



TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

**II. Medizinische Klinik und Poliklinik
am Klinikum rechts der Isar**

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. R. M. Schmid)

**Analyse von prothrombotischen Risikofaktoren bei Patienten
mit Leberzirrhose und Pfortaderthrombose**

Pia Stephanie Inés Feichtinger

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. J. Th. Siveke
2. Univ.-Prof. Dr. R. M. Schmid

Die Dissertation wurde am 16.02.2015 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 04.05.2016 angenommen.

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	7
1.1 Hintergrund	7
1.2 Allgemeiner Hintergrund	9
1.2.1 Leberzirrhose.....	9
1.2.1.1 Definition.....	9
1.2.1.2 Epidemiologie und Ätiologie.....	9
1.2.1.3 Diagnostik.....	10
1.2.1.4 Komplikationen der Leberzirrhose.....	12
1.2.2 Pfortaderthrombose.....	13
1.2.2.1 Definition und Ätiologie.....	13
1.2.2.2 Klinik und Diagnostik.....	15
1.2.3 Genmutationen.....	16
1.2.3.1 JAK2 V617F Mutation.....	16
1.2.3.2 FVL G1691A Mutation.....	18
1.2.3.3 Prothrombin G20210A Mutation.....	20
2. Zielsetzung und Fragestellung	22
3. Methoden	23
3.1 Studiendesign	23
3.2 Studienablauf	23
3.3 Patienten	23
3.4 Erfasste Parameter	24
3.5 Nachweis der JAK2 V617F-, Prothrombin G20210A, -und FVL G1691A Mutation	27
3.6 Statistische Analyse	31
4. Ergebnisse	33
4.1 Patienten und Patientenkriterien	33
4.1.1 Alter und Geschlecht der Patienten.....	34
4.1.2 Laborparameter der Patienten.....	34

4.2 Pfortaderthrombose	36
4.3 Leberzirrhose	37
4.4 JAK2 V617F Mutation	40
4.5 FVL G1691A Mutation.....	42
4.6 Prothrombin G20210A Mutation	43
5. Diskussion	45
5.1 JAK2 V617F Mutation	46
5.2 FVL G1691A -und Prothrombin G20210A Mutation.....	46
5.3 Screening für die JAK2 V617F Mutation	47
5.4 Einschränkungen der Studie.....	48
6. Zusammenfassung.....	49
7. Literaturverzeichnis.....	50
8. Abbildungsverzeichnis	57
9. Tabellenverzeichnis.....	58
10. Publikationen.....	59
11. Danksagung.....	60
12. Lebenslauf.....	61

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Begriff
Abb.	Abbildung
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
APC	Aktiviertes Protein C
AST	Aspartat-Aminotransferase
BCS	Budd-Chiari-Syndrom
Chron.	Chronisch
CT	Computertomographie
DIC	Disseminierte intravasale Gerinnung
EPO	Erythropoietin
ET	Essentielle Thrombozythämie
FG	Fallgruppe
FP	Vorwärtsprimer
FRET	Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer
γ -GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HE	Hepatische Enzephalopathie
HPS	Hepatopulmonales Syndrom
HRS	Hepatorenales Syndrom
i. S.	im Serum
INR	Prothrombinratio
JAK	Januskinase
KG	Kontrollgruppe
LAP	Leucin-Aminopeptidase
LCi	Leberzirrhose
MPD	Myeloproliferative Erkrankungen
MPS	Myeloproliferatives Syndrom (Synonym für Myeloproliferative Erkrankungen)
MDS	Myelodysplastische Syndrome
MRT	Magnetresonanztomographie
NTC	No Template Control
OMF	Osteomyelofibrose
PaO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PBC	Primär biliäre Zirrhose
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
PV	Polycythaemia Vera
PVT	Pfortaderthrombose (=PVT)
RP	Rückwärtsprimer
SVT	Venenthrombose im Splanchnikus-Gebiet
Tab.	Tabelle
TPO	Thrombopoietin

Abkürzungsverzeichnis

V.a.	Verdacht auf
wt	Wildtyp
z.B.	zum Beispiel

1. Einleitung

1.1 Hintergrund

Die Pfortaderthrombose (PVT) ist eine häufige Komplikation bei Patienten, die eine Leberzirrhose (LCi) haben und kann sich zu einem lebensbedrohlichen Zustand entwickeln (DeLeve, Valla, & Garcia-Tsao, 2009; Ögren et al., 2006; Smalberg et al., 2011).

Laut einer Autopsie-Studie konnte eine LCi bei 28% der Patienten mit einer bestehenden PVT festgestellt werden. Diesem Ergebnis zufolge stellt die LCi einen Hauptrisikofaktor für die Entstehung einer PVT dar (Amitrano & Guardascione, 2009; Ögren et al., 2006). Zu weiteren „lokalen“ Risikofaktoren für die Entstehung einer PVT zählen unter anderem (u.a.) auch Tumore in den Abdominalorganen, intraabdominelle Infektionen sowie chirurgische Eingriffe, die das Pfortadersystem betreffen, wie beispielsweise eine Lebertransplantation. Neben diesen „lokalen“ Risikofaktoren gibt es eine Reihe anderer Faktoren, welche die Entstehung einer PVT begünstigen (DeLeve et al., 2009). Dazu zählen einige prothrombotische Faktoren wie ein Mangel an Protein C und Protein S, ein Mangel an Antithrombin, eine Faktor V Leiden (FVL) G1691A Mutation, eine Prothrombin G20210A Mutation sowie die Entwicklung einer Myeloproliferativen Erkrankung (MPD) (Bhattacharyya et al., 2004; DeLeve et al., 2009; Sacerdoti et al., 2007; Smalberg et al., 2011).

