

Thrombosen in ungewöhnlichen Lokalisationen bei Myeloproliferativen Neoplasien (MPN)

Zusammenstellung 2024

Eva Lengfelder¹ und Heike Pahl²

¹ Prof. Dr. med. Eva Lengfelder, Universität Heidelberg, III. Medizinische Klinik, Universitätsmedizin Mannheim

² Prof. Dr. Heike Pahl, Klinik für Tumorbiologie, Sektion Molekulare Hämatologie, Universitätsklinikum Freiburg

Agenda

- Einführung:
Myeloproliferative Neoplasien assoziiert mit thrombotischen Komplikationen
- Besonderheiten der Pathogenese von Thrombosen in ungewöhnlichen Lokalisationen
- Klinische Befunde, Diagnostik und Therapie am Beispiel der splanchnischen Venenthrombosen (SVT)
- Beobachtungen an größeren internationalen Datensammlungen bei MPN-SVT
- Beobachtungen bei zerebralen und retinalen Venenthrombosen

Prävalenz von Thrombosen und Blutungen bei MPN

Prävalenz von Thrombosen bei Diagnose

PV	28,6%
ET	20,7%
PMF	9,5%

Prävalenz von Blutungen bei Diagnose

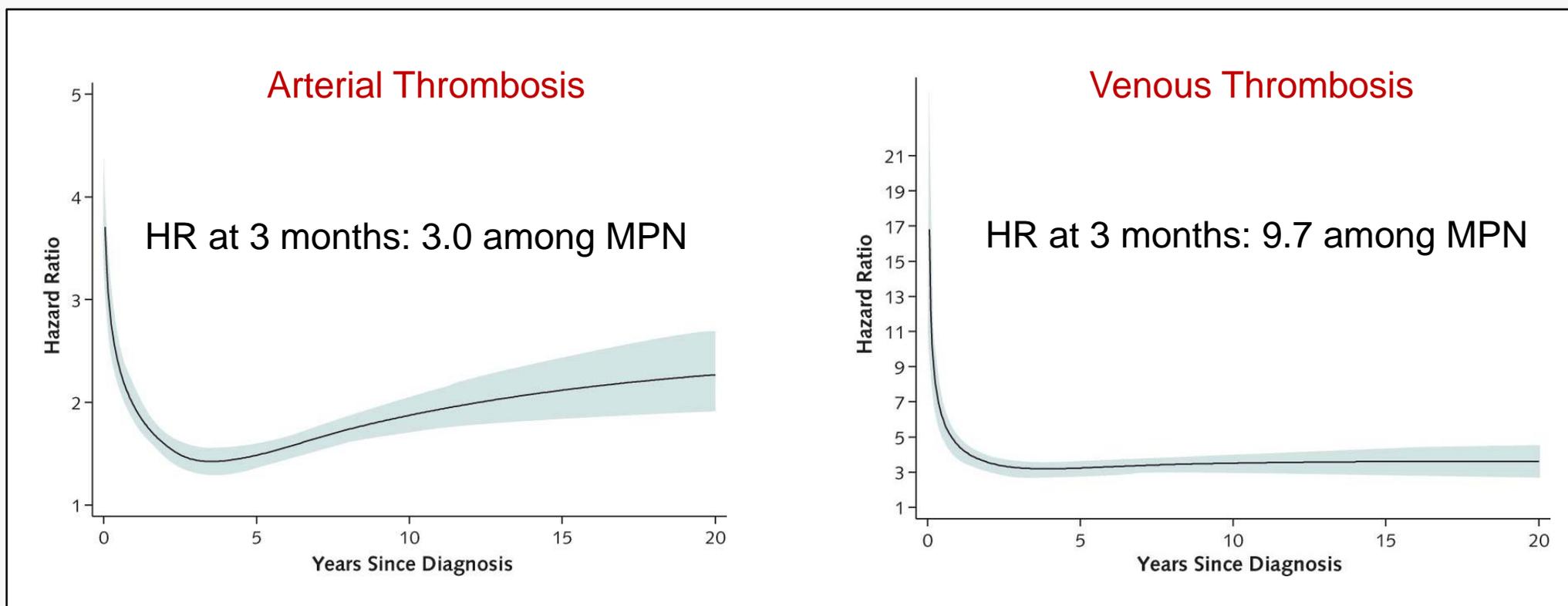
PV	6,9 %
ET	7,3 %
PMF	8,9 %

Thrombosen:

arteriell ca. 66% (häufig kardiovaskulär, zerebral)

venöse ca. 33% (häufig periphere Venen, Lungenembolie)

**Hazard ratio during follow up:
Arterial and venous thrombosis in patients with MPN (n=9,429)
versus matched control participants (n=35,820)
(Swedish population based study)**



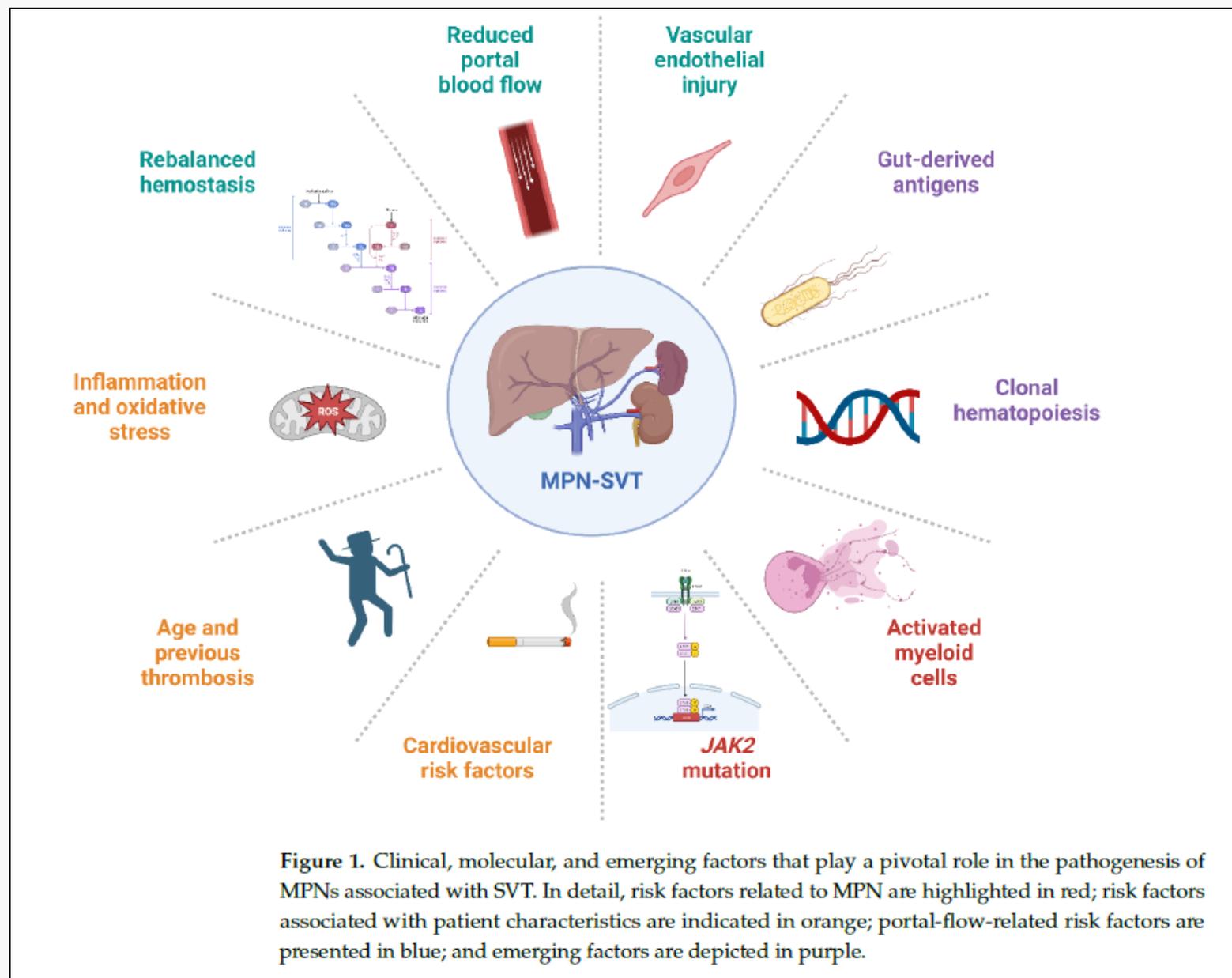
Analysis started 30 days after diagnosis

Myeloproliferative Neoplasien - häufigste Ursache von Thrombosen in ungewöhnlichen Lokalisationen

- Splanchnische Venenthrombosen (SVT)
(Budd-Chiari-Syndrom (BCS), Pfortader,
Milzvene, Mesenterialvenen, Nierenvenen)
- Vena cava - Thrombose
- Zerebrale Sinus- und Venenthrombose
- Retinale Venenthrombose
- Intraventrikuläre Thrombenbildung

