Aus dem Deutschen Diabetes-Zentrum
Leibniz-Zentrum für Diabetesforschung
an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Institut für Klinische Diabetologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. Michael Roden

Adrenomedullin-Serumspiegel bei Patienten mit Diabetes mellitus und Pankreasneoplasie

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

vorgelegt von

Ann-Christin Schlichting
2021

Als Inauguraldissertaion gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:
Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker
Erstgutachter: PD Dr. Volker Burkart
Zweitgutachter: Prof. Dr. Sven Schinner

Zusammenfassung

Der Diabetes des exokrinen Pankreas (DEP), früher auch als Typ-3c-Diabetes bezeichnet, wird durch Erkrankungen des exokrinen Pankreas verursacht. Häufige Ursache des DEP ist das duktale Adenokarzinom. Welche Mechanismen bei der Entstehung von DEP bei duktalen Adenokarzinomen eine Rolle spielen, ist bisher unbekannt. Die Ergebnisse früherer Arbeiten weisen darauf hin, dass nicht die Tumorausbreitung im Pankreas selbst, sondern tumorassoziierte Mediatoren zur Störung der Glukosehomöostase beitragen. Aktuelle Befunde diskutieren das ubiquitär vorkommende Peptidhormon Adrenomedullin (ADM) als einen der Mediatoren. Das Ziel der Untersuchungen war die Aufklärung einer möglichen Assoziation zwischen peripheren ADM-Spiegeln und gestörter Glukosehomöostase bei Patienten mit Diabetes und Pankreasneoplasien, insbesondere duktalen Adenokarzinomen.

Das untersuchte Patientenkollektiv bestand aus Patienten mit potenziell resektablen Pankreasneoplasien ohne Diabetes (ND) (n = 64; Alter 68 ± 1 Jahr; 30 weiblich / 34 männlich; *Body Mass Index* (BMI) 24,9 ± 0,6 kg/m^2), Patienten mit Typ-2-Diabetes (T2D) (n = 25; Alter 71 ± 2 Jahre; 16 weiblich / 9 männlich; BMI 28,7 ± 1,3 kg/m^2) und Patienten mit DEP (n = 26; Alter 68 ± 2 Jahre; 12 weiblich / 14 männlich; BMI 26,4 ± 0,9 kg/m^2). Die ADM-Serumspiegel der Patienten wurden mittels Sandwich-ELISA gemessen. Zudem wurden klinische Daten und Parameter der Patienten erfasst.

Patienten mit Diabetes wiesen niedrigere ADM-Serumspiegel (93,8 ± 10,8 pg/ml) auf als Patienten ohne Diabetes (120,1 ± 11,8 pg/ml) ($p < 0,05$). Bei Differenzierung der Patienten mit Diabetes in Patienten mit T2D und DEP wiesen Patienten mit DEP niedrigere ADM-Konzentrationen auf als Patienten ohne Diabetes (79,0 ± 13,6 pg/ml vs. 120,1 ± 11,8 pg/ml; $p < 0,05$). Zwischen Patienten ohne Diabetes und Patienten mit Typ-2-Diabetes zeigte sich kein Unterschied in den ADM-Serumspiegeln. Zudem ergab sich eine negative Korrelation ($r = -0,197$; $p < 0,05$) zwischen ADM und HbA1c im gesamten Patientenkollektiv. Ein niedrigerer ADM-Serumspiegel bei Patienten mit DEP vs. ND bestätigte sich auch bei einem kleineren Patientenkollektiv, in dem ausschließlich Patienten mit duktalen Adenokarzinomen (n = 78), berücksichtigt wurden (80,1 ± 14,6 pg/ml vs. 122,8 ± 13,0 pg/ml; $p < 0,05$). Zudem war das Nüchtern-Insulin bei Patienten mit DEP (17,9 ± 4,1 U/l) im Vergleich zu Patienten ohne Diabetes (9,4 ± 1,3 U/l) erhöht ($p < 0,05$). Die Insulinresistenz, bestimmt mittels *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance* (HOMA-IR), war sowohl bei Patienten mit T2D (3,8 ± 0,5), als auch bei Patienten mit DEP (7,2 ± 2,5) höher als bei Patienten ohne Diabetes (2,3 ± 0,3) (beide $p < 0,01$).

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass ADM die Glukosehomöostase bei Patienten mit Pankreaskarzinomen beeinflussen könnte. Zudem zeigt sich, dass DEP mit einer erhöhten Insulinresistenz einhergeht.

Summary

Diabetes of the exocrine pancreas (DEP), earlier known as type 3c diabetes, is caused by diseases of the exocrine pancreas. A common cause of DEP is the ductal adenocarcinoma. The mechanisms that play a role in the development of DEP in ductal adenocarcinomas are still unknown. The results of previous work indicate that it is not the enlargement of tumor in the pancreas, but tumor-associated mediators that contribute to the disturbance of glucose homeostasis. Current findings discuss the ubiquitous peptide hormone adrenomedullin (ADM) as one of these mediators. The aim of this investigation was to elucidate a possible association between peripheral ADM levels and impaired glucose homeostasis in patients with diabetes and pancreatic neoplasms and especially ductal adenocarcinomas.

The group of patients examined consisted of patients with potentially resectable pancreatic neoplasia without diabetes (ND) (n = 64; age 68 ± 1 year; 30 female / 34 male; body mass index (BMI) 24.9 ± 0.6 kg/m^2), patients with type 2 diabetes (T2D) (n = 25; age 71 ± 2 years; 16 female / 9 male; BMI 28.7 ± 1.3 kg/m^2) and patients with DEP (n = 26; age 68 ± 2 years; 12 female / 14 male; BMI 26.4 ± 0.9 kg/m^2). The ADM serum levels of patients were measured using sandwich ELISA kits. Additionally, clinical data and parameters of patients were documented.

Patients with diabetes had lower ADM serum levels (93.8 ± 10.8 pg/ml) than patients without diabetes (120.1 ± 11.8 pg/ml) ($p < 0.05$). When patients with diabetes were divided into patients with T2D and DEP, patients with DEP had lower ADM concentrations than patients without diabetes (79.0 ± 13.6 pg/ml vs. 120.1 ± 11.8 pg/ml; $p < 0.05$). Patients without diabetes and patients with type 2 diabetes showed no difference in ADM serum levels. There was also a negative correlation ($r = -0.197$; $p < 0.05$) between ADM and HbA1c in the whole group of patients. Lower ADM serum levels in patients with DEP vs. ND were confirmed in a smaller group of patients, in which only patients with ductal adenocarcinoma (n = 78) were analyzed (80.1 ± 14.6 pg/ml vs. 122.8 ± 13.0 pg/ml; $p < 0.05$). In addition, fasting insulin was increased in patients with DEP (17.9 ± 4.1 U/l) compared to patients without diabetes (9.4 ± 1.3 U/l) ($p < 0.05$). Insulin resistance determined using the Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR) was higher in both patients with T2D (3.8 ± 0.5) and in patients with DEP (7.2 ± 2.5) than in patients without diabetes (2.3 ± 0.3) ($p < 0.01$).

The results indicate that ADM may influence glucose homeostasis in patients with pancreatic carcinoma. Additionally, they implicate that increased insulin resistance contributes to the development of DEP.

Abkürzungsverzeichnis

µl Mikroliter

% Prozent

°C Grad Celcius

ADA *American Diabetes Association*
ADM Adrenomedullin
AJCC *American Joint Committee on Cancer*
ANOVA *One-way Analysis of Variance*

BSC *Best Supportive Care*

CA 19-9 Carbohydrate-Antigen 19-9
cAMP cyclisches Adenosinmonophosphat
CEA Carcinoembryonales Antigen
CGRP *Calcitonin Gene-Related Peptide*
cm Zentimeter
CRLR *Calcitonin Receptor-like Receptor*
CRP C-reaktives Protein

DDG Deutsche Diabetes Gesellschaft
DDZ Deutsches Diabetes-Zentrum
DEP Diabetes des exokrinen Pankreas

EDTA Ethylendiamintetraacetat
ELISA *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*

g Gramm

HbA1c Hämoglobin A1 c
HOMA-IR *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*
HRP *Horseradish peroxidase*

IFG *Impaired fasting glucose*
IGT *Impaired glucose tolerance*

IPMN intraduktale papilläre muzinöse Neoplasie
ITPN intraduktale tubulopapilläre Neoplasie

l Liter

MCN muzinös zystische Neoplasie
MHC *Major Histocompatibility Complex*
Mio. Million
ml Milliliter
mm Millimeter
mmHg Millimeter Quecksilbersäule
mmol Millimol
mRNA *Messenger Ribonucleic Acid*
mU Mikro-Units

ND Personen ohne Diabetes mellitus
Nf-κB *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells*
NO Stickstoffmonoxid

oGTT oraler Glukosetoleranztest

p Signifikanzwert
PanIN pankreatische intraepitheliale Neoplasie
PKA Proteinkinase A
PP pankreatisches Polypeptid

r Korrelationskoeffizient
R0 kein Residualtumor
R1 mikroskopischer Residualtumor

SEM *Standard Error of the Mean*
SOFA *Sequential Organ Failure Assessment*

T2D Typ-2-Diabetes
TNM Primärtumor, regionäre Lymphknoten, Fernmetastasen

UICC *Union for International Cancer Control*

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

1.1 Diabetes mellitus 1

1.1.1 Epidemiologie 1

1.1.2 Definition und Klassifikation 1

1.1.3 Typ-1-Diabetes 2

1.1.4 Typ-2-Diabetes 3

1.1.5 Diabetes des exokrinen Pankreas 3

1.1.6 Klinisches Bild 4

1.1.7 Diagnostik 5

1.1.8 Therapie 6

1.1.9 Folgeerkrankungen 7

1.2 Pankreasneoplasie 7

1.2.1 Epidemiologie 7

1.2.2 Definition und Klassifikation 7

1.2.3 Duktales Adenokarzinom 8

1.3 Adrenomedullin (ADM) 10

1.3.1 Biochemie 10

1.3.2 Biologische Wirkung 11

1.4 Ziel der Arbeit 13

2 Material und Methoden 14

2.1 Studienkollektiv 14

2.2 Erhebung klinischer Patientendaten 14

2.3 Nüchtern-Blutabnahme und Klinische Chemie 15

2.3.1 Material 15

2.3.2 Methoden 16

2.4 Sandwich-ELISA zur Bestimmung des ADM-Serumspiegels 17

2.4.1 Material 17

2.4.2 Methoden 19

2.5 *Homeostatic Model Assesment of Insulin Resistance* (HOMA-IR) 21

2.6 Klassifikation des Diabetes mellitus 21
2.7 Klassifikation des Pankreastumors 22
2.8 Statistische Auswertung 24
2.9 Gruppeneinteilung für die Auswertung 25
3 Ergebnisse 26
3.1 Charakteristika der Patienten mit und ohne Diabetes mellitus 26
3.2 Charakteristika der Patienten in Abhängigkeit vom Diabetestyp 28
3.3 Assoziationen von Adrenomedullin mit klinischen Parametern 30
3.4 Adrenomedullin bei Patienten mit Diabetes und duktalem Adenokarzinom 37
4 Diskussion 43
4.1 Einleitung 43
4.2 Patientenkollektiv 43
4.3 Adrenomedullin-Serumspiegel 44
4.3.1 Zusammenhang zwischen Adrenomedullin und klinischen Parametern 45
4.3.2 Adrenomedullin-Serumspiegel bei Patienten mit Pankreasneoplasien 46
4.3.3 Adrenomedullin und Glukosehomöostase 47
4.4 Stärken und Schwächen der Arbeit 49
4.5 Schlussfolgerung 50
5 Tabellenverzeichnis 51
6 Abbildungsverzeichnis 52
7 Literaturverzeichnis 53

1 Einleitung

1.1 Diabetes mellitus

1.1.1 Epidemiologie

In Deutschland lag die Anzahl der Menschen mit Diabetes im Jahr 2017 mit 7,5 Mio. erkrankten Personen auf Rang zwei innerhalb Europas [1]. Der Großteil der Betroffenen (> 95%) leidet an einem Typ-2-Diabetes. Zusätzlich ist aufgrund fehlender oder unspezifischer Symptome von einer hohen Dunkelziffer an nicht diagnostizierten Menschen mit Typ-2-Diabetes auszugehen [2]. Die hohe Anzahl der Betroffenen und die Tendenz einer weiter steigenden Diabetesprävalenz verdeutlicht die hohe individuelle und gesellschaftliche Belastung durch die Erkrankung [3].

1.1.2 Definition und Klassifikation

Der Diabetes mellitus umfasst eine Gruppe metabolischer Erkrankungen, die bei Betroffenen zu einer chronischen Hyperglykämie führt. Gründe für die Hyperglykämie können eine gestörte Insulinsekretion, eine Insulinresistenz der Körperzellen oder eine Kombination aus beidem sein [4]. Entscheidend hierfür ist in der Regel der Diabetestyp. Neben Typ-1-Diabetes, Typ-2-Diabetes und Gestationsdiabetes (Typ-4-Diabetes) werden andere spezifische Diabetes-Typen als Typ-3-Diabetes zusammengefasst. Bei dem Typ-1-Diabetes verursacht eine immunologisch bedingte Zerstörung der insulinproduzierenden Beta-Zellen einen Insulinmangel. Bei dem Typ-2-Diabetes besteht neben einer Insulinresistenz häufig auch ein Insulinsekretionsdefekt [5]. Zu den anderen spezifischen Diabetes-Typen zählen unter anderem Erkrankungen des exokrinen Pankreas, die in der ätiologischen Klassifikation des Diabetes mellitus der *American Diabetes Association* (ADA) aus dem Jahr 2013 als Typ-3c eingeordnet wurden [4]. Tabelle 1 gibt eine Übersicht der ADA-Klassifikation.

Da die Bezeichnung Typ-3c uneinheitlich genutzt wird, gibt es Bestrebungen den Typ-3c-Diabetes mellitus vorzugsweise als Diabetes des exokrinen Pankreas (DEP) zu bezeichnen [6].

Tabelle 1: Ätiologische Klassifikation des Diabetes mellitus [4]

I.	Typ-1-Diabetes
	a) Immunologisch bedingt
	b) Idiopathisch
II.	Typ-2-Diabetes
III.	Typ-3-Diabetes, andere spezifische Diabetestypen
	a) Genetische Defekte der Beta-Zellfunktion
	b) Genetische Defekte der Insulinwirkung
	c) Erkrankungen des exokrinen Pankreas
	d) Endokrinopathien
	e) Medikamente oder Chemikalien bedingt
	f) Infektionen
	g) Seltene Formen des immunvermittelten Diabetes
	h) Andere genetische Syndrome, die mit Diabetes assoziiert sind
IV.	Typ-4-Diabetes, Gestationsdiabetes

1.1.3 Typ-1-Diabetes

Beim Typ-1-Diabetes, der einen Anteil von 5 bis 10% aller Diabetesfälle ausmacht, kommt es zu einer autoimmunvermittelten Zerstörung der Beta-Zellen und in der Folge zu einem absoluten Insulinmangel [4]. Vorwiegend erkranken Kinder und Jugendliche an einem Typ-1-Diabetes [3]. Sowohl genetische Prädispositionen als auch Umweltfaktoren können mit einem Typ-1-Diabetes in Zusammenhang gebracht werden [4].

Bei der Diagnose können in bis zu 90% der Patienten Autoantikörper, die sich gegen die Betazellen selbst oder ihre Produkte richten, nachgewiesen werden [4]. Zu den Antikörpern gehören Insulin-Autoantikörper, Inselzell-Autoantikörper, Glutamatdecarboxylase-Antikörper, Antikörper gegen Tyrosinphosphatase IA-2 und Antikörper gegen Zink-Transporter 8 [4]. Zudem ist der Typ-1-Diabetes mit den haploiden Genotypen HLA-DR3-DQ2 und HLA-DR4-DQ8 assoziiert [7]. Das Humane Leukozyten Antigen-System (HLA) ist ein wichtiger Bestandteil des Immunsystems, um eigene von fremden Zellen unterscheiden zu können. HLA-Assoziationen bestehen häufig bei Autoimmunerkrankungen.

1.1.4 Typ-2-Diabetes

Der mit Abstand häufigste Diabetestyp in Deutschland und weltweit ist der Typ-2-Diabetes. Bei Personen mit Typ-2-Diabetes dominiert in der Regel zum Erkrankungsbeginn die Insulinresistenz. Im weiteren Verlauf kommt es meist zusätzlich zu einer verminderten Insulinproduktion [4].

Häufig ist dieser Typ mit Übergewicht, Bluthochdruck und einer Fettstoffwechselstörung assoziiert. Diese Risikokombination entpuppt sich als wachsendes Problem in entwickelten Ländern. Eine unausgewogene Ernährung und Bewegungsmangel spielen eine entscheidende Rolle bei der Entstehung des Typ-2-Diabetes [8]. Allerdings muss auch die starke erbliche Komponente bei der Diabetesentstehung berücksichtigt werden. Die genetische Prädisposition spielt beim Typ-2-Diabetes eine größere Rolle als beim Typ-1-Diabetes [4]. Ein Kind mit einem Typ-2-Diabetes erkrankten Elternteil erkrankt mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 50% während seines Lebens auch an einem Typ-2-Diabetes [9].

1.1.5 Diabetes des exokrinen Pankreas

Der Diabetes des exokrinen Pankreas wird durch Erkrankungen des Pankreas verursacht. Zu den Erkrankungen des exokrinen Pankreas gehören Pankreatitiden, iatrogene Pankreatektomien, Neoplasien, zystische Fibrosen, Hämochromatosen und fibrokalkulöse Pankreatopathien [4]. Die häufigste Grunderkrankung des DEP ist mit 79% die chronische Pankreatitis, gefolgt von Neoplasien mit 8% [10].

Laut einer retrospektiven Studie von fast 1900 Patienten mit Diabetes, die dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg innerhalb von 24 Monaten zugewiesen wurden, lag die Prävalenz von DEP unter allen Personen mit Diabetes bei 9% [10]. Zusätzlich verdeutlichte die Studie, dass DEP im klinischen Alltag in den meisten Fällen fälschlicherweise als Typ-2-Diabetes diagnostiziert wird [10]. Ob ein Typ-2-Diabetes oder ein DEP vorliegt, kann für den Patienten sehr relevant sein, insbesondere wenn eine maligne Erkrankung als Ursache für den Diabetes entdeckt wird. In einer bevölkerungsbezogenen Studie zeigte sich, dass ca. 1% der über 50-jährigen Teilnehmer mit einem neu-diagnostizierten Diabetes auch an einem Pankreaskarzinom erkrankt sind [11].

Patienten mit DEP leiden in unterschiedlichen Maßen an exokrinen und endokrinen Pankreasdysfunktionen [12]. Bei einer exokrinen Funktionsstörung kommt es zu einer verminderten Ausschüttung von Verdauungsenzymen und damit zu ausgeprägten Verdauungsstörungen mit Gewichtsverlust. Zu den endokrinen Funktionen gehört die Ausschüttung von Hormonen wie Insulin, Glukagon, Somatostatin und Polypeptiden. Kommt es zu einer Zerstörung der hormonproduzierenden Zellen und damit zur verminderten Hormonausschüttung, entstehen schnell fluktuierende Glukosespiegel, die schwer zu kontrollieren sind [12].