Zu den Risiken für die Entstehung einer PVT bei Patienten mit bestehender LCi zählen u.a. der Schweregrad der Lebererkrankung und die damit in Verbindung stehende Einschränkung der Syntheseleistung sowie angeborene prothrombotische Erkrankungen und ein verlangsamter Pfortaderfluss (DeLeve et al., 2009). Patienten mit LCi zeigen häufig eine Verminderung von Protein C, S und Antithrombin. Dies ist u.a. zurückzuführen auf eine verringerte Funktion der Hepatozyten, auf eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) und auf einen Vitamin-K-Mangel (Mucino-Bermejo, Carrillo-Esper, Uribe, & Mendez-Sanchez, 2013; Ng, 2009). Die PVT im Rahmen einer LCi könnte somit das Ergebnis eines gleichzeitigen Vorhandenseins von lokalen, erworbenen und angeborenen thromboembolischen Risikofaktoren sein (Amitrano et al., 2004; Zocco et al., 2009).

Patienten, die keine LCi, aber eine PVT haben, zeigen in 30-40% der Fälle eine MPD. In den meisten Fällen handelt es sich dabei um die Polycythaemia Vera (PV), die Essentielle Thrombozythämie (ET) oder um nicht klassifizierte MPD (DeLeve et al., 2009). Bei früheren

Fällen einer PVT konnte oft keine zugrundeliegende Ätiologie festgestellt werden. Dies hat sich jedoch in den letzten Jahren durch die zunehmenden Diagnosen angeborener Gerinnungsstörungen, dabei vor allem den MPD, deutlich geändert. Somit ist die Anzahl der Patienten mit einer idiopathischen PVT gesunken (Cohen, Edelman, & Chopra, 1992).

2005 wurde eine somatische Punktmutation im Gen der Januskinase 2 (JAK2) festgestellt. Diese Mutation steht vor allem in Zusammenhang mit MPD (Campbell et al., 2005; James, Ugo, Le Couédic, et al., 2005; Roskos, 2008; Shetty et al., 2010; Tefferi, Skoda, & Vardiman, 2009).

Es sind Daten einiger Studien vorhanden, welche die Prävalenz der JAK2 V617F Mutation bei Patienten mit Venenthrombose im Splanchnikus-Gebiet (dazu zählen die PVT, die Mesenterialvenenthrombose und das Budd-Chiari-Syndrom) (Dentali et al., 2009) ohne Vorhandensein einer LCI untersucht haben (Bayraktar et al., 2008; Colaizzo et al., 2007; De Stefano et al., 2007; Kiladjian et al., 2008; Orr et al., 2010; Primignani et al., 2006). Es ist wichtig zu wissen, dass diese Studien Patienten mit einer LCI explizit ausgeschlossen haben. Daraus ergibt sich, dass die PVT in diesen Fällen nicht auf eine LCI zurückzuführen war.

Bei einigen dieser Patienten mit PVT oder Budd-Chiari-Syndrom (BCS) wurde die JAK2 V617F Mutation nachgewiesen. In einer Vielzahl der Fälle traten diese Venenthrombosen im Splanchnikus-Gebiet (SVT) im Rahmen einer MPD auf. MPD zählten somit zur Hauptursache für die Entstehung von SVT (Kiladjian et al., 2008; Primignani et al., 2006). JAK2 V617F ist ein sehr zuverlässiger und nicht-invasiver molekularer Marker für die Erkennung von MPD und sollte deshalb als erster Test zur Diagnosesicherung herangezogen werden (Primignani et al., 2006). Allerdings gab es auch Untersuchungen, bei denen die Patienten mit SVT und einer JAK2 V617F Mutation zum Zeitpunkt der Thrombosediagnosestellung keinen Nachweis einer MPD zeigten (De Stefano et al., 2007).

Diesen Erkenntnissen zufolge stellt sowohl die LCI als auch das Vorhandensein einer JAK2 V617F Mutation ein erhöhtes Risiko für die Entstehung von SVT dar. Bei Patienten die beides, sowohl eine LCI als auch eine JAK2 V617F Mutation haben, könnte das Risiko für die Entwicklung thrombotischer Komplikationen im Splanchnikus-Venensystem deutlich erhöht sein.

Zudem können MPD bei Patienten mit einer LCI oft nur schwer erkannt werden. Eine LCI geht oft mit einem Pfortaderhochdruck einher. Der durch den Pfortaderhochdruck bedingte

Hypersplenismus kann Blutbildveränderungen, die für MPD typisch sind, unter Umständen maskieren (Briere, 2006; Chait et al., 2005; Qi, Bai, et al., 2011; Smalberg et al., 2011).

