# UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Zentrum für Onkologie II. Medizinische Klinik und Poliklinik

Prof. Dr. med. Carsten Bokemeyer

# Prävalenz und klinische Bedeutung der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation in einem selektionierten Patientenkollektiv

#### **Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Ina Kraus

aus Karaganda

Hamburg 2019

Angenommen von der Medizinischen Fakultät	: am: 16.09.2019
Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinis	chen Fakultät der Universität Hamburg.
Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende:	Prof. Dr. Florian Langer
Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in:	Prof. Dr. Thomas Renné

# Inhaltsverzeichnis

1.	Einlei	tung	6
	1.1. M	yeloproliferative Neoplasien im Überblick	6
	1.1.1.	Polycythaemia vera	7
	1.1.2.	Essentielle Thrombozythämie	8
	1.1.3.	Primäre Myelofibrose	9
	1.1.4.	Differenzierung der MPN-Formen	9
	1.2. D	iagnosekriterien der Philadelphia-negativen MPN	10
	1.3. TI	nerapie der MPN	13
	1.3.1.	Therapie von PV und ET	14
	1.3.2.	Therapie der PMF	16
	1.4. M	utationen bei MPN	18
	1.4.1.	JAK2-Mutationen	19
	1.4.2.	CALR-Mutationen	21
	1.4.3.	MPL-Mutationen	21
	1.4.4.	LNK-Mutationen	21
	1.4.5.	Einordnung der MPN-spezifischen Mutationen	21
	1.5. TI	nrombosen bei <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -positiven Patienten	22
2.	Zielse	tzung	25
3.	Metho	odik	26
J.		rhebung der Daten	
		tatistische Auswertung	
	3.2.1.	Beschreibung des Datensatzes und Ermittlung der Signifikanz	20
	0.2.1.	einzelner Variablen	29
	3.2.2.	Logistische Regressionsanalyse	
	3.2.3.	"Receiver Operating Characteristic Curves"-Analyse	
_			
4.	•	nisse	
		ergleich der <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -negativen und -positiven Kohorte	
	4.1.1.	Basisinformationen	
	4.1.2.	Thrombophilien	
	4.1.3.	Konsultationsanlässe der gesamten Kohorte	
	4.1.4.	Thromboembolische Erstereignisse	
	4.1.5.	Risikofaktoren bei Erstereignissen	39

	4.1.	.6.	Thromboembolische Rezidive	40
	4.1.	.7.	Antikoagulatorische Medikation während des Rezidivs	42
	4.1.	.8.	Laboranalytische Parameter	44
	4.2.	JAK	32 <sup>V617F</sup> -positive Kohorte und MPN-Diagnosen	48
	4.3.	Log	istische Regressionsanalyse der als relevant eingestuften Variablen	49
	4.4.	RO	C-Kurven-Analyse	50
	4.4.	.1.	ROC-Kurven-Analyse für das weibliche Geschlecht	50
	4.4.	.2.	ROC-Kurven-Analyse für das männliche Geschlecht	52
	4.5.	For	mulierung des Auswahltests für die Testung auf die	
		JAK	ری <sup>V617F</sup> -Mutation	53
	4.5.	.1.	Auswahltest für die Testung auf die <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Mutation für Frauen	53
	4.5.	.2.	Auswahltest für die Testung auf die <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Mutation für Männer	54
5	. Dis	kuss	sion	55
	5.1.	Eins	schränkungen der Datenanalyse	55
	5.2.	Zus	ammenfassung und Interpretation der relevanten Ergebnisse	55
	5.2.		Prävalenz der <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Mutation im Patientenkollektiv	
	5.2.	.2.	Demographische Daten	56
	5.2.	.3.	JAK2 <sup>V617F</sup> -Mutation und hereditäre Thrombophilien	57
	5.2.	.4.	Prävalenz thromboembolischer Ereignisse im Patientenkollektiv	58
	5.2.	.5.	JAK2 <sup>V617F</sup> -Mutation und allgemeine Risikofaktoren für VTE	61
	5.2.	.6.	Häufigkeit thromboembolischer Rezidive	62
	5.2.	.7.	Handhabung rezidivierender Thromboembolien	62
	5.2.	.8.	Zusammenhang der laborchemischen Parameter mit der	
			JAK2 <sup>V617F</sup> -Mutation	65
	5.2.	.9.	MPN Diagnosen bei den <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -positiven Patienten	68
	5.2.	.10.	Voraussage des <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Befundes mithilfe der	
			Logistischen Regressionsanalyse und der ROC-Kurven-Analyse	68
	5.3.	Zuk	unftsausblick	70
6	. Zus	samn	nenfassung	72
	6.1.		ammenfassung (Englisch)	
7.	Δhl		ungsverzeichnis	
8	. Lite	eratu	rverzeichnis	75
a	Tah	بوالود	nverzeichnis	82

10.	Abbildungsverzeichnis	84
11.	Danksagung	85
12.	Lebenslauf	86
13.	Eidesstaatliche Versicherung	87

#### 1. Einleitung

#### 1.1. Myeloproliferative Neoplasien im Überblick

Myeloproliferative Neoplasien (MPN) umfassen ein großes Spektrum an Erkrankungen, die auf der irreversiblen klonalen Expansion abnorm veränderter hämatopoetischer Stamm- und Vorläuferzellen beruhen (Barbui und Falanga, 2016). Generell können mehrere Zellreihen von der unkontrollierten Proliferation im Knochenmark betroffen sein, jedoch ist auch eine isolierte Granulo-, Mono-, Erythrooder Megakaryopoese nicht ungewöhnlich. Die Patienten bleiben oft jahrelang asymptomatisch und oft beruht die Entdeckung einer MPN auf Zufallsbefunden bei routinemäßigen Blutuntersuchungen. Auch wenn die genaue Unterscheidung der MPN-Formen schwierig ist und die Übergänge fließend sind, lassen sich die einzelnen Formen anhand der Klinik sowie histologischen und molekularen Parametern einteilen. Zu den wichtigsten MPN gehören die Polycythaemia vera (PV), die primäre Myelofibrose (PMF) und die essentielle Thrombozythämie (ET). Darüber hinaus werden die *BCR-ABL-1*-positive chronische myeloische Leukämie (CML), die chronische Neutrophilenleukämie (CNL), die chronische Eosinophilenleukämie (CEL) sowie nicht klassifizierbare MPN unterschieden (Arber *et al.*, 2016).

Der genaue Pathomechanismus, der zur Proliferation der Zellreihen führt, ist bis heute nicht endgültig geklärt. Neben bekannten somatischen Mutationen scheinen auch genetische Ursachen eine Rolle bei der Genese von MPN zu spielen. Die Identifizierung sogenannter molekularer phänotypischer "Driver-Mutationen", welche bei über 90 % der Patienten vorzufinden sind, half die Pathogenese der Erkrankungsgruppe zu verstehen (Spivak, 2017). "Driver-Mutationen" führen bei den Zellen, die die Mutationen beherbergen, zu einem Wachstumsvorteil gegenüber normalen Zellen. Bei der Entwicklung von Tumoren werden diese Zellen positiv selektioniert (Stratton, Campbell und Futreal, 2009).

Zu den phänotypischen "Driver-Mutationen" der Philadelphia-negativen MPN zählen Mutationen in den Genen, die für die Januskinase-2 (*JAK2*), für Calretikulin (*CALR*), für das Myeloproliferative-Leukämie-Protein (*MPL*) und für das Lymphozyten-Adapter-Protein (*LNK*), dem Gen des Thrombopoetinrezeptors, kodieren (Zoi und Cross, 2017). Durch die Entdeckung der somatischen Mutation V617F im *JAK2*-Tyrosinkinase-Gen, welche bei über 50 % der Philadelphia-negativen MPN zu finden ist, wurde die Bedeutung der JAK2-Kinase im Prozess der Onkogenese verdeutlicht (Vainchenker und Constantinescu, 2013).

Grundsätzlich spielt der JAK/STAT-Signalweg (STAT = "signal transducer and activator of transcription") eine zentrale Rolle bei der Signaltransduktion von Zytokinen, die für die Regulation der Proliferation, des Überlebens, der Differenzierung und der Immunantwort von hämatologischen Zellen verantwortlich sind (Vainchenker und Constantinescu, 2013). Die JAK2-Kinase ist dabei essenziell für die Signaltransduktion von Zytokinen der Klasse 1, zu denen unter anderem Erythropoetin (EPO) und Thrombopoetin gehören (Zoi und Cross, 2017). Mutationen im *MPL*- und *CALR*-Gen führen zu einer indirekten Dysregulation des JAK2-Signalweges (Zoi und Cross, 2017). Auf die unterschiedlichen Formen der MPN soll im Folgenden genauer eingegangen werden.

#### 1.1.1. Polycythaemia vera

Die PV ist die häufigste Form der MPN und weist sowohl die vielseitigsten Erscheinungsformen als auch das höchste Thromboserisiko unter den MPN auf (Spivak, 2017). Daher ist die Identifizierung dieser Form der MPN besonders wichtig. Der PV liegt meist die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation zugrunde, welche zur autonomen Proliferation hämatopoetischer Zellen beiträgt. Seltener finden sich auch Mutationen im *CALR*- oder *LNK*-Gen (Spivak, 2017).

Charakteristisch für die Erkrankung ist eine langjährige proliferative Phase, welche vorrangig durch eine gesteigerte Erythropoese bestimmt wird. Auch eine Steigerung der Megakaryopoese und Granulopoese sind möglich. Im Verlauf kann es aufgrund einer sekundären Fibrosierung des Knochenmarks zu einer zytopenischen Phase kommen, welche mit extramedullärer Blutbildung und Splenomegalie einhergeht (Lengfelder *et al.*, 2016). Auch eine Entartung im Sinne einer akuten myeloischen Leukämie und die Umwandlung in eine Myelodysplasie sind möglich (Lengfelder *et al.*, 2016).

Im Rahmen der gesteigerten Zellproliferation mit Erhöhung der Blutviskosität und des Hämatokrits kann es zu Störungen der Mikrozirkulation sowie arteriellen oder venösen Thrombosen jeglicher Lokalisation kommen. Transiente ischämische Attacken, okulare Migräne, Erythromyalgien und aquagener Pruritus können Folge der Mikrozirkulationsstörung sein. Bei einer extremen Thrombozytose (> 1000 Mrd/l) sind auch ein erworbenes von-Willebrand-Syndrom, welches mit einem erhöhten Blutungsrisiko einhergeht, sowie eine Pseudo-Hyperkaliämie möglich (Spivak, 2017).

Komplikationen bei Patienten mit PV treten generell unabhängig vom Alter des Betroffenen auf. Eine Ausnahme stellen dabei lediglich Thrombosen der Lebervenen dar, die vermehrt bei jungen Frauen gefunden werden konnten (Spivak, 2017).

Die Höhe des Hämatokrits korreliert stark mit dem Thromboserisiko bei den Betroffenen (Spivak, 2017). Da eine PV aber zugleich mit einer Volumenexpansion des Plasmas einhergeht, die sich auf den Hämatokriten auswirkt, kann dies zu falschniedrigen Werten führen. Besonders bei Frauen kann der Hämatokrit daher normal erscheinen (Spivak, 2017).

Die Erkrankung manifestiert sich in der Regel zwischen 60 und 65 Jahren (Lengfelder *et al.*, 2016). Die mediane Überlebensrate für Patienten mit PV ist geringer als bei der entsprechenden Normalbevölkerung und liegt bei ca. 14 Jahren. Bei Betroffenen unter 60 Jahren liegt es bei 24 Jahren (Tefferi und Pardanani, 2015). Risikofaktoren für eine leukämische Transformation sind ein höheres Lebensalter, eine Leukozytose und ein abnormaler Karyotyp (Tefferi und Pardanani, 2015). Im Verlauf der Erkrankung steigt die Zahl der mutierten Allele, die die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation tragen, an. Eine Steigerung der Allelbelastung hängt im Allgemeinen mit einem aggressiveren Krankheitsverlauf sowie einer fortschreitenden Myeloproliferation zusammen (Lengfelder *et al.*, 2016). Eine *JAK2*<sup>V617F</sup>-Allelbelastung von über 50 % ist mit einem höheren Risiko für eine fibrotische Transformation assoziiert (Tefferi und Pardanani, 2015).

#### 1.1.2. Essentielle Thrombozythämie

Die ET zeichnet sich durch eine gesteigerte Megakaryopoese mit Erhöhung der peripheren Thrombozytenzahl aus, welche vor allem auf Mutationen im *JAK2*<sup>V617F</sup>-sowie *CALR*- oder *MPL*-Gen zurückzuführen ist. Ein langwieriger Krankheitsverlauf ist typisch für die Erkrankung, wobei ein asymptomatischer Verlauf nicht ungewöhnlich ist (Petrides *et al.*, 2014). Eine ET kann lediglich nach Ausschluss einer PV oder PMF diagnostiziert werden (Spivak, 2017).

Wie bei der PV können auch bei der ET Störungen der Mikrozirkulation im Sinne transienter ischämischer Attacken, okularer Migräne oder Erythromyalgien die Lebensqualität der Betroffenen einschränken. Auch hier können ein erworbenes von-Willebrand-Syndrom oder Pseudohyperkaliämien bei ausgeprägter Thrombozytose auftreten. Seltener als bei der PV finden sich arterielle oder venöse Thrombosen und die Umwandlung in eine Knochenmarkfibrose, eine Knochenmarkinsuffizienz oder akute Leukämie (Spivak, 2017). Das Risiko für letzteres liegt bei 5 % und damit

geringer als bei der PV (10 %) (Tefferi und Pardanani, 2015). Eine Umwandlung in eine PMF ist ebenfalls möglich (Tefferi und Barbui, 2017).

Patienten mit ET weisen mit ca. 20 Jahren die höchste mediane Überlebenszeit nach Diagnosestellung im herkömmlichen Lebensalter (ca. 60 Jahre) auf. Patienten unter 60 Jahren erreichen eine mediane Überlebenszeit von ca. 33 Jahren (Tefferi und Pardanani, 2015).

#### 1.1.3. Primäre Myelofibrose

Die PMF ist die seltenste Form der MPN, weist jedoch den aggressivsten Krankheitsverlauf auf. Sie basiert ebenfalls auf Mutationen im *JAK2*<sup>V617F</sup>-, *CALR*- und *MPL*-Gen (Spivak, 2017).

Die Erkrankung ist durch eine Knochenmarkfibrose gekennzeichnet, in deren Rahmen es zu extramedullärer Blutbildung mit Splenomegalie sowie einer Panzytopenie kommen kann. Eine Anämie, Leuko- und Thrombozytopenie sowie erhöhte Mengen zirkulierender CD43-positiver Stammzellen im Blut können daher Indizien für eine PMF sein. Im Verlauf kann es zur Knochenmarkinsuffizienz, Organversagen und zur Transformation in eine akute Leukämie kommen (Spivak, 2017).

Symptomatisch werden die Patienten häufig aufgrund von B-Symptomatik wie Fieber, Nachtschweiß und Gewichtsverlust, Knochenschmerzen und Hepatosplenomegalie als Zeichen der extramedullären Blutbildung (Grießhammer *et al.*, 2014).

Bei der PMF beträgt die mediane Überlebenszeit bei Patienten über 60 Jahre sechs Jahre. Die mediane Überlebenszeit für Patienten unter 60 Jahren liegt hier bei 15 Jahren (Tefferi und Pardanani, 2015).

#### 1.1.4. Differenzierung der MPN-Formen

Der Übergang zwischen den drei Hauptformen der *BCR-ABL-1*-negativen MPN, der PV, ET und PMF, ist fließend. Isolierte Thrombozytosen können bei allen drei MPN-Formen auftreten, weshalb zur klaren Deklaration der MPN-Form stets weiterführende Diagnostik, die über die Betrachtung des Blutbildes hinausgeht, notwendig ist. Besonders die PV kann entweder als isolierte Erythrozytose, Leukozytose oder im fortgeschrittenem Stadium auch als Splenomegalie und Myelofibrose in Erscheinung treten (Spivak, 2017).

Da sich jede MPN zu einer anderen Form entwickeln kann, gestaltet sich die Diagnose schwierig, weshalb ein Zusammenspiel definierter Diagnosekriterien wichtig ist, um eine endgültige Diagnose stellen zu können. Ein Unterschied hinsichtlich des

Geschlechts wurde dabei festgestellt. Bei Frauen entwickelt sich die *JAK2*<sup>V617F</sup>-positive ET öfter in eine PV als bei Männern. Im Vergleich dazu entwickeln Männer mit einer *JAK2*<sup>V617F</sup>- oder *CALR*-Typ-1-positiven ET öfter eine sekundäre Myelofibrose (Spivak, 2017).

Folglich werden die diagnostischen Richtlinien für die drei Hauptformen der Philadelphia-negativen MPN dargestellt.

#### 1.2. Diagnosekriterien der Philadelphia-negativen MPN

Im Jahre 2015 veröffentlichte die "World Health Organization" (WHO) neue Diagnosekriterien für MPN, welche in "Major"- und "Minor"-Kriterien eingeteilt werden (siehe Tabelle 1-3).

Tabelle 1: WHO-Diagnosekriterien Polycythaemia vera (modifiziert nach Arber et al., 2016)

WHO-Diag	nosekriterien Polycythaemia vera				
"Major"-	1 Hämoglobinwert > 16,5 g/dl bei Männern bzw. > 16,0 g/dl bei				
Kriterien	Frauen <b>oder</b> ein Hämatokrit > 49 % bei Männern bzw. > 48 % bei				
	Frauen.				
	2 Eine dem Alter angepasste Hyperzellularität in der				
	Knochenmarkbiopsie mit trilinearem Wachstum (Panmyelose),				
	inklusive deutlicher erythroider, granuluzytärer und				
	megakaryozytärer Proliferation, und pleomorphen reifen				
	Megakaryozyten.				
	3 Nachweis einer <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> - oder einer <i>JAK2</i> -Mutation im Exon 12.				
"Minor"-	Subnormale Serum-EPO-Werte				
Kriterien					
Die Diagno	ose wird gestellt, wenn entweder alle drei "Major"-Kriterien oder die ersten				
beiden "Ma	ajor"-Kriterien sowie das "Minor"-Kriterium erfüllt sind.				

Tabelle 2: WHO-Diagnosekriterien Essentielle Thrombozythämie (modifiziert nach Arber et al., 2016)

WHO-Diag	nosekriterien Essentielle Thrombozythämie
"Major"-	1 Thrombozytenzahl > 450 Mrd/l.
Kriterien	2 Eine Knochenmarkbiopsie, welche vor allem eine Proliferation der
ranconon	Megakaryozyten-Zelllinie zeigt mit erhöhter Anzahl an
	vergrößerten, reifen Megakaryozyten mit hyperlobulierten Kernen.
	Keine relevante Linksverschiebung der neutrophilen
	Granulopoese oder der Erythropoese und eine sehr geringe
	Erhöhung (≤ Grad 1) von Retikulin-Fasern.
	3 Keine Übereinstimmung mit den WHO-Kriterien für BCR-ABL1-
	positive CML sowie PV, PMF, MDS oder andere myeloische
	Neoplasien.
	4 Vorhandensein der JAK2-, CALR- oder MPL-Mutation.
"Minor"-	Vorhandensein eines klonalen Markers oder keine Evidenz für eine
Kriterien	reaktive Thrombozytose.
Die Diagno	ose wird gestellt, wenn alle vier "Major"-Kriterien oder die ersten drei
"Major"-Kri	terien und das "Minor"-Kriterium erfüllt sind.

Tabelle 3: WHO-Diagnosekriterien Primäre Myelofibrose (modifiziert nach Arber et al., 2016)

WHO-Diag	nosekriterien Primäre Myelofibrose				
	<u> </u>				
"Major"-	1 Knochenmarkbiopsie mit Nachweis einer Proliferation und Atypie				
Kriterien der Megakaryozyten begleitet von einer Retikulin- od					
	Fibrose Grad 2 oder 3.				
	2 Keine Übereinstimmung mit den WHO-Kriterien für ET, PV, BCR-				
	ABL1-positive CML, MDS oder andere myeloische Neoplasien.				
	3 Vorhandensein der JAK2-, CALR- oder MPL-Mutation oder bei				
	Abwesenheit dieser, Vorhandensein eines anderen klonalen				
	Markers oder Ausschluss einer reaktiven Myelofibrose.				
"Minor"-	Ausschluss anderer Anämie-Ursachen.				
Kriterien	2 Leukozytose von ≥ 11 Mrd/l.				
	3 Tastbare Splenomegalie.				
	4 LDH Anstieg.				
	5 Leukoerythroblastose.				
Die Diagno	ose wird gestellt, wenn alle drei "Major"-Kriterien und mindestens ein				
"Minor"-Kri	terium erfüllt sind.				

Generell sollte bei Vorliegen einer Erythrozytose oder Thrombozytose eine PV oder ET in Erwägung gezogen werden. Liegen vermehrt Erythroblasten oder Leukoblasten im Blut vor, könnte dies ein Indiz für eine Myelofibrose sein. Auch eine palpable Splenomegalie, Anämie, aquagener Pruritus, Thrombosen seltener Lokalisation, wie etwa in den Portal- oder Lebervenen, Knochenmarkfibrose oder extramedulläre Blutbildung können Anzeichen einer zugrundeliegenden MPN sein (Tefferi und Pardanani, 2015).

Zur Diagnose einer MPN müssen jedoch auch andere Ursachen einer Zellzahlvermehrung ausgeschlossen werden. Eine Thrombozytose kann beispielsweise auch im Rahmen eines Eisenmangels, bei Hämolyse, postoperativ, nach Splenektomie, bei infektiösen und entzündlichen Erkrankungen oder nach Traumata auftreten (Tefferi und Pardanani, 2015).

Bei der Erythrozytose müssen differentialdiagnostisch auch kongenitale oder sekundäre Ursachen wie etwa Sauerstoffmangel, Exsikkose oder ein Anstieg von EPO

(paraneoplastisch oder extern bedingt) ausgeschlossen werden (Tefferi und Pardanani, 2015).

Neben den oben genannten "Driver-Mutationen" sollten weitere klonale Marker, wie etwa die *BCR-ABL1*-Mutation oder die *SF3B1*-Mutation zum Ausschluss einer chronisch myeloischen Leukämie und einer refraktären Anämie mit Ringsideroblasten und Thrombozytose bestimmt werden (Tefferi und Pardanani, 2015).