Pathogenese und klinische Befunde am
Beispiel der splanchnischen Venenthrombose

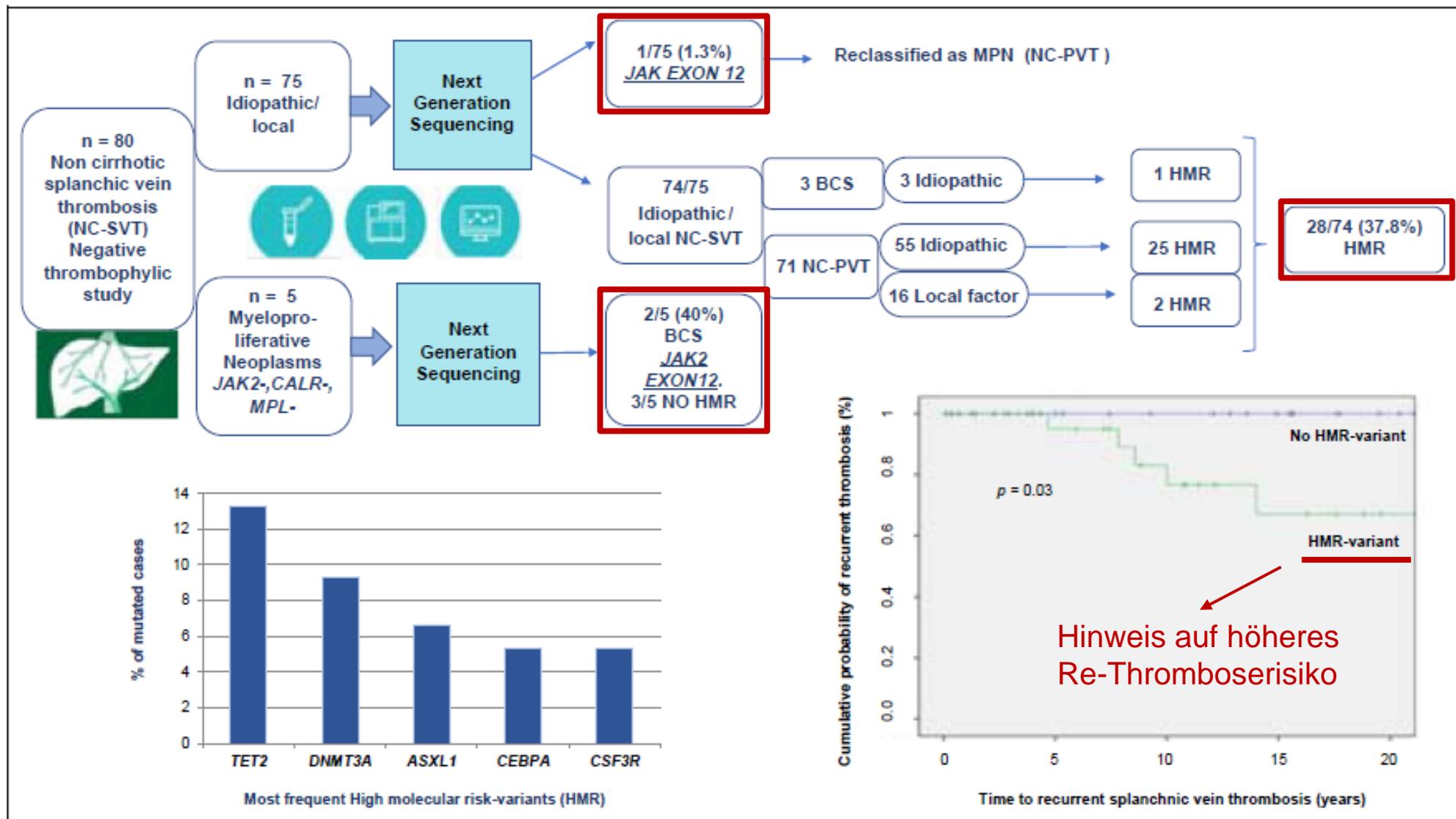
Faktoren mit Einfluss auf die Pathogenese von SVT bei MPN



Mutationsübersicht bei SVT-MPN

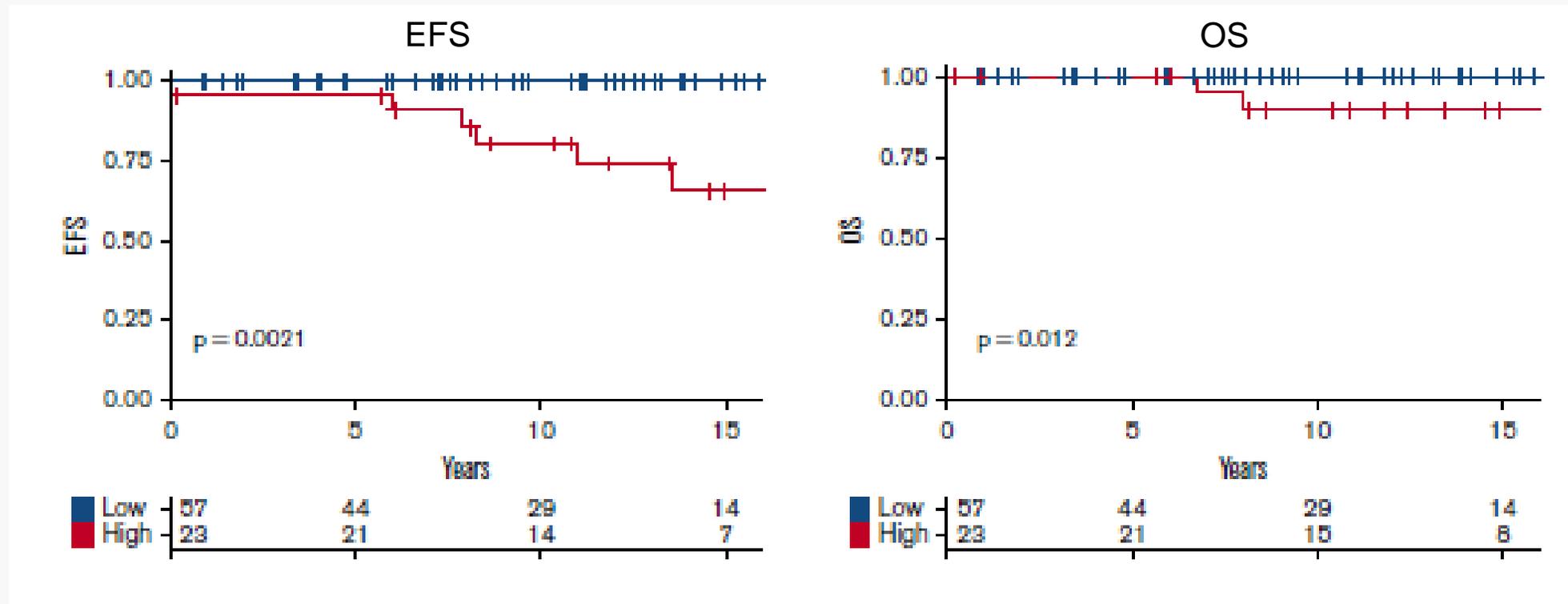
Corresponding Effect	Gene Mutated	Rate (%)	References
Driver mutation	<i>JAK2 V617F</i> VAF > 50%	21–22	[53–76]
	<i>JAK2 V617F</i> VAF < 50%	74–62	[53–76]
	<i>CALR</i>	5	[53–76]
	<i>MPL</i>	7	[76]
DNA methylation	<i>TET2</i>	21–28	[53–76]
	<i>DNMT3A</i>	11–17	[53–76]
	<i>IDH1-IDH2</i>	6	[53]
Chromatin Spliceosome	<i>ASXL1</i>	8–11	[53–76]
	<i>EZH2</i>	2–3	[53–76]
	<i>SF3B1</i>	3	[53]
	<i>SRSF2</i>	1	[53]
	<i>U2AF1</i>	1–4	[53–76]
	<i>ZRSF2</i>	1	[53]
Other	<i>TP53</i>	4	[53–76]

Untersuchungen zum Beitrag von Next Generation Sequencing (NGS) bei 80 Pat. mit SVT, ohne Nachweis von Mutationen im *JAK2*-, *CALR*- oder *MPL*-Gen mit herkömmlichen Methoden



Durch NGS zusätzliche Mutationen bei 31 von 80 Pat. (39%) nachweisbar.