1.1.6 Klinisches Bild

Allgemeine Symptome des Diabetes mellitus können Müdigkeit, Leistungsminderung, Polyurie, Polydipsie, Wadenkrämpfe, Pruritus und Sehstörungen sein. Sehstörungen können bei starken Blutglukoseschwankungen durch osmotische Größenveränderungen der Linse entstehen [13]. Das klinische Bild des Diabetes mellitus wird entscheidend vom Diabetestyp beeinflusst.

Beim Typ-1-Diabetes manifestiert sich das Krankheitsbild in der Regel sehr rasch und Patienten, insbesondere Kinder und Jugendliche, stellen sich bei Krankheitsbeginn bereits mit einer Ketoazidose beim Arzt vor [4].

Der Typ-2-Diabetes präsentiert sich zu Beginn symptomarm und wird häufig zufällig bei ärztlichen Kontrolluntersuchungen durch erhöhte Nüchtern-Glukose-Werte oder einen erhöhten Hämoglobin A1 c (HbA1c)-Wert auffällig. Die Erkrankung entwickelt sich schleichend und betrifft häufig ältere Patienten mit Übergewicht [14].

Die Differenzierung von Typ-2-Diabetes und DEP ist anhand des klinischen Bildes sehr schwierig. Personen mit DEP zeigen ein ähnliches Erkrankungsalter und BMI wie Personen mit Typ-2-Diabetes [12]. In einer früheren Studie [15] ergab sich jedoch, dass Personen mit DEP früher Insulin benötigen und eine schlechtere Glukoseeinstellung aufweisen.

1.1.7 Diagnostik

Laut Praxisempfehlung der Deutschen Diabetes Gesellschaft empfiehlt sich das Vorgehen zur Diagnose des Diabetes in mehreren Schritten [13].

Zunächst wird bei Patienten, die Symptome eines Diabetes mellitus aufweisen oder ein erhöhtes Diabetesrisiko haben, die Konzentration der Nüchternplasmaglukose oder der Gelegenheitsplasmaglukose, gemessen. Liegt die Nüchternplasmaglukose ≥ 126 mg/dl (≥ 7 mmol/l) oder die Gelegenheitsplasmaglukose ≥ 200 mg/dl (≥ 11,1 mmol/l) kann ein Diabetes mellitus diagnostiziert werden. Bei unauffälligen oder grenzwertigen Befunden mit Symptomen oder erhöhtem Risiko sollte eine weitere Diagnostik in Form eines oralen Glukosetoleranztests (oGTT) oder der HbA1c-Messung durchgeführt werden. Beim oGTT wird zunächst die Nüchtern-Glukose bestimmt, dann folgt die Gabe von 75 g Glukose und im Anschluss eine Glukosemessung nach 120 Minuten. Der Vorteil des oGTT ist die Möglichkeit zum Nachweis eines Prädiabetes. Dieser liegt vor bei einer Nüchtern-Glukose-Konzentration von 100 - 125 mg/dl (5,6 - 6,9 mmol/l), die als *Impaired fasting glucose* (IFG) bezeichnet wird, oder bei einer Glukose-Konzentration nach 120 Minuten von 140 – 199 mg/dl (7,8 -11,0 mmol/l), die als *Impaired glucose tolerance* (IGT) bezeichnet wird.

Bei dem Vorliegen eines Prädiabetes sollte die betroffene Person über das hohe Risiko des Übergangs in einen Diabetes aufgeklärt werden und eine erneute Risikobewertung nach spätestens einem Jahr durchgeführt werden.

Bei einem HbA1c-Wert zwischen 5,7 – 6,5 % ist eine Durchführung des oGTT empfohlen und bei Werten ≥ 6,5 % liegt ein Diabetes vor.

Aktuell existieren keine universell akzeptierten Diagnosekriterien für DEP, jedoch können drei Kriterien aus dem Begriff DEP abgeleitet werden [16]. Bei dem Patienten muss ein Diabetes mellitus und eine Erkrankung des exokrinen Pankreas diagnostiziert worden sein. Zudem sollte der Diabetes mellitus aus der Erkrankung des Pankreas resultieren. Im Jahr 2013 schlugen Ewald und Bretzel vier Hauptkriterien und vier Nebenkriterien vor (Tabelle 2) [17]. Die Kriterien bieten eine gute Orientierung, sind im klinischen Alltag allerdings schwer anwendbar [18].

Tabelle 2: Kriterien für die Diagnose eines Diabetes des exokrinen Pankreas [17]

Hauptkriterien (müssen erfüllt sein)	Diagnostizierter Diabetes mellitus
	Exokrine Pankreasinsuffizienz
	Pathologische Bildgebung des Pankreas
	Keine mit Typ-1-Diabetes assoziierten Autoantikörper
Nebenkriterien	Reduzierte Beta-Zellfunktion
	Keine übermäßige Insulinresistenz
	Reduzierte Inkretinsekretion
	Niedrige Serumspiegel von fettlöslichen Vitaminen

1.1.8 Therapie

Die Therapie des Diabetes mellitus ist zu einem großen Teil abhängig vom Diabetestyp. Da beim Typ-1-Diabetes im Laufe der Erkrankung kein Insulin mehr produziert werden kann, kommt in den meisten Fällen nach Diagnose eine Insulinsubstitution zum Einsatz. Beim Typ-2-Diabetes werden zunächst lebensstilmodifizierende Maßnahmen empfohlen, die gegebenenfalls mit oralen Antidiabetika und Insulin ergänzt werden können [13].

Zur Therapie des DEP gehören sowohl Verbesserungen des Lebensstils, orale Antidiabetika und Insulin als auch die Therapie der zugrundeliegenden Pankreaserkrankung. Aufgrund der eingeschränkten exokrinen Pankreasfunktion muss durch eine zusätzliche Gabe von fettlöslichen Vitaminen und pankreatischen Enzymen eine Malnutrition verhindert werden [12].

Zudem sind aufgrund der schwer zu kontrollierenden Glukosespiegel regelmäßige Untersuchungen zur Einstellung des Diabetes mellitus zu empfehlen. Außerdem ist den Patienten anzuraten, auf weitere Belastungen des Pankreas durch Alkohol- und Nikotinkonsum zu verzichten [12].

1.1.9 Folgeerkrankungen

Folgeerkrankungen des Diabetes mellitus entstehen hauptsächlich aufgrund von zwei Pathomechanismen, der Mikro- und Makroangiopathie.

Die Mikroangiopathie entsteht nach langjähriger Hyperglykämie und resultiert in eine diabetische Nephropathie, eine diabetische Neuropathie, eine diabetische Retinopathie und dem diabetischen Fußsyndrom.

Durch Makroangiopathien, die vermehrt bei Menschen mit Typ-2-Diabetes auftreten, können Myokardinfarkte und Schlaganfälle entstehen. Das Risiko für eine kardiovaskuläre Erkrankung ist bei Menschen mit Diabetes im Vergleich zu gleichaltrigen Menschen ohne Diabetes ca. zwei- bis vierfach erhöht [3].

1.2 Pankreasneoplasie

1.2.1 Epidemiologie

Im Jahr 2014 sind in Deutschland 8550 Männer und 8580 Frauen mit einen Pankreastumor neu diagnostiziert worden [19]. Da maligne Tumore des Pankreas im Frühstadium in der Regel ohne Symptome einhergehen, werden sie oft spät entdeckt. Die relative 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei 9% für Männer und bei 10% für Frauen. Damit besitzt das Pankreaskarzinom die niedrigste Überlebensrate unter allen malignen Tumorerkrankungen [19].

Der prozentuale Anteil der Krebssterbefälle liegt bei einem Tumor des Pankreas bei Männern mit 6,8% und bei Frauen mit 8,2% jeweils an vierter Stelle der häufigsten Tumorlokalisationen [19]. Die meisten Menschen erkranken in einem Alter von über 60 Jahren. Sehr selten treten Pankreastumore vor dem 40. Lebensjahr auf [20].

1.2.2 Definition und Klassifikation

Über 95% der Pankreasneoplasien entstehen aus dem exokrinen Pankreas. Vergleichsweise selten entstammen Neoplasien aus endokrinem Pankreasgewebe [21]. Die Tabelle 3 entspricht der Einteilung der WHO-Klassifikation mit Fokus auf epitheliale Tumore.

Tabelle 3: Pankreasneoplasien [22]

I.	Epitheliale Tumore
	a) Benigne
	- Aszinuszell-Zystadenom
	- Seröses Zystadenom
	- Muzinöses Zystadenom
	b) Prämaligne
	- Pankreatische intraepitheliale Neoplasie Grad III
	- Intraduktale papilläre muzinöse Neoplasie
	- Intraduktale tubulopapilläre Neoplasie
	- Muzinös zystische Neoplasie
	c) Maligne
	- Duktales Adenokarzinom und Sonderformen
	- Azinuszellkarzinom
	- Intraduktale papilläre muzinöse Neoplasie mit invasivem Karzinom
	- Muzinös zystische Neoplasie mit invasivem Karzinom
	- Mischformen (duktal / azinär / neuroendokrin)
	- Seröses Zystandenokarzinom
	- Solid-pseudopapilläre Neoplasie
	- Pankreatoblastom
	d) Neuroendokrin
II.	Reife Teratome
III.	Mesenchymale Tumore
IV.	Lymphome
V.	Metastasen

1.2.3 Duktales Adenokarzinom

Das duktale Adenokarzinom, eine Neoplasie des exokrinen Pankreas, gehört zu den duktalen epithelialen Tumoren und macht den größten Teil der malignen Tumore des Pankreas aus. Dabei sind 70% des duktalen Adenokarzinoms im Pankreaskopf lokalisiert [21].

Bei der Entstehung des Pankreaskarzinoms spielt der sequenzielle Erwerb von Mutationen, der zu einer Präkanzerose und weiter zum Karzinom führt, eine wichtige Rolle [23]. Zu den Präkanzerosen gehören pankreatische intraepitheliale Neoplasien (PanIN), intraduktale papilläre muzinöse Neoplasien (IPMN), intraduktale tubulopapilläre Neoplasien (ITPN) und muzinös zystische Neoplasien (MCN) [22].

Zu den Risikofaktoren des duktalen Adenokarzinom gehören angeborene und erworbene Faktoren. Angeborene Risiken können genetische Dispositionen sein. Erworbene Risiken sind Rauchen, Diabetes mellitus Typ 2, chronische Pankreatitis und Adipositas [24].

Häufig fallen Patienten mit einem duktalen Adenokarzinom aufgrund fehlender Frühsymptome klinisch erst spät auf. Zu den möglichen Symptomen der Patienten gehören Oberbauchschmerzen mit Ausstrahlung in den Rücken, ein posthepatischer Ikterus mit tastbar vergrößerter Gallenblase (Courvoisier-Zeichen), abdominelle Symptome wie Übelkeit, Appetitlosigkeit, Erbrechen, Völlegefühl, Meteorismus und Diarrhoe und ein neudiagnostizierter bzw. verschlechterter Diabetes mellitus [21]. Zudem fühlen sich einige Patienten geschwächt und verlieren unbeabsichtigt an Körpergewicht. Paraneoplastisch können bei Patienten Thrombosen und eine Thrombophlebitis migrans auftreten [21].

Bei klinischem Verdacht auf ein Pankreaskarzinom gehört laut S3 Leitlinien zum exokrinen Pankreaskarzinom [24] neben einer ausführlichen Anamnese und körperlichen Untersuchung als Methode der ersten Wahl die Abdomensonographie. Bei unklarem sonographischem Befund und vor einer Operation ist eine Computertomographie des Abdomens mit Kontrastmittel notwendig. Ergänzend können die Tumormarker Carbohydrate-Antigen 19-9 (CA 19-9) und Carcinoembryonales Antigen (CEA) im Blutplasma gemessen werden. Eine Biopsie ist vor einer kurativen Operation entbehrlich, vor einer palliativen Therapie ist sie jedoch obligat. Vor einer geplanten Operation ist zusätzlich eine Computertomographie des Thorax notwendig.

Das duktale Adenokarzinom lässt sich mittels TNM-Klassifikation der *Union for International Cancer Control* (UICC) und der Stadieneinteilung basierend auf der TNM-Klassifikation einteilen. Entscheidend für die Therapieempfehlung ist jedoch die Einteilung in lokal begrenzt (resektabel), lokal fortgeschritten (nicht resektabel) und metastasiert [21].

Das duktale Adenokarzinom kann ausschließlich operativ kurativ therapiert werden. Es sind jedoch nur 15 - 20% der Karzinome bei Erstdiagnose resektabel. Die Resektabilität wird auf Grundlage der präoperativen Diagnostik und Komorbidität des Patienten entschieden [25]. Die Tumorlokalisation ist dabei entscheidend für die Operationsmethode [26]. Bei Karzinomen im Pankreaskopf wird häufig eine partielle Duodenopankreatektomie mit Magenresektion (klassischer Whipple) oder wenn möglich mit einer pyloruserhaltenden Operation (pp-Whipple) durchgeführt. Bei Befall des Pankreaskorpus ist eine totale Duodenopankreatektomie oder eine subtotale Pankreaslinksresektion anzustreben. Letzteres wird auch bei Befall des Pankreasschwanzes angewendet.

Laut Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie e.V. [21] ist beim Adenokarzinom des Pankreas folgende Therapiestruktur sinnvoll. Nach erfolgter Operation kann bei keinem Residualtumor (R0) und bei einem mikroskopischen Residualtumor (R1) eine adjuvante Chemotherapie zum Einsatz kommen.

Die adjuvante Chemotherapie sollte spätestens nach sechs Wochen postoperativ beginnen und für sechs Monate angewendet werden. Zu berücksichtigen ist insbesondere der Allgemeinzustand des Patienten. Bei gutem Allgemeinzustand des Patienten kann die Chemotherapiekombination FOLFIRINOX, bestehend aus 5-Fluorouracil / Folsäure, Irinotecan und Oxaliplatin, angewendet werden. Befindet sich der Patient in einem eher reduzierten Allgemeinzustand kann Gemcitabin, 5-Fluorouracil / Folsäure oder Gemcitabin und Capecitabin gegeben werden. Bisher gibt es keine Einigkeit bei der Behandlung von lokal fortgeschritten Karzinomen. Sie können zunächst chemotherapeutisch behandelt werden, um im Anschluss die Resektabilität erneut zu bewerten. Hohe Remissionsraten erzielen die Chemotherapiekombinationen FOLFIRINOX oder nab-Paclitaxel / Gemcitabin. Bei lokal fortgeschrittenen Karzinomen mit Fernmetastasen muss entschieden werden, ob der Allgemeinzustand des Patienten ausreicht, um eine palliative Chemotherapie zu verabreichen. Sollte keine Chemotherapie verabreicht werden können, gilt es, eine *Best Supportive Care* (BSC) durchzuführen, also eine rein supportive Therapie.
Die Prognose des duktalen Adenokarzinom ist stark abhängig vom Stadium der Krankheit und dem Allgemeinzustand des Patienten bei der Erstdiagnose [21].
Zudem zeigte eine Metaanalyse zum Einfluss von Diabetes auf das Überleben von Patienten mit Pankreaskarzinom an, dass Diabetes mit einer höheren Mortalität assoziiert war [27].

1.3 Adrenomedullin (ADM)

1.3.1 Biochemie

Adrenomedullin (ADM), ein Peptidhormon aus 52 Aminosäuren, wurde im Jahr 1993 in einem humanen Phäochromozytom entdeckt [28]. Da auch im gesunden Nebennierenmark eine relativ hohe Konzentration nachgewiesen wurde, gab man dem neu entdeckten Hormon den Namen Adrenomedullin [28].
ADM vermittelt eine Vielzahl biologischer Wirkungen und fungiert als Regulator der Homöostase. Es wird ubiquitär in allen Geweben, hauptsächlich in Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen, synthetisiert und sezerniert [29]. Anfangs galt ADM ausschließlich als ein potentes vasodilatorisches Peptid [30]. Mit der Zeit wurden weitere pleiotrope Funktionen des Peptidhormons beschrieben. Es ist an Zellproliferation [31], Migration [32], Apoptose [33], Inflammation [34], Angiogenese [35] und Hormonsekretion [36] beteiligt.

Strukturell und pharmakologisch weist ADM Ähnlichkeiten mit den Hormonen *Calcitonin Gene-Related Peptide* (CGRP) und Amylin auf. Es wird aus diesem Grund in einigen Quellen der CGRP-Familie zugeordnet [29]. Allerdings anders als CGRP wird ADM fast von allen Zellen gebildet und wirkt eher wie ein Cytokin-like Peptid als ein klassisches Peptidhormon [37]. Im Jahr 2004 wurde Intermedin, auch als ADM 2 bekannt, entdeckt [38]. Zwar stimmt die Aminosäuresequenz von ADM und Intermedin nur in 30% überein, dennoch ist ihre pharmakologische Wirkung sehr ähnlich [38]. Zunächst wurde davon ausgegangen, dass die Wirkung von ADM ausschließlich mittels cyclischen Adenosinmonophosphat / Proteinkinase A Signalweg (cAMP/PKA-Signalweg) über einen spezifischen ADM-Rezeptor ausgelöst wird [39]. Doch weitere Studien wiesen sowohl unterschiedliche intrazelluläre Signalwege als auch Rezeptoren nach, an die ADM binden kann. Der *Calcitonin Receptor-like Receptor* (CRLR) dient CGRP und ADM als Rezeptor [39]. Die Genexpression von ADM wird durch verschiedene Faktoren reguliert [40]. In *in vitro* Experimenten mit Zellkulturen zeigte sich, dass die ADM-Synthese durch Zytokine wie Interleukin-1 und Tumor-Nekrose-Faktor-α stimuliert wird [41]. Zusätzlich wiesen Studien nach, dass Hypoxie und oxidativer Stress die mRNA-Expression des ADM stimulieren kann [42-44]. Ein hoher ADM-Spiegel bei einem vorhandenen Zellschaden ruft anti-apoptotische und angiogenetische Wirkungen hervor [37]. Diese sind wünschenswert für die zytoprotektiven Effekte im gesunden Gewebe, aber unerwünscht in der Ausbreitung von Tumorzellen.

1.3.2 Biologische Wirkung

Aufgrund des ubiquitären Vorkommens von ADM im menschlichen Gewebe, wurden ADM viele biologische Funktionen zugeschrieben [45]. Gut belegt durch Studien ist der langanhaltende und dosisabhängige hypotensive Effekt von ADM [46]. ADM kann in Gefäßendothel, glatter Muskulatur und kardialen Muskelzellen produziert werden und ist ein wichtiger Regulator, der zur Gefäßhomöostase beiträgt [47]. Im Pankreas wird ADM mit dem pankreatischen Polypeptid (PP) in den F-Zellen des Pankreas produziert [48].