Als diagnostischer Leitfaden wird vorgeschlagen, bei Verdacht auf eine zugrundeliegende MPN zunächst auf die JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation zu untersuchen und erst bei negativem Befund und bestehendem MPN-Verdacht auf die CALR- und MPL-Mutation zu testen (Tefferi und Pardanani, 2015). Eine Knochenmarksuntersuchung sollte bei positivem Mutationsbefund zur Vervollständigung der Diagnostik und bei negativem Befund zum Ausschluss reaktiver Zellzahlerhöhungen durchgeführt werden (Tefferi und Pardanani, 2015). Dort ist bei der PV eine Panmyelose mit pleomorphen Megakaryozyten zu erwarten. Bei der ET ist eine megakaryozytäre Proliferation mit großen und reifen Zellen charakteristisch, während eine PMF mit einer megakaryozytären Proliferation mit Zellatypien sowie einer Retikulin- oder Kollagen-Fibrose einhergeht. Bei der präfibrotischen PMF finden sich zusätzlich zu gesteigerten Megakaryozytenzahlen und einer generellen Hyperzellularität im Knochenmark eine granulozytäre Proliferation sowie eine verminderte Erythropoese (Tefferi und Pardanani, 2015).

Jede MPN-Form erfordert eine spezifische Therapie, welche sich nach bestimmten Risikoprofilen der Patienten richtet. Im Folgenden werden die Grundzüge dieser spezifischen MPN-Therapien dargestellt.

#### 1.3. Therapie der MPN

Lange war der Pathomechanismus der MPN noch unverstanden und die Therapie beruhte vorwiegend auf supportiven Maßnahmen (Spivak, 2017). Zu den Haupttherapiezielen gehören nach wie vor Symptomlinderung, Thromboseprävention und Vermeidung der Transformation zur Myelofibrose oder akuten Leukämie. Ein angemessenes Risikomanagement ist wichtig um den größten therapeutischen Effekt zu erzielen und Nebenwirkungen der Therapie zu minimieren (Spivak, 2017).

#### 1.3.1. Therapie von PV und ET

Sowohl bei der PV als auch bei der ET erfolgt die Therapieauswahl anhand umschriebener Risikoprofile.

PV-Patienten werden in zwei Risikoprofile eingeteilt (Tefferi und Barbui, 2017):

- 1. hohes Risiko (Alter über 60 Jahre oder Thrombosen in der Vorgeschichte)
- 2. niedriges Risiko (keiner der beiden Risikofaktoren vorliegend).

ET-Patienten werden in vier Risikoprofile eingeteilt (Tefferi und Barbui, 2017):

- 1. sehr niedriges Risiko (Alter ≤ 60 Jahre, keine Thrombose in der Vorgeschichte, JAK2/ MPL nicht mutiert)
- 2. niedriges Risiko (Alter ≤ 60 Jahre, keine Thrombose in der Vorgeschichte, JAK2/ MPL mutiert)
- 3. intermediäres Risiko (Alter > 60 Jahre, keine Thrombose in der Vorgeschichte, *JAK2/ MPL* nicht mutiert)
- 4. hohes Risiko (Alter > 60 Jahre oder Thrombose in der Vorgeschichte und *JAK2/MPL* mutiert)

Da die Überlebensrate bei der ET nahezu normal (15-Jahres-Überlebensrate von 80 %) und das Risiko für eine akute myeloische Leukämie oder Myelofibrose sehr gering ist, wird davon ausgegangen, dass aktuelle Therapien keinen Einfluss auf den Krankheitsverlauf haben (Tefferi und Barbui, 2017).

Auch bei der PV fallen die entsprechenden Raten niedrig aus (10-Jahres-Überlebensrate von >75 %). Beide MPN weisen allerdings ein relativ hohes Risiko für Thrombosen (20 %) auf. Mikrozirkulatorisch bedingte Störungen sowie Pruritus stellen besonders häufige Beschwerden bei diesen MPN-Formen dar. Daher dient das aktuelle Therapiekonzept der Prävention thromboembolischer oder hämorrhagischer Komplikationen sowie der Minderung mikrozirkulatorischer Probleme (Tefferi und Barbui, 2017).

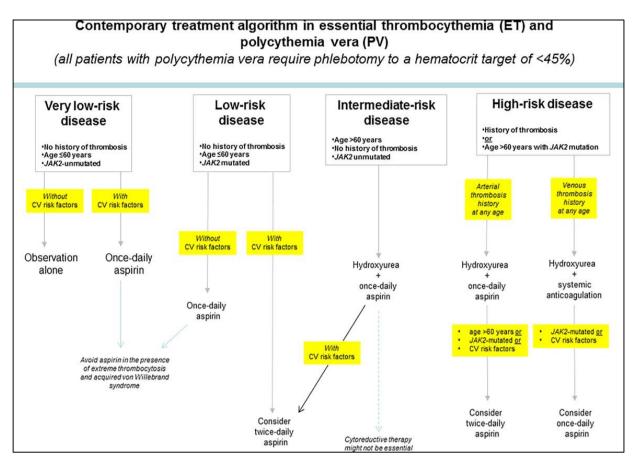


Abbildung 1: Therapie-Algorithmus für die PV und die ET (nach Tefferi und Barbui, 2017)

Bei der PV wird unabhängig vom Risikoprofil eine Phlebotomie, mit dem Ziel den Hämatokriten unter 45 % bei Männern und unter 42 % bei Frauen zu senken, in Kombination mit einer einmal täglichen Gabe von Aspirin (81 mg) empfohlen. Studien haben gezeigt, dass eine niedrig-dosierte Gabe von Aspirin in allen Risikoprofilen von PV einen antithrombotischen Nutzen aufweist (Tefferi und Barbui, 2017).

Bei der ET wird bei sehr niedrigem Risiko ein abwartendes und beobachtendes Verhalten bevorzugt, bei niedrigem Risiko sollte ebenfalls eine einmal tägliche Gabe von Aspirin erfolgen. Bei intermediärem Risikoprofil kann zusätzlich eine zytoreduktive Therapie durchgeführt werden, was jedoch nicht zwingend erforderlich ist. Auch bei ET-Patienten hat sich Aspirin bei positivem *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutationsbefund als präventiv gegenüber venösen und arteriellen Thrombosen erwiesen (Tefferi und Barbui, 2017). Insgesamt trägt niedrig dosiertes Aspirin dazu bei, mikrovaskuläre Symptome zu lindern, welche vermutlich auf einer Störung der Interaktion zwischen Thrombozyten und Endothel beruhen (Tefferi und Barbui, 2017).

Die zweimal tägliche Gabe wird vor allem bei Patienten mit Resistenz gegenüber der einmaligen Gabe oder Risikofaktoren für arterielle Thrombosen empfohlen.

Der Effekt von Aspirin auf *JAK2*<sup>V617F</sup>-positive schwangere Frauen, die grundlegend eine erhöhte Rate an Ersttrimester-Aborten (über 30 %) im Vergleich zur Normalbevölkerung (15 %) aufweisen, wird noch diskutiert. Ein präventiver Effekt wird angenommen (Tefferi und Barbui, 2017).

Vor der Gabe von Aspirin sollte im Allgemeinen bei Vorliegen einer extremen Thrombozytose ein erworbenes von-Willebrand-Syndrom ausgeschlossen werden, da es sonst zu Blutungskomplikationen kommen kann (Tefferi und Barbui, 2017).

Im Sinne der Erstlinientherapie wird bei Hochrisikopatienten zusätzlich zur Gabe von Aspirin eine zytoreduktive Therapie mit Hydroxyurea (Initialdosis 500 mg) empfohlen, um das Thromboserisiko zu minimieren. Alternativ kann bei Resistenz oder Intoleranz auf Interferon-alpha bei Patienten unter 65 Jahren oder Busulfan bei älteren Patienten zurückgegriffen werden. (Tefferi und Barbui, 2017). Bei arteriellen Thrombosen in der Vorgeschichte sowie einem Alter über 60 Jahren oder Vorliegen der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutaion sollte neben der zytoreduktiven Therapie eine zweimal tägliche Gabe von Aspirin erfolgen. Liegen venöse Thrombosen vor, sollte neben der zytoreduktiven Therapie eine systemische Antikoagulation erfolgen, bei Vorliegen der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation oder kardiovaskulären Risikofaktoren sollte auch hier zweimal täglich Aspirin verabreicht werden (Tefferi und Barbui, 2017).

Ruxolitinib, ein JAK1- und JAK2-Kinasen-Inhibitor, hat sich aufgrund fehlender Langzeitinformationen, mangelnder Evidenz in Bezug auf Krankheitsmodifizierung und Hinweisen auf immunsupprimierende Eigenschaften nicht als Therapieoption etablieren können (Tefferi und Pardanani, 2015). Nur bei starkem Pruritus oder einer ausgeprägten Splenomegalie, welche refraktär gegenüber den oben genannten Medikamenten ist, kann der Einsatz von JAK-Inhibitoren gerechtfertigt werden (Tefferi und Barbui, 2017). Ungewollte Nebenwirkungen können eine Thrombozytopenie, Anämie, Entzugserscheinungen bei Abbruch der Ruxolitinib-Therapie wie etwa Symptomrückkehr, beschleunigte Splenomegalie, gesteigerte Zytopenie und hämodynamische Dekompensation sein (Tefferi und Pardanani, 2011).

#### 1.3.2. Therapie der PMF

Bei der PMF werden Therapieentscheidungen anhand des "Dynamic International Prognostic Scoring System" ("DIPSS-Plus-Score") gefällt (siehe Tabelle 4-5), der die

Patienten in vier Risikoprofile einteilt und zu jedem Zeitpunkt der Erkrankung erhoben werden kann (Tefferi, 2016).

Tabelle 4: "DIPSS-plus-Score" zur Risikoeinschätzung bei der PMF (modifiziert nach Tefferi, 2016)

"DIPSS-plus"-Variablen (jeweils 1 Punkt, bei Hämoglobinwert 2 Punkte)
Alter > 65 Jahre
Konstitutionelle Symptome
Hämoglobinwert < 10 g/dl
Leukozyten > 25 Mrd/l
Blasten im peripheren Blut ≥ 1 %)
Thrombozyten < 100 Mrd/l
Erythrozyten - Transfusionsbedarf
Ungünstiger Karyotyp (komplexer Karyotyp oder ein bis zwei Aberrationen, die +8, -
7/7q-, i(17q), inv(3), -5/5q-, 12p- oder 11q23 beinhalten)

Tabelle 5: "DIPSS-plus-Score" zur Risikoeinschätzung bei der PMF (modifiziert nach Tefferi, 2016)

Prognosegruppe (DIPSS-plus)	Gesamtpunktzahl	Medianes Überleben in Jahren
Niedrigrisiko	0	15,4
Intermediär-1	1	6,5
Intermediär-2	2-3	2,9
Hochrisiko	≥ 4	1,3

Neben dem "DIPSS-plus-Score" werden auch weitere Mutationen bei der Therapieentscheidung berücksichtigt. Während ASXL1- und SRSF2-Mutationen zu den Hochrisiko-Mutationen zählen und mit einem schlechteren Überleben assoziiert werden, zeigen Patienten mit *CALR*-Typ-1- oder *CALR*-Typ-1-ähnliche-Mutationen einen Überlebensvorteil (Tefferi, 2016).

Bei asymptomatischen Niedrig- oder Intermediär-1-Risiko Patienten, insbesondere bei Fehlen von Hoch-Risiko-Mutationen, ist ein abwartendes Verhalten gerechtfertigt. Bei Anämie ist die Gabe von Androgenen, Prednison, Danazol oder Thalidomid möglich (Tefferi, 2016).

Alle anderen Patienten sollten eine Stammzelltransplantation (SZT) erhalten, welche die einzig kurative Therapie darstellt (Tefferi, 2016). Aufgrund einer hohen Rate an Komplikationen (bei 50 %) nach Transplantation ist eine angemessene Risiko-Stratifizierung vor der SZT notwendig. Die 5-Jahresüberlebensrate nach SZT liegt zwischen 30 und 37 % (Tefferi und Pardanani, 2015). 80 % der Patienten sind jedoch aufgrund eines hohen Lebensalter, Komorbiditäten und Mangel an passenden Spendern nicht für eine SZT geeignet (Tefferi und Pardanani, 2015). Nicht transplantierbaren Patienten wird empfohlen an klinischen Studien teilzunehmen. Alternative Medikamente wie Hydroxyurea oder Ruxolitinib tragen zur Reduktion der Milzgröße bei. Insgesamt werden sie jedoch nur palliativ eingesetzt Bei Medikamenten-refraktärer Splenomegalie ist eine Splenektomie Radiotherapie kann bei Organomegalie außerhalb der Milz, pulmonaler Hypertension sowie Knochenschmerzen eingesetzt werden (Tefferi, 2016).

Die genaue Identifizierung des genetischen Profils der Patienten mit MPN und die Beseitigung der neoplastischen hämatopoetischen Stammzellen, um die leukämische Transformation zu vermeiden, könnte neben der zukünftigen Therapie der PMF auch für die anderen MPN eine große Rolle spielen (Spivak, 2017).

#### 1.4. Mutationen bei MPN

Verschiedene Mutationen hängen mit der Pathogenese von MPN zusammen. Man unterscheidet dabei MPN "spezifische" und "nicht-spezifische" Mutationen (Tefferi und Pardanani, 2015).

Tabelle 6: spezifische und nicht spezifische Mutationen für MPN (modifiziert nach Tefferi und Pardanani, 2015)

Mutationen bei	Myeloprolife	rativen Neoplas	ien		
		Häufigkeit in %			
Mutation	Gen-Lokus	Polycythaemia vera	Essentielle Thrombozythämie	Primäre Myelofibrose	
MPN-spezifisch	i		· · · · · ·	· · · · ·	
JAK2					
- Exon 14 <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup>	9p24	95	55	60	
- Exon 12	9p24	3	sporadisch	sporadisch	
CALR Exon 9	19p13.2	sporadisch	25	25	
MPL Exon 10	1p34	sporadisch	3	7	
LNK Exon 2	12q24.12	sporadisch	sporadisch	sporadisch	
Nicht-MPN-spe	zifisch (Auss	schnitt)			
TET2 (verschiedene Exons)	4q24	16	5	17	
ASXL1 Exon 12	20q11.1	7	4	20	
SRF2 Exon 2	17q25.1	sporadisch	sporadisch	17	

#### 1.4.1. JAK2-Mutationen

Die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation ist die am häufigsten verbreitete "Driver-Mutation" unter den MPN. Sie findet sich bei 95 % der Patienten mit PV, zu 55 % der Patienten mit ET und zu 60 % bei Patienten mit PMF (Tefferi und Pardanani, 2015). Seltener liegt eine Mutation auf Exon 12 des *JAK2*-Gens (3 % der Patienten mit PV) vor, was mit einem milderen Phänotyp als die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation einhergeht (Spivak, 2017).

Das JAK2-Protein verfügt über folgende Domänen: eine aktive Tyrosinkinase Domäne, JH1, und eine inaktive Pseudokinase-Domäne, JH2, eine SH2-Domäne und eine FERM-Domäne, an die Zytokine wie etwa EPO, TPO, G-CSF und GM-CSF binden. Normalerweise kommt es bei Bindung eines Liganden zur Konformationsänderung des JAK2-Proteins, wodurch die JAK2-Kinase aktiviert wird. Diese katalysiert einerseits die Phosphorylierung von Tyrosin in der zytoplasmatischen Domäne des Rezeptors, andererseits werden die STAT-Proteine phosphoryliert,

woraufhin diese dimerisieren. Es kommt zur Translokation der STAT-Dimere in den Zellkern, wo sie als Transkriptionsfaktoren agieren. Dies führt zur Proliferation hämatopoetischer Stammzellen. Die JH2-Domäne übt bei Abwesenheit eines Liganden eine inhibitorische Funktion auf die JH1-Domäne aus.

Bei Auftreten der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation auf Exon 14 in der JH2-Domäne, bei der ein Austausch der Aminosäure Valin gegen Phenylalanin stattfindet, wird diese autoinhibitorische Funktion gestört. Dies führt zur konstitutiven Aktivierung der JAK2-Kinase und somit einer autonomen Proliferation hämatopoetischer Stammzellen (siehe Abbildung 2) (Mclornan, Percy und McMullin, 2006).

JAK2-Mutationen sind im Vergleich zu den anderen Mutationen mit einem höheren Lebensalter, höheren Hämoglobinwerten, Leukozytose, geringeren Plättchenzahlen sowie einem erhöhten Thrombose-Risiko assoziiert (Tefferi und Pardanani, 2015). Eine hohe Allelbelastung, worunter man die Menge der mutierten Allele versteht, korreliert zudem mit einer erhöhten Rate an fibrotischer Transformation bei PV und mit Pruritus (Tefferi und Pardanani, 2015).

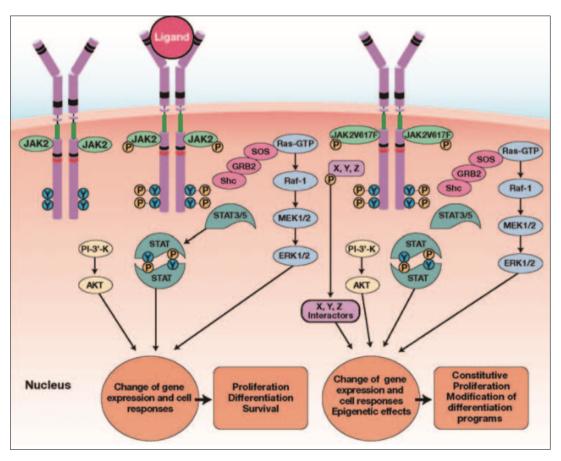


Abbildung 2: Der JAK-STAT-Signalweg (nach Vainchenker und Constantinescu, 2013)

#### 1.4.2. CALR-Mutationen

Mutationen im *CALR*-Gen auf Exon 9, welches für die Calretikulin kodiert, finden sich am zweithäufigsten unter den MPN-Patienten. CALR ist unter anderem an der Faltung von Glykoproteinen, der Calcium-Homöostase im endoplasmatischem Retikulum sowie bei Proliferation, Phagozytose und Apoptose von Zellen beteiligt (Spivak, 2017). Mehr als 50 verschiedene Mutationen im *CALR*-Gen wurden bereits identifiziert, die hauptsächlich in zwei Typen eingeteilt werden (Typ-1 und Typ-2). Die *CALR*-Mutation tritt bei 25 % der ET- und PMF-Patienten auf, wobei die Typ-1 und Typ-1-ähnliche Mutationen bei PMF-Patienten mit einem höheren Überleben korrelieren. Bei PV-Patienten wurde die *CALR*-Mutation nur in einzelnen wenigen Fällen nachgewiesen (Tefferi und Pardanani, 2015).

Bei der ET ist die *CALR*-Mutation mit einem jüngeren Lebensalter, männlichem Geschlecht, höheren Thrombozytenwerten, niedrigeren Hämoglobinwerten, niedrigeren Leukozytenzahlen und einer geringeren Rate an thromboembolischen Ereignissen assoziiert (Tefferi und Pardanani, 2015). Auch bei *CALR*- positiver PMF sind die Patienten tendenziell jünger und weisen höhere Plättchenzahlen auf. Anämien und eine Leukozytose treten hier seltener auf (Tefferi und Pardanani, 2015).

#### 1.4.3. MPL-Mutationen

Mutationen im *MPL*-Gen, welches für das myeloproliferative Leukämie-Virus-Onkogen kodiert, finden sich am seltensten bei Patienten mit MPN. Sie treten lediglich bei der ET mit 3 % und PMF mit 7 % auf. Bei PV-Patienten wurde sie bisher noch nicht gefunden (Tefferi und Pardanani, 2015).

#### 1.4.4. LNK-Mutationen

In seltenen Fällen von *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen Patienten mit PV wurde eine *LNK*-Mutation beschrieben, welche sich klinisch ähnlich wie die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation manifestiert (Tefferi und Pardanani, 2015).

#### 1.4.5. Einordnung der MPN-spezifischen Mutationen

Bei Erwachsenen treten die somatischen Mutationen des *JAK2-, MPL-* und *CALR-* Gens in den hämatopoetischen Stammzellen sporadisch auf. Bei 7 % der Fälle findet sich jedoch eine familiäre Prädisposition, bei denen Verwandte ersten Grades ein 5-bis 7-fach erhöhtes Risiko für die gleiche oder eine andere MPN aufweisen. Zu den

prädisponierenden genetischen Risikofaktoren für familiäre MPN gehören weibliches Geschlecht und eine Variante der Einzelnukleotid-Mutation in TERT (Telomerase reverse transcriptase) (Spivak, 2017). Die Penetranz ist unvollständig, außerdem können Generationen übersprungen werden (Spivak, 2017). Auch wenn eine gewisse familiäre Häufung bei Verwandten ersten Grades besteht, wird bisher kein Screening für gesunde Familienmitglieder empfohlen (Tefferi und Pardanani, 2015).

Grundsätzlich sind *JAK2*-, *CALR*- und *MPL*-Mutationen nicht spezifisch für bestimmte MPN und das Fehlen dieser Mutationen schließt das Vorliegen einer MPN nicht aus. Trotzdem wird angenommen, dass der JAK-STAT-Signalweg eine zentrale Rolle bei der Genese von MPN spielt (Tefferi und Pardanani, 2015).

Genetische Einflussfaktoren, wie etwa das Geschlecht und Alter der Betroffenen, wirken sich auf das Vorkommen der jeweiligen Mutationen aus. Das bloße Vorliegen einer "Driver-Mutation" führt nicht zwangsläufig zur klonalen Expansion der hämatopoetischen Stammzelle (Spivak, 2017). Obwohl die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation in jedem Alter auftreten kann, werden MPN selten vor dem 50. Lebensjahr diagnostiziert. Bei Auftreten einer PV oder ET vor dem 50. Lebensjahr scheinen vor allem Frauen betroffen zu sein (Spivak, 2017).

Ab dem 60. Lebensjahr steigt die Inzidenz von MPN exponentiell und mit ihr auch das Vorkommen der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation an. In dieser Altersgruppe weisen Männer häufiger eine MPN auf. Die PMF und akute Leukämie finden sich ebenfalls häufiger ab dem Alter von 60 Jahren. Die Reihenfolge des Erwerbs der Mutationen wirkt sich nicht auf den klinischen Phänotyp der Erkrankung aus (Spivak, 2017).

50 bis 60 % der Patienten mit MPN weisen ausschließlich eine der "Driver-Mutationen" auf (*JAK2*<sup>V617F</sup>, *CALR*, *MPL* oder *LNK*), die restlichen Patienten haben zusätzlich Mutationen in anderen Genen, die beispielsweise für Spleiß-Proteine oder Tumorsuppressoren kodieren (Spivak, 2017). Ungefähr 10 bis 15 % der ET- und PMF-Patienten weisen keine der drei "Driver-Mutationen" auf und werden daher als "triple negative" bezeichnet (Tefferi und Pardanani, 2015).