„Molecular profiling“ und prognostische Bedeutung der Risikoeinstufung bei Pat. mit MPN und SVT



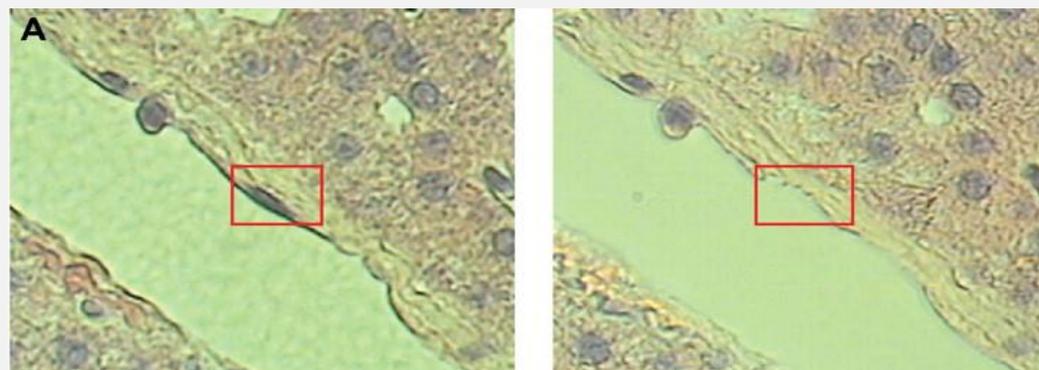
Untersuchung von 80 Pat. (mittleres Alter 42 (17-73) Jahre, medianes Follow up 11 Jahre):

Hochrisiko-Konstellation ist assoziiert mit ungünstigerem Überleben und ereignisfreiem Überleben

Faktoren assoziiert mit hohem Risiko: *JAK2V617F*-Allellast $\geq 50\%$ /Chromatin/Spliceosom/TP53 Mutationen

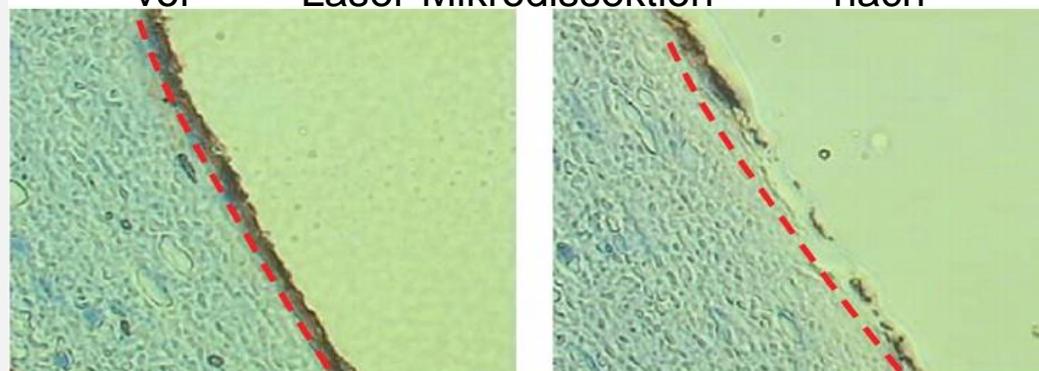
Nachweis der *JAK2* V617F-Mutation in Endothelzellen der Lebervenen - Schnitte archivierter Leberbiopsien von Patienten mit Budd-Chiari Syndrom

Hämatoxylin-
Eosin-Färbung

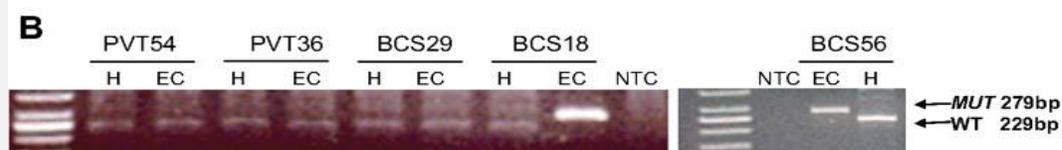


vor Laser-Mikrodissektion nach

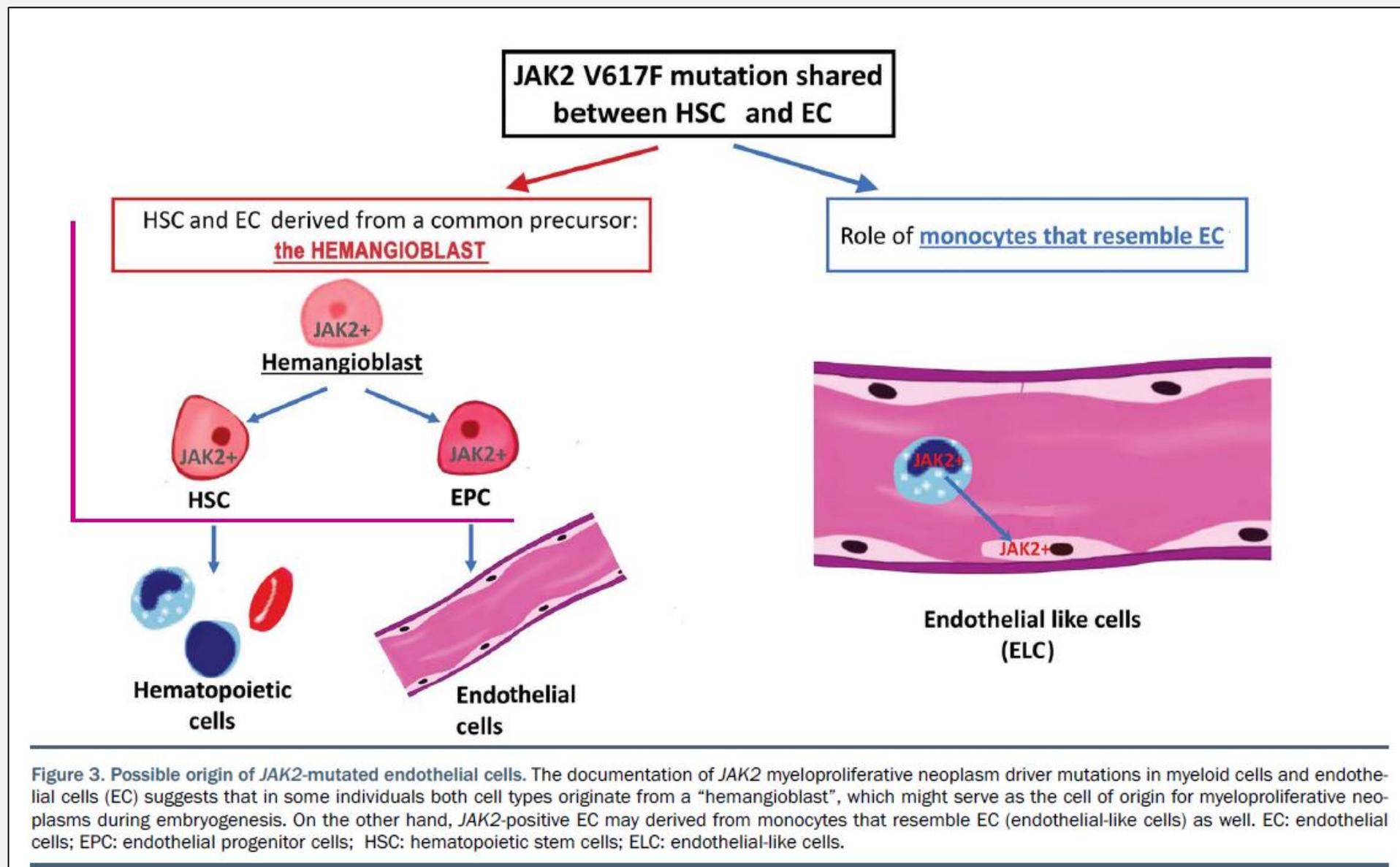
Immunhistochemie
mit AK gegen CD34



Allel-spezifische
Nested-PCR für
JAK2 V617F



Möglicher Ursprung *JAK2*-mutierter endothelialer Zellen





Ferrata Storti Foundation

Vascular endothelial cell expression of $JAK2^{V617F}$ is sufficient to promote a pro-thrombotic state due to increased P-selectin expression

Alexandre Guy,¹ Virginie Gourdou-Latyszenok,¹ Nicolas Le Lay,² Claire Peghaire,¹ Badr Kilani,¹ Juliana Vieira Dias,¹ Cécile Duplaa,¹ Marie-Ange Renault,¹ Cécile Denis,³ Jean Luc Villeval,⁴ Yacine Boulaftali,² Martine Jandrot-Perrus,² Thierry Couffinhal^{1,5} and Chloe James^{1,6}

¹Univ. Bordeaux, Inserm, UMR1034, Biology of Cardiovascular Diseases, Pessac; ²Univ. Paris Diderot, Inserm, UMRS1148, LVTS, Paris; ³Inserm U1176, Hemostasis Inflammation Thrombosis, Le Kremlin-Bicêtre; ⁴Univ. Paris XI, Inserm U1170, Gustave Roussy Institute, Villejuif; ⁵CHU de Bordeaux, Service des Maladies Cardiaques et Vasculaires, Pessac and ⁶CHU de Bordeaux, Laboratoire d'Hématologie, Pessac, France

Haematologica 2019
Volume 104(1):70-81

Bzgl. der genauen Funktion *JAK V617F*-mutierter endothelialer Zellen sind inhaltliche und methodische Fragen unbeantwortet..... →

Absence of JAK2V617F Mutated Endothelial Colony-Forming Cells in Patients With JAK2V617F Myeloproliferative Neoplasms and Splanchnic Vein Thrombosis

Alexandre Guy^{1,2}, Anicee Danaee³, Koralia Paschalaki⁴, Lisa Boureau², Etienne Rivière^{1,5}, Gabriel Etienne⁶, Olivier Mansier^{1,2}, Michael Laffan⁴, Mallika Sekhar³, Chloe James^{1,2}

Der Nachweis von JAK2V617F in endothelialen Zellen (EC) bei MPN mit SVT, die in die Gefäßwand immigrieren können, dürfte eine signifikante Rolle bei der Klärung der Pathophysiologie von Thrombosen spielen.

