D, Christ M, Ertl G. (2001) Improvement of left ventricular remodeling and function by hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase inhibition with cerivastatin in rats with heart failure after myocardial infarction. *Circulation.* 104:982-5.

Bazhin AV, Savchenko MS, Shifrina ON, Demoura SA, Chikina SY, Jaques G, Kogan EA, Chuchalin AG, Philippov PP. (2004) Recoverin as a paraneoplastic antigen in lung cancer: the occurrence of anti-recoverin autoantibodies in sera and recoverin in tumors. *Lung Cancer.* 44:193-8.

Berghmans T, Paesmans M, Lafitte JJ, Mascaux C, Meert AP, Sculier JP. (2002) Role of granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors in the treatment of small-cell lung cancer: a systematic review of the literature with methodological assessment and meta-analysis. *Lung Cancer.* 37:115-23.

Bessler H, Salman H, Bergman M, Djaldetti M. (2007) On the factors modulating the effect of statins on malignant cell proliferation. *Cancer Invest.* 25:279-84.

Bogart JA, Herndon JE 2nd, Lyss AP, Watson D, Miller AA, Lee ME, Turrisi AT, Green MR; Cancer and Leukemia Group B study 39808. (2004) 70 Gy thoracic radiotherapy is feasible concurrent with chemotherapy for limited-stage small-cell lung cancer: analysis of Cancer and Leukemia Group B study 39808. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 59:460-8.

Bonetti PO, Lerman LO, Napoli C, Lerman A. (2003) Statin effects beyond lipid lowering – are they clinically relevant? *Eur Heart. J.* 24:225-48.

Borowiec AS, Hague F, Harir N, Guénin S, Guerineau F, Gouilleux F, Roudbaraki M, Lassoued K, Ouadid-Ahidouch H. (2007) IGF-1 activates hEAG K(+) channels through an Akt-dependent signaling pathway in breast cancer cells: role in cell proliferation. *J Cell Physiol.* 212:690-01.

Bösel J, Endres M. (2006) Direct neuronal effects of statins. *Nervenarzt.* 77:289-90, 292-3.

- Bouterfa HL, Sattelmeyer V, Czub S, Vordermark D, Roosen K, Tonn JC. (2000) Inhibition of Ras farnesylation by lovastatin leads to downregulation of proliferation and migration in primary cultured human glioblastoma cells. *Anticancer Res.* 20: 2761-71.
- Bremnes RM, Sundstrom S, Aasebø U, Kaasa S, Hatlevoll R, Aamdal S; Norwegian Lung Cancer Study Group. (2003) The value of prognostic factors in small cell lung cancer: results from a randomised multicenter study with minimum 5 year follow-up. *Lung Cancer.* 39:303-13.
- Broll R, Bethge T, Windhövel U, Schwandner O, Markert U, Bruch HP, Duchrow M. (2002) Influence of resterilized polypropylen meshes on growth of human fibroblasts--an experimental in vitro study. *Zentralbl Chir.* 127:589-93.
- Brower V. (2003) Of cancer and cholesterol: studies elucidate anticancer mechanisms of statins. *J Natl Cancer Inst.* 95:844-6.
- Bülzebruck H. (1998) Metastasierung und Prognose des kleinzelligen Bronchialkarzinoms. *Onkologe.* 4:1039-49.
- Campbell MJ, Esserman LJ, Zhou Y, Shoemaker M, Lobo M, Borman E, Baehner F, Kumar AS, Adduci K, Marx C, Petricoin EF, Liotta LA, Winters M, Benz S, Benz CC. (2006) Breast cancer growth prevention by statins. *Cancer Res.* 66:8707-14.
- Carney DN, Mitchell JB, Kinsella TJ. (1983) In vitro radiation and chemotherapy sensitivity of established cell lines of human small cell lung cancer and its large cell morphological variants. *Cancer Res.* 43:2806-11.
- Carney DN, Gazdar AF, Bepler G, Guccion JG, Marangos PJ, Moody TW, Zweig MH, Minna JD. (1985) Establishment and identification of small cell lung cancer cell lines having classic and variant features. *Cancer Res.* 45:2913-23.
- Casero RA Jr, Baylin SB, Nelkin BD, Luk GD. (1986) Human lung tumor sensitivity to difluoromethylornithine as related to ornithine decarboxylase messenger RNA levels. *Biochem Biophys Res Commun.* 134:572-9.
- Chan KK, Oza AM, Siu LL. (2003) The statins as anticancer agents. *Clin Cancer Res.* 9:10-9.
- Christodoulou C, Skarlos DV. (2005) Treatment of small cell lung cancer. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 26:333-41.
- Cohen MH, Creaven PJ, Fossieck BE Jr, Broder LE, Selawry OS, Johnston AV, Williams CL, Minna JD. (1977) Intensive chemotherapy of small cell bronchogenic carcinoma. *Cancer Treat Rep.* 61:349-54.
- Collisson EA, Kleer C, Wu M, De A, Gambhir SS, Merajver SD, Kolodney MS. (2003) Atorvastatin prevents RhoC isoprenylation, invasion, and metastasis in human melanoma cells. *Mol Cancer Ther.* 2:941-8.
- Cooper S, Spiro SG. (2006) Small cell lung cancer: Treatment review. *Respirology.* 11:241-8.
- Davis S, Stanley KE, Yesner R, Kuang DT, Morris JF. (1981) Small cell carcinoma of the survival according to histologic subtype: a Veterans Administration Lung Group Study. *Cancer.* 47:1863-6.
- Demierre MF, Higgins PD, Gruber SB, Hawk E, Lippman SM. (2005) Statins and cancer prevention. *Nat Rev Cancer.* 5:930-42.

- Dimitroulakos J, Ye LY, Benzaquen M, Moore MJ, Kamel-Reid S, Freedman MH, Yeger H, Penn LZ. (2001) Differential sensitivity of various pediatric cancers and squamous cell carcinomas to lovastatin-induced apoptosis: therapeutic implications. *Clin Cancer Res.* 7:158-67.
- Dimitroulakos J, Marhin WH, Tokunaga J, Irish J, Gullane P, Penn LZ, Kamel-Reid S. (2002) Microarray and biochemical analysis of lovastatin-induced apoptosis of squamous cell carcinomas. *Neoplasia.* 4:337-46.
- Dubin AE, Nasser N, Rohrbacher J, Hermans AN, Marrannes R, Grantham C, Van Rossem K, Cik M, Chaplan SR, Gallacher D, Xu J, Guia A, Byrne NG, Mathes C. (2005) Identifying modulators of hERG channel activity using the PatchXpress planar patch clamp. *J Biomol Screen.* 10:168-81.
- Dudakovic A, Wiemer AJ, Lamb KM, Vonnahme LA, Dietz SE, Hohl RJ. (2008) Inhibition of geranylgeranyl diphosphate synthase induces apoptosis through multiple mechanisms and displays synergy with inhibition of other isoprenoid biosynthetic enzymes. *J Pharmacol Exp Ther.* 324:1028-36.
- Esserman L, Campbell M, Shoemaker M, Lobo M, Marx C, Benz C. (2004) Breast cancer inhibition by statins. *Journal of Clinical Oncology, 2004 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition).* 22:1003.
- Falco JP, Baylin SB, Lupu R, Borges M, Nelkin BD, Jasti RK, Davidson NE, Mabry M. (1990) v-rasH induces non-small cell phenotype, with associated growth factors and receptors, in a small cell lung cancer cell line. *J Clin Invest.* 85:1740-5.
- Fizazi K, Cojean I, Pignon JP, Rixe O, Gattineau M, Hadeif S, Arriagada R, Baldeyrou P, Comoy E, Le Chevalier T. (1998) Normal serum neuron specific enolase (NSE) value after the first cycle of chemotherapy: an early predictor of complete response and survival in patients with small cell lung carcinoma. *Cancer.* 82:1049-55.
- Frasci G, Comella P, Carreca I, DeCataldis G, Muci D, Brunetti C, Russo A, Palmeri S, D'Aniello R, Giordano R, D'Aiuto M, Comella G; Southern Italy Cooperative Oncology Group. (2005) Weekly dose-dense cisplatin-epirubicin-paclitaxel administration with granulocyte colony-stimulating factor support does not substantially improve prognosis in extensive disease small-cell lung cancer. A SICOG phase II study. *Oncology.* 68:223-9.
- Fried DB, Morris DE, Poole C, Rosenman JG, Halle JS, Detterbeck FC, Hensing TA, Socinski MA. (2004) Systematic review evaluating the timing of thoracic radiation therapy in combined modality therapy for limited-stage small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 22: 4837-45.
- Furuse K, Fukuoka M, Nishiwaki Y, Kurita Y, Watanabe K, Noda K, Ariyoshi Y, Tamura T, Saijo N. (1998) Phase III study of intensive weekly chemotherapy with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor versus standard chemotherapy in extensive-disease small-cell lung cancer. The Japan Clinical Oncology Group. *J Clin Oncol.* 16:2126-32.
- García-Ferreiro RE, Kerschensteiner D, Major F, Monje F, Stühmer W, Pardo LA. (2004) Mechanism of block of hEag1 K<sup>+</sup> channels by imipramine and astemizole. *J Gen Physiol.* 124:301-17.
- Gatzemeier C (2002). Die Bedeutung der Zytologie in der Bronchologischen Diagnostik des Bronchialkarzinoms. Dissertation an der Universität Hamburg. S. 13.