Studien zur Wirkung von Adrenomedullin auf den Pankreas führen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Mulder et al. [49] wiesen mittels Immunzytochemie eine Stimulation der Insulinsekretion bei Zugabe von Glukose und ADM an isolierten Inselzellen von Ratten nach. Martinez et al. [50] nutzten zwei verschiedene Methoden, um den Effekt von ADM auf den Pankreas zu demonstrieren. Zunächst zeigten sie an isolierten Inselzellen von Ratten eine dosisabhängige Inhibition auf die Insulinsekretion durch ADM. Hierfür nutzten sie monoklonale Antikörper, die ADM neutralisierten. Durch Zugabe dieser Antikörper erhöhte sich die Insulinausschüttung und durch Zugabe von synthetischen ADM kehrte sich der Effekt wieder um.

Zusätzlich zeigten sie an Ratten mittels OGTT, dass durch zusätzliche intravenöse ADM-Injektion die Insulinspiegel in der Blutzirkulation sanken und die Glukosespiegel stiegen. Zudaire et al. [45] ergänzten die Studie von Martinez et. al mit einem Versuch an diabetischen Ratten. Ihre Versuche zeigten, dass ADM den Glukosespiegel der Ratten steigerte und ein Antikörper gegen ADM den postprandialen Glukosespiegel verbesserte.

Zhou et al. [51] führten Versuche an Fruktose-gefütterten Ratten durch, die durch die Fruktose-Fütterung eine Insulinresistenz entwickelten. Eine Behandlung der Ratten mit ADM schwächte die durch Fruktose induzierte Insulinresistenz ab und senkte Blutdruck, Nüchtern-Glukose, Nüchtern-Insulin und Triglyceride. Zudem vermindert eine ADM-Behandlung Calciumablagerungen und die osteogene Transdifferenzierung in der Intima der Aorta. Es wird angenommen, dass die positiven Effekte von ADM auf die Insulinresistenz und die Gefäßverkalkung durch antioxidative Effekte vermittelt werden [51].

In einer Studie an ADM-defizienten Mäusen steigerte eine altersbedingte Ansammlung von oxidativem Stress den Blutdruck und die Insulinresistenz. Eine ADM-Gabe konnte sowohl den oxidativen Stress, als auch die Nüchtern-Glukose-Spiegel und die Insulinresistenz der Mäuse senken [52].

Weitere Untersuchungen an dem ähnlich wirkenden Peptid ADM 2 zeigten eine negative Korrelation von ADM 2 und dem *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance* (HOMA-IR) bei übergewichtigen Menschen [53]. Mit steigender ADM 2-Konzentration sank die Insulinresistenz.

Zhang et al. [53] wiesen an Mäusen nach, dass ADM 2 eine frühe durch Übergewicht verursachte Insulinresistenz durch eine Inhibition der Antigen-Präsentation von *Major Histocompatibility Complex* Klasse II (MHC-Klasse-II) in Adipozyten verbessert und in der Folge inflammatorische Prozesse vermindert.

In Studien, die die Wirkung von ADM in duktalen Adenokarzinomen von Menschen untersuchten, zeigte sich eine Stimulation der Zellproliferation und Invasion des Karzinoms durch ADM [54, 55]. Keleg et al. [54] fanden bei Patienten mit duktalem Adenokarzinom im Vergleich zu gesunden Patienten und Patienten mit einer chronischen Pankreatitis erhöhte ADM-Serumspiegel. Zudem wurde ADM in menschlichen Pankreaskarzinomzellen durch Hypoxie induziert und erhöhte ihre Invasivität. Ramachandran et al. [55] verwendeten pankreatische Karzinomzelllinien, die auf ADM-Behandlung mit einer Stimulation der Proliferation, Invasion und einer Erhöhung des proinflammatorischen Transkriptionsfaktors *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells* (Nf-κB) reagierten. Eine Behandlung der Zellkultur mit ADM-Antagonisten hemmte die Proliferation und die Aktivität von Nf-κB [55].

Aggarwal et al. [56] fokussierten auf Untersuchungen zur die Entstehung von Diabetes durch Pankreaskarzinome mit dem Fokus auf ADM als Mediator. Sie fanden, dass ADM bei Patienten mit Pankreaskarzinomen hochreguliert ist und dass ADM eine Inhibition der durch Glukose stimulierten Insulinsekretion in isolierten Betazellen bei Mäusen verursacht.

1.4 Ziel der Arbeit

Das Ziel der Arbeit war die Klärung einer möglichen Assoziation zwischen peripheren ADM-Spiegeln und gestörter Glukosehomöostase bei Patienten mit Diabetes und Pankreasneoplasien, insbesondere duktalen Adenokarzinomen. Obwohl der Zusammenhang von DEP und Pankreasneoplasien bekannt ist, ist der DEP schlecht verstanden [56]. Es stellte sich die Frage, welche Rolle ADM im Glukosestoffwechsel bei Patienten mit einer Pankreasneoplasie spielt. Es sollte untersucht werden, ob es Konzentrationsunterschiede von ADM zwischen folgenden Gruppen gibt:

- Personen mit und ohne Diabetes mellitus
- Personen mit Typ 2-Diabetes, mit DEP und ohne Diabetes

Des Weiteren sollte untersucht werden, ob es innerhalb der Gruppe der Patienten mit duktalem Adenokarzinom Unterschiede in den ADM-Serumspiegeln zwischen den einzelnen Tumorstadien und -graden gibt.

Außerdem sollten mögliche Korrelationen zwischen ADM und Parametern der klinischen Chemie untersucht werden.

Die Ergebnisse sollten dazu beitragen, das Verständnis über den Einfluss von ADM auf den Glukosestoffwechsel und dessen Rolle bei der Entstehung von DEP bei Patienten mit Pankreasneoplasien zu verbessern.

2 Material und Methoden

2.1 Studienkollektiv

Im Rahmen der Dissertation wurden Daten und Proben einer bestehenden Biomaterialbank im Institut für Klinische Diabetologie des Deutschen Diabetes-Zentrums (DDZ) in Düsseldorf ausgewertet. Die Biomaterialbank enthält Pankreasgewebe, abdominelles Fettgewebe und Nüchtern-Blutproben. In dem Zeitraum von Juli 2013 bis Januar 2019 wurden insgesamt 126 Patienten in die Studie aufgenommen.

Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf hat die „Studie zur Analyse von Genexpressionsmustern in pankreatischen Beta-Zellen bei Patienten nach Pankreasoperationen“ am 21. August 2012 positiv votiert (Studiennummer 3923).

In die Studie wurden Patienten über 18 Jahre eingeschlossen, bei denen eine partielle oder totale Pankreatektomie durchgeführt werden sollte. Dazu arbeitete das DDZ eng mit folgenden Kliniken zusammen:

- Klinik für Allgemein- Viszeral- und Kinderchirurgie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Düsseldorf
- Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie, Zentrum für onkologische und minimalinvasive Chirurgie, Florence-Nighthingale-Krankenhaus, Kaiserswerther Diakonie, Düsseldorf
- Chirurgische Klinik I, Lukaskrankenhaus, Neuss

Während der Operationsvorbereitung des Patienten wurde das DDZ von den zuständigen Klinikärzten informiert. Daraufhin folgte die Patientenaufklärung mit Informationen über Ziele, Methoden, Datenverarbeitung, Nutzen und Risiken der Studie. Nach der schriftlichen Einwilligung des Patienten fand in der Regel am Morgen vor der Operation eine Nüchtern-Blutabnahme statt.

2.2 Erhebung klinischer Patientendaten

Die klinisch relevanten Daten der Patienten für die Studie wurden mit Hilfe der Patientenakten in den Kliniken erfasst. Dazu gehöhrten folgende Daten:

- Geschlecht
- Alter
- Größe und Gewicht
- Vorerkrankungen und Medikation vor dem operativen Eingriff
- Diagnostizierter Diabetes mellitus gegebenenfalls mit Diagnosedatum
- Histopathologische Befunde gegebenenfalls mit Tumorstadium und Tumorgrading

2.3 Nüchtern-Blutabnahme und Klinische Chemie

2.3.1 Material

Für die Nüchtern-Blutabnahme und die darauffolgende Messung der klinisch-chemischen Parameter der Patienten waren Blutabnahme-Röhrchen (Tabelle 3), Material zur Aliquotierung (Tabelle 4) und Laborgeräte (Tabelle 5) notwendig.

Tabelle 3: Blutabnahme-Röhrchen

Serumröhrchen 5 ml mit Trenngel und Gerinnungsaktivator BD Vacutainer® SST™ II Advance Röhrchen	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
ETDA-Röhrchen 3 ml BD Vacutainer®	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
Micro tube 1,3 ml Fluoride + Heparin	SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland

ml: Milliliter

Tabelle 4: Material zur Aliquotierung

Probenröhrchen 1,5 ml	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland
Cryovial, 3 ml, freistehend, Außengewinde	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland
Glasröhrchen 2 ml	Peter Oemen GmbH, Essen, Deutschland
epT.I.P.S.® Standard, Eppendorf Quality™, 50-1000 µl, 71 mm, blau, farblose Spitzen	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland

ml: Milliliter; µl: Mikroliter; mm: Millimeter

Tabelle 5: Verwendete Geräte im Labor für Humananalytik des DDZ

Eppendorf Reference® 2, Einkanal, variabel, 100-1000 µl, blau	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
Zentrifuge Rotixa 50 RS cooled	Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland
Assistent Rollenmischer RM5	Karl Hecht GmbH & Co. KG, Sondheim, Deutschland
Tiefkühlschrank Liebherr Profi Line -20°C	Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß, Deutschland
Kühlschrank Liebherr Medi Line	Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß, Deutschland

µl: Mikroliter

2.3.2 Methoden

Die Nüchtern-Blutabnahme erfolgte in der Regel morgens, nach einer Nahrungs-, Nikotin- und Alkoholkarenz des Patienten von mindestens acht Stunden.

Insgesamt wurden vier 5 ml-Serumröhrchen, ein 3 ml-EDTA-Röhrchen und ein 1,3 ml-Röhrchen abgenommen. Alle Röhrchen wurden zuvor mit Hilfe eines Aufklebers mit der laufenden Nummer des Studienteilnehmers versehen.

Im Anschluss an die Blutabnahme wurden die Proben im Biomedizinischen Analyse- und Forschungslabor des Deutschen Diabetes-Zentrums analysiert. Hierzu erfolge zunächst die Zentrifugation der vier Serumröhrchen für 10 Minuten mit 800 g bei 4°C. Das EDTA-Röhrchen wurde vor der weiteren Verarbeitung auf einen Rollmischer gelegt. Im Anschluss wurden die Proben aliquotiert.

- 2 x Serumröhrchen jeweils in ein 3 ml-Cryovial
- 1 x Serumröhrchen aufgeteilt in zwei 1,5 ml-Probenröhrchen
- 1 x Serumröhrchen aufgeteilt in ein 1,5 ml-Probenröhrchen und ein 2 ml-Glasröhrchen

Im weiteren Verlauf wurden die aliquotierten Probenröhrchen, Cryovials und Glasröhrchen im Labor direkt analysiert oder über Nacht im Kühlschrank bei 4 °C oder Tiefkühlschrank bei -20 °C / -80 °C gelagert.

Die Messungen der klinisch-chemischen Parameter wurde mittels qualitätsgesicherten Labormethoden von den Labormitarbeitern durchgeführt. Zur Einordnung der Qualität der Einstellung des Glukosestoffwechsels wurden HbA1c, Nüchtern-Glukose, Nüchtern-Insulin, und Nüchtern-C-Peptid ermittelt. Zusätzlich wurden weitere Parameter wie Bilirubin, Cholinesterase, Lipase, Amylase, Pankreas-Amylase, Kreatinin und C-reaktives Protein (CRP) bestimmt.

2.4 Sandwich-ELISA zur Bestimmung des ADM-Serumspiegels

2.4.1 Material

Zur Bestimmung der ADM-Serumspiegel wurden *Sandwich-Enzyme-linked Immunosorbent Assay-Kits* (ELISA) verwendet. In Tabelle 6 sind die Komponenten des Kits aufgelistet. Zusätzlich benötigtes Material und Geräte zur Durchführung der Messungen sind in Tabelle 7 und 8 dargestellt.

Tabelle 6: Sandwich-ELISA-Kit-Komponenten der Firma Elabscience Biotechnology Co. Ltd.

Komponente	Menge
Mikro ELISA-Platte	96 Wells
Referenzstandard	1000 pg ADM
Referenzstandardlösung	20 ml
Konzentrierter biotinilierter Detektionsantikörper (100x)	110 µl
Biotinilierte Detektionsantikörperlösung	14 ml
Konzentrierte Avidin-HRP (100x)	110 µl
Avidin-HRP-Lösung	14 ml
Konzentrierter Waschpuffer (25x)	30 ml
Substratreagenz	10 ml
Stopplösung	10 ml
Plattenversiegelung	5 Stück

µl: Mikroliter; ELISA: *Enzyme-linked Immunosorbent Assay-Kits*; HRP: *Horseradish peroxidase*; ml: Milliliter; pg: Pikogramm

Tabelle 7: Zusätzlich Materialen zur Durchführung des Sandwich-ELISA

Materialbezeichnung	Firma
Eppendorf Safe-Lock Tubes, 1,5 ml, Eppendorf Quality™, farblos	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
15 ml CELLSTARS® polypropylen Röhrchen	Greiner Bio One International GmbH, Kremsmünster, Österreich
epT.I.P.S.® Standard, Eppendorf Quality™, 2-200 µl, 53 mm, gelb, farblose Spitzen	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
epT.I.P.S.® Standard, Eppendorf Quality™, 50-1000 µl, 71mm, blau, farblose Spitzen	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
5 ml Serological Pipet	BD Falcon™, BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland
Nitril® 3000, latexfreie Einmalhandschuhe	Meditrade GmbH, Kiefersfelden, Deutschland

µl: Mikroliter; ELISA: *Enzyme-linked Immunosorbent Assay-Kits*; ml: Milliliter; mm: Millimeter

Tabelle 8: Geräte zur Durchführung des Sandwich-ELISA

Gerät	Firma
Laborzentrifuge Thermo Scientific™ Heraeus™ Biofuge Fresco	Fisher Scientific GmbH, Schwerte, Deutschland
Bioer Thermacell Cooling & Heating Block	Hangzhou Bioer Co. Ltd., Hangzhou, China
Mikroplatten-Washer	Nunc Intermed, Roscilde, Dänemark
Eppendorf Reference® 2, Einkanal, variabel, 100-1000 µl, blau	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
Eppendorf Reference® 2, Einkanal, variabel, 20-200 µl, gelb	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
Easypet® 3, Einkanal	Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
Mikroplattenleser, Synergy HTX Multi-Model Reader	BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, USA
Software Gen5™	BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, USA

µl: Mikroliter; ELISA: *Enzyme-linked Immunosorbent Assay-Kits*

2.4.2 Methoden

Für die Bestimmung der ADM-Konzentrationen im Serum der Studienteilnehmer wurde das Sandwich-ELISA-Kit der Firma Elabscience Biotechnology Co. Ltd., Houston, Texas, USA verwendet. Bei der Durchführung des *Assays* wurden die Anweisungen der Gebrauchsanweisung befolgt [57].

Während der Vorbereitung tauten die Serumproben, die zuvor bei -80 °C gelagert wurden, auf Eis auf. Die Komponenten des Kits, die im Kühlschrank bei 4 °C gelagert wurden, wurden ausgepackt und auf Raumtemperatur gebracht. Zusätzlich wurde der Waschpuffer, der aus 30 ml konzentriertem Puffer und 720 ml destilliertes Wasser bestand, angerührt.

Im nächsten Schritt folgte die Erstellung der Standardlösungen. Hierzu wurde der Referenzstandard für eine Minute zentrifugiert und mit 1 ml Referenzstandardlösung zehn Minuten aufgelöst. Der Referenzstandard, der eine definierte Konzentration von 1000 pg/ml rekombinantem ADM enthielt, wurde mit Hilfe der Pipette durchmischt. Hiervon wurden 500 µl in ein Mikroreaktionsgefäß mit 500 µl Referenzstandardlösung umgefüllt. Diese enthielt nun 500 pg/ml ADM. Dieser Vorgang wurde für weitere fünf Mikroreaktionsgefäße mit je 500 µl Referenzstandardlösung durchgeführt und so entstand eine Konzentrationsreihe von Standardlösungen von 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63 und 0 pg/ml ADM.

Es folgte das Aliquotieren von 450 µl der Serumprobe in Mikroreaktionsgefäße. Während dieses Schrittes war es möglich, hämolytische und ikterische Proben zu identifizieren. Daraufhin wurden die Vertiefungen der 96-*Well*-Mikrotiterplatten befüllt. Die *Wells* enthielten Duplikate von acht Standardlösungen, 39 Serumproben und einer internen Kontrolle mit je 100 µl. Als interne Kontrolle wurde dasselbe humane Serum auf allen Platten genutzt.

Im Anschluss der Befüllung wurde die Platte mit einer Plattenversiegelungsfolie beklebt und bei 37 °C für 1,5 Stunden inkubiert. Nach Ablauf der Zeit wurden die Seren aus den *Wells* abgeschüttelt, in jedes *Well* wurden 100 µl einer Detektionsantikörperlösung gegeben und die Platte wurde mit Plattenversiegelungsfolie für eine weitere Stunde bei 37 °C inkubiert. Die Detektionsantikörperlösung bestand aus 110 µl konzentrierten biotinylierten Detektionsantikörper und 10890 µl biotinylierten Detektionsantikörperlösung, die in einem 15 ml Röhrchen zusammen gemischt wurden.

Nach der einstündigen Inkubation folgte das Abgießen der Lösung aus den *Wells,* das Waschen der *Wells* mit 350 µl Waschpuffer und das Trocknen mittels saugfähigen Papiers. Dieser Waschvorgang wurde insgesamt 3-mal durchgeführt. Im Anschluss wurden 100 µl Avidin-*Horseradish Peroxidase* (HRP)-Lösung in jedes *Well* pipettiert. Die Avidin-HRP-Lösung bestand aus 110 µl konzentrierten Avidin-HRP und 10890 µl Avidin-HRP-Verdünnungslösung, die in einem 15 ml Röhrchen vermischt wurden. Es folgte eine halbstündige Inkubation der Platte mit Plattenversiegelungsfolie. Im Anschluss wurde die Platte fünfmal mittels Waschpuffer gewaschen und je *Well* mit 90 µl Substratreagenz befüllt. Bei der darauffolgenden Inkubation wurde die Platte lichtgeschützt bei 37 °C für 20 bis 25 Minuten mit Plattenversiegelungsfolie inkubiert und dann mit zusätzlichen 50 µl Stopplösung je *Well* gelblich gefärbt. Im letzten Schritt wurden die ADM-Konzentrationen mit Hilfe eines Mikroplattenlesers ermittelt. Dieser berechnete eine Standardkurve aus den optischen Dichten der Standardlösungen. Die Konzentration der Serumproben wurde dann anhand ihrer optischen Dichte in der Standardkurve abgelesen. Die Abbildung 1 zeigt beispielhaft die Standardkurve eines der ADM-ELISA-Kits.