Aufgrund bisheriger Resultate scheinen ECFCs aus peripherem Blut keinen verlässlichen Marker zum Nachweis positiver EC im peripheren Blut darzustellen (widersprüchliche Ergebnisse).

Anstrengungen zur Standardisierung und Verbesserungen der Methodik sind notwendig und geplant.



ISTH SSC Communication

Results of an international survey about methods used to isolate human endothelial colony-forming cells: guidance from the SSC on Vascular Biology of the ISTH

Adeline Blandinières^{1,2}, Anna M. Randi³, Koralia E. Paschalaki³, Coralie L. Guerin^{1,4},
 Juan M. Melero-Martin^{5,6,7}, David M. Smadja^{1,2}   

Essentials

- Methods used to study endothelial colony-forming cells (ECFCs) remain quite heterogeneous.
- We surveyed 21 experts from 10 different countries using a questionnaire proposed during the 2019 International Society on Thrombosis and Haemostasis Congress in Melbourne, Australia, to obtain a consensus on ECFC isolation and culture.
- We propose, for the first time, a standardized protocol for the isolation of ECFCs from cord and peripheral blood based on our international survey.
- Our survey clearly indicates an unmet need for rigorous standardization and a prospective multicenter comparison of results to establish robust procedures for clinical laboratory practice.

Erkenntnisse zur Pathogenese seltener Thrombosen in ungewöhnlichen Lokalisationen

- Die Einflussfaktoren auf die Pathogenese sind komplex.
- Die *JAK2* V617F Mutation ist die häufigste Treiber-Mutation.
- NGS erweitert das diagnostische und prognostische Spektrum.
- Zusätzliche Hochrisiko-Mutationen (NGS) können die Prognose negativ beeinflussen.
- Die *JAK2* V617F-Mutation ließ sich auch in Endothelzellen (EC) nachweisen (Leber, Milz etc.).
- Eine Standardisierung des diffizilen Nachweises in EC ist erforderlich.
- Als Ursprung der mutierten EC wird eine gemeinsame Vorläuferzelle (Hämagioblast) diskutiert.

Klinische Befunde, Diagnostik und Therapie bei
splanchnischen Venenthrombosen (SVT)

Prävalenz von *JAK2* V617F bei venösen Thrombosen Resultate einer Metaanalyse von 24 Studien (n=3123)

		Mittlere Prävalenz von <i>JAK2</i> V617F
Splanchnische Venenthrombose (SVT)	n=831	32,7%
Tiefe Venenthrombose der unteren Extremitäten / Lungenembolie	n=1293	0,88%
Zerebrale Sinus- und Venenthrombose	n=248	2,57%
Retinale Venenthrombose	n=153	0,99%

Assoziation zwischen *JAK2* V617F Mutation und SVT: Odds ratio 53,98
(5 Fall-Kontrollstudien an 297 Pat. und 363 Kontrollen)

Häufigste Lokalisationen splanchnischer Venenthrombosen

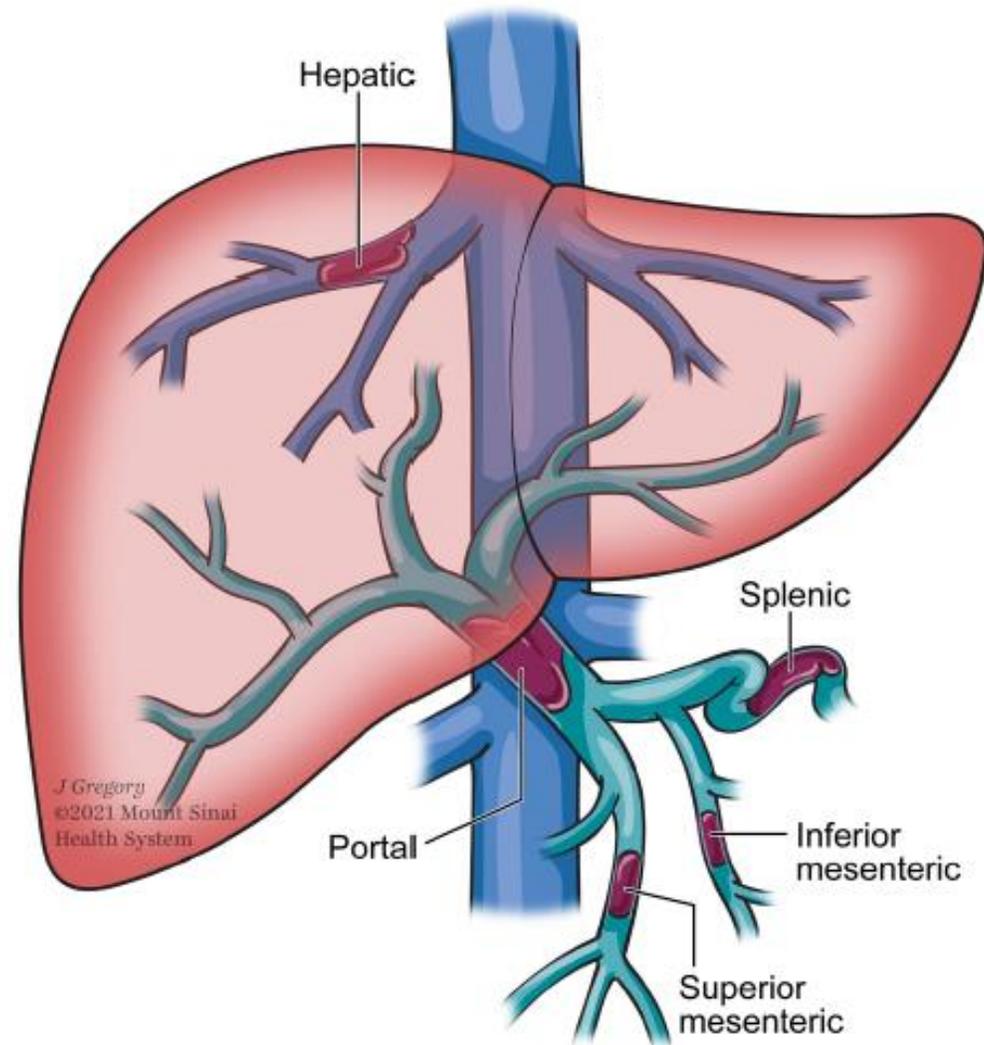


Fig. 1. Locations of splanchnic vein thrombosis. Among these locations, thrombosis in the hepatic vein (also termed Budd-Chiari syndrome) is among the most suggestive of an underlying MPN.

Prävalenz von myeloproliferativen Neoplasien (MPN) bei Budd-Chiari Syndrom und Pfortaderthrombose: Resultate einer Metaanalyse

	Budd-Chiari Syndrom	Pfortader- thrombose
	n=1062	n=855
Mittlere Prävalenz von		
MPN	41%	32%
JAK2 V617F	41%	28%
MPL515	3 von 305 Patienten positiv	
JAK2 exon 12	alle 268 Patienten negativ	