- Gazdar AF, Carney DN, Russell EK, Sims HL, Baylin SB, Bunn PA, Guccion JG, Minna JD. (1980) Establishment of continuous, clonable cultures of small-cell carcinoma of lung which have amine precursor uptake and decarboxylation cell properties. *Cancer Res.* 40:3502-7.
- Gazdar AF, Carney DN, Guccion JG, Baylin SB. (1981) in Small Cell Lung Cancer, eds. Greco FA, Oldham RK, Bun PA. Grune & Stratton, New York. S. 153-61.
- Gazdar AF, Carney DN, Nau MM, Minna JD. (1985) Characterization of variant subclasses of cell lines derived from small cell lung cancer having distinctive biochemical, morphological, and growth properties. *Cancer Res.* 45:2924-30.
- Gazdar AF, Minna JD. (1996) NCI series of cell lines: an historical perspective. *J Cell Biochem Suppl.* 24:1-11.
- Gbelcová H, Leníček M, Zelenka J, Knejzlík Z, Dvoráková G, Zadinová M, Poucková P, Kudla M, Balaz P, Ruml T, Vítek L. (2008) Differences in antitumor effects of various statins on human pancreatic cancer. *Int J Cancer.* 122:1214-21.
- Giermasz A, Makowski M, Kozłowska E, Nowis D, Maj M, Jalili A, Feleszko W, Wójcik C, Dabrowska A, Jakóbisiak M, Gołab J. (2002) Potentiating antitumor effects of a combination therapy with lovastatin and butyrate in the Lewis lung carcinoma model in mice. *Int J Cancer.* 97:746-50.
- Goodwin G, Shaper JH, Abeloff MD, Mendelsohn G, Baylin SB. (1983) Analysis of cell surface proteins delineates a differentiation pathway linking endocrine and nonendocrine human lung cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 80:3807-11.
- Gower NH, Rudd RM, Ruiz de Elvira MC, Spiro SG, James LE, Harper PG, Souhami RL. (1995) Assessment of 'quality of life' using a daily diary card in a randomised trial of chemotherapy in small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 6:575-80.
- Greenspan MD, Yudkovitz JB, Alberts AW, Argenbright LS, Arison BH, Smith JL. (1988) Metabolism of lovastatin by rat and human liver microsomes in vitro. *Drug Metab Dispos.* 16:768-82.
- Gregor A, Drings P, Burghouts J, Postmus PE, Morgan D, Sahnoud T, Kirkpatrick A, Dalesio O, Giaccone G. (1997) Randomized trial of alternating versus sequential radiotherapy/chemotherapy in limited-disease patients with small-cell lung cancer: a European Organization for Research and Treatment of Cancer Lung Cancer Cooperative Group Study. *J Clin Oncol.* 15:2840-9.
- Griffin CA, Baylin SB. (1985) Expression of the c-myc oncogene in human small cell lung carcinoma. *Cancer Res.* 45:272-5.
- Halpin RA, Ulm EH, Till AE, Kari PH, Vyas KP, Hunninghake DB, Duggan DE. (1993) Biotransformation of lovastatin. V. Species differences in in vivo metabolite profiles of mouse, rat, dog, and human. *Drug Metab Dispos.* 21:1003-11.
- Han JY, Cho KH, Lee DH, Kim HY, Kim EA, Lee SY, Lee JS. (2005) Phase II study of irinotecan plus cisplatin induction followed by concurrent twice-daily thoracic irradiation with etoposide plus cisplatin chemotherapy for limited-disease small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 23:3488-94.
- Hande KR, Oldham RK, Fer MF, Richardson RL, Greco FA. (1982) Randomized study of high-dose versus low-dose methotrexate in the treatment of extensive small cell lung cancer. *Am J Med.* 73:413-9.

- Hawk MA, Cesen KT, Siglin JC, Stoner GD, Ruch RJ. (1996) Inhibition of lung tumor cell growth in vitro and mouse lung tumor formation by lovastatin. *Cancer Lett.* 109:217-22.
- Höfler H. (1997) Spektrum neuroendokriner Tumoren der Lunge. *Pathologe.* 18:322-3.
- Honnorat J, Cartalat-Carel S. (2004) Advances in paraneoplastic neurological syndromes. *Curr Opin Oncol.* 16:614-20.
- Hoque A, Chen H, Xu XC. (2008) Statin induces apoptosis and cell growth arrest in prostate cancer cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 17:88-94.
- Huisman C, Postmus PE, Giaccone G, Smit EF. (1999) Second-line chemotherapy and its evaluation in small cell lung cancer. *Cancer Treat Rev.* 25:199-206.
- Huncharek M, McGarry R. (2004) A meta-analysis of the timing of chest irradiation in the combined modality treatment of limited-stage small cell lung cancer. *Oncologist.* 9:665-72.
- Ikeuchi H, Kuroiwa T, Yamashita S, Hiramatsu N, Maeshima A, Kaneko Y, Hiromura K, Ueki K, Nojima Y. (2004) Fluvastatin reduces renal fibroblast proliferation and production of type III collagen: therapeutic implications for tubulointerstitial fibrosis. *Nephron Exp Nephrol.* 97:e115-22.
- Ihde DC, Mulshine JL, Kramer BS, Steinberg SM, Linnoila RI, Gazdar AF, Edison M, Phelps RM, Lesar M, Phares JC. (1994) Prospective randomized comparison of high-dose and standard-dose etoposide and cisplatin chemotherapy in patients with extensive-stage small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 12:2022-34.
- Jangi SM, Diaz-Perez JL, Ochoa-Lizarralde B, Martin-Ruiz I, Asumendi A, Perez-Yarza G, Gardeazabal J, Diaz-Ramon JL, Boyano MD. (2006) H1 histamine receptor antagonists induce genotoxic and caspase-2-dependent apoptosis in human melanoma cells. *Carcinogenesis.* 27:1787-96.
- Jiang Z, Zheng X, Lytle RA, Higashikubo R, Rich KM. (2004) Lovastatin-induced up-regulation of the BH3-only protein, Bim, and cell death in glioblastoma cells. *J Neurochem.* 89:168-78.
- Jin Z, Dicker DT, El-Deiry WS. (2002) Enhanced sensitivity of G1 arrested human cancer cells suggests a novel therapeutic strategy using a combination of simvastatin and TRAIL. *Cell Cycle.* 1:82-9.
- Jojović M, Adam E, Zangemeister-Wittke U, Schumacher U. (1998) Epithelial glycoprotein-2 expression is subject to regulatory processes in epithelial-mesenchymal transitions during metastases: an investigation of human cancers transplanted into severe combined immunodeficient mice. *Histochem J.* 30:723-9.
- Junker K, Wiethage T, Muller KM. (2000) Pathology of small-cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 126:361-8.
- Kamat AM, Nelkin GM. (2005) Atorvastatin: a potential chemopreventive agent in bladder cancer. *Urology.* 66:1209-12.
- Kaufmann SH, Mabry M, Jasti R, Shaper JH. (1991) Differential expression of nuclear envelope lamins A and C in human lung cancer cell lines. *Cancer Res.* 51:581-6.
- Khazada UK, Pardo OE, Meier C, Downward J, Seckl MJ, Arcaro A. (2006) Potent inhibition of small-cell lung cancer cell growth by simvastatin reveals selective functions of Ras isoforms in growth factor signalling. *Oncogene.* 25:877-87.

- Katchman AN, Koerner J, Tosaka T, Woosley RL, Ebert SN. (2006) Comparative evaluation of HERG currents and QT intervals following challenge with suspected torsadogenic and nontorsadogenic drugs. *J Pharmacol Exp Ther.* 316:1098-106.
- Klotz U. (2003) Pharmacological comparison of the statins. *Arzneimittelforschung.* 53:605-11.
- Kurokawa M, Futamura Y, Obata M, Shibutani Y. (1995) Re: Enhanced cancer growth in mice administered daily human-equivalent doses of some H1-antihistamines: predictive in vitro correlates (Correspondence). *J Natl Cancer Inst.* 87:1638-9.
- Kusama T, Mukai M, Iwasaki T, Tatsuta M, Matsumoto Y, Akedo H, Inoue M, Nakamura H. (2002) 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme a reductase inhibitors reduce human pancreatic cancer cell invasion and metastasis. *Gastroenterology.* 122:308-17.
- Lang F, Föller M, Lang K, Lang P, Ritter M, Vereninov A, Szabo I, Huber SM, Gulbins E. (2007) Cell volume regulatory ion channels in cell proliferation and cell death. *Methods Enzymol.* 428:209-25.
- Laufs U, Wassmann S, Hilgers S, Ribaldo N, Bohm M, Nickenig G. (2001) Rapid effects on vascular function after initiation and withdrawal of atorvastatin in healthy normocholesterolemic men. *Am J Cardiol.* 88:1306-7.
- Le Péchoux C, Dhermain F, Bretel JJ, Laplanche A, Dunant A, Tarayre M, Ruffié P, Le Chevalier T. (2004) Modalities of Radiotherapy in small cell lung cancer: thoracic radiotherapy and prophylactic cerebral irradiation. *Rev. Pneumol. Clin.* 3S:91-103.
- Lennernäs H. (2003) Clinical pharmacokinetics of atorvastatin. *Clin Pharmacokinet.* 42:1141-60.
- Lennernäs H, Fager G. (1997) Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors. Similarities and differences. *Clin Pharmacokinet.* 32:403-25.
- Little CD, Nau MM, Carney DN, Gazdar AF, Minna JD. (1983) Amplification and expression of the c-myc oncogene in human lung cancer cell lines. *Nature.* 306:194-6.
- Luk GD, Goodwin G, Marton LJ, Baylin SB. (1981) Polyamines are necessary for the survival of human small-cell lung carcinoma in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 78:2355-8.
- Luk GD, Goodwin G, Gazdar AF, Baylin SB. (1982) Growth-inhibitory effects of DL-alpha-difluoromethylornithine in the spectrum of human lung carcinoma cells in culture. *Cancer Res.* 42:3070-3.
- Mabry M, Nakagawa T, Nelkin BD, McDowell E, Gesell M, Eggleston JC, Casero RA Jr, Baylin SB. (1988) v-Ha-ras oncogene insertion: a model for tumor progression of human small cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 85:6523-7.
- Maksimova E, Yie TA, Rom WN. (2008) In vitro mechanisms of lovastatin on lung cancer cell lines as a potential chemopreventive agent. *Lung.* 186:45-54.
- Marcelli M, Cunningham GR, Haidacher SJ, Padayatty SJ, Sturgis L, Kagan C, Denner L. (1998) Caspase-7 is activated during lovastatin-induced apoptosis of the prostate cancer cell line LNCaP. *Cancer Res.* 58:76-83.
- Matsumoto S, Yamazoe Y. (2001) Involvement of multiple human cytochromes P450 in the liver microsomal metabolism of astemizole and a comparison with terfenadine. *Br J Clin Pharmacol.* 51:133-42.