Wenn der Variationskoeffizient (Standardabweichung/ Mittelwert) der Duplikate einer Probe > 11 % betrug, wurde diese Probe erneut gemessen. Als Ergebnis diente der Mittelwert der insgesamt vier gemessenen Werte.

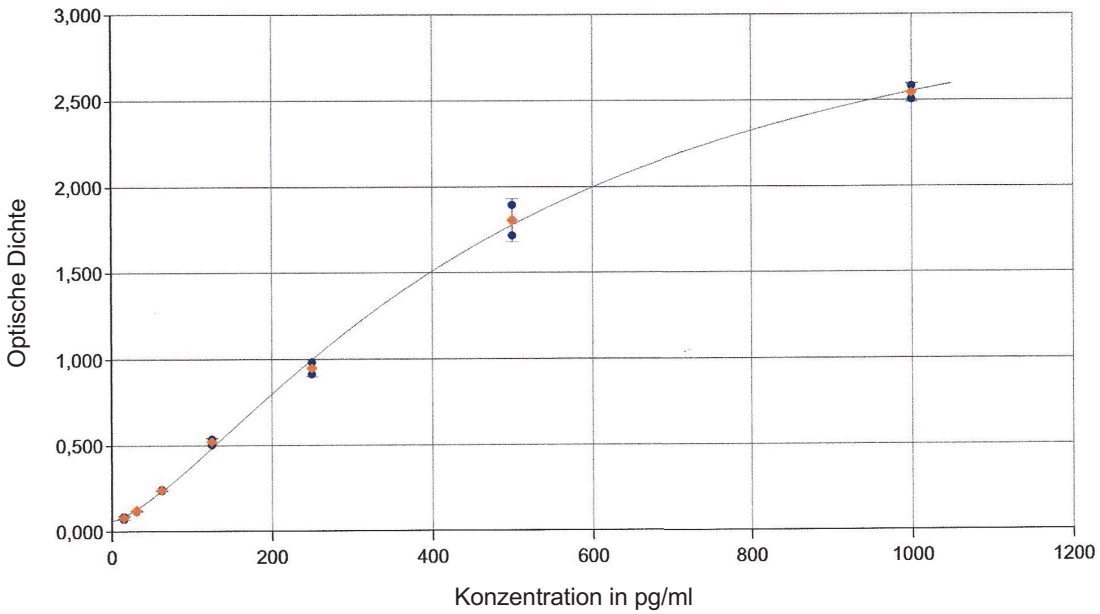


Abbildung 1: Typische Standardkurve des Adrenomedullin-*Enzyme-linked Immunosorbent Assay-Kits*.

2.5 *Homeostatic Model Assesment of Insulin Resistance* (HOMA-IR)

Der HOMA-IR dient der Einschätzung der Insulinresistenz und kann einfach und kostengünstig in der klinischen Routine genutzt werden. Der HOMA-IR wird mit folgender Formel berechnet:

(Nüchtern-Insulin [mU/l]) * Nüchtern-Glukose [mmol/l]) / 22,5.

Die Berechnung geht auf das mathematische Homöostase-Modell nach Turner zurück und basiert auf der Rückkopplungsschleife zwischen Insulin und Glukose [58]. Werte > 2,5 machen eine Insulinresistenz sehr wahrscheinlich [59].

2.6 Klassifikation des Diabetes mellitus

In der vorliegenden Arbeit folgte die Einordung der Studienteilnehmer anhand der evidenzbasierten Praxisempfehlungen der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) in Personen mit normaler Glukosetoleranz (ND), Typ-2-Diabetes (T2D) und Diabetes des exokrinen Pankreas (DEP) [13]. Bislang gibt es keine universell akzeptierten Diagnosekriterien für einen DEP. Die Kriterien der vorliegenden Arbeit orientieren sich an den drei folgenden Kriterien nach Hart et al. [16]:

- Diagnostizierter Diabetes mellitus
- Erkrankung des exokrinen Pankreas
- Begründeter Verdacht, dass der Diabetes sekundär zu der exokrinen Pankreaserkrankung entstand

Bei den Studienteilnehmern, die in die DEP-Gruppe eingeteilt wurden, lag ein diagnostizierter Diabetes mellitus und eine radiologisch und histologisch nachgewiesene exokrine Pankreasneoplasie vor. Zudem gab es einen nahen zeitliche Zusammenhang der Diagnose der exokrinen Pankreasneoplasie und des Diabetes mellitus.
Eine Übersicht der Einordnung in Diabetestypen gibt Tabelle 9.

Tabelle 9: Klassifikation des Diabetes mellitus

Klasse	Kriterien
Personen mit normaler Glukosetoleranz (ND)	Nüchtern-Glukose < 7,0 mmol/l und HbA1c < 6,5%
Typ 2 Diabetes (T2D)	Diagnostizierter Diabetes mellitus > 12 Monate vor Patientenkontakt
Diabetes des exokrinen Pankreas (DEP)	Diagnostizierter Diabetes mellitus ≤ 12 Monate vor Patientenkontakt und/oder Nüchtern-Glukose ≥ 7,0 mmol/l und/oder HbA1c ≥ 6,5%

HbA1c: Hämoglobin A1 c

2.7 Klassifikation des Pankreastumors

Die histopathologischen Befunde der Operationspräparate wurden abhängig vom Klinikum von folgenden Instituten erstellt:

- Universitätsklinikum Düsseldorf (UKD): Institut für Pathologie im UKD unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Irene Esposito, Düsseldorf
- Florence-Nightingale-Krankenhaus Düsseldorf-Kaiserswerth (FNK): Institut für Pathologie im Bethesda Krankenhaus Duisburg unter der Leitung von Prof. Dr. med. Claus Dieter Gerharz
- Lukaskrankenhaus Neuss: Institut für Pathologie im Lukaskrankenhaus Neuss unter der Leitung von Dr. med. Nora Hinsch

Insgesamt wurden Pankreasneoplasien unterschiedlicher Art in die Studie eingeschlossen. Dazu gehörten benigne Veränderungen, IPMN, duktale Adenokarzinome und maligne Erkrankungen mit Primärtumoren außerhalb des Pankreas.
In der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Tumorstadien und -grade der Patienten mit einem duktalen Adenokarzinom ausgewertet.
Die TNM-Klassifikation erfolgte anhand der UICC (Tabelle 10). Die Stadieneinteilung basiert auf der TNM-Klassifikation (Tabelle 11).

Zu beachten ist, dass im Jahr 2017 die 8. Auflage der *TNM Classification of Malignant Tumours* veröffentlicht wurde [60]. Die Beurteilung der Operationspräparate, die vor der Erneuerung untersucht wurden, basieren auf der 7. Auflage der *TNM Classification of Malignant Tumours*, die im Jahr 2009 veröffentlicht wurde [61]. Hinsichtlich der Beurteilung exokriner Pankreastumore gab es jedoch keine grundlegenden Veränderungen. Der Primärtumor im Stadium T3 wurde in der 7. Auflage als extrapankreatische Ausbreitung ohne Beteiligung von Truncus coeliacus oder Arteria mesenterica superior definiert. In der 8. Auflage ist das Stadium T3 von der Tumorgröße (> 4 cm) abhängig [62]. Auf die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit hatte die Klassifikationsänderung des Primärtumors (T) keinen Einfluss, da sich die Gruppeneinteilung der Tumorstadien für die Auswertung ausschließlich an regionäre Lymphknoten (N) und Fernmetastasen (M) orientierte (Kapitel 2.9).

Darüber hinaus wird das Tumorgrading, aufgelistet in Tabelle 12, histopathologisch bestimmt. Dabei wird der Differenzierungsgrad, die Abweichung der Tumorzellen vom ursprünglichen Gewebe, und damit der Malignitätsgrad beurteilt.

Tabelle 10: TNM-Klassifikation der exokrinen Pankreastumore [60]

	T: Primärtumor
Tx	Keine Beurteilung des Primärtumors möglich
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ / PanIN3
T1	Tumor begrenzt auf Pankreas, Tumorgröße < 2 cm
T2	Tumor begrenzt auf Pankreas, Tumorgröße > 2 cm
T3	Tumorgröße > 4 cm
T4	Tumorinfiltration des Truncus coeliacus oder Arteria mesenterica superior
	N: Regionäre Lymphknoten
Nx	Keine Beurteilung der regionären Lymphknoten möglich
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen
	M: Fernmetastasen
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Tabelle 11: Klassifikation der Tumorstadien nach der American Joint Commmittee on Cancer (AJCC)

Stadium	Primärtumor	Lymphknotenstatus	Fernmetastasen
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T1, T2, T3	N1	M0
III	T4	jedes N	M0
IV	jedes T	jedes N	M1

Tabelle 12: Tumorgrading

Grad	Definition
G1	Gut differenziertes malignes Gewebe mit intensiver Schleimproduktion, geringe Kernpolymorphie
G2	Mäßig differenziertes malignes Gewebe mit irregulärer Schleimproduktion, mittelgradige Kernpolymorphie
G3	Schlecht differenziertes malignes Gewebe, abortive Schleimproduktion, hochgradige Kernpolymorphie

2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse erfolgte mit IBM SPSS Statistics 25 und GraphPad Prism Version 8. Zur Durchführung der statistischen Analyse wurden die Daten der Parameter, die eine rechtsschiefe Verteilung aufwiesen (Schiefe > 1), mittels natürlichen Logarithmus logarithmiert, um sich einer Normalverteilung anzunähern. Darunter fielen BMI, ADM, HbA1c, Nüchtern-Glukose, Nüchtern-Insulin, Nüchtern-C-Peptid, HOMA-IR, Bilirubin, Lipase, Amylase, Pankreas-Amylase, Kreatinin und CRP. Im Anschluss wurden Gruppenvergleiche von Mittelwerten durchgeführt. Bei zwei Mittelwerten war es möglich einen T-Test für unabhängige Gruppen anzuwenden. Bei mehr als zwei Mittelwerten musste eine *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) plus post-hoc Test nach Bonferroni durchgeführt werden. Die Ergebnisse sind dargestellt als Mittelwerte ± Standardfehler des Mittelwertes (*Standard Error of the Mean*, SEM). Ein Signifikanzwert (p) unter 0,05 wurde als statistisch signifikant bewertet. Dabei dienten $p < 0,05$, $p < 0,01$ und $p < 0,001$ als Signifikanzniveaus.

Lineare Zusammenhänge zwischen zwei Parametern wurden mittels Pearson Korrelation berechnet. In der statistischen Analyse beschreibt der Korrelationskoeffizient (r) die Richtung und Stärke eines Zusammenhangs. Als statistisch signifikant wurden Korrelationen mit $p < 0,05$ bezeichnet.

2.9 Gruppeneinteilung für die Auswertung

Um statistische Analysen mit ausreichenden Gruppengrößen zu ermöglichen, wurden die Tumorstadien und das Tumorgrading laut ihres histologischen Befunds in Gruppen zusammengefasst.

Die Gruppeneinteilung der Tumorstadien erfolgte in folgende Gruppen:

- Keine Metastasen von Stadium 0 bis IIA
- Lymphknoten-Metastasen von Stadium IIB bis III
- Fernmetastasen Stadium IV

Das Tumorgrading wurde in zwei Gruppen, G1 / G2 und G3, aufgeteilt.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der Patienten mit und ohne Diabetes mellitus

Tabelle 13 zeigt eine Übersicht der Mittelwerte der klinischen und laborchemischen Parameter von Patienten mit und ohne Diabetes. Das Patientenkollektiv bestand aus 115 Personen.

Tabelle 13: Charakteristika der Patienten mit und ohne Diabetes mellitus

	ND	DM
Anzahl (davon männlich)	64 (34)	51 (23)
Alter [Jahre]	67,5 ± 1,3	69,4 ± 1,6
BMI [kg/m^2]	24,9 ± 0,6	27,6 ± 0,8 **
HbA1c [%]	5,6 ± 0,1	7,3 ± 0,2 ***
Nüchtern-Glukose [mmol/l]	5,0 ± 0,1	7,8 ± 0,4 ***
Nüchtern-Insulin [µU/ml]	9,4 ± 1,3	14,4 ± 2,2 *
C-Peptid [ng/ml]	2,4 ± 0,3	2,3 ± 0,3
HOMA-IR	2,3 ± 0,3	5,6 ± 1,3 ***
Bilirubin [mg/dl]	1,5 ± 0,3	2,2 ± 0,6
Cholinesterase [U/l]	6849 ± 238	7356 ± 280
Lipase [U/l]	165,6 ± 37,4	57,7 ± 9,6
Amylase [U/l]	102,5 ± 12,9	53,1 ± 4,9 ***
Pankreas-Amylase [U/l]	74,2 ± 12,8	29,3 ± 4,3 ***
Kreatinin [mg/dl]	0,86 ± 0,03	0,8 ± 0,03
CRP [mg/dl]	2,3 ± 0,7	1,4 ± 0,5

BMI: Body Mass Index; CRP: C-reaktives Protein; DM: Personen mit Diabetes; HbA1c: Hämoglobin A1 c; HOMA-IR: *Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*; ND: Personen ohne Diabetes. Aufgelistet sind Mittelwert ± Standardfehler sowie die statistische Signifikanz: * $p < 0,05$ im Vergleich zu ND; ** $p < 0,01$ im Vergleich zu ND; *** $p < 0,001$ im Vergleich zu ND. Der Gruppenvergleich erfolgte mittels T-Test.

Von den 64 Patienten ohne Diabetes waren insgesamt 34 Personen männlich. Bei den 51 Patienten mit Diabetes waren 23 Personen männlich. Hinsichtlich des Alters gab es keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Patienten mit Diabetes zeigten im Vergleich zu Patienten ohne Diabetes einen höheren BMI (27,6 ± 0,8 kg/m^2 vs. 24,9 ± 0,6 kg/m^2; $p = 0,004$), einen höheren HbA1c (7,3 ± 0,2 % vs. 5,6 ± 0,1 %; $p < 0,001$) und eine höhere Nüchtern-Glukose (7,8 ± 0,4 mmol/l vs. 5,0 ± 0,1 mmol/l; $p < 0,001$).

Zusätzlich zeigte der Mittelwert von Nüchtern-Insulin einen höheren Wert bei Patienten mit Diabetes als bei Menschen ohne Diabetes ($p = 0,013$). HOMA-IR war bei Patienten mit Diabetes mit $5,6 \pm 1,3$ gegenüber Patienten ohne Diabetes mit $2,3 \pm 0,3$ höher ($p < 0,001$). Weitere klinische Parameter wie Bilirubin, Cholinesterase, Lipase, Kreatinin und CRP zeigten keinen Unterschied zwischen den Gruppen. Allerdings wiesen sowohl Amylase, als auch deren Untergruppe Pankreas-Amylase, niedrigere Werte bei Menschen mit Diabetes als bei Menschen ohne Diabetes auf.

Abbildung 2 verdeutlicht die höhere Serumkonzentration von ADM bei Personen ohne Diabetes mit $120,1 \pm 11,8$ pg/ml im Vergleich zu Personen mit Diabetes mit $93,8 \pm 10,8$ pg/ml ($p = 0,034$).

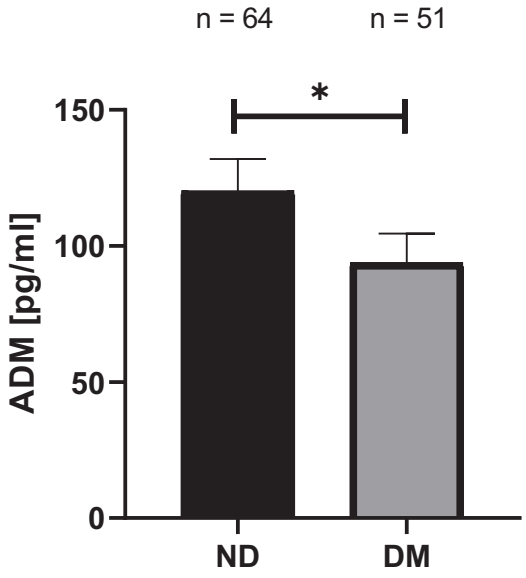


Abbildung 2: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Diabeteserkrankung. ADM: Adrenomedullin; DM: Personen mit Diabetes; n: Anzahl; ND: Personen ohne Diabetes. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM) sowie die statistische Signifikanz: * $p < 0,05$ DM vs. ND. Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels T-Test.

3.2 Charakteristika der Patienten in Abhängigkeit vom Diabetestyp

Die Patientencharakteristika in Abhängigkeit der vorliegenden Diabetestypen sind in Tabelle 14 dargestellt. Die eingeschlossenen Patienten wurden in drei Gruppen, Patienten ohne Diabetes, mit Typ-2-Diabetes und DEP, eingeteilt.

Tabelle 14: Charakteristika der Patienten in Abhängigkeit des Diabetestyps

	ND	T2D	DEP
Anzahl (davon männlich)	64 (34)	25 (9)	26 (14)
Alter [Jahre]	67,5 ± 1,3	71,1 ± 2,1	67,7 ± 2,3
BMI [kg/m^2]	24,9 ± 0,6	28,7 ± 1,3 **	26,4 ± 0,9
HbA1c [%]	5,6 ± 0,1	7,4 ± 0,2 ***	7,2 ± 0,2 ***
Nüchtern-Glukose [mmol/l]	5,0 ± 0,1	8,4 ± 0,6 ***	7,4 ± 0,5 ***
Nüchtern-Insulin [U/ml]	9,4 ± 1,3	10,9 ± 1,4	17,9 ± 4,1 *
C-Peptid [ng/ml]	2,4 ± 0,3	2,0 ± 0,3	2,7 ± 0,5
HOMA-IR	2,3 ± 0,3	3,8 ± 0,5 **	7,2 ± 2,5 **
Bilirubin [mg/dl]	1,5 ± 0,3	1,5 ± 0,5	2,7 ± 1,0
Cholinesterase [U/l]	6849 ± 238	7145 ± 370	7542 ± 416
Lipase [U/l]	165,6 ± 37,4	61,1 ± 16,1	54,6 ± 11,6
Amylase [U/l]	102,5 ± 12,9	60,9 ± 8,3 *	46,0 ±5,3 **
Pankreas-Amylase [U/l]	74,2 ± 12,8	36,0 ± 7,5 *	23,1 ± 4,4 **
Kreatinin [mg/dl]	0,86 ± 0,03	0,81 ± 0,04	0,79 ± 0,03
CRP [mg/dl]	2,3 ± 0,7	1,3 ± 0,6	1,5 ± 0,8

BMI: Body Mass Index; CRP: C-reaktives Protein; DEP: Diabetes des exokrinen Pankreas; HbA1c: Hämoglobin A1 c; HOMA-IR: *Homeostatic model assessment*; IR: Insulinresistenz; ND: Personen ohne Diabetes; T2D: Typ-2-Diabetes. Aufgelistet sind Mittelwert ± Standardfehler sowie die statistische Signifikanz: * $p < 0,05$ im Vergleich zu ND; ** $p < 0,01$ im Vergleich zu ND; *** $p < 0,001$ im Vergleich zu ND. Die Gruppenvergleiche erfolgten mittels *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) und post-hoc Test nach Bonferroni.