### 1.5. Thrombosen bei *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten

Es ist allgemein bekannt, dass Patienten mit MPN aufgrund der Zellzahlvermehrung und Erhöhung der Blutviskosität vermehrt an arteriellen oder venösen Thrombosen leiden. Thrombosen sind die Hauptursache für die Mortalität von Patienten mit Philadelphia-negativen MPN (Passamonti *et al.*, 2012). Die jährliche Inzidenz für arterielle und venöse Thrombosen beträgt bei PV- fast 5 % und bei ET- Patienten fast 7 % (De Stefano *et al.*, 2016a). Zu den Risikofaktoren für arterielle Thrombosen bei Patienten mit PV gehören vorherige arterielle Ereignisse und Hypertonie, bei der Genese venöser Thrombosen sind vorherige venöse Ereignisse sowie ein höheres Lebensalter mit einem erhöhten Risiko assoziiert (Tefferi und Pardanani, 2015).

Bei der ET zählen ein höheres Lebensalter (über 60 Jahre), Thrombosen in der Vorgeschichte, kardiovaskuläre Risikofaktoren, Leukozytose und die *JAK2*<sup>V617F</sup>- Mutation zu den Risikofaktoren arterieller Thrombosen, bei den venösen Thrombosen ist das männliche Geschlecht ein Risikofaktor (Tefferi und Pardanani, 2015).

Patienten mit der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation fallen besonders häufig durch Thrombosen an ungewöhnlichen Lokalisationen auf. Insbesondere Splanchnikus-Thrombose, worunter das Budd-Chiari-Syndrom (BCS), extrahepatische Portalvenenthrombosen (EHPVT) und Mesenterialvenenthrombosen fallen, treten häufig bei Philadelphianegativen MPN auf (De Stefano *et al.*, 2016a).

Die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation findet sich bei 87 % der Patienten mit Splanchnikus-Thrombose, die bereits eine bestätigte MPN haben, und zu 26 % bei denen, die noch keine gesicherte MPN haben. Bei den idiopathischen Splanchnikus-Thrombose-Fällen tritt sie sogar bei bis zu 49 % auf (De Stefano *et al.*, 2016a).

Eine bestätigte MPN weisen 40 % der Patienten mit BCS ca. 30 % der Patienten mit EHPT auf (De Stefano *et al.*, 2016a). Die häufigste MPN-Form bei Patienten mit Splanchnikus-Thrombose ist die PV (ca. 53 % bei BCS und 28 % bei EHPTV), gefolgt von der ET (ca. 25 % in BCS und 26 % bei EHPVT). Die PMF findet sich generell seltener bei Patienten mit Splanchnikus-Thrombose (ca. 7 % bei BCS und 13 % bei EHPVT) (De Stefano *et al.*, 2016a).

Andere Ursachen für BCS können neben MPN auch Leberzirrhose, infektiöse oder entzündliche Erkrankungen, abdominelle Operationen, Thrombophilien oder andere maligne Erkrankungen sein. Geschlechtsspezifisch spielen zusätzlich orale Kontrazeptiva, Hormonersatztherapien und das Wochenbett eine Rolle (De Stefano *et al.*, 2016a). Bezüglich der Thrombophilien weisen Patienten mit EHPVT gleichzeitig eine relativ hohe Rate an der Prothombin-G20210A-Mutation auf (10 %), während Patienten mit BCS häufig die Faktor-V-Leiden-Mutation tragen (25 %) (De Stefano *et al.*, 2016a).

Aufgrund der hohen Prävalenz von Splanchnikus-Thrombosen bei MPN-Patienten (5 % bei PV und bis zu 10 % bei ET) wird ein Screening auf MPN bei Patienten mit Splanchnikus-Thrombose generell empfohlen, wobei insbesondere molekulare Verfahren wie die Testung auf die "Driver-Mutationen" eine Rolle spielen (De Stefano et al., 2016a).

Allerdings kann das Vorliegen einer Splanchnikus-Thrombose, welche mit einer portalen Hypertension, Splenomegalie, gastrointestinalen Blutungen, Hämodilution und gastrointestinalen Ischämien mit Erhöhung der EPO-Werte einhergeht, auch dazu führen, dass die MPN-typischen Kriterien nicht erfüllt werden. Viele Erkrankungen bleiben dadurch unerkannt (De Stefano *et al.*, 2016a).

Zur Häufigkeit der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei Thrombosen außerhalb des Splanchnikus-Gebietes liegen nach wie vor wenige Daten vor. Zwar konnte die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation beispielsweise auch bei Patienten mit Schlaganfällen, Zerebralvenenthrombosen oder Spontanabort festgestellt werden, zur Prävalenz gibt es aber kontroverse Zahlen (Zerjavic *et al.*, 2010).

Hinsichtlich der Zerebralvenenthrombosen wurde eine *JAK2*<sup>V617F</sup>-Prävalenz von 0 bis 6,6 % festgestellt (Passamonti *et al.*, 2012). Unter MPN-Patienten konnten Zerebralvenenthrombosen bei ca. 1 % gefunden werden (Passamonti *et al.*, 2012). Insgesamt scheinen Zerebralvenenthrombosen also nicht spezifisch für MPN oder die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation zu sein.

Auch zu herkömmlichen Thrombose-Lokalisationen, wie etwa tiefen Beinvenenthrombosen (TBVT) oder Lungenarterienembolien (LAE), liegen keine eindeutigen Ergebnisse vor. Ein positiver *JAK2*<sup>V617F</sup> -Mutationsbefund wird in weniger als 2 % der Fälle erwartet. Um ein Screening dennoch zu rechtfertigen, wird empfohlen auf abnormale Blutbild-Befunde Rücksicht zu nehmen (Zerjavic *et al.*, 2010).

Bei Patienten mit koronaren Ischämien wird ein standardmäßiges Screening auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation aufgrund der niedrigen Prävalenz (ca. 1,3 %) ebenfalls nicht empfohlen. Auch hier sollte nur bei Vorliegen abnormaler Zellzahlen auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation untersucht werden (Muendlein *et al.*, 2014).

#### 2. Zielsetzung

Es ist bekannt, dass MPN mit einem höheren Risiko für arterielle oder venöse Thromboembolien vergesellschaftet sind. Da die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation die häufigste Mutation unter der MPN ist, scheint eine Testung auf diese Mutation beim Vorliegen von Thrombosen ohne entsprechende Risikokonstellation, wie beispielsweise bei Immobilität, Einnahme hormoneller Präparate, Malignomen oder entzündlichen Grunderkrankungen, gerechtfertigt zu sein. Ziel der Testung ist es zugrundeliegende MPN frühzeitig erkennen zu können, um entsprechende präventive und therapeutische Maßnahmen einleiten zu können.

Die Prävalenz der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutaion in der Allgemeinbevölkerung liegt bei 0-1 %. Vor allem bei Thrombosen im Splanchnikus-Gebiet konnte bisher eine starke Korrelation mit der Mutation festgestellt werden (Bertozzi *et al.*, 2017).

Seit etwa fünf Jahren werden ausgewählte Patienten, die in der Gerinnungsambulanz der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) vorstellig werden, im Rahmen der Thrombophilie-Diagnostik auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation untersucht. Die Auswahl der Personen, die auf diese Mutation hin getestet werden, erfolgte bisher individuell nach Abwägung der thromboembolischen Anamnese und laborklinischen Parametern. Bisher sind keine klaren Kriterien für die Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation definiert, woraus sich ein hoher Anteil an negativen Testbefunden ergibt.

Ziel der Arbeit ist es daher, die bisher auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation untersuchten Patienten hinsichtlich ihrer demographischen, klinischen und laboranalytischen Parameter zu charakterisieren, um anschließend geeignete Kriterien für eine Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation zu definieren.

#### 3. Methodik

#### 3.1. Erhebung der Daten

Im Zeitraum vom 31. Januar 2012 bis zum 25. August 2016 wurden auf Anforderung der Gerinnungsambulanz des UKE insgesamt 257 Patienten auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation untersucht. Die Liste mit den entsprechenden Patientennamen und Identifikationsnummern sowie den dazugehörigen Fallnummern wurde von der Informatikabteilung des UKE erstellt. Basierend auf diesen Daten wurden die elektronischen Akten von 257 Patienten retrospektiv analysiert. Sowohl im UKE erhobene Informationen als auch beigelegte Arztbriefe von vorherigen Arztkontakten, sofern diese in den Akten zu finden waren, wurden bei der Datensammlung herangezogen.

Da es sich um eine retrospektive Erfassung der Daten handelte und die Zuordnung der Patienten anhand der Fallnummer erfolgte, war kein Ethikvotum notwendig.

Vor Beginn der Datenerhebung wurde eine Liste mit zu erfassenden Parametern erstellt.

Folgende Parameter wurden bei der Analyse der gesamten Kohorte erhoben (siehe Tabelle 7):

Tabelle 7: Analyseparameter für die gesamte Kohorte, die auf die JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation untersucht wurde

#### Analyseparameter für die gesamte Kohorte

- 1. Geburtsdatum
- 2. Geschlecht
- 3. Datum der Testung für die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation in der Gerinnungsambulanz des UKE
- 4. Alter zum Zeitpunkt der Testung
- 5. Ergebnis der Testung für die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation
- 6. Konsultationsanlass in der Gerinnungsambulanz, genauer aufgeteilt in Art des thromboembolischen Ereignisses (venöse Thromboembolie, VTE, oder arterielle Thromboembolie, ATE). Bei nicht Vorliegen eines thromboembolischen Ereignisses wurden die Patienten in die Kategorie "andere Konsultationsanlässe" eingeteilt.

- 7. Thromboembolische Ereignisse mit genauer Angabe der Lokalisation, sortiert nach venösen und arteriellen Ereignissen
- 8. Vorliegen einer peripher arteriellen Verschlusskrankheit (PAVK)
- Retrospektiv bestehende Risikofaktoren bei der Entstehung der Thromboembolien. Folgende Risikofaktoren wurden dabei erfasst:
  - 1) Operativer Eingriff in Abstand von einigen Wochen zum Auftreten der Thromboembolie
  - 2) Vorliegen einer akuten oder chronischen Infektion oder Entzündungssituation zum Zeitpunkt der Genese der Thromboembolie
  - 3) Hormontherapie während oder unmittelbar vor dem Auftreten der Thromboembolie/Thrombose (Einnahme von hormonellen Kontrazeptiva, Hormontherapie bei gynäkologischen Karzinomen, postmenopausale Einnahme von Hormonen)
  - 4) Bestehende Schwangerschaft zum Zeitpunkt der Thromboembolie
  - 5) Bestehende oder kurzzeitig vorausgehende maligne Erkrankung
  - 6) Lage eines zentralen Venenkatheters
  - 7) Immobilität zum Zeitpunkt des Auftretens der Thromboembolie, bedingt durch beispielsweise Langstreckenflüge, Bettlägerigkeit im Rahmen eines grippalen Infekts oder nach Unfällen und Verletzungen
- 10. Vorliegen thromboembolischer Rezidive nach erstmaliger Thrombose/Thromboembolie
- 11. Menge der thromboembolischen Rezidive
- 12. Vorliegen von oben genannten Risikofaktoren bei Auftreten des thromboembolischen Rezidivs
- 13. Einnahme antikoagulatorischer Medikation bei Auftreten des thromboembolischen Rezidivs wie etwa niedermolekulares Heparin, Vitamin-K-Antagonisten (VKA), direkte orale Antikoagulantien (DOAK) oder von Thrombozytenaggregationshemmern (TAG)
- 14. Vorliegen einer Thrombophilie. Darunter wurden folgende Thrombophilien erfasst:
  - 1) Faktor-V-Leiden-Mutation in heterozygotem oder homozygotem Zustand
  - 2) Prothrombin-G20210A-Mutation in heterozygotem oder homozygotem Zustand
  - 3) Antiphospholipid-Syndrom

- 4) Hereditärer Protein-C-Mangel
- 5) Hereditärer Protein-S-Mangel
- 15. Vorliegen kardiovaskulärer und anderer Begleiterkrankungen wie arterielle Hypertonie, Koronare Herzkrankheit, PAVK, Diabetes mellitus Typ 2 und Leberzirrhose
- 16. Nikotinabusus zum Zeitpunkt der Thromboembolie
- 17. Laborparameter zum Zeitpunkt der Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation:
  - 1) Hämoglobin (g/dl) (Referenzbereich 14,0-17,5 g/dl bei Männern und 12,3 15,3 g/dl bei Frauen) zum Zeitpunkt der Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation
  - 2) Hämatokrit (%) (Referenzbereich 36-48 % bei Männern und 35-45 % bei Frauen) zum Zeitpunkt der Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation
  - 3) Leukozytenzahl (Mrd/l) (Referenzbereich 3,8-11,0 Mrd/l) zum Zeitpunkt der Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation
  - 4) Thrombozytenzahl (Mrd/l) (Referenzbereich 150-400 Mrd/l) zum Zeitpunkt der Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation
  - 5) D-Dimere (mg/l) (Referenzbereich 0,0-0,5 mg/l) zum Zeitpunkt der Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation
- 18. Familienanamnese bezüglich thromboembolischer Ereignisse mit Berücksichtigung der unmittelbaren Verwandten wie Eltern und Kinder der betroffenen Patienten
- 19. Vorliegen einer Leberzirrhose zum Zeitpunkt der Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation
- 20. Abort, intrauteriner Fruchttod oder Frühgeburt in der Vorgeschichte (nur Frauen)
- 21. Neu diagnostizierte oder bereits zum Zeitpunkt der *JAK*2<sup>V617F</sup>-Testung bekannte Myeloproliferative Neoplasie (MPN)

Bei den Patienten, bei denen eine MPN diagnostiziert worden war, wurden zusätzliche Parameter erhoben, welche im Folgenden aufgeführt sind (siehe Tabelle 8):

Tabelle 8: Analyseparameter der Patienten mit diagnostizierter MPN

#### Analyseparameter der Patienten mit diagnostizierter MPN

- 1. Therapie der MPN
- 2. Auftreten verstärkter Blutungen
- 3. Vorliegen einer Splenomegalie

Bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten wurde zusätzlich der Zeitraum der Nachverfolgung im UKE unter dem Parameter "Follow-up" erfasst. Die Zeitangabe erfolgte dabei in Monaten.

Nur bei 253 Patienten lagen zum Beginn der Datenerhebung eindeutige Ergebnisse für den Mutationsnachweis vor. Die übrigen vier der 257 Patienten mussten bei der Analyse der Daten daher außer Betracht gelassen werden.

Zur Analyse der Daten wurden die Patienten in zwei Gruppen aufgeteilt (negativ und positiv für die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation) und auf ihre Unterschiede hin untersucht.

#### 3.2. Statistische Auswertung

# 3.2.1. Beschreibung des Datensatzes und Ermittlung der Signifikanz einzelner Variablen

Die statistische Analyse erfolgte mit "IBM SPSS Statistics 23". Bei kategorialen, nominal skalierten Variablen wurden die absoluten und relativen Häufigkeiten angegeben. Stetige, metrisch skalierte Daten wurden mithilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf ihre Normalverteilung hin untersucht. Normalverteilte Daten wurden anhand des Mittelwerts und der Standardabweichung angegeben, die Darstellung nicht-normalverteilter Daten erfolgte als Median und Interquartilsabstand ("interquartile range", IQR) (25.-75. Perzentil).

Die nach dem *JAK2*<sup>V617F</sup>-Befund eingeteilten Gruppen wurden hinsichtlich ihrer Unterschiede zweiseitig getestet. Bei den kategorialen Variablen erfolgte dies entweder mit dem Chi-Quadrat-Test oder mit dem exakten Test nach Fisher bei kleineren Fallzahlen (erwartete Zellhäufigkeit unter 5). Stetige Daten wurden mithilfe des Mann-Whitney-U-Test mit Darstellung der asymptotischen Signifikanz basierend auf einer Monte-Carlo-Simulation mit 10.000 Stichprobentabellen untersucht. Das Signifikanzniveau (α) lag bei allen statistischen Testverfahren bei 0,05.

#### 3.2.2. Logistische Regressionsanalyse

Der Einfluss der als relevant eingestuften Variablen wurde im weiteren Verlauf genauer analysiert, um Kriterien für die Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation zu erarbeiten. Ziel der Untersuchung war es den Testbefund für die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation im Voraus anhand bestimmter Parameter vorhersagen zu können.

Die Analyse erfolgte mit der rückwärtsgerichteten schrittweisen logistischen Regression, um eine Selektion der Variablen durchzuführen. Der schrittweise Ausschluss der Variablen wurde mithilfe der "Likelihood-Quotienten-Statistik" festgelegt, welche auf maximalen, partiellen "Likelihood-Schätzungen" basierte.

Die Logistische Regressionsfunktion zeigt die Wahrscheinlichkeit an, dass ein Befund mithilfe der Prädiktor-Variablen und ihren entsprechenden Regressionskoeffizienten entweder als positiv oder als negativ eingestuft werden kann. Die Grundfunktion wird wie folgt zusammengestellt:

$$P(Y) = \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1 X_{1i} + b_2 X_{2i} + \ldots + b_n X_{ni})}} \\ \begin{array}{l} P(Y) = \text{Wahrscheinlichkeit, dass Y auftritt} \\ e = \text{Basis des natürlichen Logarithmus, Eulersche} \\ \text{Zahl} \\ \text{b0 = Konstante} \\ \text{bn = Regressionskoeffizient} \\ \text{Xn = unabhängige Variablen} \end{array}$$

Abbildung 3: Grundfunktion der logistischen Regressionsgleichung (modifiziert nach Field, 2009)

Die Regressionskoeffizienten ergaben sich aus dem Algorithmus der "Maximum-Likelihood-Schätzung".

Als dichotome abhängige Variable wurde das Ergebnis des *JAK2*<sup>V617F</sup>-Befundes deklariert. Folgende unabhängige Variablen wurden in die Analyse miteinbezogen:

- 1. Alter
- 2. Geschlecht
- 3. Hämoglobinwert (q/dl)
- 4. Hämatokrit (%)
- 5. Thrombozytenzahl (Mrd/l)
- 6. Leukozytenzahl (Mrd/l)
- 7. stattgefundenes thromboembolisches Rezidivereignis

#### 3.2.3. "Receiver Operating Characteristic Curves"-Analyse

Um die Sensitivität und Spezifität des Tests zu erhöhen, bei dem ein Screening auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation gerechtfertigt wäre, wurde eine "Receiver Operating Characteristic Curves" (ROC)-Analyse durchgeführt. Ziel war es, Grenzwerte für die metrischen Variablen zu finden, welche zuvor mithilfe der logistischen Regressionsanalyse ausgewählt wurden.

Die ROC-Kurven wurden erstellt, um die Genauigkeit des Tests, welcher sinnvolle Kandidaten für die Testung auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation identifizieren sollte, zu bestimmen. Die Kurve zeigte das Verhältnis der Sensitivität (Rate der "richtigpositiven") auf der Y-Achse in Bezug zur 1-Spezifität (Rate der "falsch-positiven) auf der X-Achse. Je näher die Kurve an die obere linke Ecke heranreichte (x = 0 und y = 1) desto größer fielen die Sensitivität und Spezifität aus.

Grundsätzlich zeigt die Fläche unter der Kurve ("Area under the curve", AUC) die allgemeine Fähigkeit des Tests an, zwischen zwei verschiedenen Ergebnissen zu unterscheiden. Eine Fläche von 1,0 bis 0,9 repräsentiert einen sehr guten Test, ab einer Fläche von 0,9 bis 0,8 wird ein Test als gut und zwischen 0,8 und 0,7 als fair erachtet. Bei einer Fläche von 0,7 bis 0,6 eignet sich der Test nicht gut, um zwischen zwei Ergebnissen zu unterscheiden. Ab einer Fläche unter 0,6 ist der Test nicht einsetzbar. Die AUC eignet sich somit zur Auswahl entsprechender metrischer Variablen, die in den endgültigen Test miteinfließen können. Die Genauigkeit eines Tests ergibt sich aus dem Verhältnis der richtigen Ergebnisse (("richtig-positiv" + "richtig-negativ")/("richtig-positiv" + "richtig-negativ" + "falsch-positiv" + "falsch-negativ")) (Carter et al., 2016).

Sobald die Auswahl der Variablen, welche in den endgültigen Test einflossen, getroffen war, wurden in einem weiteren Schritt der positiv prädiktive Wert (PPV), der negativ prädiktive Wert (NPV) sowie Sensitivität und Spezifität des neu definierten Auswahltests für die Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation errechnet.

#### 4. Ergebnisse

# 4.1. Vergleich der JAK2<sup>V617F</sup>-negativen und -positiven Kohorte

#### 4.1.1. Basisinformationen

Die untersuchte Kohorte setzte sich aus insgesamt 253 Patienten zusammen, von denen 216 einen negativen und 37 einen positiven Befund für die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation aufwiesen. Somit wiesen 14,6 % der Patienten die benannte Mutation auf.

Das durchschnittliche Alter der Kohorte lag bei 51,3 Jahren (SD = 14,9). Das mittlere Alter der Kohorte der negativ getesteten Patienten lag bei 50,13 Jahren (SD = 14,5). Im Vergleich dazu lag das mittlere Alter der  $JAK2^{V617F}$ -positiven Kohorte bei 58,16 Jahren (SD = 15,5). Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war signifikant (p = 0,004). Somit waren die  $JAK2^{V617F}$ -positiven Patienten durchschnittlich um ca. acht Jahre älter als negative Patienten.

Insgesamt umfasste die Kohorte mehr Frauen (54,2 %) als Männer (45,8 %), bei der Geschlechterverteilung innerhalb der negativ und positiv getesteten Gruppe lag jedoch kein signifikanter Unterschied vor (p = 0,99).

Fast ein Drittel der Patienten (30,0 %) wies eine positive Familienanamnese hinsichtlich thromboembolischer Ereignisse auf. Dementsprechend hatten 29,6 % der  $JAK2^{V617F}$ -negativen und 32,4 % der  $JAK2^{V617F}$ -positiven ein thromboembolisches Ereignis in der familiären Vorgeschichte, der Unterschied zwischen den Gruppen war nicht signifikant (p = 0,744).

Von den 137 Frauen wiesen 19 (13,9 %) eine positive Anamnese für den Parameter "Abort/intrauteriner Fruchttod/Frühgeburt auf". Auch hier lag kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen vor (p = 0,481).

Hinsichtlich der kardiovaskulären Risikofaktoren lag bei 34,8 % ein Hypertonus, bei 5,9 % ein Diabetes mellitus, bei 7,5 % eine koronare Herzkrankheit und bei 33,6 % ein Nikotinabusus vor. Auch bei den kardiovaskulären Risikofaktoren wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt (Hypertonus p = 0,745; Diabetes mellitus Typ 2 p = 0,137; koronare Herzkrankheit p = 1,0 und Nikotinabusus p = 0,196).

Insgesamt wiesen wenige Patienten eine PAVK (4 %) oder eine Leberzirrhose (3,6 %) auf. Die Gruppen unterschieden sich in beiden Parametern nicht signifikant (p = 0,624 und p = 0,364). Eine Thrombophilie wiesen ca. 30 % der Patienten auf, ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen war auch hier nicht zu sehen (p = 0,971).