- Mehta N, Hordines J, Sykes D, Doerr RJ, Cohen SA. (1998) Low density lipoproteins and Lovastatin modulate the organ-specific transendothelial migration of primary and metastatic human colon adenocarcinoma cell lines in vitro. *Clin Exp Metastasis*. 16:587-94.
- Meuldermans W, Woestenborghs R, Noorduyn H, Camu F, van Steenberge A, Heykants J. (1986) Protein binding of the analgesics alfentanil and sufentanil in maternal and neonatal plasma. *Eur J Clin Pharmacol*. 30:217-9.
- Moiseeva OM, Semyonova EG, Polevaya EV, Pinayev GP. (2007) Effect of pravastatin on phenotypical transformation of fibroblasts and hypertrophy of cardiomyocytes in culture. *Bull Exp Biol Med*. 143:54-7.
- Mosmann T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 65:55-63.
- Morstyn G, Russo A, Carney DN, Karawya E, Wilson SH, Mitchell JB. (1984) Heterogeneity in the radiation survival curves and biochemical properties of human lung cancer cell lines. *J Natl Cancer Inst*. 73:801-7.
- Mountain CF. (1997) Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest*. 111:1710-17.
- Müller KM. (1999) Neues zur Pathologie der Lungentumoren. *Verh Dtsch Ges Pathol*. 83:168-8.
- Murray N, Livingston RB, Shepherd FA, James K, Zee B, Langleben A, Kraut M, Bearden J, Goodwin JW, Grafton C, Turrisi A, Walde D, Croft H, Osoba D, Ottaway J, Gandara D. (1999) Randomized study of CODE versus alternating CAV/EP for extensive-stage small-cell lung cancer: an Intergroup Study of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group and the Southwest Oncology Group. *J Clin Oncol*. 17:2300-8.
- Narisawa T, Fukaura Y, Tanida N, Hasebe M, Ito M, Aizawa R. (1996) Chemopreventive efficacy of low dose of pravastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in ICR mice. *Tohoku J Exp Med*. 180:131-8.
- Nau MM, Brooks BJ, Battey J, Sausville E, Gazdar AF, Kirsch IR, McBride OW, Bertness V, Hollis GF, Minna JD. (1985) L-myc, a new myc-related gene amplified and expressed in human small cell lung cancer. *Nature*. 318:69-73.
- Osterlind K, Hansen HH, Hansen HS, Dombernowsky P, Hansen M, Rørth M. (1986) Chemotherapy versus chemotherapy plus irradiation in limited small cell lung cancer. Results of a controlled trial with 5 years follow-up. *Br J Cancer*. 54:7-17.
- Ouadid-Ahidouch H, Le Bourhis X, Roudbaraki M, Toillon RA, Delcourt P, Prevarskaya N. (2001) Changes in the K<sup>+</sup> current-density of MCF-7 cells during progression through the cell cycle: possible involvement of a h-ether.a-gogo K<sup>+</sup> channel. *Receptors Channels*. 7:345-56.
- Ouadid-Ahidouch H, Roudbaraki M, Delcourt P, Ahidouch A, Joury N, Prevarskaya N. (2004) Functional and molecular identification of intermediate-conductance Ca(2+)-activated K(+) channels in breast cancer cells: association with cell cycle progression. *Am J Physiol Cell Physiol*. 287:C125-34.
- Paesmans M, Sculier JP, Lecomte J, Thiriaux J, Libert P, Sergysels R, Bureau G, Dabouis G, Van Cutsem O, Mommen P, Ninane V, Klastersky J. (2000) Prognostic factor for patients with small cell lung carcinoma: analysis of a series of 763 patients included in 4 consecutive prospective trials with a minimum follow up of 5 years. *Cancer*. 89:523-33.

- Pancrazio J, Viglione MP, Tabbara IA, Kim YI. (1989) Voltage dependent ion channels in small-cell lung cancer cells. *Cancer Res.* 49:5901-06.
- Pancrazio JJ, Tabbara IA, Kim YI. (1993) Voltage-activated K<sup>+</sup> conductance and cell proliferation in small-cell lung cancer. *Anticancer Res.* 13:1231-4.
- Pardo LA, del Camino D, Sánchez A, Alves F, Brüggemann A, Beckh S, Stühmer W. (1999) Oncogenic potential of EAG K(+) channels. *EMBO J.* 18:5540-7.
- Pardo LA. (2004) Voltage-Gated Potassium Channels in Cell Proliferation. *Physiology* 19:285–292.
- Pardo LA, Contreras-Jurado C, Zientkowska M, Alves F, Stühmer W. (2005) Role of voltage-gated potassium channels in cancer. *J Membr Biol.* 205:115-24.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. (2005) Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J. Clin.* 55:74–108.
- Payne DG, Murray N, Warde P. (1994) Small cell lung carcinoma: role of thoracic irradiation and its timing in relation to chemotherapy. *Bull Cancer.* 81:119-28.
- Plummer HK 3rd, Dhar M, Schuller HM. (2005) Expression of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in human lung cells. *Respir Res.* 6:29.
- Plunkett TA, Chrystal KF, Harper PG. (2003) Quality of life and the treatment of advanced lung cancer. *Clin Lung Cancer.* 5:28-32.
- Poplin EA, Aisner J, Van Echo DA, Whitacre M, Wiernik PH. (1982) CCNU, vincristine, methotrexate, and procarbazine treatment of relapsed small cell lung carcinoma. *Cancer Treat Rep.* 66:1557-9.
- Quoix E, Hedelin G, Popin E, Charloux A, Dietemann A, Seibert R, Roeslin N, Pauli G. (1993) Can we predict very short term survival in small cell lung cancer? *Lung Cancer.* 10:229-38.
- Radice PA, Matthews MJ, Ihde DC, Gazdar AF, Carney DN, Bunn PA, Cohen MH, Fossieck BE, Makuch RW, Minna JD. (1982) The clinical behavior of "mixed" small cell/large cell bronchogenic carcinoma compared to "pure" small cell subtypes. *Cancer.* 50:2894-902.
- Rauch U, Osende JI, Chesebro JH, Fuster V, Vorchheimer DA, Harris K, Harris P, Sandler DA, Fallon JT, Jayaraman S, Badimon JJ. (2000) Statins and cardiovascular diseases: the multiple effects of lipid-lowering therapy by statins. *Atherosclerosis.* 153:181-9.
- Rao S, Lowe M, Herliczek TW, Keyomarsi K. (1998) Lovastatin mediated G1 arrest in normal and tumor breast cells is through inhibition of CDK2 activity and redistribution of p21 and p27, independent of p53. *Oncogene.* 17:2393-402.
- Rao S, Porter DC, Chen X, Herliczek T, Lowe M, Keyomarsi K. (1999) Lovastatin-mediated G1 arrest is through inhibition of the proteasome, independent of hydroxymethyl glutaryl-CoA reductase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 96:7797-802.
- Reddy BS, Wang CX, Kong AN, Khor TO, Zheng X, Steele VE, Kopelovich L, Rao CV. (2006) Prevention of azoxymethane-induced colon cancer by combination of low doses of atorvastatin, aspirin, and celecoxib in F 344 rats. *Cancer Res.* 66:4542-6.
- Rein A, Schultz AM, Bader JP, Bassin RH. (1982) Inhibitors of glycosylation reverse retroviral interference. *Virology.* 119:185-92.

- Richards DM, Brogden RN, Heel RC, Speight TM, Avery GS. (1984) Astemizole. A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy. *Drugs*. 28:38-61.
- Rouzaire Dubois B & Dubois JM. (1998) K<sup>+</sup> channel block-induced mammalian neuroblastoma cell swelling—a possible mechanism to influence proliferation. *J Physiol*. 510: 93–102.
- Rubins JB, Greatens T, Kratzke RA, Tan AT, Polunovsky VA, Bitterman P. (1998) Lovastatin induces apoptosis in malignant mesothelioma cells. *Am J Respir Crit Care Med*. 157:1616-22.
- Sagman U, Maki E, Evans WK, Warr D, Shepherd FA, Sculier JP, Haddad R, Payne D, Pringle JF, Yeoh JL. (1991) Small cell carcinoma of the lung: derivation of a prognostic staging system. *J.Clin. Oncol*. 9:1639-49.
- Sahai E, Marshall CJ. (2002) RHO-GTPases and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2:133-42.
- Schumacher U, Adam E, Zangemeister-Wittke U, Gossrau R. (1996) Histochemistry of therapeutically relevant enzymes in human tumours transplanted into severe combined immunodeficient (SCID) mice: nitric oxide synthase-associated diaphorase, beta-D-glucuronidase and non-specific alkaline phosphatase. *Acta Histochem*. 98:381-7.
- Sculier JP, Paesmans M, Bureau G, Dabouis G, Libert P, Vandermoten G, Van Cutsem O, Berchier MC, Ries F, Michel J. (1993) Multiple-drug weekly chemotherapy versus standard combination regimen in small-cell lung cancer: a phase III randomized study conducted by the European Lung Cancer Working Party. *J Clin Oncol*. 11:1858-65.
- Sculier JP, Paesmans M, Lecomte J, Van Cutsem O, Lafitte JJ, Berghmans T, Koumakis G, Florin MC, Thiriaux J, Michel J, Giner V, Berchier MC, Mommen P, Ninane V, Klastersky J; European Lung Cancer Working Party. (2001) A three-arm phase III randomised trial assessing, in patients with extensive-disease small-cell lung cancer, accelerated chemotherapy with support of haematological growth factor or oral antibiotics. *Br J Cancer*. 85:1444-51.
- Sculier JP, Lafitte JJ, Lecomte J, Berghmans T, Thiriaux J, Van Cutsem O, Efremidis A, Ninane V, Paesmans M, Mommen P, Klastersky J; European lung cancer working party. (2002) A phase II randomised trial comparing the cisplatin-etoposide combination chemotherapy with or without carboplatin as second-line therapy for small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 13:1454-9.
- Sekine I, Nishiwaki Y, Noda K, Kudoh S, Fukuoka M, Mori K, Negoro S, Yokoyama A, Matsui K, Ohsaki Y, Nakano T, Saijo N; Japan Clinical Oncology Group (JCOG) Lung Cancer Study Group. (2003) Randomized phase II study of cisplatin, irinotecan and etoposide combinations administered weekly or every 4 weeks for extensive small-cell lung cancer (JCOG9902-DI). *Ann Oncol*. 14:709-14.
- Shan L, Aster JC, Sklar J, Sunday ME. (2007) Notch-1 regulates pulmonary neuroendocrine cell differentiation in cell lines and in transgenic mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 292:L500-9.
- Simon GR, Wagner H. (2003) Small cell lung cancer. *Chest*. 123:259S-71S.
- Souhami RL, Bradbury I. (1985) Prognostic significance of laboratory parameters measured at diagnosis in small cell carcinoma of the lung. *Cancer Res*. 45:2878-82.
- Souhami RL, Harper PG, Linch D, Trask C, Goldstone AH, Tobias JS, Spiro SG, Geddes DM, Richards JD. (1983) High-dose cyclophosphamide with autologous marrow