1.2 Allgemeiner Hintergrund

1.2.1 Leberzirrhose

1.2.1.1 Definition

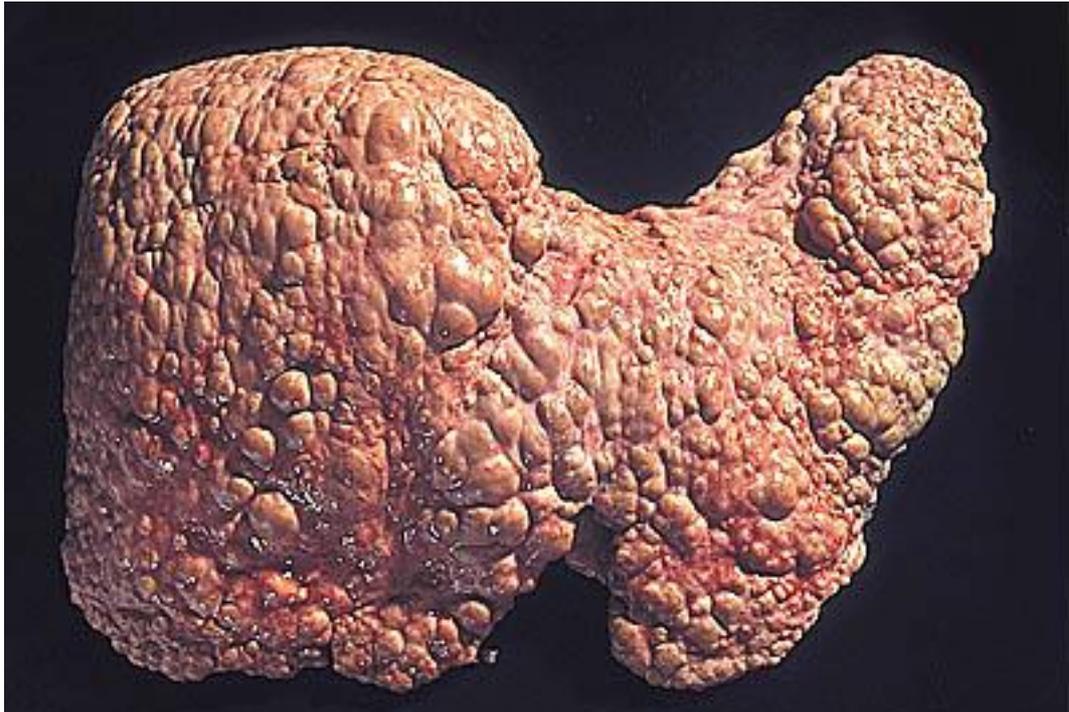


Abb. 1: Grobknotige LCi (Reiche, 2003)

Bei der LCi handelt es sich um eine langsam auftretende chronisch verlaufende Erkrankung. Sie ist das Endstadium schwerer Leberschädigungen, die durch eine Vielzahl von Noxen, wie beispielsweise Viren, Alkohol oder Medikamente ausgelöst werden kann.

Je nach Ausprägung der LCi reicht die Klinik von Allgemeinsymptomen, wie beispielsweise Müdigkeit, Abgeschlagenheit und Völlegefühl im Oberbauch bis hin zu Komplikationen wie Ikterus, Portale Hypertension und deren Folgen sowie Hepatische Enzephalopathie und Primäres Leberzellkarzinom als Spätfolge (Herold, 2013).

1.2.1.2 Epidemiologie und Ätiologie

In der Gesamtweltbevölkerung liegt die Prävalenz der LCi etwa bei 4-10%. In Deutschland leben davon ca. 400 000 Patienten mit LCi (Greten, Rinninger, & Greten, 2010; Herold, 2013).

In den Industrieländern zählt langjähriger Alkoholmissbrauch zu den wichtigsten auslösenden Faktoren einer LCi (Herold, 2013). Chronische Virushepatitiden B, C, und D stehen in den Industrieländern an Platz 2 der Ursachenentstehung einer LCi. Bei ca. 10% der LCi lässt sich keine treffende Ursache finden. Weitere mögliche Ursachen für die Entstehung einer LCi sind die Autoimmunhepatitis, die Primär biliäre Zirrhose (PBC) und die Primär sklerosierende Cholangitis (PSC) (Herold, 2013). Auch bei gewissen Stoffwechselerkrankungen wie dem M.Wilson, der Hämochromatose und dem α 1-Antitrypsinmangel kann sich im Verlauf der Erkrankung eine LCi entwickeln. Tab. 1 fasst die Ursachen der LCi zusammen.

Ursachen		Anteil in Westeuropa
toxisch	Alkohol	ca. 60%-70%
viral	Hepatitis B, C, und D	ca. 10%-15%
autoimmun	Autoimmunhepatitis, PBC, PSC	bis zu 15/100 000 Einwohner
bakteriell/hypoxisch	sekundär biliäre Zirrhose nach rezidivierender Cholangitis oder Hypoxie	selten
metabolisch	Genetische Hämochromatose, M.Wilson, α 1-Antitrypsin-Mangelsyndrom	bis zu 100/100 000 Einwohner
vaskulär	chron. Herzinsuffizienz, chron. BCS	selten

Tab. 1: Ursachen der LCi (Greten et al., 2010)

1.2.1.3 Diagnostik

Die LCi kann zu Beginn oft asymptomatisch bleiben. Klinische Symptome treten meist erst zu einem späteren Zeitpunkt der Erkrankung auf. Zu diesen typischen Zeichen einer LCi gehören unter anderem Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Druck- und Völlegefühl im Oberbauch, Übelkeit und Gewichtsverlust. Zudem kann man bei diesen Patienten typische „Leberhautzeichen“ beobachten wie beispielsweise Juckreiz, Gefäßspinnen, Palmar- und Plantarerytheme (Greten, 2005; Greten et al., 2010; Herold, 2013).