Der BMI der Patienten ohne Diabetes lag niedriger als der BMI der Patienten mit Typ-2-Diabetes (24,9 ± 0,6 kg/m^2 vs. 28,7 ± 1,3 kg/m^2; $p = 0,005$). Unter den Parametern des Glukose-Stoffwechsels waren sowohl HbA1c, Nüchtern-Glukose als auch HOMA-IR der T2D- und DEP-Gruppen gegenüber der ND-Gruppe höher.

Das Nüchtern-Insulin wies ausschließlich einen höheren Wert bei Patienten mit DEP mit 17,9 ± 4,1 U/ml im Vergleich zu Patienten ohne Diabetes mit 9,4 ± 1,3 U/ml ($p = 0,035$) auf. Bei den klinischen Parametern zeigte sich ein erniedrigter Wert sowohl von Amylase als auch von Pankreas-Amylase bei T2D und DEP gegenüber ND.

Wie in Abbildung 3 gezeigt, wiesen Patienten ohne Diabetes (120,1 ± 11,8 pg/ml) eine höhere ADM-Konzentration als Personen mit DEP (79,0 ± 13,6 pg/ml) (p = 0,034) auf. Die ADM-Konzentration bei Patienten mit Typ-2-Diabetes liegt bei 109,2 ± 16,5 pg/ml.

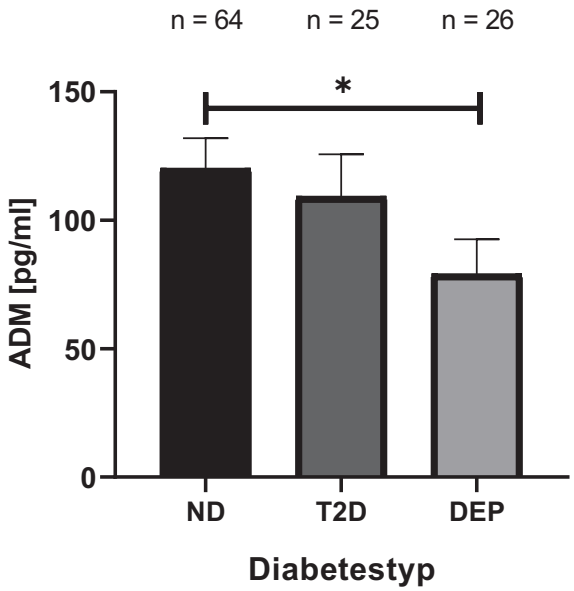


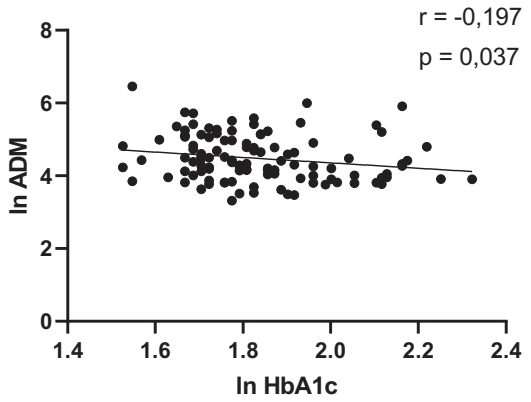
Abbildung 3: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit vom Diabetestyp. ADM: Adrenomedullin; DEP: Diabetes des exokrinen Pankreas; n: Anzahl; ND: Personen ohne Diabetes; T2D: Typ-2-Diabetes. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM) sowie die statistische Signifikanz: * p < 0,05 DEP vs. ND. Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) und post-hoc Test nach Bonferroni.

3.3 Assoziationen von Adrenomedullin mit klinischen Parametern

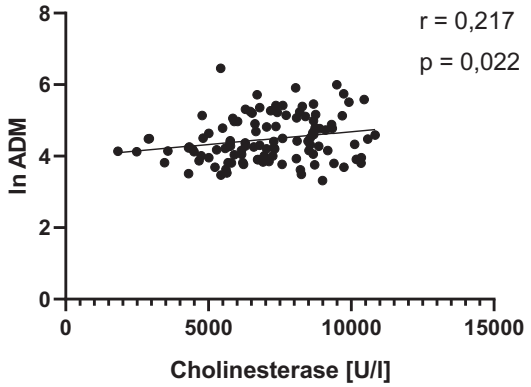
Um mögliche Zusammenhänge zwischen ADM und klinischen Parametern aufzuzeigen, wurden Regressionsanalysen nach Pearson durchgeführt.

Abbildung 4 und Tabelle 15 zeigen Assoziationen von ADM mit klinischen Parametern von insgesamt 115 Personen ohne eine Unterteilung in Diabetestypen.

A



B



C

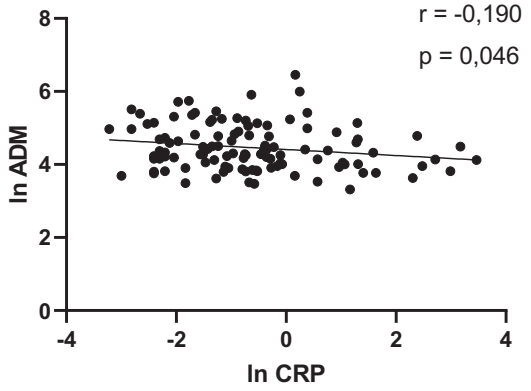


Abbildung 4: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und Hämoglobin A1 c (A), Cholinesterase (B) und C-reaktives Protein (C). ADM: Adrenomedullin; HbA1c: Hämoglobin A1 c; CRP: C-reaktives Protein; ln: natürlicher Logarithmus; p: Signifikanzwert; r: Korrelationskoeffizient. Dargestellt sind einfache Streudiagramme mit dazugehörigen Anpassungsgeraden.

Abbildung 4 A zeigt einen negativen Zusammenhang (r = -0,197) zwischen ADM und HbA1c (p = 0,037). In Abbildung 4 B wird der positive Zusammenhang (r = 0,217) zwischen ADM und Cholinesterase dargestellt (p = 0,022). Abbildung 4 C verdeutlicht den negativen Zusammenhang zwischen ADM und CRP (r = -0,190, p = 0,046).

Tabelle 15: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und klinischen Parametern (n = 115)

Korrelation	r	p
ln Adrenomedullin I Alter	-0,121	0,197
ln Adrenomedullin I ln BMI	-0,042	0,686
ln Adrenomedullin I ln Glukose	-0,150	0,113
ln Adrenomedullin I ln Insulin	-0,058	0,552
ln Adrenomedullin I ln C-Peptid	0,180	0,061
ln Adrenomedullin I ln HOMA-IR	-0,089	0,366
ln Adrenomedullin I ln Bilirubin	-0,001	0,994
ln Adrenomedullin I ln Lipase	-0,010	0,920
ln Adrenomedullin I ln Amylase	0,086	0,381
ln Adrenomedullin I ln Pankreasamylase	0,048	0,624
ln Adrenomedullin I ln Kreatinin	0,104	0,275

BMI: Body Mass Index; HbA1c: Hämoglobin A1 c; n: Anzahl; ln: natürlicher Logarithmus; p: Signifikanzwert; r: Korrelationskoeffizient. Aufgelistet sind die linearen Regressionen von Adrenomedullin und klinischen Parametern mit dazugehörigen r- und p-Werten, sowie bestehende Signifikanzen: * p < 0,05.

Weiterhin wurde das Studienkollektiv von 115 Patienten nach Diabetestyp aufgeteilt, um Assoziationen abhängig vom Diabetestyp zu identifizieren.

In Abbildung 5 und Tabelle 16 sind Assoziationen von ADM und klinischen Parametern bei Personen ohne Diabetes dargestellt.

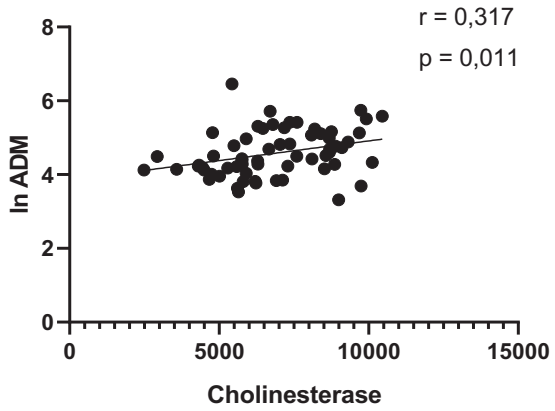


Abbildung 5: Assoziation zwischen Adrenomedullin und Cholinesterase bei Personen ohne Diabetes. ADM: Adrenomedullin; ln: natürlicher Logarithmus; p: Signifikanzwert; r: Korrelationskoeffizient. Dargestellt ist das einfache Streudiagramm von ln Adrenomedullin und Cholinesterase mit dazugehöriger Anpassungsgerade.

In der Gruppe der Menschen ohne Diabetes verstärkte sich die in Abbildung 4B im Gesamtkollektiv dargestellte positive Korrelation zwischen ADM und Cholinesterase auf r = 0,317 (p = 0,011) (Abb. 5).

Darüber hinaus ergaben sich keine Assoziationen zwischen ADM und klinischen Parametern bei Patienten ohne Diabetes (Tabelle 16).

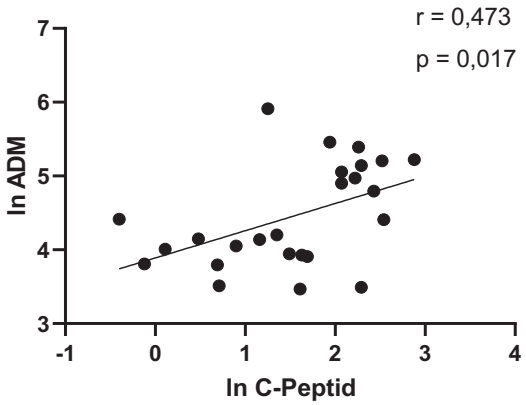
Tabelle 16: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und klinischen Parametern bei Personen ohne Diabetes (n = 64)

Korrelation	r	p
ln Adrenomedullin I Alter	-0,122	0,335
ln Adrenomedullin I ln BMI	0,009	0,948
ln Adrenomedullin I ln HbA1c	-0,132	0,302
ln Adrenomedullin I ln Glukose	0,010	0,939
ln Adrenomedullin I ln Insulin	-0,191	0,145
ln Adrenomedullin I ln C-Peptid	-0,019	0,884
ln Adrenomedullin I ln HOMA-IR	-0,167	0,209
ln Adrenomedullin I ln Bilirubin	-0,038	0,768
ln Adrenomedullin I ln Lipase	-0,228	0,072
ln Adrenomedullin I ln Amylase	-0,116	0,377
ln Adrenomedullin I ln Pankreasamylase	-0,169	0,198
ln Adrenomedullin I ln Kreatinin	-0,104	0,417
ln Adrenomedullin I ln C-reaktives Protein	-0,246	0,053

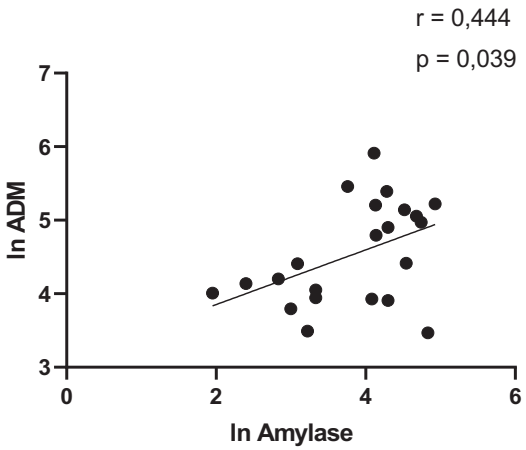
BMI: Body Mass Index; HbA1c: Hämoglobin A1 c; n: Anzahl; ln: natürlicher Logarithmus; p: Signifikanzwert; r: Korrelationskoeffizient. Aufgelistet sind die linearen Regressionen von Adrenomedullin und klinischen Parametern mit dazugehörigen r- und p-Werten.

In Abbildung 6 und Tabelle 17 sind Assoziationen zwischen ADM und klinischen Parametern bei Menschen mit Typ-2-Diabetes dargestellt.

A



B



C

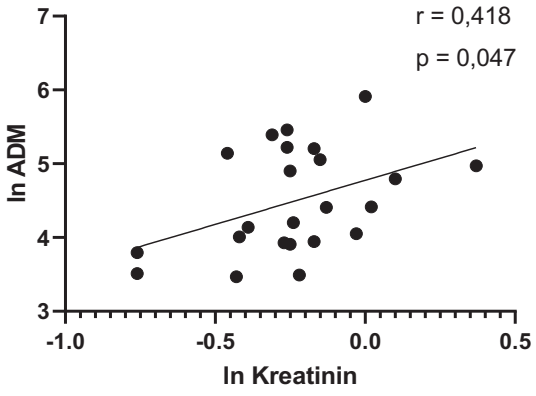


Abbildung 6: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und C-Peptid (A), Amylase (B) und Kreatinin (C) bei Personen mit Typ-2-Diabetes. ADM: Adrenomedullin; ln: natürlicher Logarithmus; p: Signifikanzwert; r: Korrelationskoeffizient. Dargestellt sind einfache Streudiagramme mit dazugehörigen Anpassungsgeraden.

Bei Menschen mit Typ-2-Diabetes konnte eine positive Korrelation von ADM mit C-Peptid (r = 0,473, p = 0,017) (Abb. 6 A), Amylase (r = 0,444, p = 0,039) (Abb. 6 B) und Kreatinin (r = 0,418, p = 0,047) (Abb. 6 C) festgestellt werden.

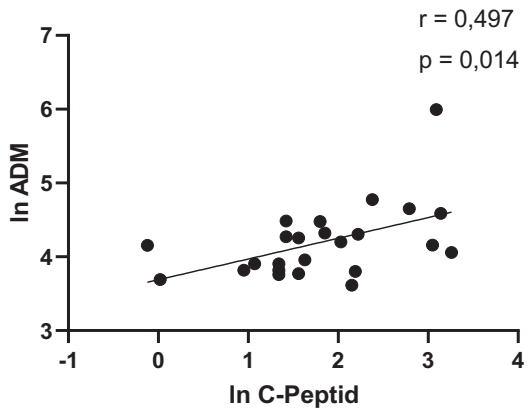
Tabelle 17: Assoziationen zwischen Adrenomedullin mit klinischen Parametern bei Personen mit Typ-2-Diabetes (n = 25)

Korrelation	**r**	**p**
ln Adrenomedullin I Alter	0,053	0,802
ln Adrenomedullin I ln BMI	-0,130	0,564
ln Adrenomedullin I ln HbA1c	-0,012	0,957
ln Adrenomedullin I ln Glukose	-0,175	0,413
ln Adrenomedullin I ln Insulin	0,401	0,052
ln Adrenomedullin I ln HOMA-IR	0,363	0,088
ln Adrenomedullin I ln Bilirubin	-0,117	0,594
ln Adrenomedullin I Cholinesterase	0,176	0,421
ln Adrenomedullin I ln Lipase	0,388	0,067
ln Adrenomedullin I ln Pankreasamylase	0,400	0,065
ln Adrenomedullin I ln C-reaktives Protein	-0,329	0,125

BMI: Body Mass Index; HbA1c: Hämoglobin A1 c; n: Anzahl; ln: natürlicher Logarithmus; p: Signifikanzwert; r: Korrelationskoeffizient. Aufgelistet sind die linearen Regressionen von Adrenomedullin und klinischen Parametern mit dazugehörigen r- und p-Werten.

In Abbildung 7 und Tabelle 18 sind Assoziationen zwischen ADM und klinischen Parametern bei Personen mit DEP dargestellt.

A



B

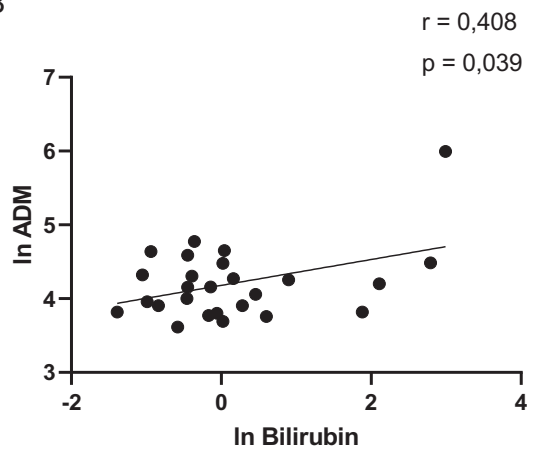


Abbildung 7: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und C-Peptid (A) und ln Bilirubin (B) bei Personen mit Diabetes des exokrinen Pankreas. ADM: Adrenomedullin; ln: natürlicher Logarithmus; p: Signifikanzwert; r: Korrelationskoeffizient. Dargestellt sind einfache Streudiagramm mit dazugehörigen Anpassungsgeraden.

Auch bei Personen mit DEP ergab sich eine positive Assoziation zwischen ADM und C-Peptid (r = 0,497, p = 0,014) (Abb. 7 A).

Zudem konnte ein positiver Zusammenhang zwischen Bilirubin und ADM (r = 0,408) festgestellt werden (p = 0,039) (Abb. 7 B).

Weitere Assoziationen ergaben sich nicht bei Patienten mit DEP (Tabelle 18).

Tabelle 18: Assoziationen zwischen Adrenomedullin mit klinischen Parametern bei Personen mit Diabetes des exokrinen Pankreas (n = 26)

Korrelation	r	p
ln Adrenomedullin I Alter	-0,341	0,089
ln Adrenomedullin I ln BMI	0,262	0,265
ln Adrenomedullin I ln HbA1c	-0,139	0,499
ln Adrenomedullin I ln Glukose	0,029	0,888
ln Adrenomedullin I ln Insulin	0,260	0,220
ln Adrenomedullin I ln HOMA-IR	0,242	0,254
ln Adrenomedullin I Cholinesterase	0,218	0,285
ln Adrenomedullin I ln Lipase	0,032	0,877
ln Adrenomedullin I ln Amylase	-0,211	0,322
ln Adrenomedullin I ln Pankreasamylase	-0,221	0,299
ln Adrenomedullin I ln Kreatinin	0,376	0,058
ln Adrenomedullin I ln C-reaktives Protein	0,004	0,983

BMI: Body Mass Index; HbA1c: Hämoglobin A1 c; n: Anzahl; ln: natürlicher Logarithmus; p: Signifikanzwert; r: Korrelationskoeffizient. Aufgelistet sind die linearen Regressionen von Adrenomedullin und klinischen Parametern mit dazugehörigen r- und p-Werten.