- transplantation for small cell carcinoma of the bronchus. *Cancer Chemother Pharmacol.* 10:205-7.
- Souhami RL, Geddes DM, Spiro SG, Harper PG, Tobias JS, Mantell BS, Fearon F, Bradbury I. (1984) Radiotherapy in small cell cancer of the lung treated with combination chemotherapy: a controlled trial. *Br Med J (Clin Res Ed).* 288:1643-6.
- Souhami RL, Hajichristou HT, Miles DW, Earl HM, Harper PG, Ash CM, Goldstone AH, Spiro SG, Geddes DM, Tobias JS. (1989) Intensive chemotherapy with autologous bone marrow transplantation for small-cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 24:321-5.
- Souhami RL, Rudd RM, Trask C, Spiro SG, Ruiz de Elvira M-C, James LE, Gower NH, Harper PG, Tobias JS, Partridge MR. (1998) Randomised trial comparing weekly with three weekly chemotherapy in small cell lung cancer: a Cancer Research Campaign trial. *Br J Cancer.* 86:1157-66.
- Spiro SG, Porter JC. (2002) Lung cancer – where are we today? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166:1166-96.
- Steward WP, von Pawel J, Gatzemeier U, Woll P, Thatcher N, Koschel G, Clancy L, Verweij J, de Wit R, Pfeifer W, Fennelly J, von Euff M, Frisch J. (1998) Effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and dose intensification of V-ICE chemotherapy in small-cell lung cancer: a prospective randomized study of 300 patients. *J Clin Oncol.* 16:642-50.
- Stuschke M, Pöttgen C. (2004) Localized small-cell lung cancer: which type of thoracic radiotherapy and which time schedule. *Lung Cancer.* 45:133-7.
- Sundstrom S, Bremnes RM, Kaasa S, Aasebo U, Aamdal S; Norwegian Lung Cancer Study Group. (2005) Second-line chemotherapy in recurrent small cell lung cancer. Results from a crossover schedule after primary treatment with cisplatin and etoposide (EP-regimen) or cyclophosphamide, epirubicin, and vincristin (CEV-regimen). *Lung Cancer.* 48:251-61.
- Thomas M, Gatzemeier U, Goerg R, Matthiesen W, Morr H, Schönfeld N, Ukena D, Stamatis G. (2000) Empfehlungen zur Diagnostik des Bronchialkarzinoms. Deutsche Gesellschaft für Pneumologie. *Pneumologie.* 54:361-71.
- Tokman MG, Porter RA, Williams CL. (1997) Regulation of cadherin-mediated adhesion by the small GTP-binding protein Rho in small cell lung carcinoma cells. *Cancer Res.* 57:1785-93.
- Touge H, Chikumi H, Igishi T, Kurai J, Makino H, Tamura Y, Takata M, Yoneda K, Nakamoto M, Suyama H, Gutkind JS, Shimizu E. (2007) Diverse activation states of RhoA in human lung cancer cells: contribution of G protein coupled receptors. *Int J Oncol.* 30:709-15.
- Travis WD, Rush W, Flieder DB, Falk R, Fleming MV, Gal AA, Koss MN. (1998) Survival analysis of 200 pulmonary neuroendocrine tumors with clarification of criteria for atypical carcinoid and its separation from typical carcinoid. *Am J Surg Pathol.* 22:934-44.
- Turner NA, Midgley L, O'Regan DJ, Porter KE. (2007) Comparison of the efficacies of five different statins on inhibition of human saphenous vein smooth muscle cell proliferation and invasion. *J Cardiovasc Pharmacol.* 50:458-61.
- Turrisi AT 3rd, Kim K, Blum R, Sause WT, Livingston RB, Komaki R, Wagner H, Aisner S, Johnson DH. (1999) Twice-daily compared with once-daily thoracic radiotherapy in limited small-cell lung cancer treated concurrently with cisplatin and etoposide. *N Engl J Med.* 340:265-71.

- Ukomadu C, Dutta A. (2003) p21-dependent inhibition of colon cancer cell growth by mevastatin is independent of inhibition of G1 cyclin-dependent kinases. *J Biol Chem.* 278:43586-94.
- Vaquero M, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Tamargo J, Delpón E. (2007) Effects of atorvastatin and simvastatin on atrial plateau currents. *J Mol Cell Cardiol.* 42:931-45.
- Varker KA, Phelps SH, King MM, Williams CL. (2003) The small GTPase RhoA has greater expression in small cell lung carcinoma than in non-small cell lung carcinoma and contributes to their unique morphologies. 22:671-81.
- Vorperian VR, Zhou Z, Mohammad S, Hoon TJ, Studenik C, January, CT. (1996) Torsade de pointes with an antihistamine metabolite, potassium channel blockade with desmethylastemizole. *J. Am. Coll. Cardiol.* 28:1556–61.
- Vyas KP, Kari PH, Pitzenberger SM, Halpin RA, Ramjit HG, Arison B. (1990a) Biotransformation of lovastatin. I. Structure elucidation of in vitro and in vivo metabolites in rat and mouse. *Drug Metab Dispos* 18: 203-11.
- Vyas KP, Kari PH, Prakash SR, Duggan SR. (1990b) Biotransformation of lovastatin. II. In vitro metabolism by rat and mouse liver microsomes and involvement of cytochrome P-450 in dehydrogenation. *Drug Metab Dispos.* 18:218-22.
- Vyas KP, Kari PH, Wang RW, Lu AYH. (1990c) Biotransformation of lovastatin- III. Effect of cimetidine and famotidine on in vitro metabolism by rat and human liver microsomes. *Biochem Pharmacol.* 39:67-73.
- Waddell TK, Shepherd FA. (2004) Should aggressive surgery ever be part of the management of small cell lung cancer? *Thorac Surg Clin.* 14:271-81.
- Wang RW, Kari PH, Lu AYH, Thomas PE, Guengerich FP, Vyas KP. (1991) Biotransformation of lovastatin. IV. Identification of cytochrome P450 3A proteins as the major enzymes responsible for oxidative metabolism of lovastatin in rat and human liver microsomes. *Arch Biochem Biophys.* 290:355-61.
- Warde P, Payne D. (1984) Does thoracic irradiation improve survival and local control in limited stage small cell carcinoma of the lung? A meta-analysis. *J. Clin. Oncol.* 2:1200-8.
- Watkins PB, Wrighton SA, Maurel P, Schuetz EG, Mendez-Picon G, Parker GA, Guzelian PS. (1985) Identification of an inducible form of cytochrome P-450 in human liver. *Proc natn Acad Sci USA.* 82:6310-6314.
- Weis M, Heeschen C, Glassford AJ, Cooke JP. (2002) Statins have biphasic effects on angiogenesis. *Circulation.* 105:739-45.
- Werner N, Nickenig G, Laufs U. (2002) Pleiotropic effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Basic Res Cardiol.* 97:105-16.
- Wolf M. (1998) Kleinzellige Bronchialkarzinome. Klinische Präsentation, Diagnostik und prognostische Faktoren. *Onkologe.* 4:1005-18.
- Wonderlin WF, Strobl JS. (1996) Potassium channels, proliferation and G1 progression. *J Membr Biol.* 154:91-107.
- Wu F, Grossenbacher D, Gehring H. (2007) New transition state-based inhibitor for human ornithine decarboxylase inhibits growth of tumor cells. *Mol Cancer Ther.* 6:1831-9.

Xiao H, Zhang Q, Lin Y, Reddy BS, Yang CS. (2008) Combination of atorvastatin and celecoxib synergistically induces cell cycle arrest and apoptosis in colon cancer cells. *Int J Cancer Int. J. Cancer.* 122:2115–24.

Yokota K, Miyazaki T, Hirano M, Akiyama Y, Mimura T. (2006) Simvastatin inhibits production of interleukin 6 (IL-6) and IL-8 and cell proliferation induced by tumor necrosis factor-alpha in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 33:463-71.

Zangemeister-Wittke U, Schenker T, Luedke GH, Stahel RA. (1998) Synergistic cytotoxicity of bcl-2 antisense oligodeoxynucleotides and etoposide, doxorubicin and cisplatin on small-cell lung cancer cell lines. *Br J Cancer.* 78:1035-42.

Zimmermann S, Wels W, Froesch BA, Gerstmayer B, Stahel RA, Zangemeister-Wittke U. (1997) A novel immunotoxin recognising the epithelial glycoprotein-2 has potent antitumoural activity on chemotherapy-resistant lung cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 44:1-9.

### Internetquellen

[http://www.akdae.de/35/95\\_Fettstoffwechsel\\_1999\\_2Auflage\\_K.pdf](http://www.akdae.de/35/95_Fettstoffwechsel_1999_2Auflage_K.pdf)  
– Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft, Handlungsleitlinie Fettstoffwechselstörungen aus Empfehlungen zur Therapie von Fettstoffwechselstörungen, 2. Auflage, Arzneiverordnung in der Praxis, Sonderheft, Juli 1999

<http://www.lgcpromochem-atcc.com/common/catalog/numSearch/numResults.cfm?atccNum=HTB-119>  
[atcc.com/common/catalog/numSearch/numResults.cfm?atccNum=HTB-175](http://www.lgcpromochem-atcc.com/common/catalog/numSearch/numResults.cfm?atccNum=HTB-175)  
– ATCC

<http://www.medizin.uni-tuebingen.de/itz/pdfinhal/bronch.pdf>  
– Gärtner V, Albes J, Brugger W, Budach W, Duda S, Friedel G, Hruska D, Sökler M, Uckmann FP. (1999) Bronchialkarzinom. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge.

<http://www.medizin.uni-tuebingen.de/itz/pdfinhal/bronch.pdf>  
– Krebs in Deutschland. Häufigkeiten und Trends. Herausgeber: Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. in Zusammenarbeit mit dem Robert-Koch-Institut. 5. überarbeitete, aktualisierte Ausgabe Saarbrücken, 2006

<http://www.emedicine.com/med/topic1336.htm>  
– Maghfoor I. (2005) Lung Cancer, Oat Cell (Small Cell).