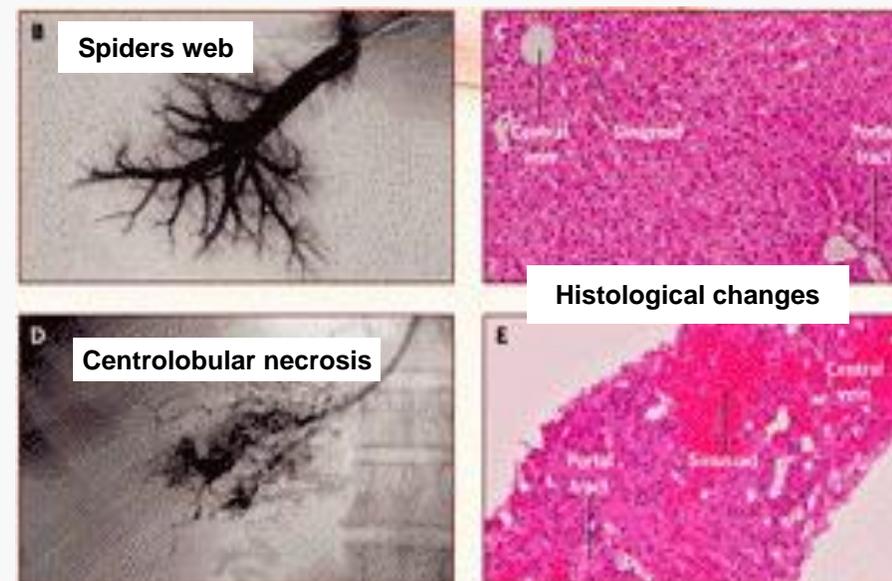
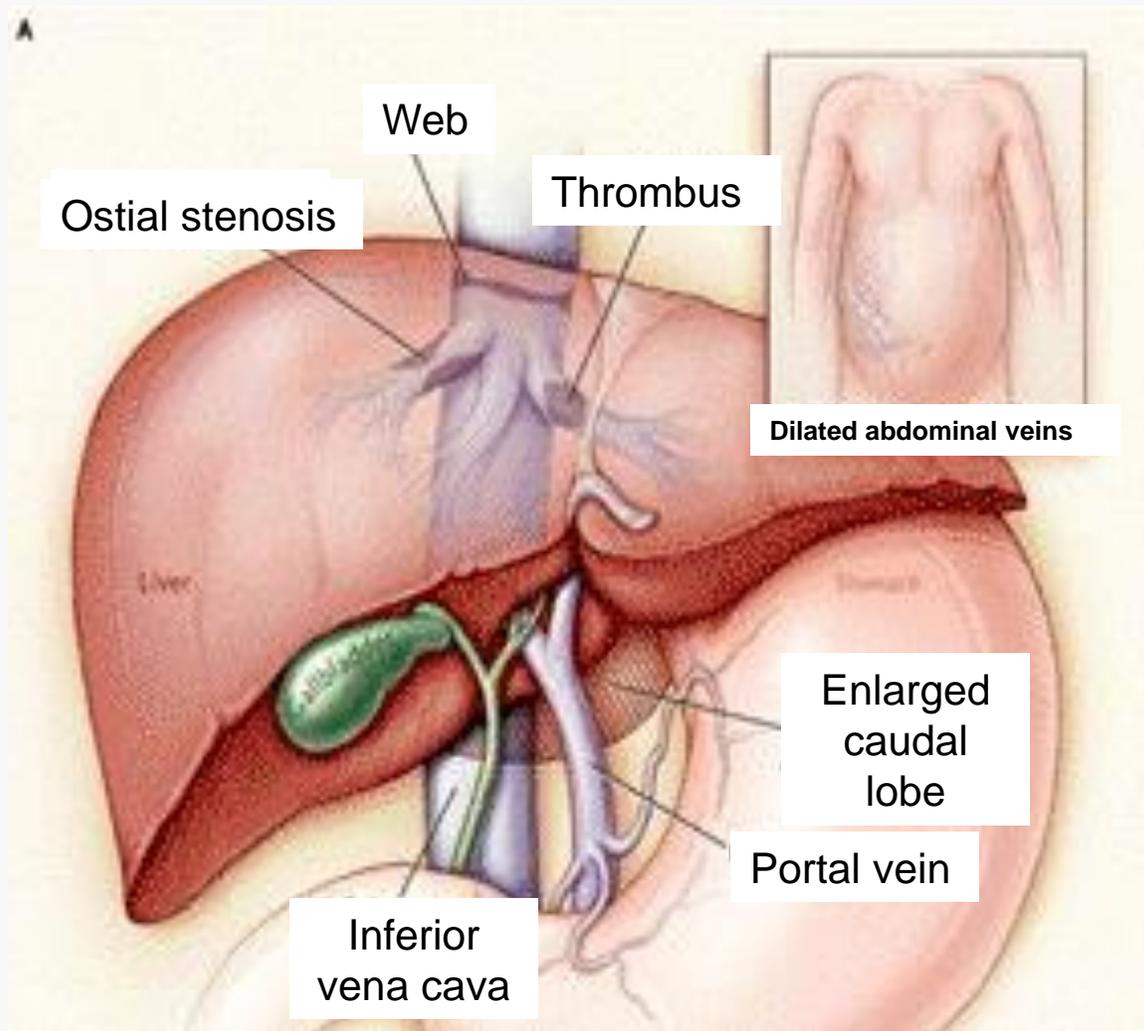
Nachweis der *JAK2* V617F-Mutation zum Zeitpunkt der Thrombose bei
Patienten mit splanchnischer Venenthrombose (SVT)
mit und ohne klinische Zeichen einer MPN

139 Patienten mit SVT

(1994-2006, retrospektive Analyse)

	<i>JAK2</i> V617F positiv
Pat. mit klinischen Zeichen einer MPN (n=19)	100%
Pat. ohne klinische Zeichen einer MPN (n=120)	21,5%

Lebervenenenthrombose - Budd-Chiari Syndrom



Klassische Kombination von Symptomen:
 Abdominelle Schmerzen
 Hepatomegalie
 Ascites
 Fieber
 (Symptome nicht regelhaft präsent)

Prävalenz von Risikofaktoren für das Auftreten eines primären Budd-Chiari Syndroms

Prävalenz (%)	
Erworbene Faktoren	
Myeloproliferative Neoplasien	40-50
Antiphospholipid Syndrom	10-12
PNH	7-12
Erbliche Erkrankungen	
Faktor V Leiden	8
Faktor II Mutation	3
Protein C oder S Mangel	4-5
Antithrombin Mangel	1
Externe Faktoren	
Orale Kontrazeptiva	22
Systemische Erkrankungen	6
Weitere, einschl. lokaler Faktoren	1-2

Verlaufsformen des Budd-Chiari Syndroms

Fulminant (ungewöhnlich): hepatische Enzephalopathie innerhalb von Wochen

Akut: Lebernekrose, kein Kollateralkreislauf,
Ikterus, Aszites

Üblicherweise Thrombose aller großen Gefäße

Subakut (häufigste Form): schleichender Beginn, Kollateralkreislauf,
wenig Symptome

Chronisch: klinisch manifest durch Komplikationen der
Leberzirrhose

Thrombose aller großen Gefäße in einem Drittel der Patienten

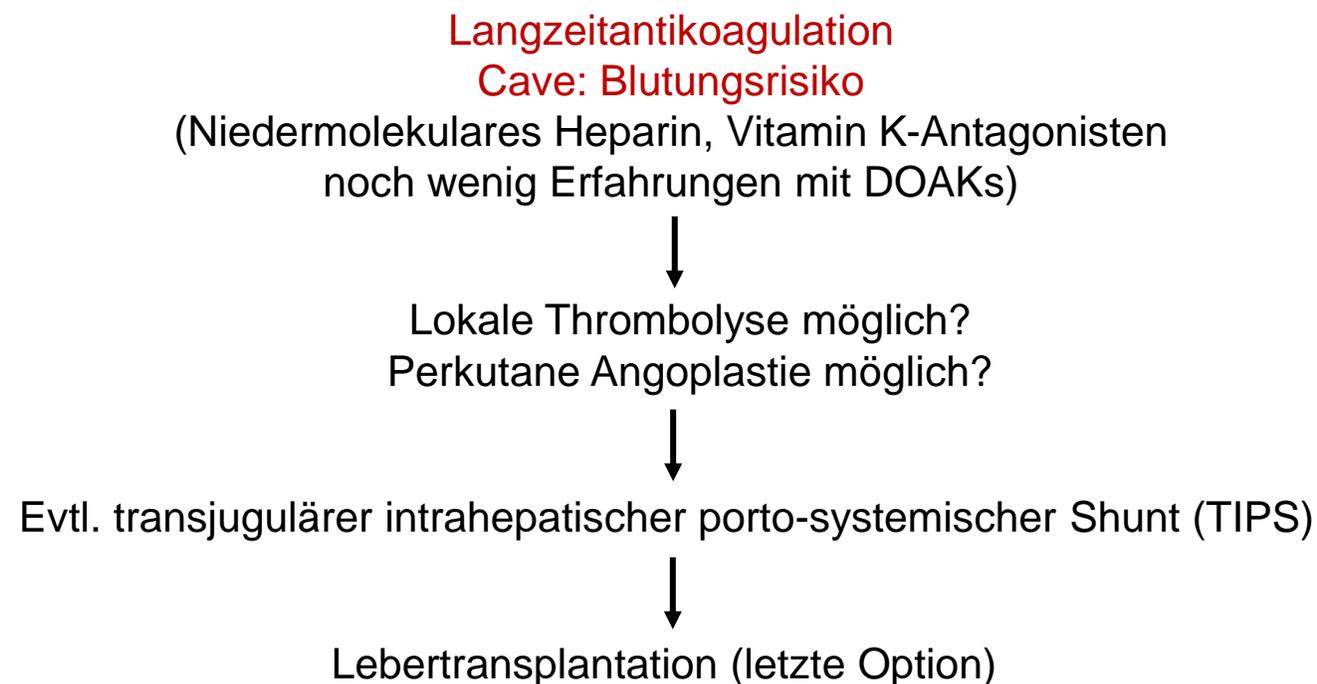
Eingeschränkte Zuverlässigkeit herkömmlicher diagnostischer Marker von MPN bei Pat. mit Budd-Chiari Syndrom oder Pfortaderthrombose

Kriterium	Problem
• ‚Driver‘-Mutation (<i>JAK2</i> , <i>CALR</i> , <i>MPL</i>)	nicht bei allen MPN Patienten vorhanden
• Erhöhte Erythrozytenmasse	keine Routinemethode, kann negative sein
• Panmyelose (Knochenmarkbiopsie)	Divergenzen in Beurteilung möglich
• Erhöhte periphere Blutwerte	kann normal sein
• Erniedrigtes EPO im Serum	kann normal sein
• Endogene erythroide Kolonien (in vitro)	nicht mehr in WHO-Klassifikation enthalten