Bei Patienten mit LCi lassen sich oft laborchemische Zeichen einer Leberinsuffizienz und einer eingeschränkten Lebersynthese zeigen. Zu den wichtigen Parametern einer

eingeschränkten Lebersyntheseleistung zählen eine Verminderung der Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren (Faktoren II, VII, IX, X), eine Abnahme des Albumin i.S., eine Abnahme von Antithrombin, eine Abnahme der Cholinesterase sowie eine Zunahme von Bilirubin. Die Transaminasen (GOT, GPT) können normal oder leicht erhöht sein. Bei entzündlichen Schüben kommt es zu einem Anstieg der Transaminasen, der GLDH sowie der γ -GT als Zeichen einer Leberzellschädigung (Herold, 2013). Zudem wird im Labor oft eine Hypergammaglobulinämie als Zeichen portocavaler Anastomosen beobachtet (Gerok & Blum, 1995). Im Rahmen eines Hypersplenismus kann es zu Leuko- und Thrombozytopenien kommen. Eine Erhöhung des Ammoniakspiegels weist auf eine hepatische Enzephalopathie hin und bei PBC, PSC und cholestatisch verlaufender Hepatitis kann es zu einem Anstieg der Cholestaseparameter (AP, γ -GT, LAP) kommen (Herold, 2013).

Einen wichtigen Stellenwert im Rahmen der Diagnostik einer LCi hat die Sonografie. Sie stellt ein nicht-invasives bildgebendes Verfahren zur Diagnosesicherung und Verlaufskontrolle einer LCi dar (siehe Abb. 2).

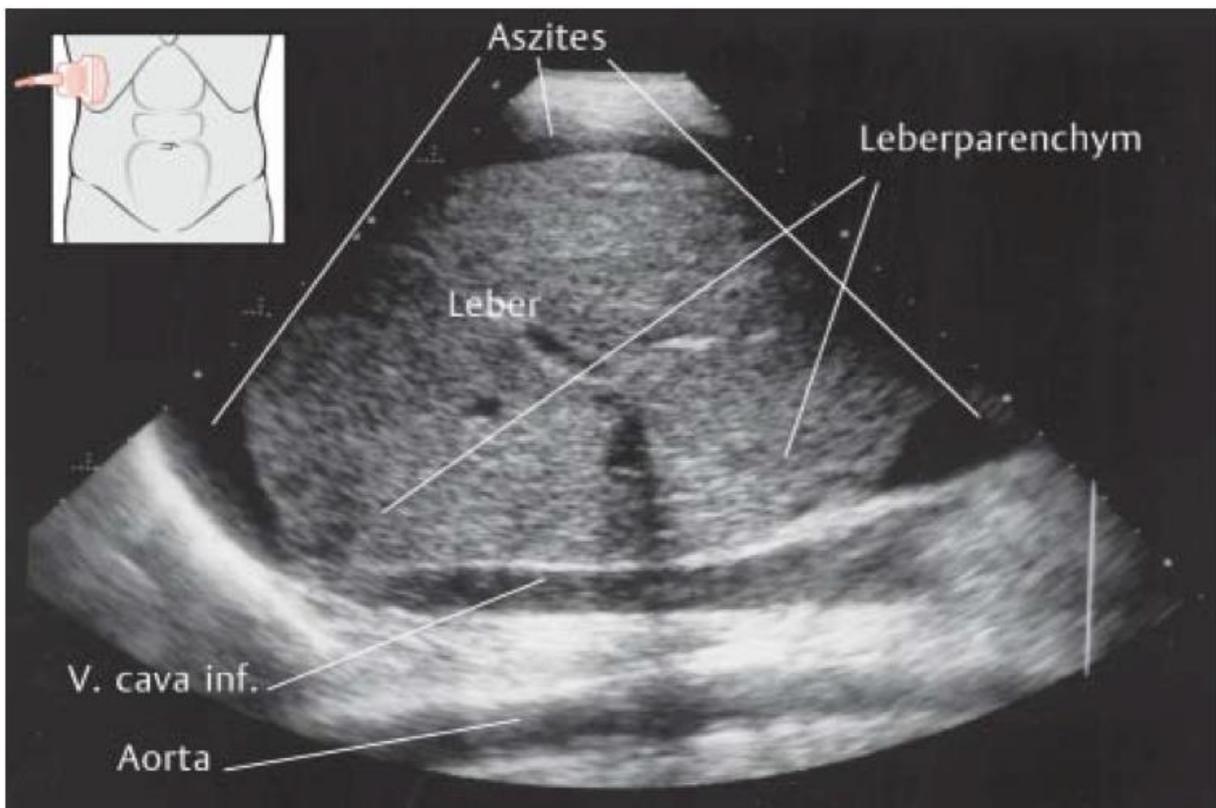


Abb. 2: Sonografisches Bild: Patient mit LCi (Delorme, Debus, & Jenderka, 2012)

Auch in der Computertomografie (CT) und in der Magnetresonanztomografie (MRT) kann eine LCi erkannt werden (Herold, 2013; Thurn, Bücheler, Lackner, & Thelen, 1998).