Tabelle 9: Basis-Charakteristika der gesamten Kohorte

	Negativ	Negativ Positiv Gesamt p-				
	n = 216	n = 37	n = 253	p-Wert		
	(Mittelwert	(Mittelwert	(Mittelwert			
	[SD])	[SD])	[SD])			
Alter (in Jahren)	50,13 [14,5]	58,16 [15,5]	51,3 [14,9]	0,004		
Geschlecht, Anteil	99 (45,8)	17 (45,9)	116 (45,8)	0,99		
Männer (%)						
Positive	64 (29,6)	12 (32,4)	76 (30,0)	0,744		
Familienanamnese für						
Thromboembolie (%)						
Positive Anamnese für	15 (6,9)	4 (10,8)	19 (13,9)	0,481		
Abort/Frühgeburt (%)						
Begleiterkrankungen						
PAVK (%)	8 (3,7)	2 (5,4)	10 (4)	0,644		
Thrombophilie (%)	63 (29,2)	11 (29,7)	74 (29,3)	0,971		
Hypertonus (%)	76 (35,2)	12 (32,4)	88 (34,8)	0,745		
Diabetes mellitus (%)	15 (6,9)	0 (0)	15 (5,9)	0,137		
Koronare Herzkrankheit	17 (7,9)	2 (5,4)	19 (7,5)	1,0		
(%)						
Leberzirrhose (%)	9 (4,2)	0 (0)	9(3,6)	0,364		
Nikotinabusus (%)	76 (35,2)	9 (24,3)	85 (33,6)	0,196		

<sup>\*</sup>p-Wert nicht bestimmt

#### 4.1.2. Thrombophilien

Bei genauerer Betrachtung der Thrombophilien zeigte sich, dass die heterozygote Faktor-V-Leiden-Mutation mit 14,2 % (n = 36) den größten Anteil der Thrombophilien darstellte, mit 33 Betroffenen aus der negativen Gruppe (15,3 %) und 3 aus der positiven Gruppe (8,1 %). Mit 6,7 % Betroffenen (n = 17) war das Antiphospholipid-Syndrom die zweithäufigste Thrombophilie der Kohorte. Davon betroffen waren zwölf  $JAK2^{V617F}$ -negative (5,6 %) und fünf positive Patienten (13,5 %). Am dritthäufigsten

fand sich die heterozygote Prothrombin-G20210A-Mutation mit 3,6 % (n = 9), sieben davon waren negativ (3,2 %) und zwei positiv (5,4 %) für die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation.

Tabelle 10: Thrombophilien der gesamten Kohorte

JAK2 <sup>V617F</sup> -Mu	utation		
Negativ	Positiv	Gesamt	p-Wert
n = 216	n = 37	n = 253	
(Mittelwert	(Mittelwert	(Mittelwert	
[SD])	[SD])	[SD])	
n			0,465
33 (15,3)	3 (8,1)	36 (14,2)	0,241
0	1 (2,7)	1 (0,4)	*
utation			0,645
7 (3,2)	2 (5,4)	9 (3,6)	*
1 (0,5)	0	1 (0,4)	*
12 (5,6)	5 (13,5)	17 (6,7)	0,146
1 (0,5)	0	1 (0,4)	*
3 (1,4)	0	3 (1,2)	*
3 (1,4)	0	3 (1,2)	*
5 (2,3)	0	5 (2,0)	*
	Negativ n = 216 (Mittelwert [SD]) n 33 (15,3) 0 lutation 7 (3,2) 1 (0,5) 12 (5,6)  1 (0,5) 3 (1,4)	n = 216       n = 37         (Mittelwert       (Mittelwert         [SD])       [SD])         n       33 (15,3)       3 (8,1)         0       1 (2,7)         lutation       7 (3,2)       2 (5,4)         1 (0,5)       0         12 (5,6)       5 (13,5)         1 (0,5)       0         3 (1,4)       0	Negativ         Positiv         Gesamt           n = 216         n = 37         n = 253           (Mittelwert         (Mittelwert         (Mittelwert           [SD])         [SD])         [SD])           n         33 (15,3)         3 (8,1)         36 (14,2)           0         1 (2,7)         1 (0,4)           1 (10,5)         0         1 (0,4)           1 (0,5)         0         1 (0,4)           1 (0,5)         0         1 (0,4)           3 (1,4)         0         3 (1,2)

<sup>\*</sup>p-Wert nicht bestimmt

Kombinierte Thrombophilien sind: a) Faktor-V-Leiden- und Prothrombin-G20210A-Mutation b) Faktor-V-Leiden-Mutation und Antiphosphilipid-Syndrom, c) Faktor-V-Leiden-Mutation, Protein-C und Protein-S-Mangel

#### 4.1.3. Konsultationsanlässe der gesamten Kohorte

Insgesamt erlitten 123 Patienten (48,6 %) eine venöse Thromboembolie, davon waren 44,4 % der *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen und 72,9 % der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten betroffen. Arterielle Thrombosen lagen bei 107 Patienten (42,3 %) vor. Dies führte bei 46,3 % der *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen und bei 18,9 % der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten zur

Testung auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation. Die negativ und die positiv getestete Gruppe unterschieden sich bei den Parametern "venöses Ereignis" (p= 0,001) und "arterielles Ereignis" (p = 0,002) signifikant.

Bei einem Patienten, der sich als *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativ erwies, führte das gleichzeitige Auftreten einer arteriellen und venösen Thrombose zur Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation.

Über ein Drittel der Patienten (36,8 %) wies bei der erstmaligen Thromboembolie einen der erfassten Risikofaktoren auf, ohne signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen (p = 0,46).

Ungefähr 5 % der Patienten suchten die Gerinnungsambulanz aus anderen Gründen als Thromboembolien auf, wie etwa Blutungen ungeklärter Ursache oder Blutbildveränderungen ungeklärter Ursache ohne weitere Symptomatik. Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen lag nicht vor (p = 0,843).

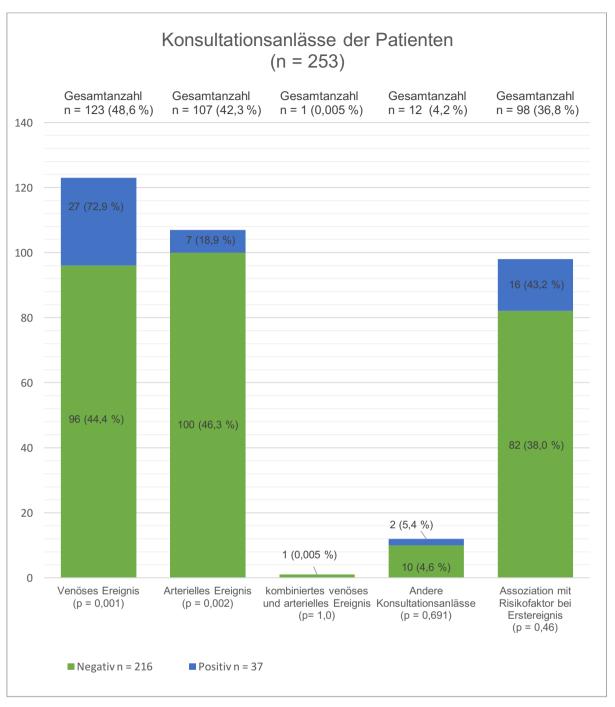


Abbildung 4: Konsultationsanlässe der gesamten Kohorte (PAVK-Patienten ausgeschlossen, n = 10)

#### 4.1.4. Thromboembolische Erstereignisse

Der häufigste Anlass für die Testung auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation in der Gerinnungsambulanz des UKE war mit 20,2 % das Vorliegen einer Thrombose im Bereich der unteren Extremität oder eine LAE (n = 51). 38 der negativen (17,6 %) und 13 der positiven Patienten (35,1 %) waren davon betroffen. Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen konnte nachgewiesen werden (p = 0,014).

Bezogen auf die venösen Ereignisse stellte sich eine Thrombose im Splanchnikus-Gebiet als zweithäufigster Konsultationsanlass heraus (n = 36, 14,2 %). 13,4 % der negativen (n = 29) und 18,9 % der positiven Patienten (n = 7) wiesen eine derartige Thrombose auf, wobei sich die Gruppen nicht signifikant unterschieden (p = 0,377). Am dritthäufigsten lag eine Thrombose im Bereich der venösen Sinus oder anderer Hirnvenen vor (n = 12, 4,7 %). Der Unterschied war nicht signifikant (p = 0,69). Alle anderen venösen Ereignisse traten mit einer absoluten Häufigkeit von kleiner oder gleich 5 auf.

Tabelle 11: Erstmalig aufgetretene venöse Thromboembolien

	JAK2 <sup>V617F</sup> -Mu			
Lokalisation/Art der	Negativ	Positiv	Gesamt	p-Wert
Thrombose	n = 216	n = 37	n = 253	
	(Mittelwert	(Mittelwert	(Mittelwert	
	[SD])	[SD])	[SD])	
Splanchnikus-Gebiet	29 (13,4)	7 (18,9)	36 (14,2)	0,377
(%)				
Untere Extremität oder	38 (17,6)	13 (35,1)	51(20,2)	0,014
LAE gesamt (%)				
LAE ohne	8 (3,7)	5 (13,5)	13 (5,1)	*
Thrombosenachweis (%)				
Untere Extremität	16 (7,4)	5 (13,5)	21 (8,3)	*
(proximal)+/- LAE (%)				
Untere Extremität	14 (6,5)	3 (8,1)	17 (6,7)	*
(distal) +/- LAE (%)				
obere Extremität (%)	4 (1,9)	1 (2,7)	5 (2,0)	*
Gehirn (Sinusvene und	10 (4,6)	2 (5,4)	12 (4,7)	0,69
andere) (%)				
oberflächliche Vene (%)	5 (2,3)	0	5 (2,0)	*
Augenhintergrund (%)	1 (0,5)	0	1 (0,4)	*
V. cava (%)	1 (0,5)	0	1 (0,4)	*
V. iliaca (%)	1 (0,5)	0	1 (0,4)	*
Mehrere venöse	7 (3,2)	4 (10,8)	11 (4,4)	*
Verschlüsse zur				
gleichen Zeit				

<sup>\*</sup>p-Wert nicht bestimmt

Bei den arteriellen Ereignissen waren Schlaganfälle mit 19 % (n = 48) der häufigste Konsultationsanlass, gefolgt von Herzinfarkten mit 5,14 % (n = 13), wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt wurden (p = 0,125 bzw. p = 0,225). Der dritthäufigste Konsultationsanlass auf arterieller Ebene waren Thrombosen im Bereich des Augenhintergrundes mit 4,7 % (n = 12). Davon waren allerdings nur negative Patienten betroffen.

Tabelle 12: Erstmalig aufgetretene arterielle Thromboembolien

Lokalisation/Art der	Negativ	Positiv	Gesamt	p-Wert
Thrombose	n = 216	n = 37	n = 253	
	(Mittelwert	(Mittelwert	(Mittelwert	
	[SD])	[SD])	[SD])	
Myokardinfarkt (%)	13 (6,0)	0	13 (5,1)	0,225
Apoplex (%)	44 (20,4)	4 (10,8)	48 (19,0)	0,125
Splanchnikusgebiet (%)	4 (1,9)	0	4 (1,6)	*
Augenhintergrund (%)	12 (5,6)	0	12 (4,7)	*
Obere Extremität (%)	5 (2,3)	1 (2,7)	6 (2,4)	*
Untere Extremität (%)	5 (2,3)	0	5 (2,0)	*
Mehrere arterielle	9 (4,2)	1 (2,7)	10 (4,0)	*
Verschlüsse zur				
gleichen Zeit (%)				
Sonstige** (%)	6 (2,8)	1 (2,7)	7 (2,8)	*

<sup>\*</sup>p-Wert nicht bestimmt

#### 4.1.5. Risikofaktoren bei Erstereignissen

Die meisten venösen und arteriellen Erstereignisse erfolgten spontan (60,9 % p = 0,46). Zu den häufigsten ermittelbaren Risikofaktoren zählten die Einnahme von Hormonen (14,2 %), das Vorliegen einer akuten/chronischen Infektion oder Entzündung (7,5 %) und vorangehende operative Eingriffe (5,9 %).

<sup>\*\*</sup>Sonstige sind Verschlüsse an folgenden Lokalisationen: Stent, Bypass, Shunts, Plazentagefäß, spinale Gefäße, A. renalis, rezidivierender Apoplex

Tabelle 13: Risikofaktoren bei Erstereignissen

<i>JAK</i> 2 <sup>V617F</sup> -Mutation				
Risikofaktoren bei	Negativ	Positiv	Gesamt	p-Wert
Erstereignis	n = 216	n = 37	n = 253	
	(Mittelwert	(Mittelwert	(Mittelwert	
	[SD])	[SD])	[SD])	
spontan	134 (62,0)	20 (54,1)	154 (60,9)	0,46
postoperativ	10 (4,6)	5 (13,5)	15 (5,9)	*
Infektion/Chron.	16 (7,4)	3 (8,1)	19 (7,5)	*
Entzündung				
Einnahme von	30 (13,9)	6 (16,2)	36 (14,2)	*
Hormonen				
Schwangerschaft	4 (1,9)	0	4 (1,6)	*
Maligne	7 (3,2)	0	7 (2,8)	*
Grunderkrankung				
lmmobilität	15 (6,9)	2 (5,4)	17 (6,7)	*

<sup>\*</sup>p-Wert nicht bestimmt

#### 4.1.6. Thromboembolische Rezidive

Insgesamt hatten 107 Patienten (42,3 %) (PAVK-Patienten ausgeschlossen) ein venöses oder arterielles Rezidiv nach oben beschriebenem thromboembolischen Erstereignis, ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen lag dabei nicht vor (p = 0,732). Die meisten dieser Patienten erlitten nur ein Rezidiv (n = 59; 23,3%), 30 Patienten erlitten 2 Rezidive (11,9 %). Die restlichen 14 der 107 Patienten hatten drei oder mehr Rezidive (5,5 %).

Tabelle 14: Thromboembolische Rezidive (PAVK-Patienten ausgeschlossen)

	JAK2	2 <sup>V617F</sup> -Mutation		
	Negativ	Positiv	Gesamt	p-Wert
	n = 216	n = 37	n = 253	
	(Mittelwert	(Mittelwert	(Mittelwert	
	[SD])	[SD])	[SD])	
Rezidiv vorhanden (%)	92 (42,6)	15 (40,5)	107 (42,3)	0,732
Unterteilung der Patiente	en nach Anza	hl der Rezidiv	e	
1 Rezidiv (%)	51 (23,6)	8 (21,6)	59 (23,3)	*
2 Rezidive (%)	24 (11,1)	6 (16,2)	30 (11,9)	*
3 Rezidive (%)	13 (6,0)	1 (2,7)	14 (5,5)	*

<sup>\*</sup>p-Wert nicht bestimmt

Von den insgesamt 160 Rezidivereignissen waren nur 39 (24,4 %) mit einem Risikofaktor assoziiert. Ein Risikofaktor war meist bei dem ersten Rezidivereignis zu eruieren. Dabei war der Anteil der Patienten mit Risikofaktor assoziierten Rezidiven bei den  $JAK2^{V617F}$ -negativen Patienten (19,7 %) größer als bei den  $JAK2^{V617F}$ -positiven Patienten (13,0 %). Der Unterschied zwischen den Gruppen war nicht signifikant (p = 0,544). Die zweiten und dritten Rezidivereignisse waren bei den meisten Patienten nicht mit einem Risikofaktor assoziiert. Die zweiten und dritten Rezidivereignisse waren nur bei den  $JAK2^{V617F}$ -negativen Patienten mit einem Risikofaktor verbunden (4,4 % beim zweiten Rezidiv und 1,9 % beim dritten Rezidiv). Bei den  $JAK2^{V617F}$ -positiven Patienten erfolgten die zweiten und dritten Rezidivereignisse spontan. Die Unterschiede zwischen den Gruppen waren auch hier nicht signifikant (p = 0,567 beim zweiten Rezidivereignis; p = 1,0 beim dritten Rezidivereignis).

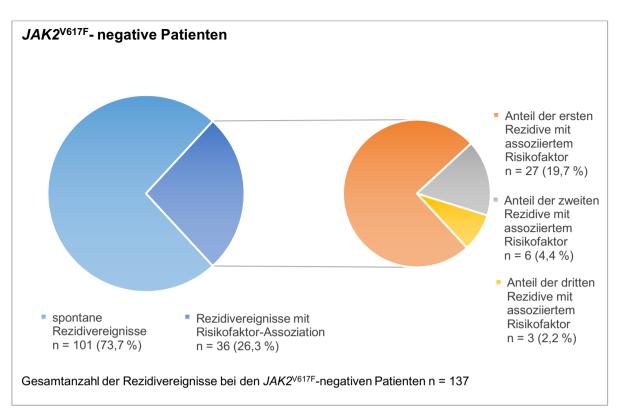


Abbildung 5: Risikofaktor-Assoziation bei den Rezidivereignissen bei den JAK2<sup>V617F</sup>-negativen Patienten

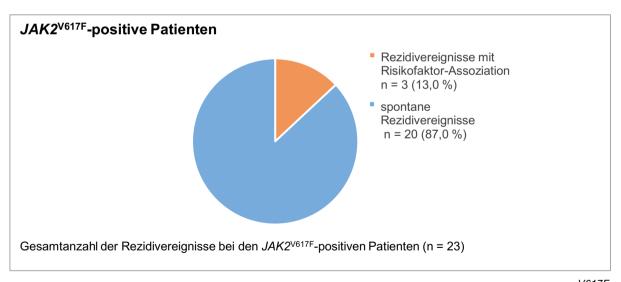


Abbildung 6: Risikofaktor-Assoziation bei den Rezidivereignissen der JAK2<sup>V617F</sup>-positiven Patienten, bezogen auf das erste Rezidivereignis

#### 4.1.7. Antikoagulatorische Medikation während des Rezidivs

Zum Zeitpunkt der Testung auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation nahmen 59,8 % (n = 64) der 107 Patienten mit thromboembolischem Rezidiv antikoagulatorische oder Plättchenhemmende Medikamente ein. Dementsprechend nahmen 40,2 % der Patienten bei

Auftreten keine antikoagulatorische oder Plättchen-hemmende Therapie mehr ein. Der Unterschied zwischen der  $JAK2^{V617F}$ -positiven und -negativen Gruppe war hinsichtlich der bloßen Einnahme der Medikation nicht signifikant (p = 0,166).

Von den Patienten, welche ein Rezidiv unter antikoagulatorischer Medikation erhielten, wurden sieben (2,8 %) mit einer Monotherapie aus niedermolekularem Heparin therapiert. Sie alle waren  $JAK2^{V617F}$ -negativ. 20 Patienten (7,9 %) erhielten einen VKA bei Auftreten eines thromboembolischen Rezidivs. Davon waren 4,6 % der  $JAK2^{V617F}$ -negativen und 27,0 % der  $JAK2^{V617F}$ -positiven betroffen. Die Gruppen unterschieden sich dabei signifikant (p = 0,001). Insgesamt wurden nur drei Patienten mit einer Monotherapie aus DOAK behandelt, alle waren  $JAK2^{V617F}$ -negativ.

25 Patienten (9,9 %) wurden bei Eintreten des Rezidivs mit einer Monotherapie aus TAG (Aspirin oder P2Y12-Rezeptor-Antagonisten) therapiert, dies betraf 10,7 % der  $JAK2^{V617F}$ -negativen und 5,4 % der  $JAK2^{V617F}$ -positiven Patienten. Die Anzahl der Rezidive unter dieser Therapie unterschied sich dabei nicht signifikant zwischen beiden Gruppen (p = 0,099).

Die restlichen Patienten, die ein Rezidiv unter Antikoagulation erhielten, nahmen eine Kombination aus TAG mit VKA oder Heparinen ein. Sie alle waren  $JAK2^{V617F}$ -negativ (n = 6).

Tabelle 15: Rezidiv trotz Antikoagulation

<i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Mutation				
	Negativ	Positiv	Gesamt	p-Wert
	n = 216	n = 37	n = 253	
Rezidiv unter (O)AK	52 (24,1)	12 (32,4)	64 (25,3)	0,166
oder TAG (%)				
Heparine (%)	7 (3,2)	0	7 (2,8)	*
VKA (%)	10 (4,6)	10 (27,0)	20 (7,9)	0,001
DOAK (%)	3 (1,4)	0	3 (1,2)	1,00
<b>TAG</b> (%)	23 (10,7)	2 (5,4)	25 (9,9)	0,099
VKA/DOAK mit TAG (%)	3 (1,4)	0	3 (1,2)	*
Heparine mit TAG (%)	3 (1,4)	0	3 (1,2)	*

<sup>\*</sup>p-Wert nicht bestimmt

<sup>(</sup>O)AK = (orale) Antikoagulation; TAG = Thrombozytenaggregationshemmer; VKA = Vitamin-K-Antagonist; DOAK = Direkte orale Antikoagulantien

#### 4.1.8. Laboranalytische Parameter

Mit Ausnahme der D-Dimere unterschieden sich *JAK*2<sup>V617F</sup>-positive und -negative Patienten in allen erfassten Laborwerten signifikant (Tab. 9).

Bei der  $JAK2^{V617F}$ -negativen Kohorte lag zum Zeitpunkt der Testung auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation der Median des Hämoglobins bei 13,9 [IQR = 13,0-14,9], des Hämatokrits bei 41,6 [IQR = 38,7-44,3], der Leukozyten bei 6,5 [IQR = 5,2-8,7], der Thrombozyten bei 271 [IQR = 211-332] und der D-Dimere bei 0,28 [IQR = 0-0,5].

Tabelle 16: Laborwerte zum Zeitpunkt der JAK2<sup>V617F</sup>-Testung

JAK2 <sup>V617F</sup> -Mutation					
	Negativ	Positiv	p-Wert		
	n = 216	n = 37			
	(Median [IQR])	(Median [IQR])			
Hämoglobin (g/dl)	13,9 [13,02-14,9]	14,8 [13,6-15,5]	0,009		
Hämatokrit (%)	41,55 [38,7-44,3]	44,5 [39,6-47,225]	0,003		
Leukozyten (Mrd/l)	6,5 [5,2-8,7]	7,75 [6,2-11,1]	0,003		
Thrombozyten (Mrd/l)	271 [211-332]	430 [259,5-589,5]	0,001		
<b>D-Dimere</b> (mg/l)	0,28 [0-0,5]	0,3 [0,09-0,755]	0,282		

Die weiblichen Patienten wiesen zum Großteil normwertige Laborwerte hinsichtlich der Parameter Hämoglobin (68,6 %), Hämatokrit (78,1 %), Leukozyten (82,5 %), Thrombozyten (71,5 %) und D-Dimere (47,4 %) auf. Bei der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Gruppe war der Anteil der weiblichen Patienten mit normwertigen Laborwerten deutlich geringer als bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen (Hämoglobin 55,0 %, Hämatokrit 45,0 %, Leukozyten 65,0 %, Thrombozyten 40,0 % und D-Dimere 35,0 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven; Hämoglobin 70,9 %, Hämatokrit 83,8 %, Leukozyten 85,5 %, Thrombozyten 76,9 % und D-Dimere 49,6 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen). Insgesamt lagen die Laborwerte von relativ wenigen Patienten über dem Referenzbereich (Hämoglobin 10,2 %, Hämatokrit 11,7 %, Leukozyten 10,9 %, Thrombozyten 24,1 % und D-Dimere 26,3 %). Ein vergleichsweiser großer Anteil der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven wies dabei Laborwerte über dem Referenzbereich auf (Hämoglobin 35,5 %, Hämatokrit 50,0 %, Leukozyten 30,0 %, Thrombozyten 60,0 % und D-Dimere 40,0 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven; Hämoglobin 6,0 %, Hämatokrit 5,1 %, Leukozyten 7,7 %, Thrombozyten 17,9 % und D-Dimere 28,3 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen).