3.4 Adrenomedullin bei Patienten mit Diabetes und duktalem Adenokarzinom

Wie in Abbildung 8 gezeigt, zeigte sich innerhalb der Patientengruppe mit duktalem Adenokarzinomen eine höhere ADM-Serumkonzentration bei Menschen ohne Diabetes (106,7 ± 9,6 pg/ml) als bei Menschen mit Diabetes (88,5 ± 13,9 pg/ml) (p = 0,021).

Eine weitere Unterteilung in Diabetestypen konnte eine höhere ADM-Konzentration bei Personen ohne Diabetes (106,7 ± 9,6 pg/ml) als bei Personen mit DEP (76,7 ± 16,0 pg/ml) verdeutlichen (p = 0,045) (Abb. 9).

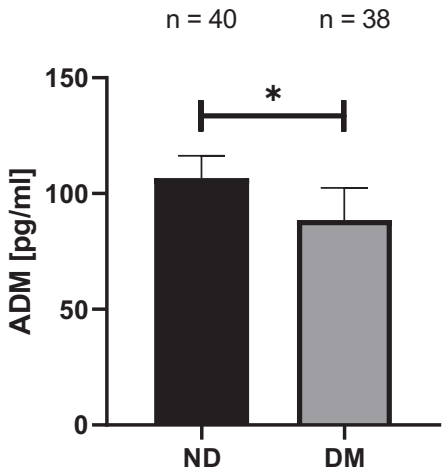


Abbildung 8: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Diabeteserkrankung innerhalb der Patientengruppe mit duktalen Adenokarzinomen. ADM: Adrenomedullin; n: Anzahl; ND: Personen ohne Diabetes; DM: Personen mit Diabetes. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM) sowie die statistische Signifikanz: * $p < 0,05$ DM vs. ND. Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels T-Test.

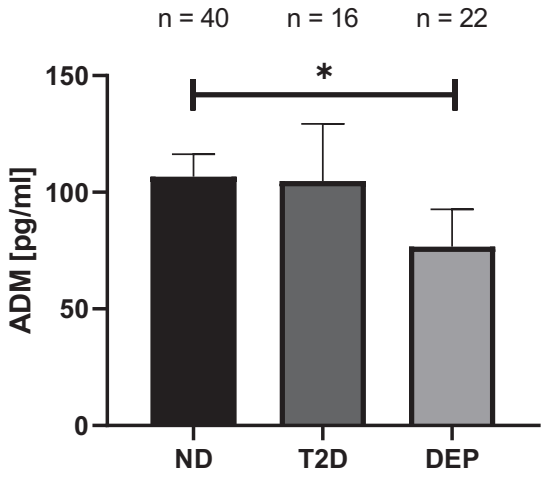


Abbildung 9: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit des Diabetestyps innerhalb der Patientengruppe mit duktalen Adenokarzinomen. ADM: Adrenomedullin; DEP: Diabetes des exokrinen Pankreas; n: Anzahl; ND: Personen ohne Diabetes; T2D: Typ-2-Diabetes. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM) sowie die statistische Signifikanz: * $p < 0,05$ DEP vs. ND. Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) und post-hoc Test nach Bonferroni.

In den nachfolgend dargestellten Ergebnissen wurde ausschließlich das duktale Adenokarzinom mit dazugehörigem Tumorstadium und Tumorgrading berücksichtigt.

Der Vergleich von ADM-Konzentrationen zwischen den Tumorstadien-Gruppen wies keinen Unterschied auf (Abb.10).

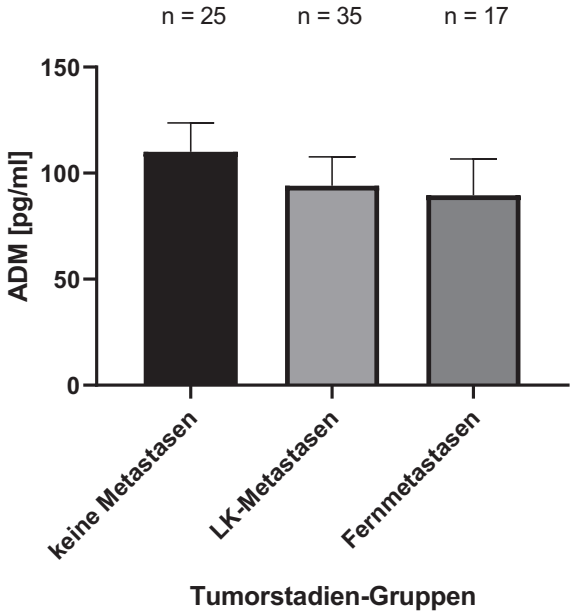


Abbildung 10: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorstadien-Gruppen. ADM: Adrenomedullin; LK: Lymphknoten; n: Anzahl. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM). Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) und post-hoc Test nach Bonferroni.

Allerdings ergab sich nach der weiteren Unterteilung in Menschen ohne Diabetes und mit Diabetes eine erhöhte ADM-Konzentration bei Patienten mit Diabetes in der Tumorstadien-Gruppe „Fernmetastasen“ (137,8 ± 34,3 pg/ml vs. 55,7 ± 6,2 pg/ml; $p < 0,01$) (Abb.11).
Nach einer Unterteilung in Diabetestypen zeigten sich in der Tumorstadien-Gruppe „keine Metastasen“ niedrigere ADM-Konzentrationen bei Patienten mit DEP (54,7 ± 4,1 pg/ml) und mit Typ-2-Diabetes (149,8 ± 39,7 pg/ml) als bei Patienten ohne Diabetes (124,6 ± 17,5 pg/ml) (beide $p < 0,05$) (Abb. 12).

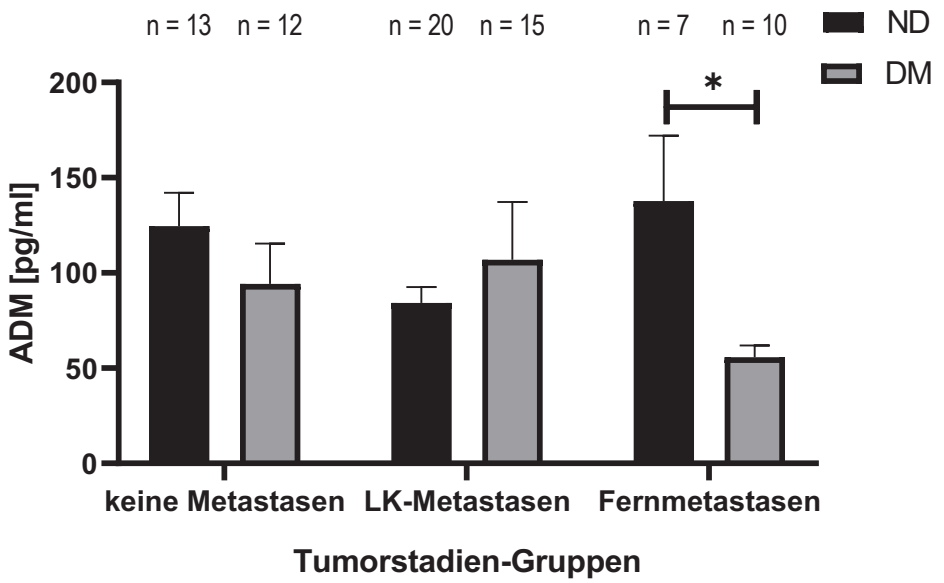


Abbildung 11: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorstadien-Gruppen und der Diabeteserkrankung. ADM: Adrenomedullin; DM: Personen mit Diabetes; LK: Lymphknoten; n: Anzahl; ND: Personen ohne Diabetes. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM) sowie die statistische Signifikanz: * $p < 0,05$. Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels T-Test.

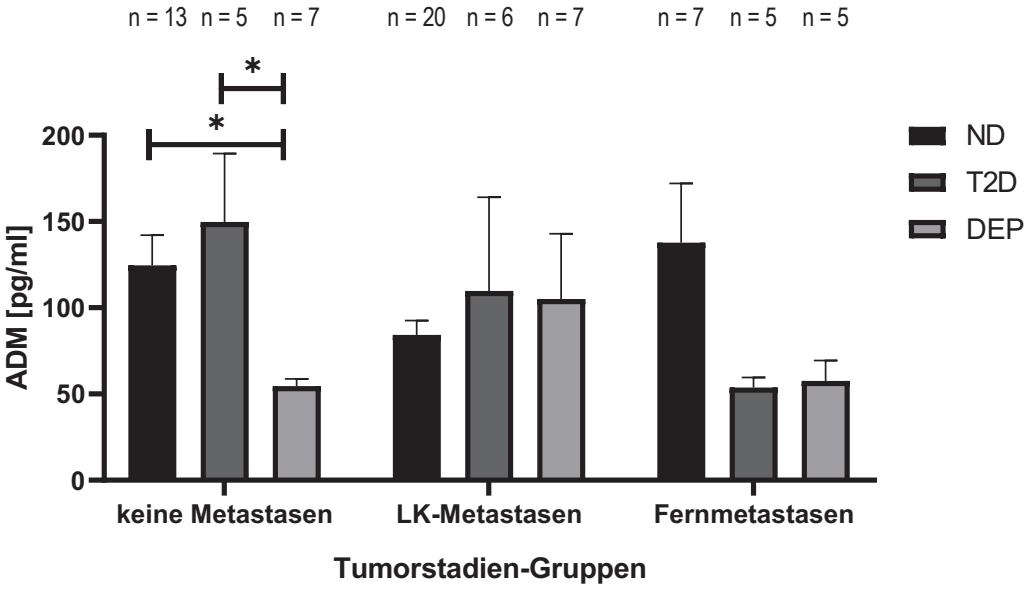


Abbildung 12: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorstadien-Gruppen und des Diabetestyps. ADM: Adrenomedullin; DEP: Diabetes des exokrinen Pankreas; LK: Lymphknoten; n: Anzahl; ND: Personen ohne Diabetes; T2D: Typ-2-Diabetes. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM) sowie die statistische Signifikanz: * $p < 0,05$. Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) und post-hoc Test nach Bonferroni.

Zwischen den Tumorgrading-Gruppen G1/G2 und G3 ergaben sich keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der ADM-Konzentration (Abb. 13).

Auch bei zusätzlicher Differenzierung in Diabeteserkrankung (Abb. 14) und Diabetestyp (Abb. 15) zeigten sich keine Unterschiede in der ADM-Konzentration.

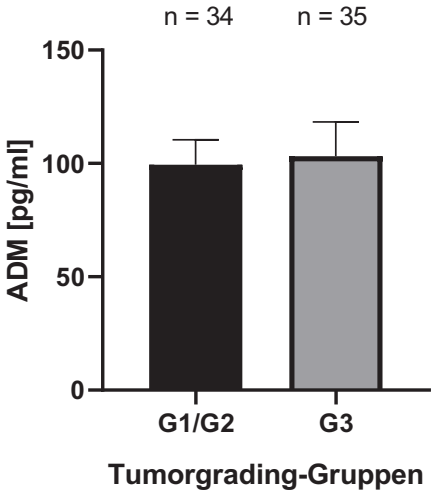


Abbildung 13: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorgrading-Gruppen. ADM: Adrenomedullin; n: Anzahl. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM). Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels T-Test.

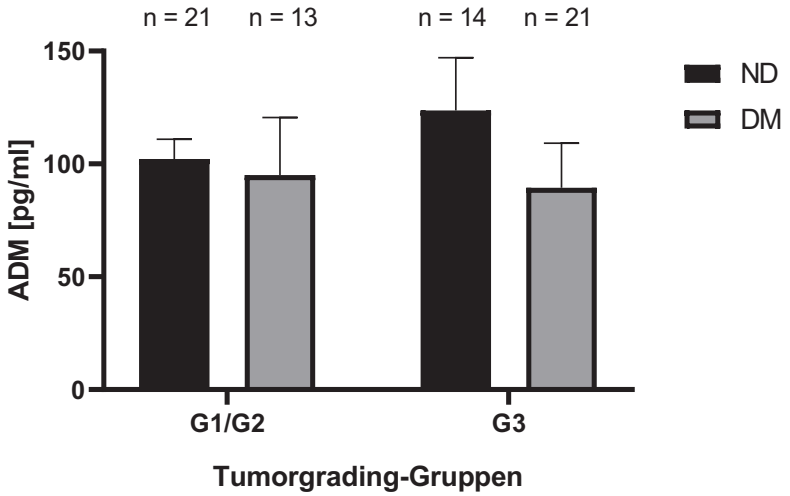


Abbildung 14: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorgrading-Gruppen und der Diabeteserkrankung. ADM: Adrenomedullin; DM: Personen mit Diabetes; n: Anzahl; ND: Personen ohne Diabetes. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM). Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels T-Test.

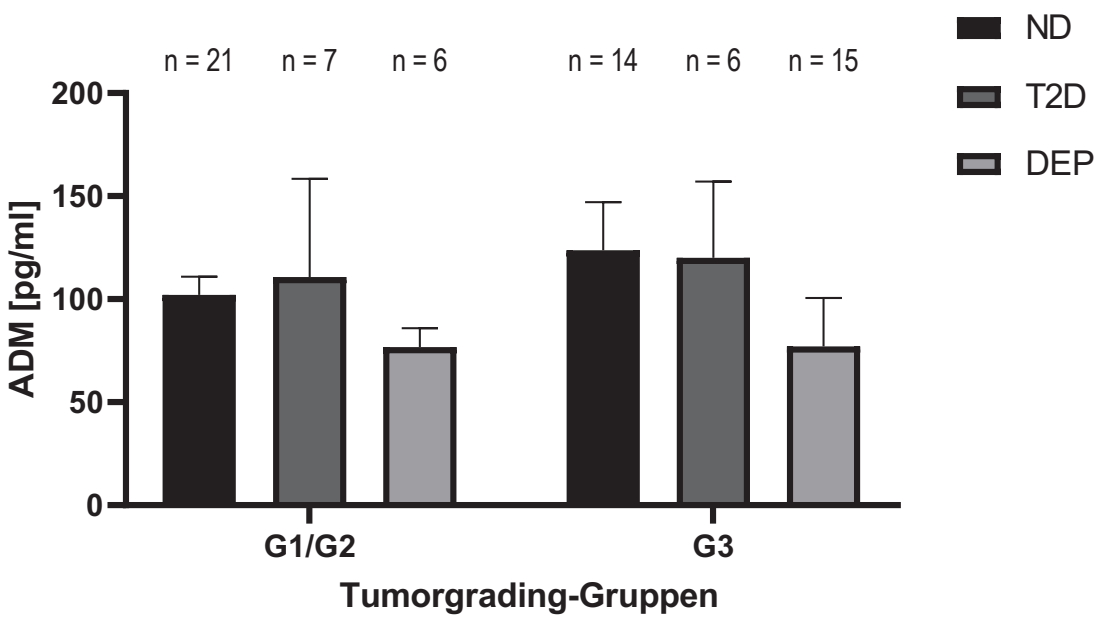


Abbildung 15: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorgrading-Gruppe und des Diabetestyps. ADM: Adrenomedullin; DEP: Diabetes des exokrinen Pankreas; n: Anzahl; ND: Personen ohne Diabetes; T2D: Typ-2-Diabetes. Angegeben sind Mittelwerte ± Standardfehler (SEM). Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels *One-way Analysis of Variance* (ANOVA) und post-hoc Test nach Bonferroni.

4 Diskussion

4.1 Einleitung

Die Entstehung des DEP in Folge von pankreatischen Neoplasien ist bisher unzureichend verstanden. Es ist zu klären, wie sich der DEP und Neoplasien, insbesondere das häufig auftretende duktale Adenokarzinom, gegenseitig beeinflussen.

ADM, ein ubiquitär vorhandenes Peptidhormon, scheint dabei sowohl eine Rolle bei der Tumorentstehung, als auch bei den Störungen der Glukosehomöostase, zu spielen [51, 55, 56].

Ziel der Arbeit war es, die Rolle von ADM in der Glukosehomöostase bei Patienten mit pankreatischen Neoplasien zu charakterisieren.

4.2 Patientenkollektiv

Das in der vorliegenden Studie untersuchte Patientenkollektiv wurde anhand der Praxisempfehlung der DDG in Personen mit normaler Glukosetoleranz, Typ-2 Diabetes und DEP eingeteilt [13].

Die Diagnosestellung des DEP in der hier vorliegenden Arbeit basiert auf den drei in der aktuellen Literatur weitgehend anerkannten Diagnosekriterien von Hart et al. [16]. Dazu gehört ein diagnostizierter Diabetes mellitus, eine Erkrankung des exokrinen Pankreas und ein begründeter Zusammenhang beider Erkrankungen. Bei allen Studienteilnehmern, die in die DEP-Gruppe eingeteilt wurden, lag ein diagnostizierter Diabetes mellitus und ein histologischer Nachweis einer exokrinen Pankreasneoplasie vor. Die Diabetes-Diagnose konnte gestellt werden, wenn beim Patienten eine Nüchternplasmaglukose ≥ 7,0 mmol/l, eine Gelegenheitsplasmaglukose ≥ 11,1 mmol/l oder ein HbA1c ≥ 6,5 % vorlag [13]. Zudem gab es einen nahen zeitlichen Zusammenhang der Diagnose der exokrinen Pankreaserkrankung und des Diabetes mellitus.

Zur Gruppe mit T2D zählten alle Patienten, bei denen die Diabetesdiagnose länger als 12 Monate zurück lag. Patienten, die vor weniger als 12 Monaten mit Diabetes diagnostiziert wurden, und/oder eine Nüchtern-Glukose ≥ 7,0 mmol/l und/oder einen HbA1c ≥ 6,5% aufwiesen, ohne dass zuvor ein Diabetes diagnostiziert worden war, zählten zur Gruppe mit DEP.

Die Patienten, die in diese Studie aufgenommen wurden, wiesen alle eine pankreatische Neoplasie auf. Es wurden ausschließlich Patienten mit Pankreasneoplasien untersucht, bei denen ein kurativ operativer Ansatz in Frage kam. Inoperable Patienten mit einem duktalen Adenokarzinom wurden nicht mit in die Studie aufgenommen.

4.3 Adrenomedullin-Serumspiegel

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ADM-Serumspiegel aus präoperativen Nüchternproben mittels Sandwich-ELISA-Kits bestimmt. Aktuell sind keine einheitlichen Normwerte der ADM-Konzentration bei gesunden Menschen beschrieben. Hinson et al. [63] trugen in einer Übersichtsarbeit die ADM-Messungen mehrerer Forschungsgruppen zusammen und legten einen ADM-Konzentrationsbereich im Plasma von gesunden Kontrollpersonen zwischen 1 - 10 pmol/l fest. Bei einem ADM-Molekulargewicht von 6029 g/mol liegen die Grenzwerte nach Hinson et al. somit zwischen 6 - 60 pg/ml [64]. Die Referenzwerte gesunder Menschen von ADM laut Elabscience Biotechnology Inc., Hersteller des Sandwich-ELISA-Kit, liegen bei 20 – 100 pg/ml [57].