Die Einteilung des Schweregrades einer LCi kann durch die sogenannten Child-Pugh-Kriterien erfolgen (siehe Tab. 2).

Parameter	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte
Aszites	keiner	wenig	moderat
Enzephalopathie	keine	I–II	III–IV
Bilirubin i.S. mg/dl (µg)	<2 (36)	2–3 (36–54)	>3 (54)
bei PBC und PSC	<4 (72)	4–10 (72–180)	>10 (180)
Quick (%)	>70	40–70	<40
Albumin i.S. g/dl	>3,5	2,8–3,5	<2,8
Auswertung: ≤ 6 Punkte: Stadium A; 7–9 Punkte: Stadium B; 10–15 Punkte: Stadium C			

Tab. 2: Child-Pugh-Klassifikation der LCi (Greten et al., 2010)

Zur Abschätzung der Prognose einer LCi wird heute neben dem Child-Pugh-Score auch der MELD-Score (model for end-stage liver disease) immer häufiger eingesetzt. In den MELD-Score fließen 3 Parameter, nämlich das Kreatinin i.S., das Bilirubin i.S. und der INR-Wert, ein. Die Wartezeit bei einer Lebertransplantation hängt vom MELD-Score ab, der die 3-Monatsmortalität abschätzt (Greten et al., 2010; Herold, 2013).

1.2.1.4 Komplikationen der Leberzirrhose

Eine schwerwiegende Komplikation der LCi stellt die portale Hypertension und ihre Folgen dar. Normalweise liegt der Druck in der Pfortader bei 5-8 mmHg. Von einer portalen Hypertension spricht man, wenn der Druck in der Pfortader 12 mmHg überschreitet. Je nach Ort der Obstruktion im Rahmen eines Pfortaderhochdrucks unterscheidet man einen prähepatischen Block, einen intrahepatischen Block und einen posthepatischen Block (Herold, 2013; Kumar & Clark, 2012). Eine typische Folge des Pfortaderhochdrucks und somit der LCi ist die Bildung von Aszites (Kumar & Clark, 2012). Auch das Hepatorenale Syndrom (HRS) und das Hepatopulmonale Syndrom (HPS) zählen zu möglichen Folgen der portalen Hypertension (Arasté, 2009).

Eine relativ häufige und ernst zu nehmende Komplikation der LCi stellt die Hepatische Enzephalopathie (HE) dar. Bei der HE handelt es sich um ein neuropsychiatrisches Syndrom,

das sich durch einige neurologische Symptome auszeichnet (Arasté, 2009; Gerok & Blum, 1995; Herold, 2013; Piper, 2007).

Die HE lässt sich klinisch in 4 Stadien einteilen (siehe Tab. 4).

GRAD 0	Asymptomatische HE, normales Bewusstsein, keine neurologischen Ausfallerscheinungen
GRAD I	Konzentrationschwäche, Verwirrung, leichte Asterixis („flapping tremor“)
GRAD II	Lethargie, Benommenheit, Desorientierung, deutliche Asterixis („flapping tremor“)
GRAD III	Somnolent, aber weckbar, beginnender Foetor hepaticus, Hyperreflexie
GRAD IV	Koma, starker Foetor hepaticus

Tab. 3: Stadien der Hepatischen Enzephalopathie (Bajaj, 2010; Herold, 2013)

Des Weiteren zählt das Hepatozelluläre Karzinom (HCC) zu einer möglichen Spätkomplikation im Rahmen einer LCi.

1.2.2 Pfortaderthrombose

1.2.2.1 Definition und Ätiologie

Das grundsätzliche Verstehen der Ätiologie einer Thrombose ist auf den Pathologen Virchow zurückzuführen, der 3 Hauptgründe für eine Thrombose verantwortlich gemacht hat: Veränderungen in der Blutgefäßwand, Veränderungen des Blutflusses und Veränderungen in der Blutzusammensetzung. Diese Gründe sind bis heute gültig (Rosendaal, 2005).

Bei der PVT im Speziellen handelt es sich um einen kompletten oder partiellen Verschluss des Pfortaderstamms durch ein Blutgerinnsel. Die Thrombose kann sich in jedem Bereich des portalen Gefäßsystems ausbilden. Sie kann sowohl stromabwärts in den intrahepatischen Ästen oder aber auch stromaufwärts in der V. lienalis oder den Mesenterialvenen vorkommen (Greten, 2005; Greten et al., 2010; Meuwly, Saverot-Chevalier, & Sgourdos, 2012; Ponziani et al., 2010).

Die PVT wurde erstmals 1868 von den Wissenschaftlern Balfour und Stewart bei einem Patienten mit bestehender Splenomegalie, Aszites und venöser Gefäßerweiterung beschrieben