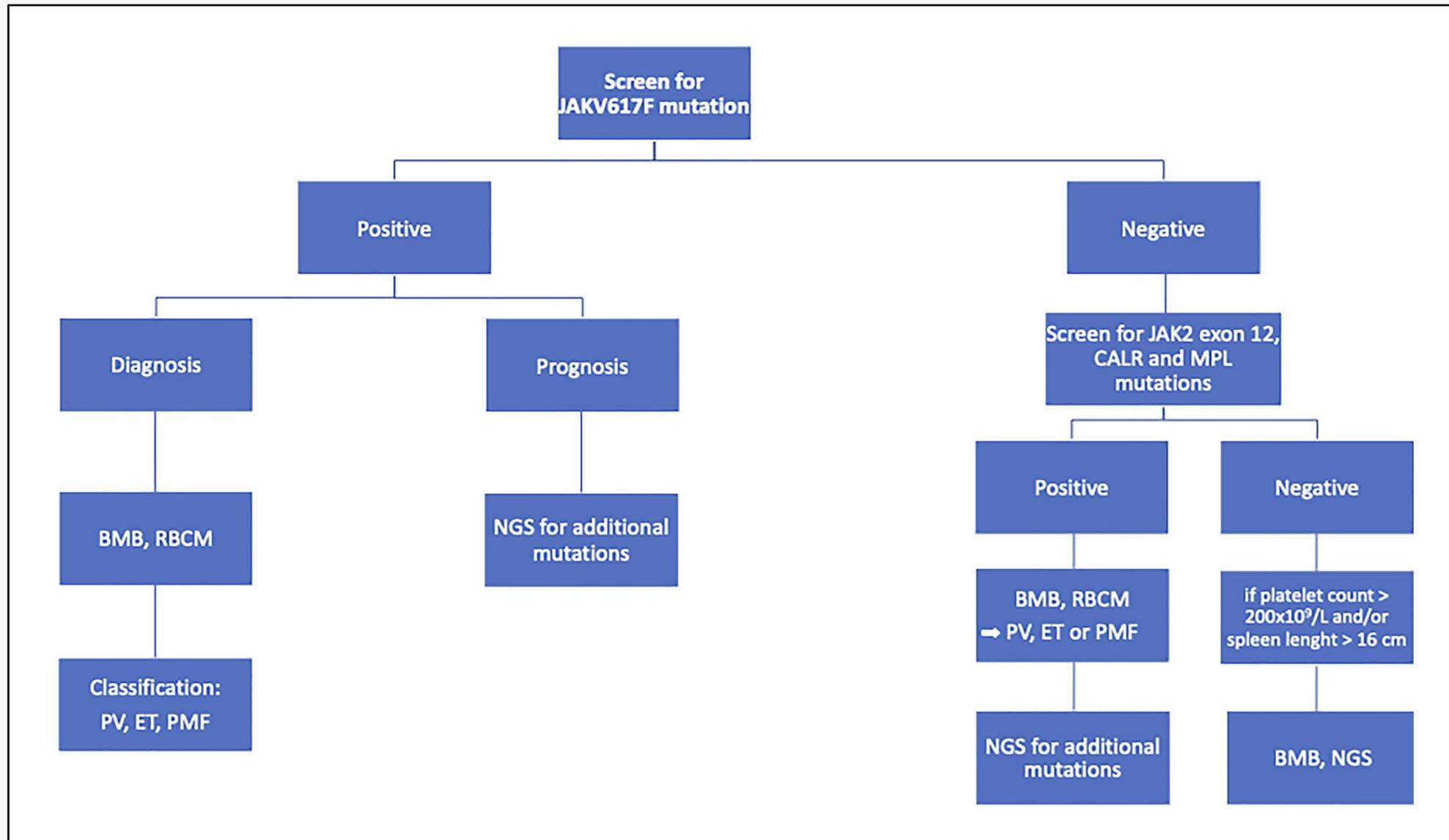
* *Kiladjian J et al, Blood 2008;111:4922-4929 und Am J Hematol 2023;98:794-800,*

Behandlungsstrategie bei primärem Budd-Chiari Syndrom

Grundsätzlich: Einbindung eines interdisziplinären Behandlungsteams,
Kontrolle der zugrunde liegenden Erkrankung (z.B. zytoreduktive Therapie bei MPN)
Wiederstellung des hepatischen venösen Abflusses



Vorschlag für diagnostischen Algorithmus bei MPN mit SVT



Wichtige Aspekte bei Klinik, Diagnostik und Therapie von Pat. mit MPN und splanchnischen Venenthrombosen (SVT)

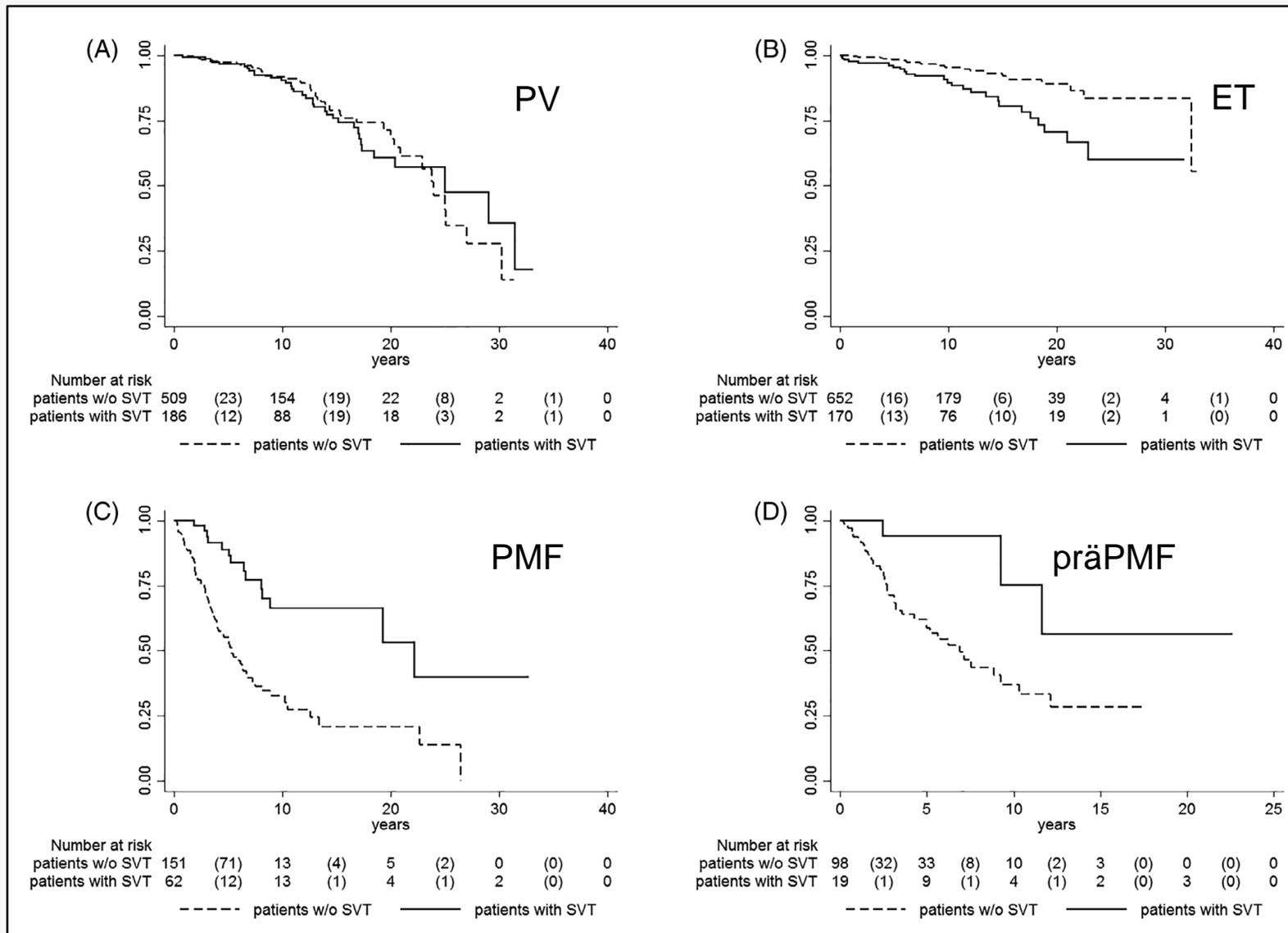
- Es besteht eine hohe Assoziation von SVT zu einer *JAK2* V617F-positiven MPN.
- Bei Auftreten einer SVT sollte eine MPN immer ausgeschlossen werden.
- Auch weitere Thromboserisiken sind auszuschließen.
- Klinische Zeichen einer MPN können bei Auftreten der SVT fehlen.
- Die Zuverlässigkeit der üblichen diagnostischen Laborparameter für MPN ist eingeschränkt.
- An erster Stelle steht hier das Screening auf eine *JAK2*- oder andere Treibermutation.
- NGS kann zur besseren diagnostischen Einordnung bei unklaren Fällen und zur genaueren Einschätzung der Prognose beitragen.
- Bei der Therapie stehen die Kontrolle der Grunderkrankung und die Antikoagulation im Vordergrund.