<http://www.roche-applied-science.com/pack-insert/0236276b.pdf>  
– Roche

## 8 Anhang

### A Humane Fibroblasten

#### A1 Humane Fibroblasten und Atorvastatin

Tab. 8.1: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Atorvastatin auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,4643	5	0,0929	2,361	p < 0,05
innerhalb der Gruppen	3,067	78	0,0393		
gesamt	3,532	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001			-0,056	0,80	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01			-0,131	1,87	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05			-0,139	1,99	p > 0,05
Kontrolle vs 0,5			-0,087	1,24	p > 0,05
Kontrolle vs 1,0			0,083	1,19	p > 0,05

#### A2 Humane Fibroblasten und Lovastatin

Tab. 8.2: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Lovastatin auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	1,397	5	0,2793	38,05	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,4844	66	0,0073		
gesamt	1,881	71			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001			0,025	0,72	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01			0,048	1,37	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05			0,014	0,41	p > 0,05
Kontrolle vs 0,5			0,226	6,45	p < 0,001
Kontrolle vs 1,0			0,376	10,76	p < 0,001

### A3 Humane Fibroblasten und Astemizol

Tab. 8.3: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Astemizol auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,1649	5	0,0330	0,7897	p = 0,5603
innerhalb der Gruppen	3,257	78	0,0418		
gesamt	3,422	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 0,3	-0,018		0,24	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,6	-0,081		1,12	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,25	-0,099		1,37	p > 0,05	
Kontrolle vs 2,5	-0,106		1,47	p > 0,05	
Kontrolle vs 5,0	-0,014		0,19	p > 0,05	

### A4 Humane Fibroblasten mit Atorvastatin und Astemizol

Tab. 8.4: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 1,0 µM Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,001	5	0,4002	9,37	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,162	74	0,0427		
gesamt	5,163	79			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 1,0 / 0,3	0,241		3,18	p < 0,05	
Kontrolle vs 1,0 / 0,6	0,196		2,59	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,0 / 1,25	0,197		2,61	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,0 / 2,5	0,094		1,24	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,0 / 5,0	0,492		6,49	p < 0,001	

Tab. 8.5: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5 µM Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	3,679	5	0,7357	18,54	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,095	78	0,0397		
gesamt	6,774	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 0,5 / 0,3	0,080		1,14	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,5 / 0,6	0,099		1,40	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,5 / 1,25	0,076		1,08	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,5 / 2,5	0,055		0,78	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,5 / 5,0	0,641		9,10	p < 0,001	

Tab. 8.6: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	3,281	5	0,6561	13,84	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,697	78	0,0474		
gesamt	6,977	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,05 / 0,3			0,044	0,57	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 0,6			0,021	0,27	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 1,25			0,048	0,63	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 2,5			0,044	0,58	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 5,0			0,588	7,64	p < 0,001

Tab. 8.7: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,605	5	0,5210	8,585	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	4,733	78	0,0607		
gesamt	7,338	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,01 / 0,3			-0,011	0,13	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 0,6			0,043	0,50	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 1,25			0,083	0,95	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 2,5			0,039	0,45	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 5,0			0,522	5,99	p < 0,001

Tab. 8.8: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	3,854	5	0,7708	13,59	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	4,423	78	0,0567		
gesamt	8,277	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 / 0,3			0,017	0,20	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 0,6			-0,030	0,35	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 1,25			0,008	0,09	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 2,5			0,012	0,14	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 5,0			0,612	7,27	p < 0,001

Tab. 8.9: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Atorvastatin und Astemizol auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,38	3	1,4600	26,15	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,127	56	0,0559		
gesamt	7,508	59			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 200 µM Mevalonsäure	-0,004	0,05	p > 0,05		
Kontrolle vs Ator + Aste + Mevalonsr.	0,600	7,39	p < 0,001		
Ator + Aste + Mevalonsr. vs 1,0 / 5,0	-0,108	1,119	p > 0,05		

### A5 Humane Fibroblasten mit Lovastatin und Astemizol

Tab. 8.10: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 1,0 µM Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	5,305	5	1,0610	21,63	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	4,61	94	0,0490		
gesamt	9,915	99			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 1,0 / 0,3	0,306	4,27	p < 0,001		
Kontrolle vs 1,0 / 0,6	0,294	4,12	p < 0,01		
Kontrolle vs 1,0 / 1,25	0,232	3,24	p < 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 2,5	0,131	1,68	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 5,0	0,722	10,11	p < 0,001		

Tab. 8.11: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5 µM Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	7,01	5	1,4020	33,87	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,891	94	0,0414		
gesamt	10,9	99			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,5 / 0,3	0,244	3,71	p < 0,01		
Kontrolle vs 0,5 / 0,6	0,191	2,90	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 / 1,25	0,137	2,08	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 / 2,5	0,069	0,97	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 / 5,0	0,804	12,24	p < 0,001		

Tab. 8.12: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05  $\mu\text{M}$  Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	6,669	5	1,3340	34,84	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,752	98	0,0383		
gesamt	10,42	103			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,05 / 0,3			0,018	0,29	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 0,6			0,016	0,26	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 1,25			-0,009	0,15	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 2,5			-0,004	0,06	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 5,0			0,705	11,17	p < 0,001

Tab. 8.13: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu\text{M}$  Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	7,897	5	1,5790	38,89	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,98	98	0,0406		
gesamt	11,88	103			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,01 / 0,3			0,072	1,11	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 0,6			0,061	0,93	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 1,25			0,087	1,33	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 2,5			0,012	0,19	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 5,0			0,801	12,31	p < 0,001

Tab. 8.14: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu\text{M}$  Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	8,378	5	1,6760	45,80	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,585	98	0,0366		
gesamt	11,96	103			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 / 0,3			0,011	0,18	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 0,6			0,009	0,15	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 1,25			0,081	1,32	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 2,5			0,033	0,53	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 5,0			0,808	13,08	p < 0,001

Tab. 8.15: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Lovastatin und Astemizol auf humane Fibroblasten.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	8,829	3	2,9430	33,72	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	5,935	68	0,0873		
gesamt	14,76	71			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 200 µM Mevalonsäure			0,019	0,28	p > 0,05
Kontrolle vs Lova + Aste + Mevalonsr.			0,702	10,12	p < 0,001
200 µM Mevalonsäure vs Lova + Aste + Mevalonsr.			0,683	8,98	p < 0,001
Lova + Aste + Mevalonsr. vs 1,0 / 5,0			0,020	0,19	p > 0,05

## B H69-Zellen

### B1 H69-Zellen und Atorvastatin

Tab. 8.16: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Atorvastatin auf H69-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	1,017	5	0,2034	5,789	p < 0,001
innerhalb der Gruppen	3,127	89	0,0351		
gesamt	4,145	94			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 µM			-0,270	4,32	p < 0,001
Kontrolle vs 0,01 µM			-0,199	3,18	p < 0,05
Kontrolle vs 0,05 µM			-0,142	2,27	p > 0,05
Kontrolle vs 0,5 µM			-0,117	1,81	p > 0,05
Kontrolle vs 1,0 µM			0,024	0,39	p > 0,05

### B2 H69-Zellen und Astemizol

Tab. 8.17: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Astemizol auf H69-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,8284	5	0,1657	2,669	p < 0,05
innerhalb der Gruppen	5,525	89	0,0621		
gesamt	6,353	94			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,3 µM			-0,250	3,01	p > 0,05
Kontrolle vs 0,6 µM			-0,165	1,99	p > 0,05
Kontrolle vs 1,25 µM			-0,176	2,05	p > 0,05
Kontrolle vs 2,5 µM			-0,083	1,00	p > 0,05
Kontrolle vs 5,0 µM			-0,007	0,08	p > 0,05

## B4 H69 mit Atorvastatin und Astemizol

Tab. 8.18: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 1,0  $\mu$ M Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H69-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,611	5	0,9222	125,7	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,6752	92	0,0073		
gesamt	5,286	97			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 1,0 / 0,3	-0,004	0,15	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 0,6	0,002	0,08	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 1,25	0,116	4,11	p < 0,01		
Kontrolle vs 1,0 / 2,5	0,388	13,74	p < 0,001		
Kontrolle vs 1,0 / 5,0	0,652	21,53	p < 0,001		

Tab. 8.19: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5  $\mu$ M Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H69-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,597	5	0,9195	116,8	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,7245	92	0,0079		
gesamt	5,322	97			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,5 / 0,3	0,050	1,71	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 / 0,6	0,106	3,64	p < 0,01		
Kontrolle vs 0,5 / 1,25	0,168	5,76	p < 0,001		
Kontrolle vs 0,5 / 2,5	0,436	14,94	p < 0,001		
Kontrolle vs 0,5 / 5,0	0,658	20,96	p < 0,001		

Tab. 8.20: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05  $\mu$ M Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H69-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,361	5	0,8723	75,41	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,122	97	0,0116		
gesamt	5,483	102			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,05 / 0,3	-0,021	0,59	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 0,6	-0,023	0,65	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 1,25	0,023	0,66	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 2,5	0,154	4,35	p < 0,001		
Kontrolle vs 0,05 / 5,0	0,583	17,90	p < 0,001		

Tab. 8.21: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H69-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	3,122	5	0,6245	50,91	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,165	95	0,0123		
gesamt	4,288	100			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,01 / 0,3			-0,028	0,77	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 0,6			0,017	0,47	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 1,25			0,019	0,51	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 2,5			0,070	1,92	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 5,0			0,530	14,99	p < 0,001

Tab. 8.22: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H69-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	3,029	5	0,6058	53,1	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,072	94	0,0114		
gesamt	4,101	99			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 / 0,3			-0,042	1,20	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 0,6			-0,001	0,02	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 1,25			0,026	0,74	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 2,5			0,074	2,09	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 5,0			0,535	15,23	p < 0,001

Tab. 8.23: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Atorvastatin und Astemizol auf H69-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	6,771	3	2,2570	362,1	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,4363	70	0,0062		
gesamt	7,207	73			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 200 $\mu\text{M}$ Mevalonsäure			-0,074	2,67	p < 0,05
Kontrolle vs Ator + Aste + Mevalonsr.			0,634	22,79	p < 0,001
200 $\mu\text{M}$ Mevalonsäure vs Ator + Aste + Mevalonsr.			0,708	20,52	p < 0,001
Ator + Aste + Mevalonsr. vs 1,0 / 5,0			0,018	0,54	p > 0,05