(Cohen et al., 1992; Dentali, Galli, Gianni, & Ageno, 2008; Ponziani et al., 2010; Turi, Schilling, & Riemann, 2003). Genaue Angaben über die Inzidenz der PVT lassen sich jedoch nur schwer finden. Sie reicht von ca. 0,6% bis ca. 26% (Dentali et al., 2008; Rajani et al., 2010). In der Allgemeinbevölkerung liegt die Prävalenz der PVT in etwa bei 1% (Hoekstra & Janssen, 2009; Ponziani et al., 2010). Patienten mit LCi zeigen jedoch deutlich höhere Inzidenzen. Neueren Studien zufolge liegen diese etwa bei 10-25% (Fimognari & Violi, 2008; Kocher & Himmelmann, 2005; Qi, Bai, et al., 2011; Rodriguez-Castro, Simioni, Burra, & Senzolo, 2012; Tsochatzis, Senzolo, Germani, Gatt, & Burroughs, 2010). Deshalb ist es klinisch nützlich zwischen zirrhotischer und nicht-zirrhotischer Form der PVT zu unterscheiden (Sacerdoti et al., 2007). Die PVT ist eine relativ häufige und wichtige Komplikation bei Patienten mit bestehender LCi (Belli, Romani, Sansalone, Aseni, & Rondinara, 1986; Englesbe et al., 2010; Meuwly et al., 2012; Ponziani et al., 2010; Zocco et al., 2009). Ihre Pathogenese bei Patienten mit LCi ist allerdings noch nicht vollständig geklärt. Es wurde jedoch vermutet, dass die Bildung eines Thrombus bei diesen Patienten u.a. durch eine Verlangsamung des Blutflusses in der Pfortader und durch das Vorhandensein von periportal Lymphangitis und Fibrose begünstigt wird (Belli et al., 1986; Cohen et al., 1992; Turi et al., 2003). Aber auch andere Risiken, wie beispielsweise lokale, angeborene oder erworbene thrombotische Faktoren spielen bei der Entstehung einer PVT im Rahmen einer LCi eine bedeutende Rolle (Amitrano, Guardascione, & Ames, 2007; Amitrano et al., 2004; Sacerdoti et al., 2007; Walker, 2005).

Die Ursache einer PVT ist sehr unterschiedlich (Condat & Valla, 2006; Rajani et al., 2010; Webster, Burroughs, & Riordan, 2005). Sie kann oft durch mehrere gleichzeitig auftretende Faktoren bedingt sein (Denninger et al., 2000). Grundsätzlich kann man zwischen lokalen und systemischen Risikofaktoren unterscheiden (Meuwly et al., 2012; Ponziani et al., 2010; Rajani et al., 2010). Zu den lokalen Faktoren zählen u.a. die bereits erwähnte LCi, maligne hepatobiliäre Tumore, entzündliche Abdominalerkrankungen, Infektionen sowie traumatische Läsionen der Pfortader. Zu den systemischen Ursachen zählen kongenitale und erworbene Thrombophilien sowie eine MPD. Lokale und systemische Ursachen können auch gemeinsam auftreten. Wenn lokale Ursachen fehlen, dann ist die PVT in ca. 30-40% der Fälle auf eine MPD zurückzuführen (Meuwly et al., 2012; Rajani et al., 2010).

1.2.2.2 Klinik und Diagnostik

Klinische Zeichen einer PVT sind nicht immer einfach zu erkennen, in einigen Fällen kann die PVT nämlich auch inapparent verlaufen. Es kann zwischen einem akuten und einem chronischen Verlauf der PVT unterschieden werden (DeLeve et al., 2009; Greten, 2005; Greten et al., 2010; Hoekstra & Janssen, 2009; Meuwly et al., 2012; Ponziani et al., 2010). Die Klinik ist u.a. abhängig von der Entwicklung einer PVT sowie dem Ausmaß der Kollateralkreisläufe. Zeichen der Darmischämie mit starken Bauchschmerzen, Diarrhö, Übelkeit, Erbrechen, Fieber, Laktatazidose, Sepsis und Splenomegalie sind typisch für den Verlauf einer akuten PVT. Im Gegensatz dazu kann eine chronische PVT völlig asymptomatisch verlaufen oder ist gekennzeichnet durch Splenomegalie, Panzytopenie, Varizenbildung und eventuell leichter Aszitesbildung (DeLeve et al., 2009; Ponziani et al., 2010). Gastrointestinale Blutungen sind in 20% bis 40% der Fälle eine der ersten Anzeichen einer chronischen PVT (Hoekstra & Janssen, 2009; Ponziani et al., 2010).

Zur Diagnostik der PVT werden v.a. bildgebende Verfahren eingesetzt. Früher dienten häufig invasive Methoden wie die Angiografie zur Aufklärung einer PVT. Heute stehen vorwiegend nicht-invasive Untersuchungstechniken im Mittelpunkt (Cohen et al., 1992). Dabei wird der Ultraschall als Mittel der Wahl zur Sicherung einer PVT eingesetzt. Die farbkodierte Dopplersonografie zeigt eine Sensitivität und Spezifität von 66% bis 100% (Chawla, Duseja, & Dhiman, 2009; Ponziani et al., 2010). Aber auch die CT und die MRT werden zur zusätzlichen Diagnosesicherung angewendet (Chawla et al., 2009).