Tabelle 17: Laborwerte zum Zeitpunkt der JAK2<sup>V617F</sup>-Testung klassifiziert nach Referenzbereich für Frauen\*

	<i>JAK</i> 2 <sup>V617F</sup> -Mutation			
	Negativ	Positiv	Gesamt	
	n = 117	n = 20	n = 137	
	(Mittelwert	(Mittelwert	(Mittelwert	
	[SD])	[SD])	[SD])	
lämoglobin				
nter Normbereich (%)	24 (20,5)	1 (5,0)	25 (18,2)	
ormwertig (%)	83 (70,9)	11 (55,0)	94 (68,6)	
ber Normbereich (%)	7 (6,0)	7 (35,0)	14 (10,2)	
ämatokrit				
nter Normbereich (%)	10 (8,5)	0	10 (7,3)	
ormwertig (%)	98 (83,8)	9 (45,0)	107 (78,1)	
ber Normbereich (%)	6 (5,1)	10 (50,0)	16 (11,7)	
eukozyten				
nter Normbereich (%)	5 (4,3)	0	5 (3,6)	
ormwertig (%)	100 (85,5)	13 (65,0)	113 (82,5)	
per Normbereich (%)	9 (7,7)	6 (30,0)	15 (10,9)	
nrombozyten				
nter Normbereich (%)	6 (5,1)	0	6 (4,4)	
ormwertig (%)	90 (76,9)	8 (40,0)	98 (71,5)	
ber Normbereich (%)	21 (17,9)	12 (60,0)	33 (24,1)	
-Dimere				
nter Normbereich (%)	29 (24,8)	5 (25,0)	34 (24,8)	
ormwertig (%)	58 (49,6)	7 (35,0)	65 (47,4)	
er Normbereich (%)	28 (28,3)	8 (40,0)	36 (26,3)	

<sup>\*</sup>p-Werte nicht bestimmt

Referenzbereiche: Hämoglobin 12,3-15,3 g/dl; Hämatokrit 35-45 %; Leukozyten 3,8-11,0 Mrd/l; Thrombozyten 150-400 Mrd/l, D-Dimere 0,0-0,5 mg/l

Bei den männlichen Patienten war der Anteil der Patienten mit normwertigen Laborwerten ebenfalls sehr hoch (Hämoglobin 61,2 %, Hämatokrit 81,9 %, Leukozyten 87,9 %, Thrombozyten 73,3 % und D-Dimere 46,6 %). Im Vergleich zur *JAK2*<sup>V617F</sup>-

negativen Gruppe war der Anteil der männlichen Patienten mit normwertigen Laborwerten in der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Gruppe bei allen Parametern geringer (Hämoglobin 52,9%, Hämatokrit 70,6 %, Leukozyten 76,5 %, Thrombozyten 35,3 % und D-Dimere 35,3 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven; Hämoglobin 62,6 %, Hämatokrit 83,3 %, Leukozyten 89,9 %, Thrombozyten 79,8 % und D-Dimere 48,5 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen). Im Gesamten betrachtet lagen weniger Männer als Frauen oberhalb des Referenzbereiches der Laborparameter (Hämoglobin 2,6 %, Hämatokrit 11,2 %, Leukozyten 8,6 %, Thrombozyten 12,9 % und D-Dimere 26,7 % bei den Männern). Dabei war der Anteil der männlichen Patienten mit Werten oberhalb des Referenzbereiches bei der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Gruppe ebenfalls höher als bei der *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen Gruppe (Hämoglobin 5,9 %, Hämatokrit 11,8 %, Leukozyten 23,5 %, Thrombozyten 47,1 % und D-Dimere 41,2 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven; Hämoglobin 2,0 %, Hämatokrit 11,1 %, Leukozyten 6,1 %, Thrombozyten 7,1 % und D-Dimere 24,2 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen). Der Unterschied war dabei besonders bei den Thrombozyten groß.

Tabelle 18: Laborwerte zum Zeitpunkt der JAK2<sup>V617F</sup>-Testung klassifiziert nach Referenzbereich für Männer\*

	JAK2 <sup>V617F</sup> -N	lutation	
	Negativ	Positiv	Gesamt
	n = 99	n = 17	n = 116
	(Mittelwert	(Mittelwert	(Mittelwert
	[SD])	[SD])	[SD])
ämoglobin			
nter Normbereich (%)	34 (34,3)	7 (41,2)	41 (35,3)
ormwertig (%)	62 (62,6)	9 (52,9)	71 (61,2)
ber Normbereich (%)	2 (2,0)	1 (5,9)	3 (2,6)
ämatokrit			
nter Normbereich (%)	4 (4,0)	3 (17,6)	7 (6,0)
ormwertig (%)	83 (83,8)	12 (70,6)	95 (81,9)
ber Normbereich (%)	11 (11,1)	2 (11,8)	13 (11,2)
eukozyten			
ter Normbereich (%)	3 (3,0)	0	3 (2,6)
ormwertig (%)	89 (89,9)	13 (76,5)	102 (87,9)
ber Normbereich (%)	6 (6,1)	4 (23,5)	10 (8,6)
hrombozyten			
nter Normbereich (%)	12 (12,1)	3 (17,6)	15 (12,9)
ormwertig (%)	79 (79,8)	6 (35,3)	85 (73,3)
ber Normbereich (%)	7 (7,1)	8 (47,1)	15 (12,9)
-Dimere			
nter Normbereich (%)	24 (24,2)	4 (23,5)	28 (24,1)
ormwertig (%)	48 (48,5)	6 (35,3)	54 (46,6)
er Normbereich (%)	24 (24,2)	7 (41,2)	31 (26,7)

<sup>\*</sup>p-Werte nicht bestimmt

Referenzbereiche: Hämoglobin 14,0-17,5 g/dl; Hämatokrit 36-48 %; Leukozyten 3,8-11,0 Mrd/l; Thrombozyten 150-400 Mrd/l, D-Dimere 0,0-0,5 mg/l

# 4.2. JAK2<sup>V617F</sup>-positive Kohorte und MPN-Diagnosen

Bei mehr als der Hälfte der  $JAK2^{V617F}$ -positiven Patienten (n = 20, 54,1 %) war zum Zeitpunkt der Datenerhebung eine MPN mit abschließender Sicherheit festgestellt worden. Von diesen wurden insgesamt 60 % therapiert (n = 12). Die Hälfte erhielt eine MPN-spezifische Therapie mit Hydroxycarpamid oder Aderlass (n = 6), die andere Hälfte erhielt zusätzlich zur zytoreduktiven Therapie antikoagulatorische Medikamente (n = 6). 40 % der Patienten wurden zum Zeitpunkt der JAK-Testung nicht therapiert (n = 8).

Keiner der Patienten berichtete von verstärkten Blutungen unter zytoreduktiver oder antikoagulatorischer/plättchenhemmender Therapie. Über ein Drittel der Patienten mit MPN (n = 7) wies zum Zeitpunkt der Datenerhebung bereits eine Splenomegalie auf. Das mediane "Follow-up" der gesamten  $JAK2^{V617F}$ -positiven Gruppe nach Testung auf die Mutation lag bei 2,23 Monaten [IQR = 0,4429-19,5331]. Dabei lag der Median bei den Patienten mit bereits gestellter MPN-Diagnose bei 10,78 [IQR = 1,1691-35,477] und bei Patienten ohne MPN bei 0,67 [IQR = 0,097-2,878].

Tabelle 19: JAK2<sup>V617F</sup>-positive Patienten mit gesicherter MPN

	<i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -positiv
	<b>n = 37</b> (Median [IQR])
MPN Diagnose gestellt	20 (54,05)
Therapie der MPN Patienten	
Zytoreduktiv/Aderlass (%)	6 (30,0)
Zytoreduktiv/Aderlass mit Antikoagulation/TAG	6 (30,0)
(%)	
keine Therapie (%)	8 (40,0)
Blutungen bei MPN (%)	0
Splenomegalie bei MPN (%)	7 (35,0)
"Follow-up" seit <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Testung	
Insgesamt	2,3807 [0,4429-19,5331]
MPN Diagnose gestellt	10,78 [1,1691-35,477]
MPN Diagnose nicht gestellt	0,67 [0,097-2,878]

#### 4.3. Logistische Regressionsanalyse der als relevant eingestuften Variablen

Eine schrittweise logistische Regressionsanalyse wurde durchgeführt, um den Effekt der Variablen Geschlecht, Alter, Hämoglobinwert, Hämatokrit, Thrombozyten- und Leukozytenzahl sowie eines Rezidivereignisses auf den JAK2<sup>V617F</sup>-Mutationsbefund zu evaluieren. 248 von insgesamt 253 Fällen wurden in die Analyse miteinbezogen, der Ausschluss der anderen Patienten erfolgte aufgrund fehlender Werte. Nach fünf Schritten der Regressionsanalyse, bei der nicht relevante Variablen eliminiert wurden, da ihr Einfluss anhand der Berechnungen als zufällig eingestuft wurde, flossen nur noch drei Parameter in die Analyse ein: Alter, Hämoglobinwert und Thrombozytenzahl. Sowohl das Modell als Ganzes ( $X^2(4) = 49.86$ , p < 0.001) als auch die Regressionskoeffizienten der übrig gebliebenen unabhängigen Variablen erwiesen sich als signifikant (p < 0,05). Das Nagelkerke R<sup>2</sup> betrug 0,32. Die Odds-Ratios wiesen bei allen drei Parametern auf einen positiven Zusammenhang hin. Bei Erhöhung der Parameter um eine Einheit steigt die relative Wahrscheinlichkeit jeweils um einen bestimmten Prozentsatz an. Beim Lebensalter waren dies 4 % (Exp(B) = 1,04), beim Hämoglobinwert 41 % (Exp(B) = 1,41) und beim Thrombozyten-Wert 0,7 % (Exp(B) = 1,007).

Tabelle 20: Variablen der logistischen Regressionsgleichung nach fünf Schritten der Elimination

			95 % KI fü	ir Odds Ra	tio
unabhängige	B (SD)	Sig.	Untere	Odds-	Obere
Variable			Grenze	Ratio	Grenze
Alter	0,039 (0,014)	0,007	1,01	1,04	1,07
Hämoglobinwert	0,343 (0,139)	0,014	1,07	1,41	1,85
Thrombozytenzahl	0,007 (0,001)	0,001	1,00	1,01	1,01
Konstante	-11,200 (2,378)	0,001		0	

 $R^2$  (Nagelkerke) = 0,32, -2-Log-Likelihood = 155,595, Modell  $X^2$  = 49,86, p < 0,001

Sig. = Signifikanz der Regressionskoeffizienten basierend auf einer Wald-Statistik

95 % KI = 95 % Konfidenzintervall

In die Analyse wurden miteinbezogen: Alter, Hämoglobinwert, Hämatokrit, Thrombozytenzahlen, Leukozytenzahlen

B = Regressionskoeffizienten der Variablen

SD = Standardabweichung

Unter Einschluss der drei unabhängigen Variablen (s.o.) würden 99,1 % (NPV) der negativen und 30,6 % (PPV) der positiven Patienten vor Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bereits hinsichtlich ihres Mutationsbefunden richtig eingestuft werden. Die Sensitivität läge bei 84,6 % und die Spezifität bei 89,4 %.

Tabelle 21: Klassifizierung der Patienten anhand der Parameter der logistischen Regressionsanalyse

Beobachtet		Vorhergesagt		
		Ergebnis .	JAK2 Befund	Prozentsatz der
				Richtigen
		neg	Pos	- Trioning on
Ergebnis	neg	210	2	99,1
JAK2				
Befund	pos	25	11	30,6
Gesamtproze	entsatz			89,1

#### 4.4. ROC-Kurven-Analyse

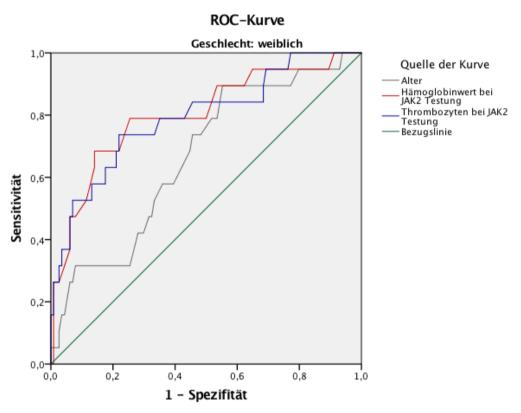
Im nächsten Schritt wurden die Parameter, welche basierend auf der logistischen Regressionsanalyse ausgewählt wurden, mithilfe der ROC-Kurven-Analyse weiter analysiert, um die Kriterien für die Testung zu weiter einzugrenzen.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der ROC-Kurven-Analyse der getesteten Patienten für die Vorhersage der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation mit dem höchsten Sensitivitätsund Spezifitätsverhältnis für verschiedene Grenzwerte der Parameter "Alter", "Hämoglobin" und "Thrombozyten" dargestellt. Für beide Geschlechter wurden unabhängige Kurven erstellt, da sich die Normwerte hinsichtlich des Hämoglobins unterscheiden.

#### 4.4.1. ROC-Kurven-Analyse für das weibliche Geschlecht

Wie man sehen kann, wiesen nur die AUC der Parameter "Hämoglobin" und "Thrombozyten" einen Wert über 0,7 auf. Das Alter erreichte bei den weiblichen Patienten eine AUC unter 0,7 und wurde daher nicht in den endgültigen Auswahltest für Frauen miteinbezogen.

Für Thrombozytenwerte  $\geq$  300 Mrd/l lag die Sensitivität der Kurve bei 84,2 % und die Spezifität bei 54,4 %. Insgesamt zeigten 80 % der  $JAK2^{V617F}$ -positiven und 46,2 % der  $JAK2^{V617F}$ -negativen Frauen Thrombozytenwerte von  $\geq$  300 Mrd/l auf (p = 0,005). Bei Hämoglobinwerten von  $\geq$  16 g/dl lag die Sensitivität der Kurve bei 21,1 % und die Spezifität bei 99,1 %. Insgesamt wiesen 20 %  $JAK2^{V617F}$ -positiven und 0,85 % der  $JAK2^{V617F}$ -negativen Frauen Hämoglobinwerte von  $\geq$  16 g/dl auf (p = 0,001).



Diagonale Segmente ergeben sich aus Bindungen.

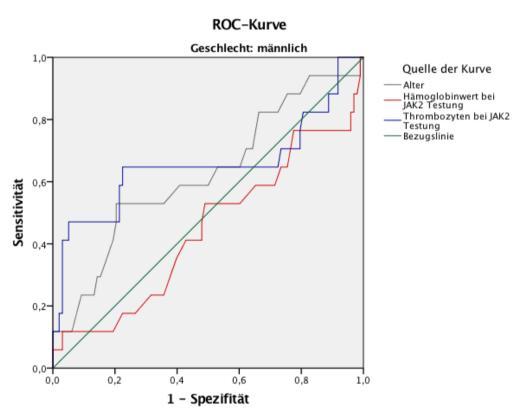
Abbildung 7: ROC-Kurve für das weibliche Geschlecht für die Parameter: Alter, Hämoglobin, Thrombozyten

Tabelle 22: Fläche unter der ROC-Kurve für das weibliche Geschlecht für die Parameter: Alter, Hämoglobin, Thrombozyten

Fläche unter der Kurve (AUC) für Frauen				
Alter	0,67			
Hämoglobin	0,80			
Thrombozyten	0,79			

#### 4.4.2. ROC-Kurven-Analyse für das männliche Geschlecht

Bei den männlichen Patienten erreichte keiner der Parameter "Alter", "Hämoglobin" und "Thrombozyten" ein AUC-Wert über 0,7. Da die Thrombozyten mit einer AUC von 0,65 die größte Fläche aufwiesen, flossen diese in die weitere Auswertung mit hinein. Für Thrombozytenwerte  $\geq$  300 Mrd/l lag die Sensitivität der Kurve bei 58,8 % und die Spezifität bei 77,6 %. Insgesamt wiesen 58,8 %  $JAK2^{V617F}$ -positiven und 22,2 % der  $JAK2^{V617F}$ -negativen Männer Thrombozytenwerte von  $\geq$  300 Mrd/l auf (p = 0,007).



Diagonale Segmente ergeben sich aus Bindungen.

Abbildung 8: ROC-Kurve für das männliche Geschlecht für die Parameter: Alter, Hämoglobin, Thrombozyten

Tabelle 23: Fläche unter der ROC-Kurve für das männliche Geschlecht für die Parameter: Alter, Hämoglobin, Thrombozyten

Fläche unter der Kurve (AUC) für Männer				
Alter	0,62			
Hämoglobin	0,44			
Thrombozyten	0,65			

#### 4.5. Formulierung des Auswahltests für die Testung auf die JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation

Basierend auf der logistischen Regressionsanalyse und der ROC-Kurven-Analyse wurden Variablen zusammengefasst, welche dazu beitragen, eine Vorauswahl für die Patienten zu treffen, die auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation getestet werden sollten. Im folgenden Abschnitt werden diese Variablen näher charakterisiert. Die Variablen für die Vorauswahl der Patienten wurden separat für beide Geschlechter aufgelistet.

# 4.5.1. Auswahltest für die Testung auf die JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation für Frauen

Bei der Vorauswahl der weiblichen Patienten, die auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation untersucht werden sollten, fließen die Thrombozytenzahl und der Hämoglobinwert ein. Ab einer **Thrombozytenzahl von ≥ 300 Mrd/l und/oder einem Hämoglobinwert von ≥ 16 g/dl** wird basierend auf den vorangehenden Berechnungen eine Testung auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation empfohlen. Die untenstehende Tabelle zeigt die Zahlen für die weiblichen Patienten an, die mithilfe der neu definierten Auswahlkriterien richtig eingeordnet werden würden.

Tabelle 24: Auswahltest für die Testung auf die JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation bei Frauen

# Aussagekraft des neuen Tests für die Auswahl der Patienten für die *JAK2*<sup>V617F</sup>Testung (Frauen)

		Ergebnis <i>JAK</i> 2 <sup>V617F</sup> -Befund		Gesamt
		negativ	Positiv	
Auswahl-Test	Nicht geeignet	62	4	66
	für Testung			
	Geeignet für	55	16	71
	Testung			
	Gesamt	117	20	137

Der Auswahltest für weibliche Pateinten, der auf einer Thrombozytenzahl von ≥ 300 Mrd/l und/oder einem Hämoglobinwert von ≥ 16 g/dl beruht, erreicht eine Sensitivität von 80 %, eine Spezifität von 53 %, einen PPV von 22,5 % und einen NPV von 93,9 %.

# 4.5.2. Auswahltest für die Testung auf die *JAK*2<sup>V617F</sup>-Mutation für Männer

Bei den männlichen Patienten erwies sich lediglich die Thrombozytenzahl als aussagekräftig genug, um eine Vorauswahl der Patienten zu treffen, die auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation untersucht werden sollten. Ab einer **Thrombozytenzahl von ≥ 300 Mrd/l** sollte eine Testung auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation erfolgen.

Tabelle 25: Auswahltest für die Testung auf die JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation bei Männern

# Aussagekraft des neuen Tests für die Auswahl der Patienten für die *JAK2*<sup>V617F</sup>Testung (Männer)

		Ergebnis <i>JAK</i> 2 <sup>V617F</sup> -Befund		Gesamt
		negativ	Positiv	
Auswahl-Test	Nicht geeignet	77	7	84
	für Testung			
	Geeignet für	22	10	32
	Testung			
	Gesamt	99	17	116

Der Auswahltest für männliche Patienten, welcher auf einer Thrombozytenzahl von ≥ 300 Mrd/l basiert, erreicht eine Sensitivität von 58,8 %, eine Spezifität von 77,8 %, einen PPV von 31,3 % und einen NPV von 91,7 %.

#### 5. Diskussion

#### 5.1. Einschränkungen der Datenanalyse

Bei der Datenerhebung handelte es sich um eine retrospektive Datenerhebung. Der Nachteil an retrospektiven Studien basiert darauf, dass fehlende Daten bei der Analyse nicht ergänzt werden. Es handelte sich um eine Momentaufnahme der gegenwärtigen Situation. Bei erneuter Erhebung der Daten wären daher Schwankungen innerhalb der einzelnen Prävalenzen möglich.

Zudem basierte ein Teil der Datenerhebung auf Anamnese-Protokollen aus der Gerinnungsambulanz oder aus externen Arztbriefen. Die Datenerhebung war somit nicht standardisiert und ließ Spielraum für subjektive Interpretationen.

Insgesamt wiesen nur wenige Patienten die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation (14,6 %) auf, wodurch die Aussagekraft für die Prävalenz der Mutation eingeschränkt ist. Studien mit größeren Patientenzahlen wären notwendig, um sichere Aussagen für die einzelnen Häufigkeiten der erhobenen Parameter treffen zu können. Auch eine Nachverfolgung der Patienten mit der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation wäre sinnvoll, um wichtige Informationen zum Verlauf der Erkrankung wie etwa der Wiederkehr von Thromboembolien oder MPN-typischen Symptomen zu akquirieren. Darüber hinaus, wäre ein Vergleich mit einem Patientenkollektiv ohne thromboembolische Ereignisse interessant. Diese Patienten werden allerdings seltener an die Gerinnungsambulanz des UKE angebunden.

#### 5.2. Zusammenfassung und Interpretation der relevanten Ergebnisse

### 5.2.1. Prävalenz der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation im Patientenkollektiv

Der Literatur zufolge stellen thromboembolische und hämorrhagische Komplikationen die häufigste Todesursache bei MPN-Patienten dar (Bertozzi et al., 2017). MPN-Patienten mit einer *JAK2*<sup>V617F</sup>-Allelbelastung von über 75 % sind prädestiniert für den Progress in eine Myelofibrose und für thromboembolische und hämorrhagische Ereignisse, worunter vor allem myokardiale Infarkte, ischämische Insulte sowie pulmonale Embolien fallen (Marchioli *et al.*, 2005; Bertozzi *et al.*, 2017). Blutungen treten bei MPN insgesamt seltener als Thrombosen auf und ereignen sich bevorzugt bei Patienten mit extremen Thrombozytosen (Bertozzi et al., 2017).