**C H82-Zellen****C1 H82-Zellen und Atorvastatin**

Tab. 8.24: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Atorvastatin auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,03762	5	0,0075	0,3273	p = 0,8953
innerhalb der Gruppen	2,023	88	0,0230		
gesamt	2,06	93			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 0,001 µM	-0,053		1,04	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,01 µM	-0,021		0,42	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,05 µM	-0,018		0,34	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,5 µM	-0,006		0,12	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,0 µM	0,018		0,36	p > 0,05	

**C2 H82-Zellen und Lovastatin**

Tab. 8.25: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Lovastatin auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,007642	5	0,0015	0,1656	p = 0,9743
innerhalb der Gruppen	0,609	66	0,0092		
gesamt	0,6166	71			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 0,001 µM	0,001		0,03	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,01 µM	-0,004		0,11	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,05 µM	-0,004		0,09	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,5 µM	-0,027		0,69	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,0 µM	0,004		0,09	p > 0,05	

**C3 H82-Zellen und Astemizol**

Tab. 8.26: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Astemizol auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,7816	5	0,1563	7,897	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,722	87	0,0198		
gesamt	2,504	92			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 0,3 µM	-0,039		0,84	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,6 µM	-0,022		0,47	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,25 µM	-0,028		0,55	p > 0,05	
Kontrolle vs 2,5 µM	0,012		0,26	p > 0,05	
Kontrolle vs 5,0 µM	0,258		5,49	p < 0,001	

#### C4 H82-Zellen mit Atorvastatin und Astemizol

Tab. 8.27: Daten der One-way ANOVA für die Wirkung von 1,0 µM Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,226	5	0,4452	62,34	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,5571	78	0,0071		
gesamt	2,783	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 1,0 / 0,3	0,215	7,19	p < 0,001		
Kontrolle vs 1,0 / 0,6	0,185	6,21	p < 0,001		
Kontrolle vs 1,0 / 1,25	0,231	7,73	p < 0,001		
Kontrolle vs 1,0 / 2,5	0,371	12,41	p < 0,001		
Kontrolle vs 1,0 / 5,0	0,475	15,91	p < 0,001		

Tab. 8.28: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5 µM Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,159	5	0,4318	48,05	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,719	80	0,008987		
gesamt	2,878	85			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,5 / 0,3	0,125	3,93	p < 0,01		
Kontrolle vs 0,5 / 0,6	0,130	3,87	p < 0,01		
Kontrolle vs 0,5 / 1,25	0,190	5,66	p < 0,001		
Kontrolle vs 0,5 / 2,5	0,315	9,40	p < 0,001		
Kontrolle vs 0,5 / 5	0,481	14,36	p < 0,001		

Tab. 8.29: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05 µM Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,037	5	0,4073	33,05	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,9614	78	0,01233		
gesamt	2,998	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,05 / 0,3	0,017	0,44	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 0,6	0,017	0,44	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 1,25	0,075	1,91	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 2,5	0,228	5,81	p < 0,001		
Kontrolle vs 0,05 / 5,0	0,446	11,37	p < 0,001		

Tab. 8.30: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	1,786	5	0,3571	24,27	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	1,148	78	0,01471		
gesamt	2,933	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,01 / 0,3	-0,012	0,29	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,01 / 0,6	0,002	0,04	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,01 / 1,25	0,029	0,68	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,01 / 2,5	0,135	3,16	$p < 0,05$		
Kontrolle vs 0,01 / 5,0	0,420	9,80	$p < 0,001$		

Tab. 8.31: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	1,772	5	0,3544	18,45	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	1,498	78	0,01921		
gesamt	3,27	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,001 / 0,3	-0,038	0,77	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,001 / 0,6	-0,009	0,17	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,001 / 1,25	0,044	0,90	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,001 / 2,5	0,165	3,37	$p < 0,05$		
Kontrolle vs 0,001 / 5,0	0,404	8,24	$p < 0,001$		

Tab. 8.32: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Atorvastatin und Astemizol auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	1,892	2	0,9461	76,88	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	0,5538	45	0,01231		
gesamt	2,446	47			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 200 $\mu\text{M}$ Mevalonsäure	-0,056	1,59	$p > 0,05$		
Kontrolle vs Ator + Aste + Mevalonsr.	0,437	12,29	$p < 0,001$		
200 $\mu\text{M}$ Mevalonsäure vs Ator + Aste + Mevalonsr.	0,483	13,18	$p < 0,001$		
Ator + Aste + Mevalonsr. vs 1,0 / 5,0	0,046	1,09	$p > 0,05$		

## C5 H82-Zellen und Lovastatin

Tab. 8.33: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 1,0  $\mu$ M Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

One-way ANOVA					
	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
zwischen den Gruppen	2,15	5	0,43	68,49	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	0,4897	78	0,006278		
gesamt	2,64	83			
Bonferroni's Multiple Comparison Test					
	Mittlere Differenz	t	p Wert		
Kontrolle vs 1,0 / 0,3	-0,032	1,15	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 1,0 / 0,6	-0,005	0,17	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 1,0 / 1,25	0,014	0,50	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 1,0 / 2,5	0,069	2,45	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 1,0 / 5,0	0,458	16,33	$p < 0,001$		

Tab. 8.34: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5  $\mu$ M Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

One-way ANOVA					
	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
zwischen den Gruppen	2,434	5	0,4867	131,3	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	0,2891	78	0,003707		
gesamt	2,723	83			
Bonferroni's Multiple Comparison Test					
	Mittlere Differenz	t	p Wert		
Kontrolle vs 0,5 / 0,3	-0,011	0,51	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,5 / 0,6	0,013	0,62	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,5 / 1,25	-0,004	0,17	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,5 / 2,5	0,063	2,91	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,5 / 5,0	0,492	22,87	$p < 0,001$		

Tab. 8.35: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05  $\mu$ M Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

One-way ANOVA					
	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
zwischen den Gruppen	2,198	5	0,4396	83,64	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	0,41	78	0,005256		
gesamt	2,608	83			
Bonferroni's Multiple Comparison Test					
	Mittlere Differenz	t	p Wert		
Kontrolle vs 0,05 / 0,3	0,012	0,46	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,05 / 0,6	0,039	1,51	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,05 / 1,25	0,049	1,91	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,05 / 2,5	0,121	4,73	$p < 0,001$		
Kontrolle vs 0,05 / 5,0	0,486	18,94	$p < 0,001$		

Tab. 8.36: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu$ M Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,054	5	0,4109	81,59	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	0,3878	77	0,005036		
gesamt	2,442	82			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,01 / 0,3	-0,017	0,67	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,01 / 0,6	0,040	1,56	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,01 / 1,25	0,030	1,21	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,01 / 2,5	0,058	2,30	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,01 / 5,0	0,460	18,35	$p < 0,001$		

Tab. 8.37: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu$ M Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,387	5	0,4774	143,6	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	0,2594	78	0,003325		
gesamt	2,646	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,001 / 0,3	0,040	1,96	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,001 / 0,6	0,031	1,52	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,001 / 1,25	0,027	1,34	$p > 0,05$		
Kontrolle vs 0,001 / 2,5	0,083	4,08	$p < 0,01$		
Kontrolle vs 0,001 / 5,0	0,506	24,83	$p < 0,001$		

Tab. 8.38: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Lovastatin und Astemizol auf H82-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,404	3	0,8014	81,46	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	0,5509	56	0,009838		
gesamt	2,955	59			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 200 $\mu$ M Mevalonsäure	0,023	0,71	$p > 0,05$		
Kontrolle vs Lova +Aste+ Mevalosr.	0,365	11,40	$p < 0,001$		
200 $\mu$ M Mevalonsäure vs Lova +Aste+ Mevalosr.	0,343	9,26	$p < 0,001$		
Lova +Aste+ Mevalosr. vs 1,0 / 5,0	0,092	2,28	$p > 0,05$		

**D OH1-Zellen****D1 OH1-Zellen und Atorvastatin**

Tab. 8.39: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Atorvastatin auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,2252	5	0,0450	0,9996	p = 0,4228
innerhalb der Gruppen	4,009	89	0,0451		
gesamt	4,234	94			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 0,001 µM	-0,121		1,71	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,01 µM	-0,101		1,42	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,05 µM	-0,083		1,13	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,5 µM	-0,075		1,06	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,0 µM	-0,004		0,05	p > 0,05	

**D2 OH1-Zellen und Lovastatin**

Tab. 8.40: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Lovastatin auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,6708	5	0,1342	5,339	p > 0,05
innerhalb der Gruppen	1,659	66	0,0251		
gesamt	2,329	71			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 0,001	0,017		0,26	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,01	0,031		0,48	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,05	0,130		2,01	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,5	0,229		3,54	p < 0,05	
Kontrolle vs 1,0	0,230		3,56	p < 0,05	

**D3 OH1-Zellen und Astemizol**

Tab. 8.41: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Astemizol auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	1,045	5	0,2090	3,444	p < 0,05
innerhalb der Gruppen	5,462	90	0,0607		
gesamt	6,507	95			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>		<b>t</b>	<b>p Wert</b>	
Kontrolle vs 0,3 µM	-0,231		2,81	p > 0,05	
Kontrolle vs 0,6 µM	-0,240		2,92	p > 0,05	
Kontrolle vs 1,25 µM	-0,222		2,70	p > 0,05	
Kontrolle vs 2,5 µM	-0,155		1,89	p > 0,05	
Kontrolle vs 5 µM	-0,041		0,50	p > 0,05	

Tab. 8.42: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Lovastatin und Mevalonsäure auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,1068	4	0,0267	4,632	p < 0,05
innerhalb der Gruppen	0,2018	35	0,0058		
gesamt	0,3086	39			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,5 / 0			0,028	0,72	P > 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 200			0,061	1,61	p > 0,05
Kontrolle vs 1,0 / 0			0,133	3,51	p < 0,05
Kontrolle vs 1,0 / 200			0,121	3,18	p < 0,05
0,5 / 0 vs 0,5 / 200			0,034	0,89	p > 0,05
1,0 / 0 vs 1,0 / 200			-0,013	0,34	p > 0,05