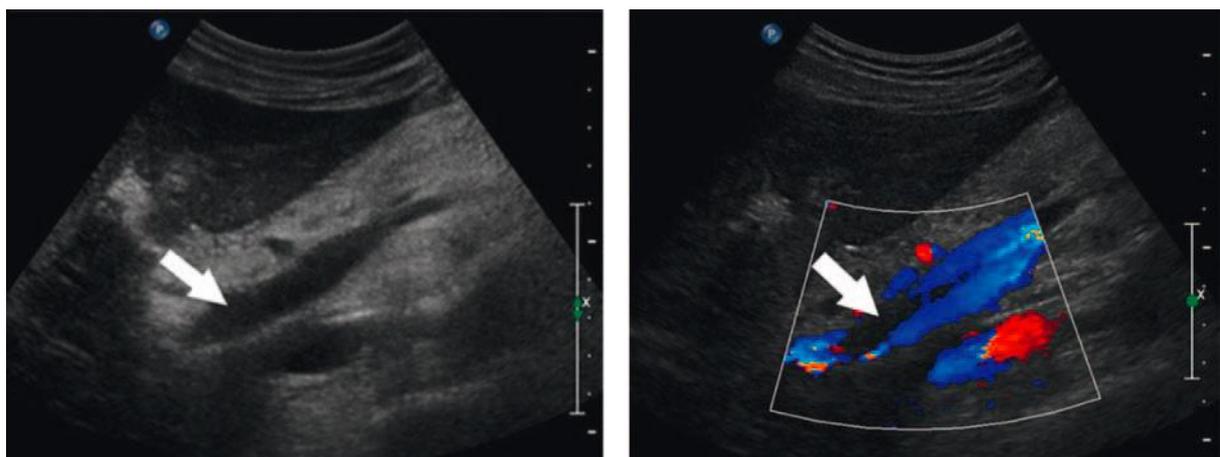


Abb. 3: Darstellung einer PVT in der Sonografie.

A: Darstellung der Hauptachse der Portalvene: Thrombus (Pfeil). **B:** Farbiges Doppler-Sonogramm; Das Gebiet ohne Signal entspricht dem Thrombus (Pfeil) (Meuwly et al., 2012).

1.2.3 Genmutationen

1.2.3.1 JAK2 V617F Mutation

Die somatische Punktmutation JAK2 V617F wurde 2005 das erste Mal bei Patienten mit den klassischen Myeloproliferativen Syndromen (MPS) Polycythaemia Vera (PV), Essentielle Thrombozythämie (ET) und Osteomyelofibrose (OMF) beschrieben (Baxter et al., 2005; James, Ugo, Le Couédic, et al., 2005; Kralovics et al., 2005; Levine et al., 2005; Tefferi et al., 2009; Zhao et al., 2005). Die JAK2 V617F Mutation kommt bei etwa 95% der Fälle mit PV vor. Bei der ET und der OMF liegt die Häufigkeit der Mutation bei ca. 50% (Tefferi et al., 2009). Bei allen anderen Myeloproliferativen oder Myelodysplastischen Erkrankungen als den 3 klassischen MPS kommt die Mutation deutlich seltener vor. Bei Myelodysplastischen Syndromen (MDS) wird ihre Häufigkeit mit maximal 5% angegeben (Horn, 2009; Jones et al., 2005; Scott et al., 2005; Steensma et al., 2005).

Bei den JAK-Kinasen handelt es sich um zytoplasmatische Tyrosinkinase, die mit einer Reihe von Rezeptoren interagieren (Horn, 2009). Die Januskinase 2 spielt eine Schlüsselrolle in der Signalvermittlung bei Rezeptoren der blutbildenden Wachstumsfaktoren, wie beispielsweise dem Erythropoietinrezeptor oder dem Thrombopoietinrezeptor (Baxter et al., 2005). Siehe Abb. 4.

Bei der JAK2 V617F Mutation kommt es an der Nukleotidposition 1849 zu einem Austausch von einem Guaninrest gegen einen Thyminrest. Dies wiederum bewirkt, dass auf der Proteinebene die Aminosäure Valin durch Phenylalanin an Position 617 substituiert wird (Austin & Lambert, 2008; Baxter et al., 2005; Horn, 2009; James, Ugo, Le Couédic, et al., 2005; Kralovics et al., 2005; Levine et al., 2005; Roskos, 2008; Tefferi et al., 2009). Die Mutation befindet sich in Exon 14 in der inhibierenden Pseudokinasedomäne von JAK 2. Dies bewirkt einen Wegfall der autogenen Hemmung und eine dadurch bedingte Daueraktivität des veränderten Proteins. Die Zelle wird somit ständig zu Proliferation und Wachstum angeregt (Austin & Lambert, 2008; Campbell et al., 2005; Horn, 2009; James, Ugo, Casadevall, Constantinescu, & Vainchenker, 2005; Roskos, 2008; Villeval, James, Pisani, Casadevall, & Vainchenker, 2006).

Mit dieser Erkenntnis lassen sich prothrombotische Risiken bei Patienten mit einer JAK2 V617F Mutation erklären. Durch die Autonomie der Wachstumsfaktoren blutbildender Vorläuferzellen kommt es zu einer vermehrten Produktion von Erythrozyten, Thrombozyten und Granulozyten (Bellucci & Michiels, 2006; James, Ugo, Casadevall, et al., 2005; Roskos,

2008; Villeval et al., 2006). Die gesteigerte Erythropoese bewirkt u.a. einen erhöhten Hämatokrit sowie eine erhöhte Viskosität des Blutes und stellt somit einen der prothrombotischen Faktoren dar (Bellucci & Michiels, 2006; Roskos, 2008).