Die Präsenz der *JAK*2<sup>V617F</sup>-Mutation wurde zahlreichen Studien zufolge mit einem erhöhten Risiko für thromboembolische Komplikationen und für eine

Knochenmarkfibrose sowie höherem Alter und schlechterem Überleben bei MPN Patienten assoziiert (Bertozzi *et al.*, 2017). Die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation korreliert stark mit den histopathologischen Befunden einer MPN und weist einen hohen prädiktiven Wert für das Vorliegen okkulter MPN auf (Sarid *et al.*, 2013).

Die Detektion der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation ist daher insgesamt ein wichtiger prognostischer Marker für den Verlauf und das Überleben bei MPN und sollte daher bei hinreichendem Verdacht auf eine MPN getestet werden.

Bei gesunden Probanden liegt die Prävalenz der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei 0 bis 1 % (Bertozzi *et al.*, 2017). In verschiedenen Studien mit Patienten, bei denen eine Thrombophilie-Diagnostik durchgeführt wurde, erreichte die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation eine Prävalenz von 2 bis 10 % (Muendlein *et al.*, 2014).

Bei einer Untersuchung mit 321 Patienten, die im Rahmen einer Thrombophilie-Diagnostik bei venösen Thromboembolien in der Vorgeschichte auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation getestet wurden, lag die Prävalenz der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei ca. 6 % (Shetty *et al.*, 2010). Im Vergleich dazu lag die Prävalenz in der hier durchgeführten Analyse bei ca. 15 % und war damit deutlich höher als bei vergleichbaren Studien (s.o.). Dies kann dadurch begründet werden, dass nicht alle Patienten der Gerinnungsambulanz des UKE auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation untersucht werden. Meist erfolgte die Entscheidung über die Testung basierend auf atypischen, unprovozierten oder rezidivierenden Thromboembolien. Genaue Kriterien wurden bisher allerdings nicht definiert.

#### 5.2.2. Demographische Daten

*JAK2*<sup>V617F</sup>-positive Patienten waren mit 58 Jahren durchschnittlich acht Jahre älter als die negativen Patienten, auch wenn in beiden Gruppen eine große Altersvarianz vorlag. Aus der Literatur ist bekannt, dass das mediane Alter bei der PV bei 65 Jahren, bei der ET 68 Jahren und bei der PMF bei 70 Jahren liegt (nach Rumi und Cazzola, 2017). Im Vergleich dazu waren die *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten dieser Datenerhebung mit einem durchschnittlichen Alter von 58 Jahren deutlich jünger. Als Ursache hierfür kann die Tatsache deklariert werden, dass einerseits nicht bei allen Patienten eine MPN-Diagnose gestellt wurde und sich die Patienten mit gesicherter MPN andererseits womöglich in einem frühen oder latenten Stadium der Erkrankung befinden. In einer weiteren Vergleichspopulation lag das mediane Alter der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten allerdings bei 46 Jahren (IQR = 18-65 Jahre) und damit deutlich

unter dem Wert der hier gezeigten Analyse. Außerdem waren dort 32 % der getesteten Patienten jünger als 25 Jahre (Shetty *et al.*, 2010).

Zusammengefasst ist ein höheres Lebensalter (ab ca. 60 Jahre) sicherlich ein wichtiger Faktor bei der Überlegung, ob eine MPN zugrunde liegen könnte, allerdings kann auch bei jüngeren Patienten bereits die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation mit latenter oder manifester MPN vorliegen. Bei entsprechender Risikokonstellation und thromboembolischer Anamnese erscheint eine Testung auf die Mutation daher auch bei Patienten unter dem 60. Lebensalter gerechtfertigt.

### 5.2.3. *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation und hereditäre Thrombophilien

Bei der gegenwärtigen Untersuchung war die heterozygote Faktor-V-Leiden-Mutation die häufigste Mutation der gesamten Kohorte mit einem Anteil von 15,3 % bei den  $JAK2^{V617F}$ -negativen und 8,1 % bei den positiven Patienten. Zweithäufigste Thrombophilie war das APS mit einer erhöhten Prävalenz bei den  $JAK2^{V617F}$ -positiven Patienten (13,5 % bei den positiven und 5,6 % bei den negativen). Die heterozygote Prothrombin-G20210A-Mutation war in beiden Gruppen mit einer ähnlichen Häufigkeit vertreten (5,4 % bei den positiven und 3,2 % bei den negativen).

Im Allgemeinen sind Anomalien in den Genen, die für Antithrombin, Protein C, Protein S und Fibrinogen kodieren, seltene Risikofaktoren für die Entstehung von VTE (Colaizzo *et al.*, 2007). Die Faktor-V-Leiden- und Prothrombin-G20210A-Mutation sind generell gehäuft bei europäischen Patienten mit Thromboembolien zu finden (Colaizzo *et al.*, 2007). Beides spiegelt sich in der aktuellen Datenerhebung wieder.

Der Zusammenhang zwischen der Faktor-V-Leiden-Mutation und MPN-Patienten wird weiterhin diskutiert. Bei einer retrospektiven Studie mit 304 Probanden, die untersuchte, ob die Faktor-V-Leiden Mutation mit einem erhöhten Risiko für VTE bei PV- und ET-Patienten assoziiert ist, lag die Prävalenz der Faktor-V-Leiden-Mutation bei den PV- und ET- Patienten bei 4,6 % und war damit im Vergleich zur Normalbevölkerung (2,3 %) etwas erhöht (Ruggeri *et al.*, 2002). Zudem wurde gezeigt, dass die Faktor-V-Leiden-Mutation mit einem erhöhten Risiko für VTE bei MPN-Patienten assoziiert war (Ruggeri *et al.*, 2002).

Bei einer weiteren retrospektiven Studie, die die Auswirkung der Prothrombin-G20210A-Mutation auf das thromboembolische Risiko von 214 MPN-Patienten untersuchte, wurde gezeigt, dass das Risiko für VTE bei MPN-Patienten ebenfalls durch die Prothrombin-G20210A-Mutation erhöht wird (Gisslinger *et al.*, 2005).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass bei MPN-Pateinten, die eine VTE entwickeln, ein erhöhtes Aufkommen an hereditären Thrombophilien wie der Faktor-V-Leiden- oder der Prothrombin-G20210A-Mutation gezeigt wurde (nach Barbui und De Stefano, 2017). Jedoch wurde bisher nicht abschließend geklärt, ob MPN-Patienten generell eine signifikant höhere Rate an der Faktor-V-Leiden- oder der Prothrombin-G20210A-Mutation aufweisen.

#### 5.2.4. Prävalenz thromboembolischer Ereignisse im Patientenkollektiv

Thromboembolische Ereignisse können generell als klinische Erstmanifestation einer MPN imponieren. Bei gleichzeitig erhöhten Zellzahlen liegt der Verdacht auf eine zugrunde liegende MPN nahe (Ugo *et al.*, 2008). Zwar sind unter den vaskulären Ereignissen bei MPN 60 bis 70 % arteriell (Falanga und Marchetti, 2012). Generell ist die Mutation jedoch ein stärkerer Prädiktor für VTE (Odds-Ratio 2,1-2,5) als für ATE (Odds-Ratio 1,7-2,0) (nach Barbui und De Stefano, 2017).

Venöse Thrombosen treten jährlich bei einem von 1000 Kaukasiern auf und sind stark mit lebensbedrohlichen pulmonalen Embolien assoziiert (Colaizzo *et al.*, 2007). Die Pathogenese von venösen Thrombosen ist multifaktoriell. Bei der Genese spielen neben genetischen Störungen der Gerinnung auch erworbene Risikofaktoren wie Operationen, Schwangerschaften, Immobilisation und Malignome eine Rolle (Colaizzo *et al.*, 2007). In der gegenwärtigen Datenerhebung kamen venöse Thromboembolien mit einer erhöhten Prävalenz bei der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Kohorte vor (62,2 % bei den positiven und 41,2 % bei den negativen).

Anders als erwartet hatten besonders viele der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten eine Thrombose in der unteren Extremität oder eine LAE (35,1 %). Der Unterschied zwischen den Gruppen war hierbei signifikant (p = 0,014). Bei einer anderen Untersuchung wurde gezeigt, dass LAE und TBVT oft bei Patienten mit der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation zu finden sind, bei denen noch keine MPN Diagnose gestellt wurde. Diese Patientengruppe repräsentiert entweder eine atypische Form von MPN oder wird einer Frühphase von MPN zugeordnet. Diese Patienten befanden sich durchschnittlich in einem höheren Lebensalter (Medianes Alter = 80 Jahre) und hatten vermehrt rezidivierende Thrombosen, insbesondere LAE, ohne erkennbare Risikofaktoren. Der Literatur zufolge kann das Vorliegen von herkömmlichen Thrombosen wie LAE oder TBVT ein Indiz für latente MPN sein, wodurch auch die erhöhte Prävalenz von LAE

und TBVT in der aktuellen Datenerhebung erklärt werden kann (Pardanani et al., 2007).

Interessanterweise waren Thrombosen im Splanchnikus-Gebiet mit einer ähnlichen Prävalenz in beiden Gruppen vertreten (18,9 % bei den positiven und 13,4 % bei den negativen). Der Unterschied zwischen den Gruppen war nicht signifikant, obwohl Splanchnikus-Thrombosen besonders häufig mit dem *JAK2*<sup>V617F</sup>-Befund assoziiert sind. Dies könnte zum einen daran liegen, dass Thrombosen im Splanchnikus-Gebiet insgesamt sehr selten sind. Andererseits wurden in dieser Kohorte explizit Patienten getestet, bei denen Verdacht auf eine MPN oder eine zugrundeliegende *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation, als häufigste Mutation unter den MPN, bestand. Es handelte sich also um ein sehr selektioniertes Patientenkollektiv.

Generell stellen Thrombosen im Splanchnikus-Gebiet in Kombination mit der  $JAK2^{V617F}$ -V167F-Mutation einen sensiblen Marker für das Vorliegen latenter oder okkulter MPN dar, bei denen konventionelle klinischer oder laboranalytische Parameter unauffällig sind (Pardanani *et al.*, 2007). Problematisch hierbei ist jedoch, dass MPN-Diagnosen bei Patienten mit hepatischer oder portalvenöser Thrombose oft übersehen werden, da die Symptomatik einer MPN aufgrund einer Expansion des Blutvolumens, einer Splenomegalie sowie gastrointestinalen Blutungen und damit assoziiertem Eisenmangel kaschiert werden kann (nach Sarid *et al.*, 2013). Besonders Patienten mit positivem  $JAK2^{V617F}$ -Befund sind prädestiniert für portale Hypertension und Splenomegalie, weshalb die MPN-typischen Blutbildbefunde nicht immer in Erscheinung treten (Sarid *et al.*, 2013). Dies passt zu einer Datenerhebung bei der 41 % der Patienten mit größeren intraabdominellen Thrombosen die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation aufwiesen, obwohl normale Zellzahlen im Blut vorlagen (Sarid *et al.*, 2013).

Interessanterweise sind Patienten mit Splanchnikus-Thrombose und bestehender *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation tendenziell jünger (unter 50 Jahre) und vorzüglich weiblich (Sarid *et al.*, 2013).

Bei der gegenwärtigen Studie hatten insgesamt 4,7 % der Patienten zerebralvenöse Thrombosen, von denen 16 % einen positiven und 83 % einen negativen *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutationsbefund aufwiesen. Anderen Studien zufolge lag die Prävalenz der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei Patienten mit Zerebralvenenthrombosen zwischen 0 bis 14 % (nach Shetty *et al.*, 2010). Insgesamt ist die Prävalenz der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei Patienten mit Zerebralvenenthrombosen zwar sehr niedrig, dennoch wird ein Zusammenhang mit der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation diskutiert.

Generell gilt, dass ein systematisches Screening auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei jeglichen venösen Thrombose ohne weitere klinische oder biologische Manifestationen einer MPN nicht gerechtfertigt ist, da nur bis zu 1 % der Betroffenen die besagte Mutation tragen (Ugo *et al.*, 2008). Bei Patienten mit größeren intraabdominellen venösen Thrombosen sollte eine Untersuchung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation jedoch trotz normaler Zellzahlen im Blut routinemäßig durchgeführt werden, da diese häufiger mit der genannten Mutation assoziiert sind (Sarid *et al.*, 2013).

Arterielle Ereignisse als Konsultationsanlass waren bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen Patienten insgesamt häufiger als bei den positiven Patienten zu verzeichnen (42,1 % bei den negativen und 16,6 % bei den positiven). Besonders häufig waren dabei Zerebralinsulte und Myokardinfarkte vertreten. Bei den positiven Patienten hatte keiner einen Myokardinfarkt und nur vier (10,8 %) einen Insult. Grundsätzlich stellen zerebrale Insulte zwar die häufigsten arteriellen Thrombosen unter MPN-Patienten dar (Pardanani *et al.*, 2007), dennoch findet sich die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation insgesamt betrachtet selten bei Patienten mit zerebralen Insulten (Prävalenz unter 1 %) (Pardanani *et al.*, 2007). Die Prävalenz der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation unter zerebralen Insulten lag in der gegenwärtigen Studie bei 8,3 % und war damit höher als in der beschriebenen Literatur, dennoch war sie insgesamt recht niedrig. Eine Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei zerebralen Insulten wird grundsätzlich nur bei gleichzeitig vorliegenden klinischen oder laboranalytischen Merkmalen von MPN empfohlen. Die spezifische Empfehlung im Falle kryptogener Insulte wird dahingegen noch diskutiert (Pardanani *et al.*, 2007).

Hinsichtlich der kardiovaskulären Risikofaktoren wie etwa Hypertonus, Diabetes mellitus, koronarer Herzkrankheit und Nikotinabusus wurde bei der aktuellen Untersuchung kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen festgestellt. Im Allgemeinen haben kardiovaskuläre Ereignisse der Literatur zufolge den größten Einfluss auf die Lebensqualität und die Länge des Überlebens bei Patienten mit ET und PV, auch wenn dieser Zusammenhang aufgrund besserer Handhabung sowie früherer Diagnose der Erkrankung relativiert wird (Falanga und Marchetti, 2012). Bei Therapieentscheidungen bei MPN-Patienten sollten kardiovaskuläre Risikofaktoren daher stets berücksichtigt werden.

In einer prospektiven Studie, in der 1589 Patienten mit koronaren Problemen ohne Anzeichen für eine MPN untersucht wurden, lag die Prävalenz der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei 1,32 %. In der Vergleichspopulation mit 997 Probanden ohne koronare

Herzkrankheit war die Prävalenz der Mutation mit 0,61 % niedriger (Muendlein *et al.*, 2014). Neben der Häufigkeit war auch die Allelbelastung bei den koronar-kranken Patienten erhöht (Muendlein *et al.*, 2014). Anhand der Allelbelastung lässt sich das Risiko für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse generell abschätzen. Eine Allelbelastung von über 25 % korreliert beispielswiese mit einer erhöhten Rate an arteriellen Thrombosen bei Patienten mit ET (Muendlein *et al.*, 2014).

Insgesamt zeigte die besagte Studie jedoch, dass das Risiko für atherothrombotische Komplikationen innerhalb der Patientengruppe mit koronaren Problemen nicht durch die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation erhöht wird (Muendlein *et al.*, 2014).

Ein routinemäßiges Screening wird aufgrund der Seltenheit der Mutation sowie der geringen klinischen Relevanz daher nicht bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit empfohlen. Allerdings ist die Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei koronar-kranken Patienten, die gleichzeitig abnormale Zellzahlen im Blut aufweisen, durchaus gerechtfertigt (Muendlein *et al.*, 2014).

#### 5.2.5. JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation und allgemeine Risikofaktoren für VTE

In beiden Gruppen ließ sich am häufigsten kein externer Risikofaktor für das thromboembolische Erstereignis festhalten. Bei der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Gruppe schien der postoperative Zustand etwas häufiger eine Rolle zu spielen als bei der negativen Gruppe (13,5 % bei den positiven und 4,6 % bei den negativen).

Hinsichtlich postoperativer Ereignisse bestätigt sich in der Literatur, dass die Rate an VTE und ATE bei MPN-Patienten nach operativen Eingriffen trotz effektiver Kontrolle des Blutbildes und antithrombotischer Prophylaxe insgesamt hoch liegt (7,7 %), wobei postoperative ATE eher bei ET und VTE eher bei PV vorzufinden sind (nach Barbui und De Stefano, 2017).

Anhand der gezeigten Daten ist eine Aussage zu Thromboembolien in der Schwangerschaft nur bedingt möglich. Die *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven und -negativen Frauen unterschieden sich bezüglich der Häufigkeit unprovozierter Aborte oder Frühgeburten nicht signifikant (p = 0,481). Der Literatur zufolge ist die Korrelation von Schwangerschaften und VTE bei MPN-Patienten noch nicht abschließend geklärt. Die Rate an thrombotischen Komplikationen während der Schwangerschaft variiert zwischen 0 und 7,5 % (nach Barbui und De Stefano, 2017).

#### 5.2.6. Häufigkeit thromboembolischer Rezidive

Das Vorliegen einer *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei MPN-Patienten geht laut Literatur mit einem erhöhten Thrombose-Risiko einher (Martin, 2017). Außerdem weisen Patienten mit MPN ein höheres Risiko für rezidivierende Thromboembolien (7,6 %) im Vergleich zur Normalbevölkerung (2-5 %) auf (De Stefano *et al.*, 2008; Kreher *et al.*, 2014). Ein Zusammenhang mit der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation und der Häufung thromboembolischer Rezidive konnte in der oben genannten Studie jedoch nicht hinreichend gezeigt werden, da nicht jeder MPN-Patient Träger dieser Mutation war (De Stefano *et al.*, 2008).

In der gegenwärtigen Untersuchung konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der  $JAK2^{V617F}$ -positiven und  $JAK2^{V617F}$ -negativen Gruppe bezogen auf rezidivierende Thromboembolien festgestellt werden (p = 0,732). Bei beiden Gruppen erfolgten die thromboembolischen Rezidive meist ohne eruierbaren externen Risikofaktor. Es muss allerdings berücksichtigt werden, dass nicht alle Patienten, die sich in der Gerinnungsambulanz der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik des UKE vorstellten, auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation untersucht wurden. Durch diesen Selektions-Bias ist eine Aussage über Unterschiede in den Gruppen bezüglich der Häufigkeit thromboembolischer Rezidive nur bedingt möglich.

In einer retrospektiven Studie, in der 372 DNA-Proben von Patienten mit spontanen rezidivierenden VTE untersucht wurden, um die Prävalenz der  $JAK2^{V617F}$ -Mutation innerhalb dieser Kohorte zu ermitteln, wiesen nur 2,7 % die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation auf (Ianotto *et al.*, 2017a). Von einem Zusammenhang zwischen der  $JAK2^{V617F}$ -Mutation und der Häufung thromboembolischer Rezidive kann daher derzeitig nicht mit hinreichender Sicherheit ausgegangen werden.

#### 5.2.7. Handhabung rezidivierender Thromboembolien

Aktuellen Empfehlungen zufolge sollten Patienten mit MPN bei akuten Thrombosen niedermolekulares Heparin oder Fondaparinux, gefolgt von einer frühzeitigen Therapie mit VKA mit einem INR-Zielbereich von 2,0 bis 3,0 erhalten (De Stefano, Finazzi und Barbui, 2018). Beim Gebrauch von Heparinen sollte bei MPN-Patienten eine genaue Überwachung der Thrombozytenwerte erfolgen, da eine Häufung von Heparininduzierten-Thrombozytopenien bei dieser Patientengruppe beobachtet wurde (nach De Stefano, Finazzi und Barbui, 2018).

Im Sinne einer Sekundärprophylaxe wird allen Patienten mit PV oder ET grundsätzlich eine zytoreduktive Therapie mit Hydroxyurea zur Senkung des Hämatokrits bis unter 45 % empfohlen (Martin, 2017). Da sich thromboembolische Rezidive vorwiegend im selben arteriellen oder venösen Gebiet wie zuvor ereignen, wird Personen mit atypischen Thrombosen wie etwa im Splanchnikus-Gebiet oder den zerebralen Sinus, die mit einer hohen Mortalität assoziiert sind, zusätzlich eine lebenslange antikoagulatorische Therapie mit VKA empfohlen (De Stefano *et al.*, 2008; De Stefano *et al.*, 2016b).

Der Einsatz von VKA hat sich jedoch auch bei thromboembolischen Rezidiven an den tiefen Beinvenen und den Lungenarterien etabliert (Risikoreduktion von 48-96 %) (nach De Stefano, Finazzi und Barbui, 2018). In einer retrospektiven Studie, bei der 206 MPN-Patienten mit TBVT und LAE eingeschlossen wurden, erhielten 155 dieser Patienten VKA. Die Inzidenz von thromboembolischen Rezidiven unter VKA-Therapie lag bei 4,7 pro 100-Patientenjahre im Vergleich zu 8,9 ohne VKA-Therapie. Die Rezidivrate war unter VKA-Therapie also insgesamt um ca. 50 % niedriger als bei der Vergleichskohorte mit alternativer Therapie (Aspirin, Heparin, DOAK oder keine antithrombotische Therapie) (De Stefano *et al.*, 2016b). Zudem konnte die Inzidenzrate für Rezidive bei Langzeit-VKA-Therapie (5,3 pro 100 Patienten-Jahre) im Vergleich zur Beendigung der VKA-Therapie (Inzidenzrate bei 12,8 pro 100 Patienten-Jahre) deutlich gesenkt werden (De Stefano *et al.*, 2016b).

Zusammenfassend reduzieren VKA das Risiko für rezidivierende VTE bei MPN-Patienten. Die Beendigung der VKA-Therapie führt bei dieser Patientengruppe zu einer Erhöhung des Risikos für VTE-Rezidive, weshalb generell eine lebenslange VKA-Therapie bei Patienten mit VTE empfohlen wird (nach Barbui und De Stefano, 2017).

Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass bisherige Empfehlungen für den Einsatz von VKA zur Prophylaxe von thromboembolischen Rezidiven bei MPN-Patienten vorwiegend auf retrospektiven Datenerhebungen beruhen (De Stefano, Finazzi und Barbui, 2018).

Die Häufigkeit von Blutungen unter VKA-Therapie wird noch diskutiert. Während in einigen Publikationen von einer Inzidenzrate für größere Blutungen bei VKA-Therapie bei 2,4 und ohne VKA-Therapie bei 0,7 pro 100-Patientenjahre gesprochen wird, sagen andere Publikationen aus, dass das Blutungsrisiko bei einer Monotherapie mit VKA im Vergleich zu keiner Antikoagulation nicht erhöht ist (nach Barbui und De

Stefano, 2017; Martin, 2017). Randomisierte klinische Studien für die Sekundärprophylaxe von VTE bei MPN-Patienten werden daher benötigt, um die optimale Dauer und Intensität für den Einsatz von VKA als Sekundärprophylaxe für VTE zu bewerten.