Weitere Beobachtungen an größeren
internationalen Datensammlungen bei MPN-SVT

Internationale retrospektive Studie an 518 Pat. mit SVT bei MPN, Lokalisation der SVT und zeitliches Auftreten

n=518; medianes Alter 43,6 (12-90) Jahre, weibliches Geschlecht signifikant häufiger			
Lokalisation der SVT	Anteil der Pat.	Koinzidenzen	Koinzidenzen
Portalvene	67,4%	} 29,5%	} 9,2%
Milzvene	29,9%		
Mesenterialvenen	24,3%		
Lebervenen (BCS)	24,9%		
MPN und SVT simultan	47,1%		
SVT vorausgehend	23,0%		
SVT im Verlauf der MPN	29,9%		
Ösophagusvarizen- Blutungen	44%		

Überleben von 516 Pat. mit SVT bei MPN (durchgehende Linie) im Vergleich zu 1628 MPN-Pat. ohne SVT (unterbrochene Linie)



Bei PMF (C und D) günstigeres Risikoprofil der Pat. mit SVT

Verlaufsdaten von 516 Pat. mit MPN und SVT

Medianes Follow up 89,9 Monate (0,5-430)

SVT-Rethrombosen:

12% SVT-Rethrombosen (62/516 Pat.)

Inzidenzrate der SVT: 1,6% (Ereignisse pro 100 Patientenjahre)

Signifikant niedrigere Rate bei Anwendung von Vitamin K-Antagonisten (p=0,013)

80 Todesfälle von 516 Pat. Mit SVT (15,5%)	
Todesursachen	%
SVT	8,7
Akute Leukämie (AL)	12,5
Krankheitsprogression (nicht AL)	7,5
Leberausfall	6,2
Andere Neoplasien	11,2
Andere venöse Thrombosen	6,2

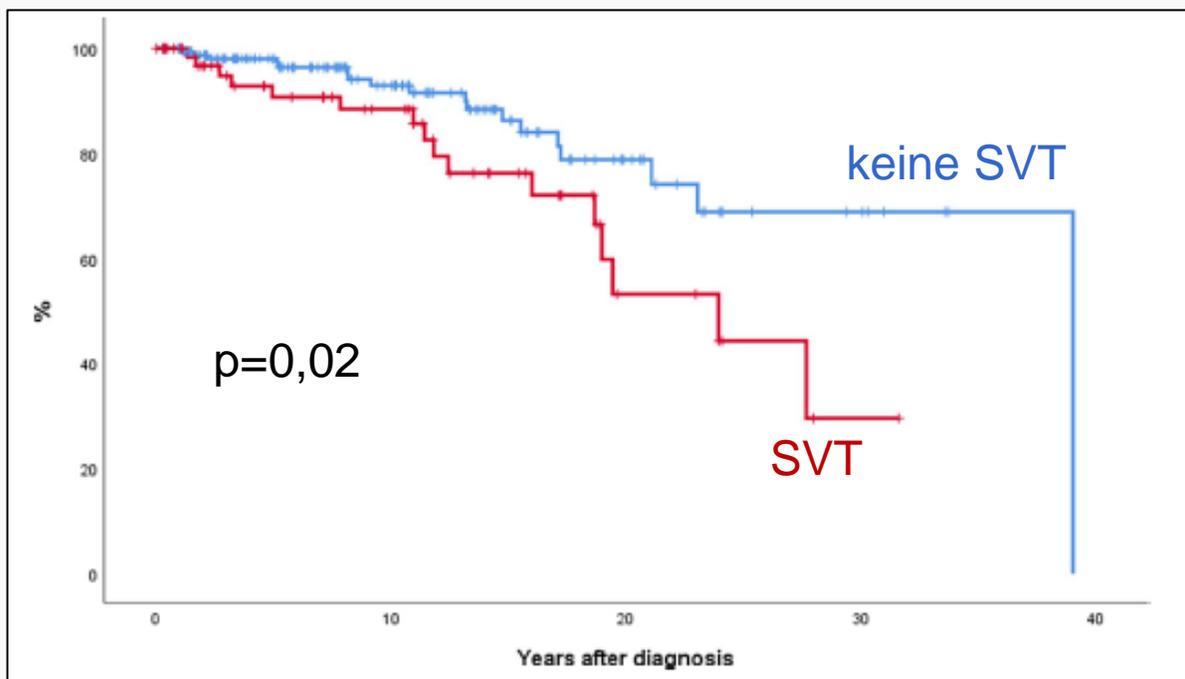
Thrombosen bei 444 jungen Pat. (im Alter 25 Jahre oder jünger): Gehäuftes Auftreten von Thrombosen in ungewöhnlichen Lokalisationen

Thrombosen	Gesamt (vor Diagnose und im Verlauf)		
	Anzahl	%	
Gesamtereignisse	115		
Lokalisation			
Venöse Thrombosen	82	71,3	
Budd-Chiari	21	25,6	}
Portal-/Splanchnisch	18	22	
Cerebralvenen	16	19,5	
Tiefe Venen/ Lungenembolie	18	22	
Andere	9	11	
Arterielle Thrombosen	29	25,2	
Myokardinfarkt	8	27,6	
Apoplex	8	27,6	
TIA	13	44,8	
Unbekannt	4	3,5	

67% der Thrombosen in ungewöhnlichen Lokalisationen;
69,4% der Trombosen vor Diagnose MPN: Budd-Chiari-S. oder Cerebralvenen.

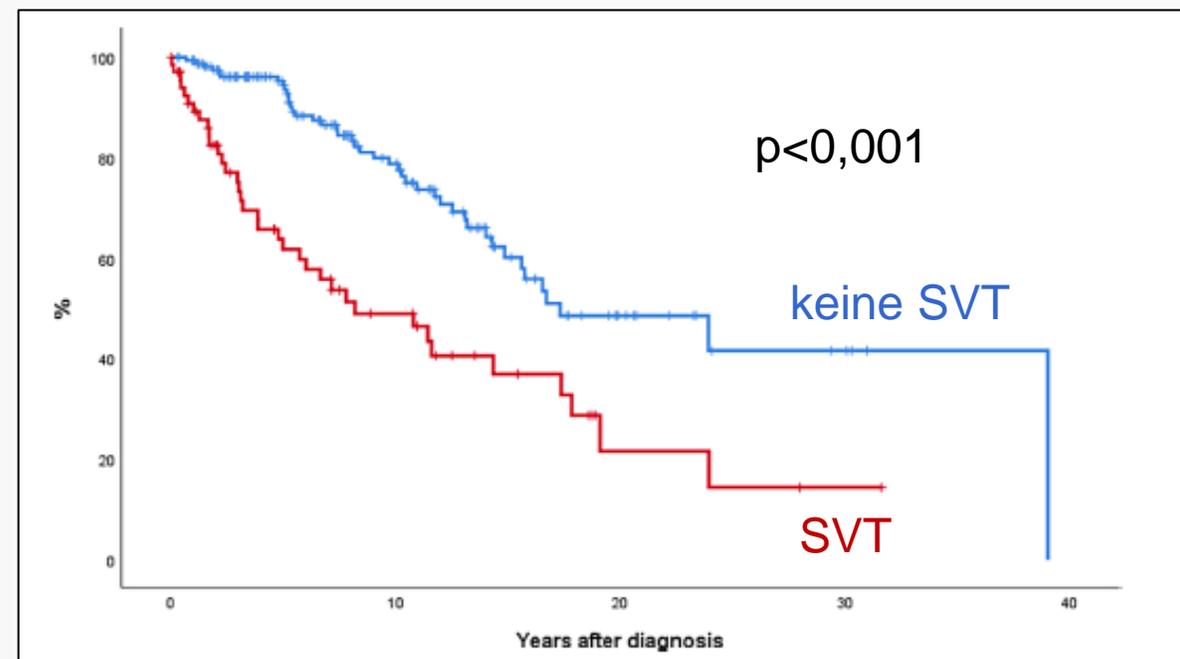
Prognostischer Einfluss von splanchnischer Venenthrombose gegenüber Kontrolle ohne SVT bei jungen Pat. mit PV oder ET

Überleben



Pat. mit SVT: n=90
Pat. ohne SVT: n=165

Ereignis-freies Überleben



Ereignisse: Tod, Thrombose, schwere Blutung, Übergang in Leukämie oder Myelofibrose

Effekte von Hydroxyurea und IFN-alpha bei MPN mit SVT

Splanchnic vein thrombosis:

HU no preventive effect (pooled analysis: 258 of 1500 MPN cases in atypical locations)

De Stefano, Blood Cancer J. 2018;8,112.