ADM ist im menschlichen Körper ubiquitär vorhanden und der ADM-Serumspiegel wird nicht allein von Diabetes und Pankreasneoplasien beeinflusst [45]. Beispielsweise ist ADM bei Patienten mit arterieller Hypertonie, Herzinsuffizienz und Niereninsuffizienz im Serum erhöht [40, 63].

In einer Studie von Kohno et al. [65], in der die ADM-Konzentrationen von Patienten mit und ohne arterieller Hypertonie verglichen wurden, lagen die ADM-Konzentrationen bei Patienten mit einer unbehandelten arteriellen Hypertonie im Durchschnitt 16 pg/ml höher als bei Patienten ohne Bluthochdruck. Auch nach einer vierwöchigen antihypertensiven Behandlung mit Calciumantagonisten bei Patienten mit arterieller Hypertonie sank zwar der Blutdruck, aber nicht die ADM-Konzentration. Zudem konnte in der Patientengruppe mit arterieller Hypertonie eine positive Korrelation zwischen ADM- und Kreatinin-Konzentration nachgewiesen werden.

Jougasaki et al. wiesen eine durchschnittliche Erhöhung der ADM-Plasmakonzentration von 13,2 $\pm$ 3,3 pg/ml bei gesunden Personen auf 47,3 $\pm$ 6,7 pg/ml bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz nach [66]. In einer klinischen Studie von Nagaya et. al [67] wurde die kardiovaskuläre Reaktion auf die Infusion von ADM von sieben Patienten mit Herzinsuffizienz und sieben gesunden Probanden untersucht. Bei den gesunden Probanden sank nach ADM-Infusion der mittlere arterielle Druck um 16 mmHg und die Herzfrequenz stieg um 12 Schläge pro Minute. In der Patientengruppe mit chronischer Herzinsuffizienz zeigte sich eine geringere kardiovaskuläre Reaktion. Der mittlere arterielle Druck sank um 8 mmHg und die Herzfrequenz stieg um 5 Schläge pro Minute.

In dieser Studie konnte zudem nachgewiesen werden, dass die intravenöse Infusion von ADM den cAMP-Plasmaspiegel erhöht. Es wurde daher angenommen, dass ADM die glatte Gefäßmuskulatur durch einen cAMP-abhängigen Mechanismus entspannt und dadurch den mittleren arteriellen Blutdruck senkt. Es ist zudem bekannt, dass ADM den Gefäßtonus durch einen NO-abhängigen Mechanismus am Endothel reguliert [68]. Dieser NO-abhängige vasorelaxierende Effekt ist bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz jedoch gedämpft, zum Teil durch die eingeschränkte NO-Produktion im Endothel [69]. Dies erklärt auch, warum ADM den mittleren arteriellen Blutdruck bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz weniger senkt als bei gesunden Probanden.

In vorherigen Studien konnten zudem mit steigendem Alter höhere ADM-Spiegel festgestellt werden, die entweder durch eine verminderte Ausscheidung der Nieren oder eine vermehrte ADM-Produktion von verschiedenen Organen und Geweben, einschließlich Gefäßwänden und Myokardzellen, verursacht werden [70].

Außerdem zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen ADM-Konzentration und BMI [70, 71]. Harmancey et. al [72] verglichen die ADM-Konzentrationen von schlanken (BMI 21,6 $\pm$ 1,7 kg/m^2) und adipösen Personen (BMI 38,1 $\pm$ 5,9 kg/m^2). Schlanke Personen wiesen eine ADM-Konzentration von 17,1 $\pm$ 2,4 pmol/l und adipöse Personen von 61,6 $\pm$ 12,5 pmol/l auf.

4.3.1 Zusammenhang zwischen Adrenomedullin und klinischen Parametern

In den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Regressionsanalysen nach Pearson konnten Zusammenhänge zwischen ADM-Konzentrationen und klinischen Parametern innerhalb der unterschiedlichen Gruppen festgestellt werden.

Im gesamten Patientenkollektiv korrelierten ADM-Spiegel und HbA1c negativ miteinander. Personen mit Diabetes mellitus wiesen in dieser Untersuchung im Mittel niedrigere ADM-Serumspiegel auf.

Zudem konnte eine positive Korrelation zwischen ADM- und Cholinesterase-Spiegeln festgestellt werden. Diese Korrelation zeigte sich verstärkt bei Personen ohne Diabetes. Die Serumkonzentration von Cholinesterase, einem in der Leber synthetisierten Hormon, lässt eine Aussage über die Leberfunktion zu. Ein erniedrigter Wert deutet auf eine eingeschränkte Leberfunktion hin. Die physiologische Funktion von Cholinesterase ist weitestgehend unklar. In einer Studie von Kim et al. [73] wurde die Vorhersage der biologisch aktiven ADM-Konzentration für Organversagen und Mortalität bei Patienten mit Sepsis getestet. Dabei zeigte sich eine positive Assoziation von biologisch aktivem ADM und den Subscores der Koagulation-, Kreislauf-, Nieren-, und Leberfunktion des *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA)-Score. Wie ADM und Leberfunktion genau in Zusammenhang stehen, gilt es, in weiteren Studien zu untersuchen.

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass bei Patienten mit Typ-2-Diabetes oder DEP die Amylase- und Pankreas-Amylase-Werte niedriger waren als bei Patienten ohne Diabetes. Amylase ist ein Enzym, das langkettige Kohlenhydrate spaltet und sowohl von den Speicheldrüsen als auch vom Pankreas ausgeschüttet wird. Die mögliche Wirkung von ADM auf die exokrine Pankreasfunktion ist allerdings noch nicht ausreichend untersucht. In einer Studie von Olesen et al. [74] konnte eine negative Assoziation von Pankreas-Amylase-Spiegeln sowohl mit exokriner Pankreasinsuffizienz als auch mit Diabetes mellitus festgestellt werden. Damit könnten niedrigere Enzymwerte bereits auf eine exokrine Funktionseinschränkung des Pankreas hindeuten. Ein positiver Zusammenhang konnte in der hier durchgeführten Arbeit in der Gruppe der Patienten mit Typ-2-Diabetes zwischen Amylase und ADM beobachtet werden. Die Bedeutung dieses Zusammenhangs und warum er nicht in anderen Patientengruppen zu beobachten war, gilt es in zukünftigen Studien zu untersuchen.

4.3.2 Adrenomedullin-Serumspiegel bei Patienten mit Pankreasneoplasien

Mehrere Studien zeigten eine signifikante Erhöhung von ADM-Spiegel in malignen Tumoren einschließlich Osteosarkomen [75], malignen peripheren Nervenscheidentumoren [76], Magenkarzinomen [77] und Pankreaskarzinomen [56].

Die Erhöhung von ADM-Serumspiegeln infolge von Pankreaskarzinomen wurde in mehreren Studien bestätigt [54-56]. In der Studie von Keleg et al. [54] lag der durchschnittliche ADM-Spiegel von Patienten mit duktalem Adenokarzinom im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (13,5 ng/ml) bei 57 ng/ml. Keleg et al. [54] zeigten zudem, dass ADM aufgrund von Hypoxie in duktalen Adenokarzinomen des Pankreas überexprimiert wurde. Ramachandran et al. [55] konnten demonstrieren, dass ADM in pankreatischem Karzinomgewebe exprimiert wird und die Zellproliferation stimuliert.

In der vorliegenden Arbeit, in der das gesamte Patientenkollektiv an einer Pankreasneoplasie litt, überschritten die Mittelwerte der ADM-Konzentrationen in den drei Patientengruppen, Patienten ohne Diabetes, mit Typ-2-Diabetes und mit DEP, den von Hinson et al. [63] angegebenen oberen ADM-Grenzwert, von 60 pg/ml.

Auch in der Studie von Aggarwal et al. [56] wurde eine Erhöhung des ADM-Spiegels von Personen mit Pankreaskarzinomen im Vergleich zu Personen ohne Pankreaskarzinome festgestellt (20,5 $\pm$ 9,2 fmol/l vs. 13,8 $\pm$ 8,8 fmol/l). Besonders hoch war der Spiegel bei Patienten, bei denen neben dem Pankreaskarzinom auch ein Diabetes mellitus festgestellt wurde (22,9 $\pm$ 10,7 fmol/l).

In der vorliegenden Untersuchung wurden jedoch erniedrigte ADM-Spiegel bei Patienten mit Diabetes und Pankreaskarzinom festgestellt. Jedoch wurden hier auch nur ADM-Spiegel von Patienten gemessen, bei denen eine operable Pankreasneoplasie vorlag, während Aggarwal et al. auch Patienten mit nicht-operablen Karzinomen einschloss. Dazu gehörten auch Patienten, die aufgrund ihrer Vorerkrankungen oder ihres schlechten Allgemeinzustandes nicht mehr operiert werden konnten. Jedoch erhöhen kardiovaskuläre Vorerkrankungen den ADM-Serumspiegel [40]. Eine chronische Herzinsuffizienz beispielsweise erhöht die ADM-Konzentration um durchschnittlich 34,1 pg/ml [66]. Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, die sich chirurgischen Eingriffen unterziehen, haben ein wesentlich höheres Risiko während der Operation zu versterben als kardiovaskulär gesunde Patienten [78]. Kardiovaskuläre Vorerkrankungen können daher auch ein möglicher Grund sein, warum sich gegen eine totale oder partielle Pankreasresektion entschieden wurde.

Einen Unterschied in den ADM-Spiegeln zwischen frühen und fortgeschrittenen Stadien des Pankreaskarzinoms konnte weder bei Aggarwal et al. noch in dieser Untersuchung festgestellt werden. Auch ein Zusammenhang zwischen ADM-Konzentration und dem Tumorgrad konnte nicht nachgewiesen werden. Böddeker [79], dessen Dissertation auf derselben Biomaterialbank im Institut für Klinische Diabetologie des DDZ beruht, konnte zeigen, dass der DEP eine positive Assoziation mit einem höheren Tumorgrad aufwies. ADM ist als möglicher Mediator für die Entstehung von DEP bei hochgradigen duktalen Adenokarzinomen erwähnt worden [79]. Da mehrere Untersuchungen auf den Einfluss von ADM auf die Glukosehomöostase und das Karzinomwachstum hinweisen, wurde angenommen, dass ADM auch an der Entstehung von DEP beteiligt sein könnte.

Ob die ADM-Serumkonzentration als Prädiktor für die Entstehung von DEP genutzt werden kann, sollte in einer prospektiven Studie bei neu-aufgetretenem Diabetes untersucht werden. Eine zu diesem Thema vielversprechende Studie von Antollino et al. [80] begann 2015 in Rom. Zum Zeitpunkt der Fertigstellung der vorliegenden Arbeit lagen jedoch noch keine Ergebnisse vor.

4.3.3 Adrenomedullin und Glukosehomöostase

Welche Rolle ADM in der Glukosehomöostase bei Patienten mit Pankreaskarzinomen und damit bei der Entstehung eines DEP spielt, ist nicht vollständig geklärt. Deutlich ist jedoch, dass sich bei der Mehrheit der Pankreaskarzinompatienten die Glukosehomöostase verschlechtert [81]. Die Verschlechterung wird nicht, wie zunächst angenommen, durch die Tumorinfiltration in die insulinproduzierenden Betazellen verursacht, sondern durch ein komplexes Zusammenspiel von Mediatoren wie beispielsweise ADM, die die Glukosehomöostase bei Menschen mit Pankreaskarzinomen beeinflussen [16].

Aggarwal et al. [56] zeigten bei Versuchen mit Betazelllinien von Mäusen eine durch ADM verursachte Inhibition der Glukose-stimulierten Insulinsekretion. Eine verminderte Insulinsekretion scheint jedoch nicht die einzige mögliche Ursache für die Entstehung von DEP zu sein. In der vorliegenden Arbeit wiesen Patienten mit DEP höhere Nüchtern-Insulin-Serumspiegel im Vergleich zu Menschen ohne Diabetes auf. Unabhängig von den Insulingaben sind die C-Peptid-Konzentrationen, die bei Patienten mit DEP im Referenzbereich zwischen 0,7 – 3 ng/ml lagen.

In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich zudem ein positiver Zusammenhang zwischen ADM und C-Peptid bei Personen mit Typ-2-Diabetes und Personen mit DEP.

Dies steht im Gegensatz zur Annahme von Aggarwal et al., dass bei Betazelllinien von Mäusen ADM eine Inhibition der durch Glukose stimulierten Insulinsekretion bewirkt [56]. Vermutlich spielen hier für die widersprüchlichen Ergebnisse mehrere Faktoren eine Rolle. Zunächst führten Aggarwal et al. ihre Untersuchungen i*n vitro* an Betazellen von gesunden Mäusen durch. Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten ADM-Messungen fanden an menschlichem Serum statt. Zudem ist zu beachten, dass die positiven Korrelationen zwischen ADM und C-Peptid, nicht jedoch mit Insulin, nur bei Personen mit Diabetes festgestellt wurden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen die Vermutung nahe, dass die Insulinresistenz eine entscheidende Rolle für die Entstehung des DEP spielt. Diese Annahme wird bestärkt durch die HOMA-IR-Werte dieser Untersuchung, die nicht nur bei Menschen mit Typ-2-Diabetes, sondern auch bei Menschen mit DEP im Mittel höher waren als bei Menschen ohne Diabetes. Permert et al. [82] stellten schon 1993 fest, dass Diabetes bei Patienten mit duktalen Adenokarzinomen mit einer erhöhten Insulinresistenz einhergeht, die mithilfe der *Hyperinsulinemic-euglycemic clamp technique* bestimmt wurde. Zudem konnten Permert et al. keine Korrelationen zwischen Insulinresistenz und Gewichtsverlust oder Tumorgröße der Patienten feststellen. Die Insulinresistenz verbesserte sich jedoch nach der Tumorresektion.

Die Mechanismen der Entstehung einer Insulinresistenz beim duktalen Adenokarzinom sind nicht vollständig geklärt und erfordern weitere Untersuchungen [16].

Bei Ratten, die aufgrund einer zwölfwöchigen Fruktose-Diät eine Insulinresistenz entwickelten, konnte nachgewiesen werden, dass ADM-Injektionen die Insulinresistenz verminderten [51]. Diese Beobachtung ist im Einklang mit den Ergebnissen der hier durchgeführten Untersuchungen, bei denen Patienten mit DEP einen erhöhten HOMA-IR-Wert und einen erniedrigten ADM-Spiegel aufwiesen. Die positive Wirkung von ADM auf die Insulinsensitivität könnte durch eine Verminderung von hypoxischem Stress verursacht sein [51].

Möglicherweise schwächt ADM durch die Senkung des hypoxischen Stresses auch im Menschen die Entstehung einer Insulinresistenz ab. Weitere Untersuchungen der Wirkung von ADM auf die Insulinresistenz im Menschen sollten folgen.

4.4 Stärken und Schwächen der Arbeit

Zu den Schwächen der Arbeit gehören die relativ kleinen Gruppengrößen, insbesondere die der Patienten mit duktalem Adenokarzinom (n = 78), die in den Analysen entsprechend der Tumorstadien und -Grade eingeteilt wurden. Aus diesem Grund wurden auch keine weiterführenden statistischen Auswertungen durchgeführt, um beispielsweise den Einfluss weiterer Parameter als Confounder für die beobachteten Effekte zu analysieren.

In der hier durchgeführten Untersuchung gab es zwar eine Kontrollgruppe von Patienten ohne Diabetes, aber keine Kontrollgruppe von Patienten ohne Pankreasneoplasie. Der Einfluss einer Kontrollgruppe mit Patienten ohne Pankreasneoplasie ist schwer möglich, da bei gesunden Patienten oder bei Patienten, die ausschließlich an Diabetes erkrankt sind, normalerweise keine Indikation für eine Pankreasneoplasie besteht. Außerdem fand unter den Patienten mit Pankreasneoplasien eine Vorselektion durch die Ärzte der behandelnden Kliniken statt. In diese Studie wurden nur Patienten mit einer operablen Pankreasneoplasie eingeschlossen.

Zudem wiesen einige Patienten neben der Neoplasie, weitere Vorerkrankungen und Medikamenteneinnahmen auf, die nicht in die statistische Auswertung mit eingeflossen sind.

Zu den Stärken dieser Arbeit gehört das gute Matching hinsichtlich Alter und Geschlecht der Patientengruppen. Die Gruppen, Patienten ohne Diabetes (n = 64, davon 34 männlich) und Patienten mit Diabetes (n = 51, davon 23 männlich), sind hinsichtlich Gesamtgröße und Anteil der Geschlechter annähernd gleichgroß. Das Durchschnittsalter betrug in der Patientengruppe ohne Diabetes 68 Jahre und der Patientengruppe mit Diabetes 69 Jahre. Zudem erfolgte eine einheitliche Anwendung von derzeit allgemein anerkannten Kriterien anhand der Praxisempfehlungen der DDG [13] und Hart et al. [16] zur Einteilung in die Gruppen Patienten mit Typ-2-Diabetes und Patienten mit DEP.

Eine weitere Stärke der Arbeit ist die einheitliche Messung in einem Labor von Parametern der klinischen Chemie wie HbA1c, Nüchtern-Glukose, Nüchtern-Insulin, C-Peptid, Bilirubin, Cholinesterase, Lipase, Amylase, Pankreas-Amylase, Kreatinin und CRP. Die Ermittlung der ADM-Serumkonzentrationen wurden mittels ELISA-Kits einer Charge in einem Labor von der gleichen Person durchgeführt.

4.5 Schlussfolgerung

In dieser Arbeit wurde ein niedriger ADM-Serumspiegel bei Patienten mit DEP, vor einer potenziell zu resezierenden Pankreasneoplasie, im Vergleich zu Patienten ohne Diabetes nachgewiesen. Unter Berücksichtigung vorheriger Studien und Ergebnissen dieser Untersuchung scheint vor allem die Insulinresistenz eine Ursache für die Entstehung von DEP zu sein. Bei der Entstehung der Insulinresistenz spielt möglicherweise ADM eine protektive Rolle. In Folgestudien sollte untersucht werden, über welche Mechanismen ADM Einfluss auf die Glukosehomöostase nimmt.