Anders als bei Patienten ohne MPN oder maligne Grunderkrankung, bei denen der Einsatz von DOAK bei TBVT und LAE in der Akutphase von Thrombosen empfohlen werden, gibt es noch keine validen Daten für den Einsatz von DOAK bei MPN-Patienten (Kearon, Aki und Ornelas, 2016; De Stefano, Finazzi und Barbui, 2018). In einer retrospektiven Studie mit 706 MPN-Patienten, die den Einsatz von Aspirin mit dem Gebrauch von DOAK verglich, wurden nur 3,3 % mit DOAK behandelt. Die Anzahl von Thrombosen und größeren Blutungen war unter Therapie mit DOAK ähnlich hoch wie unter dem Gebrauch von Aspirin, die Ergebnisse waren jedoch nicht signifikant (p = 1,0), we shall sich daraus keine Behandlungsempfehlungen ableiten lassen (lanotto et al., 2017b). Bei einer prospektiven Studie mit 454 MPN-Patienten, bei der nur 1,8 % der Patienten mit DOAK (Rivaroxaban) behandelt wurden, zeigte sich, dass das Risiko für größere Blutungen unter Therapie mit DOAK im Vergleich zur Therapie mit VKA, doppelter Plättchenhemmung oder Heparin niedriger war, auch hier waren die Ergebnisse jedoch nicht signifikant (Kaifie et al., 2016). Um den Einsatz von DOAK für die Primär- oder Sekundärprophylaxe von Thromboembolien bei MPN-Patienten zu bewerten, sind weitere prospektive Studien mit größeren Patientenzahlen notwendig. Zum Einsatz von DOAK bei Patienten mit JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation existieren ebenfalls keine validen Daten.

Trotz des positiven Effekts von VKA zur Rezidivprophylaxe von venösen Thrombosen ist die Inzidenz für VTE-Rezidive unter VKA-Therapie erhöht (7,8 % bei MPN-Patienten im Vergleich zu 1,8-3,5 % in der Normalbevölkerung innerhalb eines Jahres) (nach Barbui und De Stefano, 2017). Die gegenwärtige Datenerhebung zeigte zudem, dass  $JAK2^{V617F}$ -positive Patienten mit 27% im Vergleich zu 4,6 % bei den  $JAK2^{V617F}$ -negativen Patienten eine signifikant höhere Rate an thromboembolischen Rezidiven unter Therapie mit VKA aufwiesen (p = 0,001). Passend dazu trugen 21 % der Patienten mit spontanen VTE-Rezidiven unter VKA-Therapie in der oben genannten Studie (siehe Abschnitt "Häufigkeit rezidivierender Thromboembolien") die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation (lanotto et al., 2017a). Im Vergleich dazu lag die Prävalenz der  $JAK2^{V617F}$ -Mutation unter den Patienten, welche thromboembolische Rezidive ohne

antikoagulatorische Medikation erlitten, nur bei 1,7 % (lanotto *et al.*, 2017a). Anhand dieser Beobachtung empfehlen die Autoren ein systematisches Screening auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei VTE-Rezidiven unter Antikoagulation mit VKA (lanotto *et al.*, 2017a).

Die Rate an thromboembolischen Rezidiven unter Plättchen-hemmender Therapie unterschied sich nicht signifikant zwischen der negativen und positiven Gruppe (p = 0,099). Tendenziell zeigten Patienten mit der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation weniger thromboembolische Rezidive unter Therapie mit TAG. Der Literatur zufolge ist der Einsatz von Aspirin als Sekundärprophylaxe ebenfalls gerechtfertigt, so kann Aspirin als Alternative zur VKA-Therapie bei MPN-Patienten in Erwägung gezogen werden, die die Antikoagulation beenden oder keine Kontraindikationen für Aspirin, wie etwa eine erhöhte Blutungsneigung, gastrointestinale Ulzerationen oder Thrombozytenzahlen über 1000 Mrd/l, aufweisen (Petrides *et al.*, 2014; De Stefano, Finazzi und Barbui, 2018).

Die Applikation von Aspirin als Monotherapie zur Prävention thromboembolischer Rezidive hat sich in einer retrospektiven Studie mit 494 PV- und ET-Pateinten insbesondere bei zerebralen Ischämien sowie venösen und arteriellen Thrombosen als wirksam erwiesen (De Stefano *et al.*, 2008).

Verglichen mit Aspirin zeigte sich jedoch, dass eine Therapie mit VKA in der Rezidivprophylaxe nach venösen Erstereignissen zu einer größeren Risikoreduktion für rezidivierende Thrombosen führte (68 % bei VKA-Therapie und 58 % bei Aspirin-Therapie) (De Stefano *et al.*, 2008).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine langfristige VKA-Therapie das Risiko für wiederkehrende VTE bei MPN-Patienten zwar senkt, aber nicht beseitigt. Unsere Daten legen nahe, dass die Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei Auftreten von thromboembolischen Rezidiven unter VKA-Therapie sinnvoll ist, um so Patienten mit MPN frühzeitig erkennen und therapieren zu können.

# 5.2.8. Zusammenhang der laborchemischen Parameter mit der *JAK2*<sup>V617F</sup>Mutation

Hinsichtlich der Laborwerte unterschieden sich die Höhe des Hämoglobinwertes (p = 0,009), des Hämatokrits (p = 0,003), der Leukozyten (p = 0,003) und der Thrombozyten (p = 0,0001) signifikant zwischen beiden Gruppen. Die D-Dimere zeigten keinen signifikanten Unterschied, da es sich um eine Kohorte handelte, bei der fast alle Patienten eine Thrombose in der Vorgeschichte aufwiesen. Zudem lagen die

Thrombosen bereits in der Vergangenheit, weshalb es selten akute D-Dimer Erhöhungen gab.

Der Hämoglobinwert war bei der *JAK*2<sup>V617F</sup>-positiven Gruppe zwar durchschnittlich um eine Einheit höher als bei der negativen Gruppe, dennoch lag hier der Großteil der Patienten innerhalb des Normbereichs (65.5 %). Bei der JAK2<sup>V617F</sup>-positiven Kohorte war der Anteil der Patienten oberhalb des Referenzbereiches etwas höher als bei der negativen Kohorte (39,7 % im Vergleich zu 18,5 %). Obwohl der Unterschied nicht signifikant war (p = 0,342), ist ein Hämoglobinwert oberhalb des Referenzbereiches grundsätzlich ein sinnvolles Indiz für das Vorliegen der JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation. Insbesondere PV-Patienten, bei denen ca. 90 % die JAK2<sup>V617F</sup>-Mutation tragen, weisen höhere Hämoglobinwerte auf als die Normalbevölkerung. Marginal erhöhte Hämoglobinwerte können sowohl bei der JAK2<sup>V617F</sup>-positiven PV als auch bei der JAK2<sup>V617F</sup>-positiven ET und PMF gefunden werden (nach Rumi und Cazzola, 2017). Hämoglobinwerte innerhalb des Referenzbereiches können dadurch begründet werden, dass einige Patienten zwar die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation aufwiesen, jedoch noch nicht die Kriterien einer MPN, insbesondere einer PV, erfüllten (Hämoglobinwert >16,5 g/dl bei Männern bzw. >16,0 g/dl bei Frauen). Die im Jahre 2016 aktualisierten WHO-Diagnosekriterien für MPN haben die Grenzen für die Hämoglobinwerte und den Hämatokrit bei PV-Patienten niedriger gesetzt als zuvor, um eine JAK2<sup>V617F</sup>-positive ET von einer maskierten PV (mPV) unterscheiden zu können (nach Rumi und Cazzola, 2017). Als mPV werden Erkrankungen bezeichnet, die die Diagnosekriterien einer PV abgesehen vom Hämoglobinwert und bei Vorliegen subnormaler EPO-Werte erfüllen (Hämoglobinwert von 16 bis 18,4 g/dl bei Männern und 15 bis 16,4 g /dl bei Frauen) (Barbui et al., 2016). EPO-Werte wurden im Rahmen der Thrombophilie-Untersuchungen in der Gerinnungsambulanz des UKE allerdings nicht bestimmt. Insgesamt weisen mPV-Patienten eine höhere Rate an arteriellen Thrombosen und höhere Thrombozytenzahlen (über 410 Mrd/l liegen) auf. Diese Patienten haben ein genauso großes Risiko für vaskuläre Komplikationen wie bei offensichtlicher PV, weshalb die Detektion dieser Patientengruppe besonders wichtig ist. Generell gehören mehr Männer der Gruppe der mPV an (Barbui et al., 2016).

Eine Erhöhung des Hämoglobinwertes ist daher stets abklärungsbedürftig, auch wenn die Grenzen für die Diagnose einer PV noch nicht erfüllt werden. Neben der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation sollten jedoch auch hereditäre und erworbene exogene Ursachen einer Erythrozytose abgeklärt werden.

Der Hämatokrit wies bei der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positive Gruppe ebenfalls durchschnittlich höhere Werte auf (Median bei den positiven 44,5 % und bei den negativen 41,6 %). Im Vergleich zu 16,7 % bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-negativen Patienten lagen bei den *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten 43,2 % oberhalb des Referenzbereiches. Jedoch war auch hier der Großteil der Patienten im Normbereich (51,4 % bei den positiven und 75,9 % bei den negativen). Ein normaler Hämatokrit bei MPN-Patienten kann dadurch begründet werden, dass es bei bestehender Erythrozytose zu einer Expansion des Plasmavolumens kommen kann, wodurch der wahre Hämatokrit bei Patienten maskiert wird. So erscheint der Hämatokrit bei vielen Patienten, insbesondere bei Frauen, normal (Spivak, 2017).

Hinsichtlich der Leukozytenzahlen war der Anteil der positiven Patienten mit Werten innerhalb des Referenzbereiches (70,3 %) insgesamt sehr groß. Ungefähr ein Drittel der positiven Patienten wies hier Werte oberhalb des Referenzbereiches auf (27 % bei den positiven und 6,9 % bei den negativen). Dies kann dadurch gerechtfertigt werden, dass Erhöhungen der Leukozytenwerte weder für die PV noch für die ET Eckpfeiler der Diagnose darstellen. Bei der PV steht die Erythrozytose und bei der ET die Thrombozytose im Vordergrund. Leukozytosen treten tendenziell bei Patienten in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankungsgruppe auf und sind charakteristisch für prä-PMF-Patienten. Sie werden im Allgemeinen als negativer Prognosefaktor betrachtet (nach Rumi und Cazzola, 2017). Da es sich bei der aktuell untersuchten Kohorte um Patienten handelte, die bei der Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation noch keine gesicherte MPN-Diagnose aufwiesen, sind normwertige Leukozytenzahlen zu erwarten, da sich der Großteil der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten vermutlich in einem latenten oder frühen Stadium der Erkrankung befindet.

Auch bei den Thrombozyten wiesen die positiven Patienten im Vergleich zu den negativen Patienten höhere Werte auf. Während bei den positiven mehr als die Hälfte (54,1 %) über dem Referenzbereich lag, waren dies bei den negativen nur 13 %. Der Unterschied war signifikant (p < 0,0001). Thrombozytosen finden sich neben der ET typischerweise auch bei der PV. Auch die prä-PMF geht charakteristisch mit Thrombozytosen einher und sollte daher stets als Differentialdiagnosen einer ET angesehen werden. Zur Unterscheidung beider MPN-Formen eignen sich histologische Knochenmarkuntersuchungen (nach Rumi und Cazzola, 2017). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass Thrombozytosen ein aussagekräftiges Indiz für zugrundeliegende MPN und somit stets abklärungsbedürftig sind.

## 5.2.9. MPN Diagnosen bei den JAK2<sup>V617F</sup>-positiven Patienten

In der gegenwärtigen Untersuchung wurde nur bei 54 % der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten eine MPN mit abschließender Sicherheit diagnostiziert. Dies kann dadurch begründet werden, dass der Großteil der Patienten bei Feststellung der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation in Kombination mit vorangegangenen Thrombosen bei Verdacht auf eine MPN auf ambulante Onkologen verwiesen wurde. Die Krankengeschichte dieser Patienten wurden daher nicht weiter verfolgt, weshalb keine abschließende Statistik über die Häufigkeit von MPN unter den Patienten der Gerinnungsambulanz des UKE erstellt werden konnte. Dies spiegelt sich in den "Follow-up"-Daten wieder. Während Patienten mit gesicherter MPN im Median elf Monate nachverfolgt wurden, fand die Nachverfolgung der Patienten ohne dokumentierte MPN-Diagnose nur 0,7 Monate lang statt.

Die meisten *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten der aktuellen Untersuchung wiesen zudem eine Thrombose im Bereich der unteren Extremität oder eine LAE auf. Allerdings gibt es bei Thrombosen außerhalb des Splanchnikus-Gebietes im Gegensatz zu Splanchnikus-Thrombosen keine Belege dafür, dass die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation einen Marker für das Vorliegen okkulter oder latenter MPN darstellt (Pardanani *et al.*, 2008). Dies wurde in einer retrospektiven Studie mit 664 Patienten gezeigt, die entweder Thrombosen außerhalb des Splanchnikus-Gebietes aufwiesen oder akute Myokardinfarkte in einem Lebensalter unter 50 Jahren erlitten hatten. Keiner der *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten entwickelte in dieser Studie in einem medianen "Follow-Up" von 40 Monaten eine klinisch gesicherte MPN (Pardanani *et al.*, 2008). Dieser Aspekt stellt einen Erklärungsansatz für das geringe Aufkommen von gesicherten MPN-Diagnosen innerhalb unseres Patientenkollektivs dar.

# 5.2.10. Voraussage des *JAK2*<sup>V617F</sup>-Befundes mithilfe der logistischen Regressionsanalyse und der ROC-Kurven-Analyse

Die Ergebnisse der ROC-Kurven-Analyse legen nahe, dass das Alter bei der Vorhersage des  $JAK2^{V617F}$ -Befundes nicht hinreichend dazu beiträgt eindeutig zwischen der negativen und positiven Gruppe zu unterscheiden (AUC < 0,7). Dies könnte daran liegen, dass die Varianz innerhalb der Altersstufen zu groß war, da die Mutation prinzipiell in jedem Lebensalter auftreten kann.

Dennoch stellt das Alter in Kombination mit weiteren Parametern, wie etwa den Blutbildergebnissen sowie bei Vorliegen thromboembolischer Ereignisse ein wichtiges Indiz für das Vorliegen der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation dar, da MPN meist in einem höheren Lebensalter vorzufinden sind (ca. 60 Jahre).

Der Hämoglobinwert erwies sich vor allem bei Frauen als geeigneter Parameter, um im Voraus die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation abzuschätzen. Der Hämoglobinwert erreichte bei den Frauen bei der ROC-Kurven-Analyse eine AUC von 0,8 und war damit ein besserer Prädiktor für die Mutation als bei den Männern (AUC < 0,7). Dies zeigt, dass die Geschlechter hinsichtlich der Hämoglobinwerte getrennt betrachtet werden sollten. Nach den WHO-Diagnose-Kriterien werden für Frauen und Männer dementsprechend unterschiedliche Hämoglobin-Grenzwerte für die Diagnose einer PV festgesetzt (Arber *et al.*, 2016). Warum sich der Hämoglobinwert bei den Frauen jedoch als besserer Prädiktor für den *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutationsbefund erwiesen hat als bei den Männern, ist allerdings unklar.

Die Thrombozyten erwiesen sich sowohl bei Frauen als auch bei Männern als sinnvoller Parameter zur Vorhersage des *JAK2*<sup>V617F</sup>-Befundes. Der Thrombozytenwert erreichte bei beiden Geschlechtern einen hohen AUC-Wert (bei Frauen 0,79 und bei Männern 0,65). Jedoch war auch hier die Aussagekraft des Thrombozyenwertes bezüglich der Unterscheidungsfähigkeit zwischen den positiven und negativen Gruppen bei den Männern geringer als bei den Frauen.

Der Hämatokrit und die Leukozytenwerte erwiesen sich im Rahmen der logistischen Regressionsanalyse nicht als sinnvolle Parameter für die Entscheidung, ob eine Person auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation getestet werden sollte.

Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die meisten *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven Patienten noch keine MPN-Diagnose aufwiesen und somit der Gruppe der latenten MPN zugeordnet werden konnten. Erhöhungen der Leukozytenzahlen werden allerdings eher Patienten in einem fortgeschrittenen MPN-Stadium beziehungsweise bei PMF oder prä-PMF erwartet (siehe oben).

Insgesamt könnte durch den Einsatz der erarbeiteten Kriterien für die Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation die Rate an negativ getesteten Patienten in der Gerinnungsambulanz des UKE gesenkt werden. Mithilfe des Auswahltests für Frauen, der das Vorliegen von Thrombozytenzahlen über 300 Mrd/l und/oder einen Hämoglobinwert über 16 g/dl einschließt, würden insgesamt weniger Frauen negativ getestet werden. Im Vergleich zu 117 Frauen, die vorher mithilfe nicht klar definierten

Kriterien getestet wurden, würden mit dem Auswahltest nur noch 55 Frauen negativ getestet werden (Sensitivität 80 % und Spezifität von 53 %).

Bei den Männern würden basierend auf dem neuen Auswahltest (Sensitivität 58,8 % und Spezifität von 77,8 %) nur noch 22 statt 99 Patienten negativ getestet werden.

Im Ganzen kann durch die Definition eines Auswahltests für die Testung auf die  $JAK2^{V617F}$ -Mutation die Rate an Patienten, die in der Gerinnungsambulanz des UKE nicht notwendigerweise auf die Mutation getestet werden müssen, da sie mit hoher Wahrscheinlichkeit einen negativen Befund aufweisen, deutlich gesenkt werden. Allerdings fallen die entsprechenden Sensitivitäten recht niedrig aus. Dadurch werden recht wenige Patienten mit bestehender, bisher unerkannter  $JAK2^{V617F}$ -Mutation auch wirklich auf die Mutation hin untersucht. Eine Abwägung hinsichtlich der niedrigen Detektionsrate der Mutationsträger im Gegensatz zur überflüssigen Testung der Nicht-Träger muss daher bei der Definition von Kriterien eines Auswahltests getroffen werden.

Zusammenfassend muss neben dem definierten Auswahltest, der auf laborchemischen Parametern beruht, auch berücksichtigt werden, dass  $JAK2^{V617F}$ -positive Patienten im Durchschnitt älter sind (58 J.) als  $JAK2^{V617F}$ -negativen Patienten, tendenziell zu venösen thromboembolischen Ereignissen neigen und häufiger Rezidive unter Antikoagulation mit VKA aufweisen. All diese Parameter stellen einen großen Nutzen bei der klinischen Einschätzung der Patienten dar.

#### 5.3. Zukunftsausblick

Bei der Diagnose genetischer Anomalien wie etwa der *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation muss stets beachtet werden, welche Relevanz und Konsequenz die Diagnose der jeweiligen Mutation auf das Leben und die Therapie der Patienten hat.

Patienten mit zugrundeliegender MPN erfordern eine spezifische und erprobte Therapie, die sich von der herkömmlichen thromboembolischen Therapie der Normalbevölkerung unterscheidet. Die Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation trägt dazu bei, okkulte oder latente MPN zu erkennen und entsprechend zu therapieren, bevor es zu schwerwiegenden Komplikationen kommt. Daher ist eine Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation bei hinreichendem Verdacht durchaus gerechtfertigt.

Allerdings muss die thromboembolische Sekundärprophylaxe bei MPN-Patienten bzw. bei Patienten mit  $JAK2^{V617F}$ -Mutation überdacht und weiterentwickelt werden, da bisherige Daten zeigen, dass thromboembolische Rezidivereignisse trotz

antikoagulatorischer Medikation keine Seltenheit bei diesem Patientenklientel sind. Randomisierte kontrollierte Studien für die sekundärprophylaktische antithrombotische Therapie bei MPN- bzw. *JAK2*<sup>V617F</sup>-positiven-Patienten sind notwendig, um die optimale Dauer und Intensität der antithrombotischen Therapie zu evaluieren.

#### 6. Zusammenfassung

Die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation spielt eine zentrale Rolle bei der Pathogenese Philadelphianegativer myeloproliferativer Neoplasien und ist mit einem hohen Risiko für arterielle oder venöse Thromboembolien assoziiert. Die Mutation wird darüber hinaus als sensitiver Parameter für die Früherkennung latenter myeloproliferativer Neoplasien angesehen.

Seit etwa fünf Jahren werden Patienten, die sich in der Gerinnungsambulanz der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf zur Thrombophilie-Diagnostik vorstellen, auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation untersucht, wobei noch keine festen Kriterien für die Testung vorliegen. Ziel dieser Dissertation ist es daher, die bisher auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation untersuchten Patienten hinsichtlich ihrer demografischen, klinischen und laborchemischen Parameter zu charakterisieren und feste Kriterien für die Testung auf die besagte Mutation zu definieren.

Die Daten von 253 Patienten, bei denen seit 2012 eine Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation veranlasst worden ist, wurden retrospektiv untersucht. Neben weiteren statistischen Tests wurde mithilfe einer logistischen Regressionsanalyse der Einfluss relevanter Variablen auf den *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutationsbefund identifiziert. Durch eine "Receiver Operating Characteristic Curves"-Analyse wurden Grenzwerte für das Alter und laborchemische Parameter zur Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation ermittelt.

Von den 253 Patienten hatten 37 (14,6 %) einen positiven JAK2<sup>V617F</sup>-Befund, 20 (54 %) der positiv getesteten Patienten wiesen eine gesicherte myeloproliferative Neoplasie auf. Die JAK2<sup>V617F</sup>-positiven und -negativen Patienten unterschieden sich nicht signifikant hinsichtlich der Rate an Splanchnikus-Thrombosen und *JAK2*<sup>V617F</sup>-positive rezidivierenden Thromboembolien. Patienten waren durchschnittlich 58 Jahre alt und wiesen signifikant vermehrt Rezidive unter Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten auf. In der logistischen Regressionsanalyse erwiesen sich das Alter, der Hämoglobinwert und die Thrombozytenzahl als signifikant mit der *JAK*2<sup>V617F</sup>-Mutation assoziiert. Des Weiteren zeigte sich, dass bei beiden Geschlechtern ein Thrombozytenwert von ≥ 300 Mrd/l und bei Frauen zusätzlich ein Hämoglobinwert von ≥ 16 g/dl sinnvolle Grenzwerte für die Testung auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation darstellen.

Basierend auf den Ergebnissen sollten insbesondere Patienten mit abnormalen Zellzahlen sowie thromboembolischen Rezidivereignissen unter Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten auf die *JAK2*<sup>V617F</sup>-Mutation untersucht werden.