N=20: ORR of 70% (15% CR, 55% PR at 12 months of therapy)

No recurrence during a median follow up of 2.2 years

Mascarenhas et al, Leukemia 2019;33:2974-2978

Beobachtungen an größeren internationalen Datensammlungen bei MPN-SVT

- Es wurden bislang nur vereinzelt größere retrospektive Datensammlungen an Erwachsenen und jungen Pat. publiziert.
- Der Altersmedian von Pat. mit SVT ist deutlich niedriger als das mediane Alter der Gesamtheit von von MPN-Pat.
- Bei jungen Pat. (unter 25 Jahren) sind SVT besonders häufig (etwa 50% der venösen Thrombosen).
- Die SVT können der Diagnose MPN um Jahre vorausgehen.
- Nicht selten sind mehrere abdominelle Venensysteme betroffen.
- SVT sind komplexe und potenziell lebensbedrohliche Komplikationen, die eine interdisziplinäre Therapiesteuerung erfordern.
- Die Datenlage zur Einschätzung der Überlebensprognose ist begrenzt.
- Interferon-alpha scheint positive Auswirkungen auf die Rethromboserate zu haben.

Zerebrale (ZVT) und retinale Thrombosen

Untersuchung zur Prävalenz der MPN bei ZVT und Untersuchung zur Prävalenz der ZVT bei MPN

- Resultate aus zwei großen Dateien -

706 Pat. mit ZVT:	Prävalenz von MPN:	n=27 (3,8%)
-------------------	--------------------	-------------

2143 Pat. mit MPN:	Prävalenz von ZVT:	n=9 (0,4%)
--------------------	--------------------	------------

Prävalenz von ZVT in Normalbevölkerung: n=1-4 pro 1 Mill.

Zerebrale Venenthrombose und MPN

Retrospektive Analyse von 74 Fällen („Three-center-study“)

Alter	44 Jahre (15-85)
Weibliches Geschlecht	61%
<i>JAK2V617F</i> -positiv	91%
ZVT vor Diagnose MPN	n=20 (27%)
ZVT und MPN simultan	n=32 (43%)
ZVT im Verlauf der MPN	n=22 (30%)
Mediane Beobachtungsdauer	5,1 Jahre (0,1-28,6)

Verzögerte Manifestation der MPN im Verlauf bei Patienten mit ZVT

10/152 Patienten mit ZVT (7%) *JAK2 V617F* - positiv

(6 ET, 1 PV, 1 PMF, 1 unklass., 1 keine manifeste MPN)

MPN bei Diagnose manifest n=6

MPN erst im Verlauf manifest n=3 Median 7,1 Jahre;
(6 Mo – 21,3 J.)

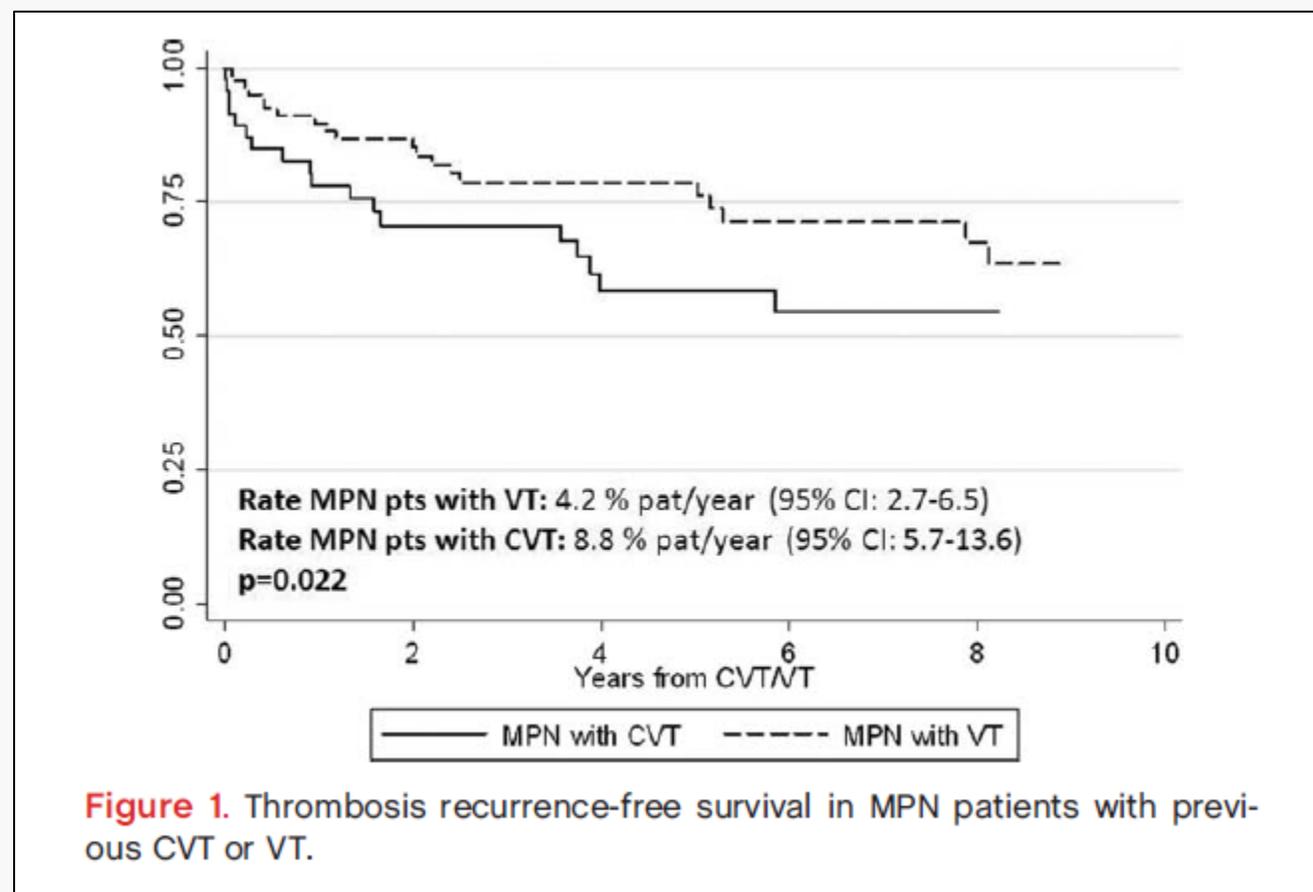
Keine Zeichen einer MPN n=1

Prävalenz der *JAK2* V617F-Mutation bei Pat. mit zerebraler Venen-Thrombose (ZVT)

Autor (Jahr)	Anzahl von Pat. mit ZVT	Medianes Alter (Jahre)	<i>JAK2</i> V617F positiv (%)	<i>JAK2</i> V617F pos. ohne Nachweis einer MPN (%)
De Stefano (2007)	45	35	11	6
Bellucci (2008)	87	35	1	1
Xavier (2008)	44	28	0	
Koopman (2009)	70	-	6	
Shetty (2010)	70	-	3	
Passamonti (2012)	152	35	7	3
De (2012)	372	27	6	6

Rezidive von zerebraler Venenthrombose bei Pat. mit MPN und vorausgehender ZVT

Höhere Rezidivrate bei ZVT als bei Thrombosen in anderen Lokalisationen trotz kürzerem medianem ‚Follow up‘ (p=0,019 und höherer Rate an Antikoagulation (p=0,099))



Prävalenz und klinische Charakteristika bei Pat. mit retinaler Venenthrombose

Bei 5 von 52 (9,6%) Pat. mit Verschluss der Retinalvene
molekularer Marker positiv

Alter (J), Geschlecht	Mutation	Hb/Hkt	Thrombozyten (/μl)
85, w	<i>JAK2</i> V617F	normal	360,000
64, w	<i>JAK2</i> V617F	normal	850,000
73, m	<i>MPL</i> Exon10	normal	389,000
55, w	<i>MPL</i> Exon10	normal	353,000
61, w	<i>MPL</i> Exon10	normal	317,000

Besonderheiten bei MPN mit ZVT und retinaler Venenthrombose

- Die Prävalenz von ZVT bei MPN ist niedrig, aber höher als in der Normalbevölkerung.
- Charakteristisch sind rel. junges Alter, weibliches Geschlecht und *JAK2* V617F-Positivität.
- Die ZVT können der Diagnose MPN vorausgehen.
- Die Rate an ZVT-Rezidiven scheint trotz Antikoagulation höher zu sein als bei venösen Thrombosen in anderen Lokalisationen.
- Auch bei retinaler Venenthrombose sollte an eine zugrundeliegende MPN gedacht werden.

Zusammenfassung

Besonders zu beachten bei Thrombosen in ungewöhnlichen Lokalisationen:

- Es besteht eine enge Assoziation zu MPN und zur *JAK2* V617F-Mutation.
- Es sollte immer ein molekulares Screening auf eine zugrunde liegende MPN durchgeführt werden.
- Dadurch können auch Fälle ohne klinisch manifeste MPN detektiert werden.
- NGS erlaubt eine Erweiterung des diagnostischen Spektrums und eine genauere Einschätzung der Prognose.
- Neben Antikoagulation (und/oder Thrombozytenaggregations-Hemmern) ist auf eine gute Einstellung der hämatologischen Parameter zu achten.
- Ein interdisziplinäres Behandlungsteam sollte eingebunden werden.

Vielen Dank für Ihr Interesse