**D4 OH1-Zellen mit Atorvastatin und Astemizol**

Tab. 8.43: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 1,0 µM Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	5,507	5	1,1010	78,05	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,312	93	0,0141		
gesamt	6,82	98			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 1,0 / 0,3			0,151	3,73	p < 0,01
Kontrolle vs 1,0 / 0,6			0,141	3,61	p < 0,01
Kontrolle vs 1,0 / 1,25			0,172	4,39	p < 0,001
Kontrolle vs 1,0 / 2,5			0,363	9,29	p < 0,001
Kontrolle vs 1,0 / 5,0			0,742	18,97	p < 0,001

Tab. 8.44: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5 µM Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,85	5	0,9701	76,96	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,172	93	0,0126		
gesamt	6,023	98			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,5 / 0,3			0,134	3,50	p < 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 0,6			0,112	3,04	p < 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 1,25			0,166	4,49	p < 0,001
Kontrolle vs 0,5 / 2,5			0,291	7,87	p < 0,001
Kontrolle vs 0,5 / 5,0			0,707	19,14	p < 0,001

Tab. 8.45: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,238	5	0,8475	37,53	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	2,1	93	0,0226		
gesamt	6,338	98			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,05 / 0,3			0,056	1,14	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 0,6			0,067	1,35	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 1,25			0,055	1,07	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 2,5			0,232	4,69	p < 0,001
Kontrolle vs 0,05 / 5,0			0,651	13,17	p < 0,001

Tab. 8.46: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,314	5	0,8628	54,05	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,469	92	0,0160		
gesamt	5,782	97			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,01 / 0,3			-0,036	0,86	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 0,6			0,061	1,46	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 1,25			0,060	1,35	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 2,5			0,130	3,13	p < 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 5,0			0,651	15,67	p < 0,001

Tab. 8.47: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	2,936	5	0,5872	18,15	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,042	94	0,0324		
gesamt	5,978	99			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 / 0,3			0,055	0,93	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 0,6			0,042	0,71	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 1,25			-0,009	0,15	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 2,5			0,145	2,45	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 5,0			0,539	9,10	p < 0,001

Tab. 8.48: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Atorvastatin und Astemizol auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	8,115	3	2,7050	173,00	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,063	68	0,0156		
gesamt	9,178	71			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 200 µM Mevalonsäure			-0,015	0,23	p > 0,05
Kontrolle vs Ator + Aste + Mevalonsr.			0,501	7,40	p < 0,001
200 µM Mevalonsäure vs Ator + Aste + Mevalonsr.			0,516	6,15	p < 0,001
Ator + Aste + Mevalonsr. vs 1,0 / 5,0			-0,010	0,17	p > 0,05

**D5 OH1-Zellen mit Lovastatin und Astemizol**

Tab. 8.49: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 1,0 µM Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,649	5	0,9298	101	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,672	73	0,0092		
gesamt	5,321	78			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 1,0 / 0,3			0,074	2,10	p > 0,05
Kontrolle vs 1,0 / 0,6			0,056	1,42	p > 0,05
Kontrolle vs 1,0 / 1,25			0,085	2,52	p > 0,05
Kontrolle vs 1,0 / 2,5			0,235	6,91	p < 0,001
Kontrolle vs 1,0 / 5,0			0,719	21,19	p < 0,001

Tab. 8.50: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5 µM Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,246	5	0,8493	81	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,8178	78	0,0105		
gesamt	5,064	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,5 / 0,3			0,122	3,36	p < 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 0,6			0,128	3,53	p < 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 1,25			0,121	3,35	p < 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 2,5			0,227	6,26	p < 0,001
Kontrolle vs 0,5 / 5,0			0,707	19,53	p < 0,001

Tab. 8.51: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05  $\mu$ M Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,671	5	0,9342	86,95	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,8273	77	0,0107		
gesamt	5,498	82			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,05 / 0,3			0,110	3,01	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 0,6			0,102	2,79	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 1,25			0,126	3,44	p < 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 2,5			0,256	6,99	p < 0,001
Kontrolle vs 0,05 / 5,0			0,757	20,06	p < 0,001

Tab. 8.52: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu$ M Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,745	5	0,9489	73,71	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	1,004	78	0,0129		
gesamt	5,749	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,01 / 0,3			0,003	0,08	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 0,6			0,041	1,02	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 1,25			0,053	1,33	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 2,5			0,103	2,57	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 5,0			0,705	17,58	p < 0,001

Tab. 8.53: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu$ M Lovastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	4,694	5	0,9389	75,79	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,9662	78	0,0124		
gesamt	5,661	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 / 0,3			0,047	1,19	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 0,6			0,012	0,30	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 1,25			0,031	0,78	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 2,5			0,082	2,09	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 5,0			0,700	17,78	p < 0,001

Tab. 8.54: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Lovastatin und Astemizol auf OH1-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	7,975	3	2,6580	281,6	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	0,5287	56	0,0094		
gesamt	8,503	59			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 200 µM Mevalonsäure			0,015	0,45	p > 0,05
Kontrolle vs Lova + Aste + Mevalonsr.			0,778	23,06	p < 0,001
200 µM Mevalonsäure vs Lova + Aste + Mevalonsr.			0,762	19,58	p < 0,001
Lova + Aste + Mevalonsr. vs 1,0 / 5,0			-0,059	1,48	p > 0,05

## E OH3-Zellen

### E1 OH3-Zellen und Atorvastatin

Tab. 8.55: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Atorvastatin auf OH3-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,5012	5	0,1002	1,483	p = 0,2031
innerhalb der Gruppen	6,082	90	0,0676		
gesamt	6,583	95			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 µM			0,105	1,21	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 µM			0,074	0,86	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 µM			0,043	0,50	p > 0,05
Kontrolle vs 0,5 µM			-0,081	0,93	p > 0,05
Kontrolle vs 1,0 µM			-0,130	1,50	p > 0,05

### E2 OH3-Zellen und Astemizol

Tab. 8.56: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Astemizol auf OH3-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	0,367	5	0,0734	1,042	p = 0,3985
innerhalb der Gruppen	6,059	86	0,0705		
gesamt	6,426	91			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,3 µM			0,182	2,06	p > 0,05
Kontrolle vs 0,6 µM			0,118	1,33	p > 0,05
Kontrolle vs 1,25 µM			0,061	0,68	p > 0,05
Kontrolle vs 2,5 µM			0,053	0,59	p > 0,05
Kontrolle vs 5,0 µM			0,110	1,06	p > 0,05

## E3 OH3-Zellen mit Atorvastatin und Astemizol

Tab. 8.57: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 1,0  $\mu$ M Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH3-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	11,27	5	2,2540	40,19	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	4,375	78	0,0561		
gesamt	15,65	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 1,0 / 0,3	-0,012	0,14	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 0,6	0,033	0,39	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 1,25	0,108	1,29	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 2,5	0,089	1,07	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 5,0	1,076	12,85	p < 0,001		

Tab. 8.58: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5  $\mu$ M Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH3-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	9,593	5	1,9190	31,15	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	4,804	78	0,0616		
gesamt	14,4	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,5 / 0,3	-0,004	0,05	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 / 0,6	0,007	0,08	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 / 1,25	0,008	0,09	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 / 2,5	0,004	0,05	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 / 5,0	0,968	11,03	p < 0,001		

Tab. 8.59: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05  $\mu$ M Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH3-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	17,44	5	3,4880	50,8	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	5,287	77	0,0687		
gesamt	22,72	82			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
	<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>		
Kontrolle vs 0,05 / 0,3	-0,087	0,94	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 0,6	-0,026	0,28	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 1,25	-0,059	0,62	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 2,5	0,105	1,14	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 / 5,0	1,283	13,85	p < 0,001		

Tab. 8.60: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH3-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	9,869	5	1,9740	25,75	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	5,979	78	0,0767		
gesamt	15,85	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,01 / 0,3			-0,032	0,32	$p > 0,05$
Kontrolle vs 0,01 / 0,6			-0,047	0,48	$p > 0,05$
Kontrolle vs 0,01 / 1,25			-0,013	0,14	$p > 0,05$
Kontrolle vs 0,01 / 2,5			-0,002	0,02	$p > 0,05$
Kontrolle vs 0,01 / 5,0			0,963	9,84	$p < 0,001$

Tab. 8.61: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf OH3-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	11,38	5	2,2760	34,33	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	5,17	78	0,0663		
gesamt	16,55	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 / 0,3			-0,030	0,33	$p > 0,05$
Kontrolle vs 0,001 / 0,6			-0,036	0,39	$p > 0,05$
Kontrolle vs 0,001 / 1,25			-0,006	0,07	$p > 0,05$
Kontrolle vs 0,001 / 2,5			-0,006	0,07	$p > 0,05$
Kontrolle vs 0,001 / 5,0			1,038	11,41	$p < 0,001$

Tab. 8.62: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Atorvastatin und Astemizol auf OH3-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	19,36	3	6,4520	51,43	$p < 0,0001$
innerhalb der Gruppen	7,526	60	0,1254		
gesamt	26,88	63			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 200 $\mu\text{M}$ Mevalonsäure			-0,051	0,42	$p > 0,05$
Kontrolle vs Ator + Aste + Mevalonsr.			1,102	10,11	$p < 0,001$
200 $\mu\text{M}$ Mevalonsäure vs Ator + Aste + Mevalonsr.			1,153	8,94	$p < 0,001$
Ator + Aste + Mevalonsr. vs 1,0 / 5,0			-0,026	0,19	$p > 0,05$

## F SW2-Zellen

### F1 SW2-Zellen und Atorvastatin

Tab. 8.63: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Atorvastatin auf SW2-Zellen.

One-way ANOVA					
	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
zwischen den Gruppen	0,1171	5	0,0234	0,4478	p = 0,8138
innerhalb der Gruppen	4,705	90	0,0523		
gesamt	4,822	95			
Bonferroni's Multiple Comparison Test					
	Mittlere Differenz	t	p Wert		
Kontrolle vs 0,001 µM	-0,054	0,71	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,01 µM	0,015	0,19	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,05 µM	-0,059	0,78	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,5 µM	-0,073	0,96	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 µM	0,023	0,31	p > 0,05		

### F2 SW2-Zellen und Astemizol

Tab. 8.64: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Astemizol auf SW2-Zellen.