5 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ätiologische Klassifikation des Diabetes mellitus [4] 2
Tabelle 2: Kriterien für die Diagnose eines Diabetes des exokrinen Pankreas [17] 6
Tabelle 3: Blutabnahme-Röhrchen 15
Tabelle 4: Material zur Aliquotierung 15
Tabelle 5: Verwendete Geräte im Labor für Humananalytik des DDZ 16
Tabelle 6: Sandwich-ELISA-Kit-Komponenten der Firma Elabscience Biotechnology Co. Ltd. 17
Tabelle 7: Zusätzlich Materialen zur Durchführung des Sandwich-ELISA 18
Tabelle 8: Geräte zur Durchführung des Sandwich-ELISA 19
Tabelle 9: Klassifikation des Diabetes mellitus 22
Tabelle 10: TNM-Klassifikation der exokrinen Pankreastumore [60] 23
Tabelle 11: Klassifikation der Tumorstadien nach der American Joint Commmittee on Cancer (AJCC) 24
Tabelle 12: Tumorgrading 24
Tabelle 13: Charakteristika der Patienten mit und ohne Diabetes mellitus 26
Tabelle 14: Charakteristika der Patienten in Abhängigkeit des Diabetestyps 28
Tabelle 15: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und klinischen Parametern (n = 115) 31
Tabelle 16: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und klinischen Parametern bei Personen ohne Diabetes (n = 64) 33
Tabelle 17: Assoziationen zwischen Adrenomedullin mit klinischen Parametern bei Personen mit Typ-2-Diabetes (n = 25) 35
Tabelle 18: Assoziationen zwischen Adrenomedullin mit klinischen Parametern bei Personen mit Diabetes des exokrinen Pankreas (n = 26) 37

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Typische Standardkurve des Adrenomedullin-Enzyme-linked Immunosorbent Assay-Kits. 21
Abbildung 2: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Diabeteserkrankung. ... 27
Abbildung 3: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit vom Diabetestyp. 29
Abbildung 4: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und Hämoglobin A1 c (A), Cholinesterase (B) und C-reaktives Protein (C). 30
Abbildung 5: Assoziation zwischen Adrenomedullin und Cholinesterase bei Personen ohne Diabetes. 32
Abbildung 6: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und C-Peptid (A), Amylase (B) und Kreatinin (C) bei Personen mit Typ-2-Diabetes. 34
Abbildung 7: Assoziationen zwischen Adrenomedullin und C-Peptid (A) und ln Bilirubin (B) bei Personen mit Diabetes des exokrinen Pankreas. 36
Abbildung 8: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Diabeteserkrankung innerhalb der Patientengruppe mit duktalen Adenokarzinomen. 38
Abbildung 9: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit des Diabetestyps innerhalb der Patientengruppe mit duktalen Adenokarzinomen. 38
Abbildung 10: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorstadien-Gruppen. 39
Abbildung 11: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorstadien-Gruppen und der Diabeteserkrankung. 40
Abbildung 12: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorstadien-Gruppen und des Diabetestyps. 40
Abbildung 13: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorgrading-Gruppen. 41
Abbildung 14: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorgrading-Gruppen und der Diabeteserkrankung. 41
Abbildung 15: Adrenomedullin-Serumspiegel in Abhängigkeit der Tumorgrading-Gruppe und des Diabetestyps. 42

7 Literaturverzeichnis

1. International Diabetes Federation, *IDF Diabetes Atlas*. 2017: Brussels, Belgium.
2. Tamayo, T., et al., *Diabetes in Europe: an update.* Diabetes Res Clin Pract, 2014. **103**(2): p. 206-17.
3. Jacobs, E. and W. Rathmann, *Deutscher Gesundheitsbericht Diabetes 2019 Epidemiologie des Diabetes in Deutschland*. Deutsche Diabetes Gesellschaft (DDG) Deutsche Diabetes-Hilfe, 2019.
4. American Diabetes Association, *Diagnosis and classification of diabetes mellitus.* Diabetes Care, 2014. **37 Suppl 1**(Supplement_1): p. S81-90.
5. Nauck, M., et al., *Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus.* Diabetologie und Stoffwechsel, 2017. **12**(S 02): p. S94-S100.
6. Petrov, M.S., *Diabetes of the exocrine pancreas: American Diabetes Association-compliant lexicon.* Pancreatology, 2017. **17**(4): p. 523-526.
7. Pociot, F. and A. Lernmark, *Genetic risk factors for type 1 diabetes.* Lancet, 2016. **387**(10035): p. 2331-2339.
8. Abdelhafiz, A.H. and A.J. Sinclair, *Diabetes, Nutrition, and Exercise.* Clin Geriatr Med, 2015. **31**(3): p. 439-51.
9. Beck-Nielsen, H., et al., *Metabolic and genetic influence on glucose metabolism in type 2 diabetic subjects-experiences from relatives and twin studies.* Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2003. **17**(3): p. 445-67.
10. Ewald, N., et al., *Prevalence of diabetes mellitus secondary to pancreatic diseases (type 3c).* Diabetes Metab Res Rev, 2012. **28**(4): p. 338-42.
11. Chari, S.T., et al., *Probability of pancreatic cancer following diabetes: a population-based study.* Gastroenterology, 2005. **129**(2): p. 504-11.
12. Wynne, K., B. Devereaux, and A. Dornhorst, *Diabetes of the exocrine pancreas.* J Gastroenterol Hepatol, 2019. **34**(2): p. 346-354.
13. Nauck, M., et al., *Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus.* Diabetologie und Stoffwechsel, 2018. **13**(S 02): p. S90-S96.
14. Bundesärztekammer, Kassenärztliche Bundesvereinigung, and Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaflichen Medizinischen Fachgesellschaften, *Nationale VersorgungsLeitlinie Therapie des Typ-2-Diabetes*. 2013.
15. Woodmansey, C., et al., *Incidence, Demographics, and Clinical Characteristics of Diabetes of the Exocrine Pancreas (Type 3c): A Retrospective Cohort Study.* Diabetes Care, 2017. **40**(11): p. 1486-1493.
16. Hart, P.A., et al., *Type 3c (pancreatogenic) diabetes mellitus secondary to chronic pancreatitis and pancreatic cancer.* Lancet Gastroenterol Hepatol, 2016. **1**(3): p. 226-237.
17. Ewald, N. and R.G. Bretzel, *Diabetes mellitus secondary to pancreatic diseases (Type 3c)--are we neglecting an important disease?* Eur J Intern Med, 2013. **24**(3): p. 203-6.
18. Roeyen, G. and C. De Block, *A plea for more practical and clinically applicable criteria defining type 3c diabetes.* Pancreatology, 2017. **17**(6): p. 875.
19. Zentrum für Krebsregisterdaten and Gesellschaft der Epidemiologischen Krebsregister in Deutschland E.V., *Krebs in Deutschland für 2013/2014*. 2017, Robert Koch Institut: Berlin.
20. Luttges, J., et al., *Rare ductal adenocarcinoma of the pancreas in patients younger than age 40 years.* Cancer, 2004. **100**(1): p. 173-82.

21. Oettle, H., et al., *Pankreaskarzinom*. 2018, Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie,.
22. Bosman, F., et al., *WHO classification of tumours of the digestive system*. 2010, World Health Organization.
23. Matthaei, H., et al., *Cystic precursors to invasive pancreatic cancer.* Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2011. **8**(3): p. 141-50.
24. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, and AWMF, *S3-Leitlinie Ekokrines Pankreaskarzinom, Langversion 1.0*. 2013.
25. Ducreux, M., et al., *Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up.* Ann Oncol, 2015. **26 Suppl 5**: p. v56-68.
26. Luttges, J., G. Zamboni, and G. Kloppel, *Recommendation for the examination of pancreaticoduodenectomy specimens removed from patients with carcinoma of the exocrine pancreas. A proposal for a standardized pathological staging of pancreaticoduodenectomy specimens including a checklist.* Dig Surg, 1999. **16**(4): p. 291-6.
27. Mao, Y., et al., *Effect of Diabetes Mellitus on Survival in Patients with Pancreatic Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis.* Sci Rep, 2015. **5**: p. 17102.
28. Kitamura, K., et al., *Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma.* Biochem Biophys Res Commun, 1993. **192**(2): p. 553-60.
29. Kitamura, K., K. Kangawa, and T. Eto, *Biochemistry of Adrenomedullin*, in *Adrnomedullin in Cardiovascular Disease*, T. Nishikimi, Editor. 2005, Spinger Science+Business Media, Inc.: New York.
30. Horio, T. and F. Yoshihara, *Biological Action of Adrenomedullin*, in *Adrenomedullin in Cardiovascular Disease*, T. Nishikimi, Editor. 2005, Springer Science+Business Media, Inc.: New York.
31. Iwasaki, H., et al., *Adrenomedullin as a novel growth-promoting factor for cultured vascular smooth muscle cells: role of tyrosine kinase-mediated mitogen-activated protein kinase activation.* Endocrinology, 1998. **139**(8): p. 3432-41.
32. Fukai, N., et al., *Coexpression of calcitonin receptor-like receptor and receptor activity-modifying protein 2 or 3 mediates the antimigratory effect of adrenomedullin.* Endocrinology, 2003. **144**(2): p. 447-53.
33. Kato, H., *Adrenomedullin as an Autocrine/Paracrine Apoptosis Survival Factor for Rat Endothelial Cells.* Endocrinology, 1997. **138**(6): p. 2615-2620.
34. Hirata, Y., et al., *Increased circulating adrenomedullin, a novel vasodilatory peptide, in sepsis.* J Clin Endocrinol Metab, 1996. **81**(4): p. 1449-53.
35. Kim, W., et al., *Angiogenic role of adrenomedullin through activation of Akt, mitogen-activated protein kinase, and focal adhesion kinase in endothelial cells.* FASEB J, 2003. **17**(13): p. 1937-9.
36. Nussdorfer, G.G., G.P. Rossi, and G. Mazzocchi, *Role of adrenomedullin and related peptides in the regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis.* Peptides, 1997. **18**(7): p. 1079-89.
37. Minamino, N., *Adrenomedullin Expression and Secretion*, in *Adrenomedullin in Cardiovascular Disease*, T. Nishikimi, Editor. 2005, Springer Science+Business Media, Inc.: New York.
38. Roh, J., et al., *Intermedin is a calcitonin/calcitonin gene-related peptide family peptide acting through the calcitonin receptor-like receptor/receptor activity-*

modifying protein receptor complexes. J Biol Chem, 2004. **279**(8): p. 7264-74.
39. Yoshimoto, T. and Y. Hirata, *Adrenomedullin Receptor and Signal Transduction*, in *Adrenomedullin in Cardiovascular Disease*, T. Nishikimi, Editor. 2005, Springer Science+Business Media, Inc.: New York.
40. Ishimitsu, T., et al., *Adrenomedullin Gene*, in *Adrenomedullin in Cardiovascular Disease*, T. Nishikimi, Editor. 2005, Springer Science+Business Media, Inc.: New York.
41. Isumi, Y., et al., *Regulation of adrenomedullin production in rat endothelial cells.* Endocrinology, 1998. **139**(3): p. 838-46.
42. Cormier-Regard, S., *Adrenomedullin gene expression is developmentally regulated and induced by hypoxia in rat ventricular cardiac myocytes.* 1998.
43. Sandner, P., et al., *Expression of adrenomedullin in hypoxic and ischemic rat kidneys and human kidneys with arterial stenosis.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2004. **286**(5): p. R942-51.
44. Chun, T.H., et al., *Oxidative stress augments secretion of endothelium-derived relaxing peptides, C-type natriuretic peptide and adrenomedullin.* J Hypertens, 2000. **18**(5): p. 575-80.
45. Zudaire, E., F. Cuttitta, and A. Martinez, *Regulation of pancreatic physiology by adrenomedullin and its binding protein.* Regul Pept, 2003. **112**(1-3): p. 121-30.
46. Nikitenko, L.L., et al., *Adrenomedullin and the microvasculature.* Trends Pharmacol Sci, 2002. **23**(3): p. 101-3.
47. Eto, T., K. Kitamura, and J. Kato, *Biological and clinical roles of adrenomedullin in circulation control and cardiovascular diseases.* Clin Exp Pharmacol Physiol, 1999. **26**(5-6): p. 371-80.
48. Lopez, J. and N. Cuesta, *Adrenomedullin as a pancreatic hormone.* Microsc Res Tech, 2002. **57**(2): p. 61-75.
49. Mulder, H., et al., *Adrenomedullin: localization in the gastrointestinal tract and effects on insulin secretion.* Regul Pept, 1996. **62**(2-3): p. 107-12.
50. Martinez, A., et al., *Regulation of insulin secretion and blood glucose metabolism by adrenomedullin.* Endocrinology, 1996. **137**(6): p. 2626-32.
51. Zhou, Y.B., et al., *Adrenomedullin attenuates vascular calcification in fructose-induced insulin resistance rats.* Acta Physiol (Oxf), 2013. **207**(3): p. 437-46.
52. Shimosawa, T., et al., *Deficiency of adrenomedullin induces insulin resistance by increasing oxidative stress.* Hypertension, 2003. **41**(5): p. 1080-5.
53. Zhang, S.Y., et al., *Adrenomedullin 2 Improves Early Obesity-Induced Adipose Insulin Resistance by Inhibiting the Class II MHC in Adipocytes.* Diabetes, 2016. **65**(8): p. 2342-55.
54. Keleg, S., et al., *Adrenomedullin is induced by hypoxia and enhances pancreatic cancer cell invasion.* Int J Cancer, 2007. **121**(1): p. 21-32.
55. Ramachandran, V., et al., *Adrenomedullin is expressed in pancreatic cancer and stimulates cell proliferation and invasion in an autocrine manner via the adrenomedullin receptor, ADMR.* Cancer Res, 2007. **67**(6): p. 2666-75.
56. Aggarwal, G., et al., *Adrenomedullin is up-regulated in patients with pancreatic cancer and causes insulin resistance in beta cells and mice.* Gastroenterology, 2012. **143**(6): p. 1510-1517 e1.
57. Elabscience Biotechnology Inc., *ELISA KIT USER MANUAL*. 2017.

58. Matthews, D.R., et al., *Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.* Diabetologia, 1985. **28**(7): p. 412-9.
59. Hagemann, O. *HOMA-Index*. 31.10.2019]; Available from: http://laborlexikon.de/Lexikon/Infoframe/h/HOMA-Index.htm.
60. Gospodarowicz, M.K., J.D. Brierley, and C. Wittekind, *TNM classification of malignant tumours*. 8 ed. 2017: John Wiley & Sons, Ltd.
61. Sobin, L.H., C. Wittekind, and W.C. Gospodarowicz, *TNM Classification of Malignant Tumours 7th Edition Wiley*. 2009.
62. Bertero, L., et al., *Eighth Edition of the UICC Classification of Malignant Tumours: an overview of the changes in the pathological TNM classification criteria-What has changed and why?* Virchows Arch, 2018. **472**(4): p. 519-531.
63. Hinson, J.P., S. Kapas, and D.M. Smith, *Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide.* Endocr Rev, 2000. **21**(2): p. 138-67.
64. Kim, S., et al., *PubChem 2019 update: improved access to chemical data.* Nucleic Acids Res, 2019. **47**(D1): p. D1102-D1109.
65. Kohno, M., et al., *Plasma adrenomedullin concentrations in essential hypertension.* Hypertension, 1996. **27**(1): p. 102-7.
66. Jougasaki, M., et al., *Elevation of circulating and ventricular adrenomedullin in human congestive heart failure.* Circulation, 1995. **92**(3): p. 286-9.
67. Nagaya, N., et al., *Hemodynamic, renal, and hormonal effects of adrenomedullin infusion in patients with congestive heart failure.* Circulation, 2000. **101**(5): p. 498-503.
68. Shimekake, Y., et al., *Adrenomedullin stimulates two signal transduction pathways, cAMP accumulation and Ca2+ mobilization, in bovine aortic endothelial cells.* J Biol Chem, 1995. **270**(9): p. 4412-7.
69. Nakamura, M., et al., *Potent and long-lasting vasodilatory effects of adrenomedullin in humans. Comparisons between normal subjects and patients with chronic heart failure.* Circulation, 1997. **95**(5): p. 1214-21.
70. Kato, J., et al., *Plasma levels of adrenomedullin and atrial and brain natriuretic peptides in the general population: their relations to age and pulse pressure.* Hypertens Res, 2002. **25**(6): p. 887-92.
71. Nomura, I., et al., *Increased plasma levels of the mature and intermediate forms of adrenomedullin in obesity.* Regul Pept, 2009. **158**(1-3): p. 127-31.
72. Harmancey, R., et al., *Adrenomedullin inhibits adipogenesis under transcriptional control of insulin.* Diabetes, 2007. **56**(3): p. 553-63.
73. Kim, H., et al., *Circulating Biologically Active Adrenomedullin Predicts Organ Failure and Mortality in Sepsis.* Ann Lab Med, 2019. **39**(5): p. 454-463.
74. Olesen, S.S., et al., *Pancreas-specific plasma amylase for assessment and diagnosis of chronic pancreatitis: New insights on an old topic.* United European Gastroenterol J, 2019. **7**(7): p. 955-964.
75. Dai, X., et al., *Elevated expression of adrenomedullin is correlated with prognosis and disease severity in osteosarcoma.* Med Oncol, 2013. **30**(1): p. 347.
76. Hummel, T.R., et al., *Gene expression analysis identifies potential biomarkers of neurofibromatosis type 1 including adrenomedullin.* Clin Cancer Res, 2010. **16**(20): p. 5048-57.
77. Qiao, F., et al., *The role of adrenomedullin in the pathogenesis of gastric cancer.* Oncotarget, 2017. **8**(51): p. 88464-88474.

78. Hammill, B.G., et al., *Impact of heart failure on patients undergoing major noncardiac surgery.* Anesthesiology, 2008. **108**(4): p. 559-67.
79. Böddeker, J.S., *Diabetes bei Patienten mit Pankreaskarzinom - Assoziation von Tumor-Grading und -Stadium mit dem Glukosestoffwechsel*, in *Institut für Klinische Diabetologie im Deutschen Diabetes-Zentrum*. 2018, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.
80. Antolino, L., et al., *Can pancreatic cancer be detected by adrenomedullin in patients with new-onset diabetes? The PaCANOD cohort study protocol.* Tumori, 2018. **104**(4): p. 312-314.
81. Pannala, R., et al., *Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus.* Gastroenterology, 2008. **134**(4): p. 981-7.
82. Permert, J., et al., *Is profound peripheral insulin resistance in patients with pancreatic cancer caused by a tumor-associated factor?* The American Journal of Surgery, 1993. **165**(1): p. 61-67.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mir mein Studium und die Vollendung meiner Promotion ermöglichten:

Herrn Professor Karsten Müssig danke ich für die Möglichkeit meine Dissertation im Institut für Klinische Diabetologie im Deutschen Diabetes-Zentrum anfertigen zu dürfen.

Herrn Priv.-Doz. Volker Burkart danke ich für die ausgezeichnete Betreuung, seine stete Unterstützung und seine Hilfsbereitschaft bei der Anwendung von Statistikprogrammen und der Durchführung von Versuchen.

Ich danke Professor Karsten Müssig und Priv.-Doz. Volker Burkart für die Durchsicht dieser Arbeit.

Herrn Professor Sven Schinner danke ich für seine Unterstützung als Betreuer.

Diese Gelegenheit möchte ich nutzten, Frau Waltraud Fingberg für ihre großen Bemühungen bei der Anwendung der ELISA-Kits zu danken.

Den Mitarbeiter des DDZ möchte ich für die freundliche und hilfsbereite Arbeitsatmosphäre danken.

Ganz besonderen Dank gilt auch meiner Familie und meinen Freunden, die meiner Arbeit viel Geduld und Verständnis entgegenbrachten.