## 6.1. Zusammenfassung (Englisch)

The *JAK2*<sup>V617F</sup> mutation plays a central role in the pathogenesis of Philadelphianegative myeloproliferative neoplasms and is associated with a high risk of arterial or venous thromboembolism. Furthermore, it is a sensitive parameter for the early diagnosis of latent myeloproliferative neoplasms.

We identified 253 patients who were referred to the Thrombosis Outpatient Center of the University Medical Center Hamburg-Eppendorf since 2012 until 2016 for thrombophilia screening and who were screened for the *JAK2*<sup>V617F</sup> mutation additionally. Since there were no distinct criteria for the *JAK2*<sup>V617F</sup> screening, we performed a statistical analysis of the patients regarding their demographic, clinical and laboratory parameters to characterise the *JAK2*<sup>V617F</sup> positive patients and later define specific criteria for the mutation screening.

The data of the patients were retrospectively analysed. A logistic regression analysis was performed to evaluate the impact of relevant variables on the  $JAK2^{V617F}$  mutation status. Further, a Receiver Operating Characteristic Curves analysis was performed to define thresholds of laboratory parameters as well as for the age to restrict the number of patients selected for  $JAK2^{V617F}$  screening.

Of the 253 patients only 37 (14,6 %) harboured the  $JAK2^{V617F}$  mutation, 20 (54 %) of them were diagnosed with a myeloproliferative neoplasm. The  $JAK2^{V617F}$  positive and negative patients did not differ regarding to the rate of splanchnic vein thrombosis and recurrent thromboembolism. The average age of patients carrying the  $JAK2^{V617F}$  mutation was 58 years and they significantly showed thromboembolic recurrences under therapy with vitamin k antagonists. Age, haemoglobin levels and thrombocyte count were significantly associated with the  $JAK2^{V617F}$  mutation status. Thrombocyte counts above  $\geq$  300 Mrd/ in both men and women plus haemoglobin levels  $\geq$  16 g/dl only in women contributed to a higher number of positive results for the  $JAK2^{V617F}$  mutation status.

Based on these results patients with abnormal blood counts and especially with thromboembolic recurrences under medication with vitamin k antagonist should be screened for the  $JAK2^{V617F}$  mutation.

### 7. Abkürzungsverzeichnis

AUC Area under the curve
BCS Budd-Chiari-Syndrom

CALR Calretikulin

CEL Chronische Eosinophilenleukämie

CNL Chronische Neutrophilenleukämie

DIPSS Dynamic International Prognostic Scoring System

DOAK Direkte orale Antikoagulantien

EHPVT Extrahepatische Portalvenenthrombosen

EPO Erythropoetin

ET Essentielle Thrombozythämie

JAK Januskinase

JAK2 Januskinase-2

LAE Lungenarterienembolie

LNK Lymphozyten-Adapter-Protein

MPL Myeloproliferatives-Leukämie-Protein

MPN Myeloproliferative Neoplasie

mPV Maskierte Polycythaemia vera

NPV Negativ prädiktiver Wert

PAVK Peripher arterielle Verschlusskrankheit

PMF Primäre Myelofibrose

PPV Positiv prädiktiver Wert

PV Polycythaemia vera

ROC Receiver operating characteristic curves

STAT Signal transducer and activator of transcription

SZT Stammzelltransplantation

TAG Thrombozytenaggregationshemmer
TERT Telomerase reverse transcriptase

UKE Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

VKA Vitamin-K-Antagonisten

WHO World Health Organization

### 8. Literaturverzeichnis

Arber, D. A., Orazi, A., Hasserjian, R., Thiele, J., Borowitz, M. J., Le Beau, M. M., Bloomfield, C. D., Cazzola, M. und Vardiman, J. W. (2016): The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 127(20):2391–405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.

Barbui, T. und De Stefano, V. (2017): Management of venous thromboembolism in myeloproliferative neoplasms. Current Opinion in Hematology. 24(2):108–114. doi: 10.1097/MOH.000000000000012.

Barbui, T., Thiele, J., Vannucchi, A. M. und Tefferi, A. (2016): Myeloproliferative neoplasms: Morphology and clinical practice. American journal of hematology. 91(4):430–3. doi: 10.1002/ajh.24288.

Barbui, T. und Falanga, A. (2016): Molecular biomarkers of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. Thrombosis research. Elsevier Masson SAS. 140:71-75. doi: 10.1016/S0049-3848(16)30102-5.

Bertozzi, I., Bogoni, G., Biagetti, G., Duner, E., Lombardi, A. M., Fabris, F. und Randi, M. L. (2017): Thromboses and hemorrhages are common in MPN patients with high JAK2V617F allele burden. Annals of Hematology. 96(8):1297–1302. doi: 10.1007/s00277-017-3040-8.

Carter, J. V., Pan, J., Rai, S. N. und Galandiuk, S. (2016): ROC-ing along: Evaluation and interpretation of receiver operating characteristic curves. Surgery (United States). Elsevier Inc. 159(6):1638–1645. doi: 10.1016/j.surg.2015.12.029.

Colaizzo, D., Amitrano, L., Iannaccone, L., Vergura, P., Cappucci, F., Grandone, E., Guardascione, M. A. und Margaglione, M. (2007): Gain-of-function gene mutations and venous thromboembolism: distinct roles in different clinical settings. Journal of Medical Genetics. 44(6):412–416. doi: 10.1136/jmg.2006.048371.

Falanga, A. und Marchetti, M. (2012): Thrombotic disease in the myeloproliferative neoplasms. Hematology. American Society of Hematology. Education Program. 2012:571–81. doi: 10.1182/asheducation-2012.1.571.

Field, A. P. (2009): Discovering statistics using SPSS (and sex and drugs and rock `n' roll). Third Edition. Sage Publications. Los Angeles. 266.

Gisslinger, H., Müllner, M., Pabinger, I., Heis-Vahidi-Fard, N., Gisslinger, B., Brichta, A., Bachleitner-Hofmann, T. und Mannhalter, C. (2005): Mutation of the prothrombin gene and thrombotic events in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia: a cohort study. Haematologica. 90(3):408–10.

Grießhammer M., Baerlocher G. M., Gisslinger H., Lengfelder E. und Petrides P. E. (2014): Primäre Myelofibrose (PMF). Berlin [Online im Internet.]

URL: https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/primaere-myelofibrose-pmf/@@view/html/index.html [Stand: 29.04.2017, 13:00]

lanotto, J. C., Chauveau, A., Mottier, D., Ugo, V., Berthou, C., Lippert, E. und Delluc, A. (2017a): JAK2V617F and calreticulin mutations in recurrent venous thromboembolism: results from the EDITH prospective cohort. Annals of Hematology. 96(3):383–386. doi: 10.1007/s00277-016-2853-1.

lanotto, J. C., Couturier, M. A., Galinat, H., Mottier, D., Berthou, C., Guillerm, G., Lippert, E. und Delluc, A. (2017b): Administration of direct oral anticoagulants in patients with myeloproliferative neoplasms. International Journal of Hematology. 106(4):517–521. doi: 10.1007/s12185-017-2282-5.

Kaifie, A., Kirschner, M., Wolf, D., Maintz, C., Hänel, M., Gattermann, N., Gökkurt, E., Platzbecker, U., Hollburg, W., Göthert, J. R., Parmentier, S., Lang, F., Hansen, R., Isfort, S., Schmitt, K., Jost, E., Serve, H., Ehninger, G., Berdel, W. E., Brümmendorf, T. H., Koschmieder, S. und Study Alliance Leukemia (SAL) (2016): Bleeding, thrombosis, and anticoagulation in myeloproliferative neoplasms (MPN): analysis from the German SAL-MPN-registry. Journal of hematology & oncology. 9(1):18. doi: 10.1186/s13045-016-0242-9.

Kearon, C., Aki, E. und Ornelas, J. (2016): Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline. Chest. 149(2):315-352. doi: 10.1016/j.physa.2010.10.017.

Kreher, S., Ochsenreither, S., Trappe, R. U., Pabinger, I., Bergmann, F., Petrides, P. E., Koschmieder, S., Matzdorff, A., Tiede, A., Griesshammer, M. und Riess, H. (2014): Prophylaxis and management of venous thromboembolism in patients with myeloproliferative neoplasms: consensus statement of the Haemostasis Working Party of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO), the Austrian Society of Hematology and Oncolo. Annals of Hematology. 93(12):1953–1963. doi: 10.1007/s00277-014-2224-8.

Lengfelder E., Baerlocher G. M., Gisslinger H., Petrides P. E. und Grießhammer M. (2016): Polycythaemia vera (PV). Berlin [Online im Internet.]

URL: https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/polycythaemia-vera-pv/@@view/html/index.html [Stand: 29.04.2017, 13:00]

Marchioli, R., Finazzi, G., Landolfi, R., Kutti, J., Gisslinger, H., Patrono, C., Marilus, R., Villegas, A., Tognoni, G. und Barbui, T. (2005): Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera. Journal of Clinical Oncology. 23(10):2224–2232. doi: 10.1200/JCO.2005.07.062.

Martin, K. (2017): Risk Factors for and Management of MPN-Associated Bleeding and Thrombosis. Current Hematologic Malignancy Reports. 12(5):389–396. doi: 10.1007/s11899-017-0400-3.

McIornan, D., Percy, M. und McMullin, M. F. (2006): JAK2 V617F: A single mutation in the myeloproliferative group of disorders. Ulster Medical Journal. 75(2):112–119.

Muendlein, A., Gasser, K., Kinz, E., Stark, N., Leiherer, A., Rein, P., Saely, C. H., Grallert, H., Peters, A., Drexel, H. und Lang, A. H. (2014): Evaluation of the prevalence and prospective clinical impact of the JAK2 V617F mutation in coronary patients. American journal of hematology. 89(3):295–301. doi: 10.1002/ajh.23632.

Pardanani, A., Lasho, T. L., Hussein, K., Schwager, S. M., Finke, C. M., Pruthi, R. K. und Tefferi, A. (2008): JAK2V617F Mutation Screening as Part of the Hypercoagulable Work-up in the Absence of Splanchnic Venous Thrombosis or Overt Myeloproliferative Neoplasm: Assessment of Value in a Series of 664 Consecutive Patients. Mayo Clinic Proceedings. 83(4):457–459. doi: 10.4065/83.4.457.

Pardanani, A., Lasho, T. L., Schwager, S., Finke, C., Hussein, K., Pruthi, R. K. und Tefferi, A. (2007): JAK2V617F prevalence and allele burden in non-splanchnic venous thrombosis in the absence of overt myeloproliferative disorder. Leukemia. 21(8):1828–9. doi: 10.1038/sj.leu.2404710.

Passamonti, S. M., Biguzzi, E., Cazzola, M., Franchi, F., Gianniello, F., Bucciarelli, P., Pietra, D., Mannucci, P. M. und Martinelli, I. (2012): The JAK2 V617F mutation in patients with cerebral venous thrombosis. Journal of thrombosis and haemostasis: JTH. 10(6):998–1003. doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04719.

Petrides P. E., Baerlocher G. M., Gisslinger H., Grießhammer M., Lengfelder E. (2014): Essentielle (oder primäre) Thrombozythämie (ET). Berlin [Online im Internet.] URL: https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/essentielle-oder-primaere-thrombozythaemie-et/@@view/html/index.html [Stand: 29.04.2017, 13:00]

Ruggeri, M., Gisslinger, H., Tosetto, A., Rintelen, C., Mannhalter, C., Pabinger, I., Heis, N., Castaman, G., Missiaglia, E., Lechner, K. und Rodeghiero, F. (2002): Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia. American Journal of Hematology. 71(1):1–6. doi: 10.1002/ajh.10153.

Rumi, E. und Cazzola, M. (2017): Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. Blood. 129(6):680–692. doi: 10.1182/blood-2016-10-695957.

Sarid, N., Eshel, R., Rahamim, E., Carmiel, M., Kirgner, I., Shpringer, M., Trestman, S., Marilus, R., Perry, C., Polliack, A., Naparstek, E. und Herishanu, Y. (2013): JAK2 mutation: an aid in the diagnosis of occult myeloproliferative neoplasms in patients with major intraabdominal vein thrombosis and normal blood counts. The Israel Medical Association journal: IMAJ. 15(11):698–700.

Shetty, S., Kulkarni, B., Pai, N., Mukundan, P., Kasatkar, P. und Ghosh, K. (2010): JAK2 mutations across a spectrum of venous thrombosis cases. American journal of clinical pathology. 134(1):82–5. doi: 10.1309/AJCP7VO4HAIZYATP.

Spivak, J. L. (2017): Myeloproliferative Neoplasms. The New England journal of medicine. 376(22):2168–2181. doi: 10.1056/NEJMra1406186.

De Stefano, V., Finazzi, G. und Barbui, T. (2018): Antithrombotic therapy for venous thromboembolism in myeloproliferative neoplasms. Blood cancer journal. 8(7):65. doi: 10.1038/s41408-018-0101-8.

De Stefano, V., Qi, X., Betti, S. und Rossi, E. (2016a): Splanchnic vein thrombosis and myeloproliferative neoplasms: Molecular-driven diagnosis and long-term treatment. Thrombosis and Haemostasis. 115(2):240–249. doi: 10.1160/TH15-04-0326.

De Stefano, V., Ruggeri, M., Cervantes, F., Alvarez-Larrán, A., Iurlo, A., Randi, M. L., Elli, E., Finazzi, M. C., Finazzi, G., Zetterberg, E., Vianelli, N., Gaidano, G., Rossi, E., Betti, S., Nichele, I., Cattaneo, D., Palova, M., Ellis, M. H., Cacciola, R., Tieghi, A., Hernandez-Boluda, J. C., Pungolino, E., Specchia, G., Rapezzi, D., Forcina, A., Musolino, C., Carobbio, A., Griesshammer, M., Sant'Antonio, E., Vannucchi, A. M. und Barbui, T. (2016b): High rate of recurrent venous thromboembolism in patients with myeloproliferative neoplasms and effect of prophylaxis with vitamin K antagonists. Leukemia. 30(10):2032–2038. doi: 10.1038/leu.2016.85.

De Stefano, V., Za, T., Rossi, E., Vannucchi, A. M., Ruggeri, M., Elli, E., Micò, C., Tieghi, A., Cacciola, R. R., Santoro, C., Gerli, G., Vianelli, N., Guglielmelli, P., Pieri, L., Scognamiglio, F., Rodeghiero, F., Pogliani, E. M., Finazzi, G., Gugliotta, L., Marchioli, R., Leone, G., Barbui, T. und GIMEMA CMD-Working Party (2008): Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. Haematologica. 93(3):372–80. doi: 10.3324/haematol.12053.

Stratton, M. R., Campbell, P. J. und Futreal, P. A. (2009): The cancer genome. Nature. 458(7239):719–724. doi: 10.1038/nature07943.

Tefferi, A. und Barbui, T. (2017): Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. American journal of hematology. 92(1):94–108. doi: 10.1002/ajh.24607.

Tefferi, A. (2016): Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. American Journal of Hematology. 91(12):1262–1271. doi: 10.1002/ajh.24592.

Tefferi, A. und Pardanani, A. (2015): Myeloproliferative Neoplasms: A Contemporary Review. JAMA oncology. 1(1):97–105. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.89.

Tefferi, A. und Pardanani, A. (2011): Serious Adverse Events During Ruxolitinib Treatment Discontinuation in Patients With Myelofibrosis. Mayo Clinic Proceedings. 86(12):1188–1191. doi: 10.4065/mcp.2011.0518.

Ugo, V., Le Gal, G., Lecucq, L., Mottier, D. und Oger, E. (2008): Prevalence of the JAK2 V617F mutation is low among unselected patients with a first episode of unprovoked venous thromboembolism. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 6(1):203–205. doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02811.x.

Vainchenker, W. und Constantinescu, S. N. (2013): JAK/STAT signaling in hematological malignancies. Oncogene. 32(21):2601–2613. doi: 10.1038/onc.2012.347.

Zerjavic, K., Zagradisnik, B., Stangler Herodez, S., Lokar, L., Glaser Krasevac, M. und Kokalj Vokac, N. (2010): Is the JAK2 V617F mutation a hallmark for different forms of thrombosis?. Acta Haematologica. 124(1):49–56. doi: 10.1159/000314645.

Zoi, K. und Cross, N. C. P. (2017): Genomics of myeloproliferative neoplasms. Journal of Clinical Oncology. 35(9):947–954. doi: 10.1200/JCO.2016.70.7968.

# 9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: WHO-Diagnosekriterien Polycythaemia vera (modifiziert nach Arber, D. A.
Orazi, A., Hasserjian, R., Thiele, J., Borowitz, M. J., Le Beau, M. M., Bloomfield
C. D., Cazzola, M. und Vardiman, J. W. (2016): The 2016 revision to the World
Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia
Blood. 127(20):2391-405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.)
Tabelle 2: WHO-Diagnosekriterien Essentielle Thrombozythämie (modifiziert nach
Arber, D. A., Orazi, A., Hasserjian, R., Thiele, J., Borowitz, M. J., Le Beau, M. M.
Bloomfield, C. D., Cazzola, M. und Vardiman, J. W. (2016): The 2016 revision to
the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute
leukemia. Blood. 127(20):2391–405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.) 11
Tabelle 3: WHO-Diagnosekriterien Primäre Myelofibrose (modifiziert nach Arber, D
A., Orazi, A., Hasserjian, R., Thiele, J., Borowitz, M. J., Le Beau, M. M.
Bloomfield, C. D., Cazzola, M. und Vardiman, J. W. (2016): The 2016 revision to
the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute
leukemia. Blood. 127(20):2391–405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.) 12
Tabelle 4: "DIPSS-plus-Score" zur Risikoeinschätzung bei der PMF (modifiziert nach
Tefferi, A. (2016): Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnosis, risk
stratification, and management. American Journal of Hematology. 91(12):1262-
1271. doi: 10.1002/ajh.24592.)17
Tabelle 5: "DIPSS-plus-Score" zur Risikoeinschätzung bei der PMF (modifiziert nach
Tefferi, A. (2016): Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnosis, risk
stratification, und management. American Journal of Hematology. 91(12):1262-
1271. doi: 10.1002/ajh.24592.)
Tabelle 6: spezifische und nicht spezifische Mutationen für MPN (modifiziert nach
Tefferi, A. und Pardanani, A. (2015): Myeloproliferative Neoplasms: A
Contemporary Review. JAMA oncology. 1(1):97–105. doi
10.1001/jamaoncol.2015.89.)19
Tabelle 7: Analyseparameter für die gesamte Kohorte, die auf die <i>JAK</i> 2 <sup>V617F</sup> -Mutation
untersucht wurde26
Tabelle 8: Analyseparameter der Patienten mit diagnostizierter MPN
Tabelle 9: Basis-Charakteristika der gesamten Kohorte
Tabelle 10: Thrombophilien der gesamten Kohorte
Tabelle 11: Frstmalig aufgetretene venöse Thromboembolien 38

Tabelle 12: Erstmalig aufgetretene arterielle Thromboembolien
Tabelle 13: Risikofaktoren bei Erstereignissen40
Tabelle 14: Thromboembolische Rezidive (PAVK-Patienten ausgeschlossen) 41
Tabelle 15: Rezidiv trotz Antikoagulation43
Tabelle 16: Laborwerte zum Zeitpunkt der <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Testung44
Tabelle 17: Laborwerte zum Zeitpunkt der <i>JAK2<sup>V617F</sup>-</i> Testung klassifiziert nach
Referenzbereich für Frauen*45
Tabelle 18: Laborwerte zum Zeitpunkt der <i>JAK2<sup>V617F</sup>-</i> Testung klassifiziert nach
Referenzbereich für Männer*47
Tabelle 19: <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -positive Patienten mit gesicherter MPN48
Tabelle 20: Variablen der logistischen Regressionsgleichung nach fünf Schritten der
Elimination49
Tabelle 21: Klassifizierung der Patienten anhand der Parameter der logistischen
Regressionsanalyse50
Tabelle 22: Fläche unter der ROC-Kurve für das weibliche Geschlecht für die
Parameter: Alter, Hämoglobin, Thrombozyten51
Tabelle 23: Fläche unter der ROC-Kurve für das männliche Geschlecht für die
Parameter: Alter, Hämoglobin, Thrombozyten52
Tabelle 24: Auswahltest für die Testung auf die <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Mutation bei Frauen 53
Tabelle 25: Auswahltest für die Testung auf die <i>JAK2</i> <sup>V617F</sup> -Mutation bei Männern 54

# 10. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Therapie-Algorithmus für die PV und die ΕΤ (nach Τέπετι, A. und Barbui,
T. (2017): Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2017 update on
diagnosis, risk-stratification, and management. American journal of hematology.
92(1):94–108. doi: 10.1002/ajh.24607
Abbildung 2: Der JAK-STAT-Signalweg (nach Vainchenker, W. und Constantinescu,
S. N. (2013): JAK/STAT signaling in hematological malignancies. Oncogene.
32(21):2601–2613. doi: 10.1038/onc.2012.347.)
Abbildung 3: Grundfunktion der logistischen Regressionsgleichung (modifiziert nach
Field, A. P. (2009): Discovering statistics using SPSS (and sex and drugs and rock
`n' roll). Third Edition. Sage Publications. Los Angeles. 266.)
Abbildung 4: Konsultationsanlässe der gesamten Kohorte (PAVK-Patienten
ausgeschlossen, n = 10)
Abbildung 5: Risikofaktor-Assoziation bei den Rezidivereignissen bei den
JAK2 <sup>V617F</sup> -negativen Patienten42
Abbildung 6: Risikofaktor-Assoziation bei den Rezidivereignissen der
JAK2 <sup>V617F</sup> -positiven Patienten, bezogen auf das erste Rezidivereignis
Abbildung 7: ROC-Kurve für das weibliche Geschlecht für die Parameter: Alter,
Hämoglobin, Thrombozyten51
Abbildung 8: ROC-Kurve für das männliche Geschlecht für die Parameter: Alter,
Hämoglobin, Thrombozyten52

### 11. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Florian Langer, Oberarzt im Zentrum für Onkologie der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik sowie Leiter der Gerinnungsambulanz des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas, die Organisation der Betreuung sowie die Unterstützung bei der Ausarbeitung und Fertigstellung der Dissertation.

Zudem bedanke ich mich herzlich für die intensive Betreuung bei Dr. med. Minna Voigtländer, Assistenzärztin im Zentrum für Onkologie der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik, die mich in allen Belangen angeleitet und mich mit Ihren konstruktiven Anmerkungen sowohl beim Erheben als auch beim Auswerten der Daten sowie dem Schreiben der Dissertation vorangebracht hat.

Des Weiteren möchte ich Dr. Rosemarie Plätke, Wissenschaftlerin im Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, herzlich für ihre tatkräftige Unterstützung bei der statistischen Auswertung des Datensatzes danken.

Ebenfalls danke ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre Geduld und Anteilnahme beim Erstellen der Dissertation.

# 12. Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

### 13. Eidesstaatliche Versicherung

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

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe. Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

i inierschriii:	