One-way ANOVA					
	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
zwischen den Gruppen	2,102	5	0,4204	5,93	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	6,381	90	0,0709		
gesamt	8,484	95			
Bonferroni's Multiple Comparison Test					
	Mittlere Differenz	t	p Wert		
Kontrolle vs 0,3 µM	-0,051	0,57	p > 0,05		
Kontrolle vs 0,6 µM	0,000	0,00	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,25 µM	0,054	0,61	p > 0,05		
Kontrolle vs 2,5 µM	0,158	1,78	p > 0,05		
Kontrolle vs 5,0 µM	0,435	4,90	p < 0,001		

### F3 SW2-Zellen mit Atorvastatin und Astemizol

Tab. 8.65: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 1,0 µM Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf SW2-Zellen.

One-way ANOVA					
	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
zwischen den Gruppen	10,88	5	2,1760	24,19	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	7,017	78	0,0900		
gesamt	17,9	83			
Bonferroni's Multiple Comparison Test					
	Mittlere Differenz	t	p Wert		
Kontrolle vs 1,0 / 0,3	0,030	0,28	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 0,6	0,172	1,62	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 1,25	0,141	1,33	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 2,5	0,196	1,85	p > 0,05		
Kontrolle vs 1,0 / 5,0	1,095	10,33	p < 0,001		

Tab. 8.66: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,5  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf SW2-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	11,53	5	2,3070	40,27	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	4,468	78	0,0573		
gesamt	16	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,5 / 0,3			0,002	0,02	p > 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 0,6			0,045	0,53	p > 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 1,25			0,043	0,51	p > 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 2,5			0,108	1,27	p > 0,05
Kontrolle vs 0,5 / 5,0			1,087	12,84	p < 0,001

Tab. 8.67: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,05  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf SW2-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	10,24	5	2,0480	21,49	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	7,433	78	0,0953		
gesamt	17,67	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,05 / 0,3			-0,022	0,20	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 0,6			0,058	0,53	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 1,25			-0,001	0,00	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 2,5			0,111	1,02	p > 0,05
Kontrolle vs 0,05 / 5,0			1,015	9,30	p < 0,001

Tab. 8.68: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,01  $\mu\text{M}$  Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf SW2-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	6,09	5	1,2180	11,43	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	8,311	78	0,1066		
gesamt	14,4	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,01 / 0,3			-0,017	0,15	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 0,6			0,016	0,14	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 1,25			0,151	1,31	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 2,5			0,137	1,18	p > 0,05
Kontrolle vs 0,01 / 5,0			0,796	6,89	p < 0,001

Tab. 8.69: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von 0,001  $\mu$ M Atorvastatin und verschiedenen Astemizol-Konzentrationen auf SW2-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	3,032	5	0,6065	9,383	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	5,042	78	0,0646		
gesamt	8,074	83			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 0,001 / 0,3			-0,018	0,20	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 0,6			-0,027	0,31	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 1,25			0,003	0,03	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 2,5			0,091	1,01	p > 0,05
Kontrolle vs 0,001 / 5,0			0,541	6,02	p < 0,001

Tab. 8.70: Daten der One-way ANOVA und des Bonferroni's Multiple Comparison Tests für die Wirkung von Mevalonsäure mit Atorvastatin und Astemizol auf SW2-Zellen.

<b>One-way ANOVA</b>					
	<b>Quadratsumme</b>	<b>df</b>	<b>Mittel der Quadrate</b>	<b>F</b>	<b>Signifikanz</b>
zwischen den Gruppen	12,93	3	4,3100	57,54	p < 0,0001
innerhalb der Gruppen	3,82	51	0,0749		
gesamt	16,75	54			
<b>Bonferroni's Multiple Comparison Test</b>					
			<b>Mittlere Differenz</b>	<b>t</b>	<b>p Wert</b>
Kontrolle vs 200 $\mu$ M Mevalonsäure			0,012	0,13	p > 0,05
Kontrolle vs Ator + Aste + Mevalonsr.			1,093	11,64	p < 0,001
200 $\mu$ M Mevalonsäure vs Ator + Aste + Mevalonsr.			1,081	10,16	p < 0,001
Ator + Aste + Mevalonsr. vs 1,0 / 5,0			0,190	1,39	p > 0,05

## G Zellinieneigenschaften

Tab. 8.71: Eigenschaften von klassischen, biochemisch varianten und morphologisch varianten kleinzelligen Bronchialkarzinomzellen.

		Literatur	
<b>klassisch</b>	hohe Expression von endokrinen Zelldifferenzierungsmarkern	Carney <i>et al.</i> , 1985 Gazdar <i>et al.</i> , 1985	
	Strahlensensibilität	Carney <i>et al.</i> , 1983 Morstyn <i>et al.</i> , 1984 Goodwin <i>et al.</i> , 1983	
	geringe c-myc Genexpression	Little <i>et al.</i> , 1983 Nau <i>et al.</i> , 1985	
	Feste Zell-Zell-Verbindung	Gazdar <i>et al.</i> , 1985	
	niedrige Effizienz beim Klonieren	Gazdar <i>et al.</i> , 1985	
	<b>biochemisch variant</b>	niedrige Expression von endokrinen Zelldifferenzierungs-Markern	Carney <i>et al.</i> , 1985 Gazdar <i>et al.</i> , 1985
		relative Strahlenresistenz	Carney <i>et al.</i> , 1983 Morstyn <i>et al.</i> , 1984 Goodwin <i>et al.</i> , 1983
hohe Wachstumsrate		Carney <i>et al.</i> , 1983 Morstyn <i>et al.</i> , 1984 Goodwin <i>et al.</i> , 1983	
erhöhte Expression der MYC –Familie		Little <i>et al.</i> , 1983 Nau <i>et al.</i> , 1985	
feste Zell-Zell-Verbindung		Gazdar <i>et al.</i> , 1985	
niedrige Effizienz beim Klonieren		Gazdar <i>et al.</i> , 1985	
<b>morphologisch variant</b>		dem nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom ähnlich	Carney <i>et al.</i> , 1985 Gazdar <i>et al.</i> , 1985 Gazdar <i>et al.</i> , 1981
	Amplifikation und erhöhte Expression des c-myc Onkogens	Little <i>et al.</i> , 1983	
	Patienten weisen ein schlechteres Therapieansprechen sowie eine kürzere Überlebenszeit auf	Radice <i>et al.</i> , 1982	
	lose Zell-Zell-Verbindung	Gazdar <i>et al.</i> , 1985	
	teilweise adhärentes Wachstum	Gazdar <i>et al.</i> , 1985	
	erhöhte Effizienz beim Klonieren	Gazdar <i>et al.</i> , 1985	

Tab. 8.72: Eigenschaften der Zelllinien H69 und H82 nach (Carney *et al.*, 1985).

	Geschlecht	behandelt	DD (E/mg)	BLI (pmol/mg)	NSE (ng/mg)	CK-BB (ng/mg)	klassisch / variant	Literatur
<b>H69</b>	m	Ja	240	1,7	817	15921	k	Carney <i>et al.</i> , 1985
<b>H82</b>	m	Ja	0,6	0,2	317	6340	v	

BLI = Bombesin-like immunoreactivity, DD = Dopa Decarboxylase, k = klassisch, v = variant, NSE = neuronenspezifische Enolase

Tab. 8.73: Eigenschaften der Zelllinien H69 und OH1 nach (Gazdar *et al.*, 1980).

	Tumor-entstehung in <i>Nude Mice</i>	Verdoppelungszeit (h)	CFE (%)	DNA Index	DD Aktivität	Formaldehyd-induzierte Fluoreszenz Kein + 5-Hydroxy-L-Tryptophan	+ Dopa	Neurosekretorische Granula	Literatur
<b>H69</b>	Ja	65	2,5	0,97	264	schwach	stark	Ja	Gazdar <i>et al.</i> , 1980
<b>OH 1</b>	Ja	70	0,03	1,53	404	schwach	stark	Ja	

CFE = Anwachsrate (in Agarose), DD = Dopa Decarboxylase

## **Danksagung**

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. U. Schumacher für die Überlassung des interessanten Themas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes sowie für die Motivation, die ständige Diskussionsbereitschaft und die konstruktiven Vorschläge.

Ich danke Herrn Prof. Dr. T. Eschenhagen und Herrn Prof. Dr. H.-E. Laack für die Erstellung der Gutachten.

Überaus dankbar bin ich Dr. H. Gustke für ihre geduldige Unterstützung, die Diskussionen über Wissenschaft und die anderen wichtigen Dinge des Lebens sowie dafür, dass sie mich stets anspornte und mir immer hilfsbereit zur Seite stand.

Herrn Dr. R. Müller bin ich dankbar für die Durchführung der Zellzyklusanalyse.

Frau E. Schäfer danke ich für die elektronenmikroskopischen Aufnahmen.

Bei den MTAs und den wissenschaftlichen Mitarbeitern des Instituts für Anatomie II möchte ich mich für die Ratschläge, die Unterstützung sowie für die schöne Zusammenarbeit bedanken. Insbesondere danke ich Herrn K. Siebert und Frau R. Gehrcke für die Einarbeitung und die Hilfestellung in der Zellkultur.

Für die Hilfe bei Zweifeln in Grammatik und Rechtschreibung danke ich Frau Julika Binder.

Meiner Schwester Karin Nagel danke ich für die Gespräche, die mir den Rücken stärkten.

Bei meinem Freund Sascha Kleiner bedanke ich mich für die liebevolle Unterstützung, für sein Verständnis und seine Motivation.

Mein tief empfundener Dank gilt meinen Eltern für die Möglichkeit, Medizin zu studieren, für die Kraft, die Liebe und ihr Vertrauen in mich, die mich durch mein Studium und durch mein ganzes Leben begleitet haben.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Eva Luise Nagel  
Geburtsdatum / -ort: 17. Juli 1979 / München

### Schulbildung

09 / 1985 – 07 / 1992 Rudolf - Steiner - Schule, München  
08 / 1992 – 07 / 1998 Rudolf - Steiner - Schule, Hamburg  
Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife

### Hochschulausbildung

03 / 1999 – 10 / 2006 Studium der Medizin, Universität Hamburg  
03 / 2002 Physikum  
03 / 2003 Erstes Staatsexamen  
08 / 2005 Zweites Staatsexamen  
10 / 2006 Drittes Staatsexamen

### Berufliche Tätigkeit

04 / 2007 – 05 / 2008 Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Institut für Anatomie II - Experimentelle Morphologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf  
seit 05 / 2008 Assistenzärztin in der Abteilung für Frauenheilkunde und Geburtshilfe im Krankenhaus Buchholz

## **Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift: .....

Eva Nagel