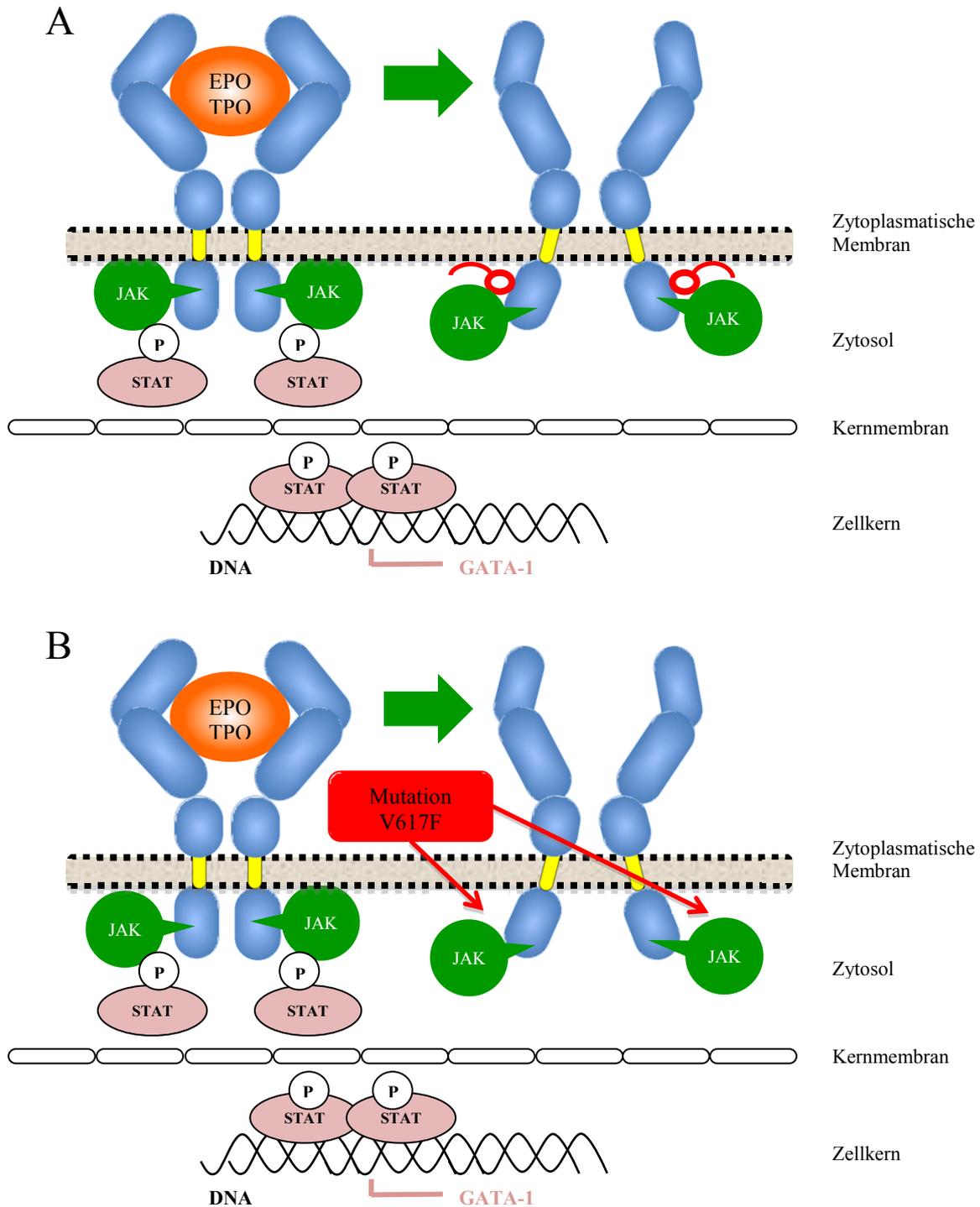


Abb. 4: Signalweg der EPO- und TPO-Rezeptoren und die JAK2 V617F Mutation in Anlehnung an Lambert & Duchosal (Lambert & Duchosal, 2007)

„Die EPO- und TPO-Rezeptoren sind Homodimere, bei denen der zytoplasmatische Teil durch das JAK2-Protein in Anwesenheit des Liganden phosphoryliert wird. Diese Aktivierung hat die Phosphorylierung von STAT zur Folge, welche dem Kern das Signal zur Proliferation übermittelt.

A) JAK2 verfügt über einen inhibitorischen Bereich, der die Reaktion unterbrechen kann, sobald der Ligand abgetrennt wird.

B) Die V617F-Mutation inaktiviert diesen hemmenden Bereich. Man vermutet, dass es damit zu einer autonomen Aktivierung von JAK2 ohne Bindung des Liganden kommen kann, wodurch ein verlängertes intrazelluläres Signal zur Proliferation übermittelt wird“ (Lambert & Duchosal, 2007).

1.2.3.2 FVL G1691A Mutation

Björn Dahlbäck beobachtete 1993 das erste Mal eine „Resistenz gegen aktiviertes Protein C“. Als häufigste Ursache dieser Resistenz bestätigten dann Bertina und Reitsma 1994, dass eine Punktmutation im Faktor-V-Gen zugrunde liegt (Dentali et al., 2008; Dörner, 2006). Es handelt sich dabei um einen Basenaustausch (G→A) im Exon 10 an der Position 1691 im Faktor-V-Gen. Dies führt im Faktor-V-Protein zu einem Austausch der Aminosäure Arginin durch Glutamin an der Aminosäureposition 506 (Amitrano et al., 2000; Dörner, 2006; Mahmoud, Elias, Beauchamp, & Wilde, 1997; Wood & Philips, 2003).

Die Neutralisation der aktivierten Gerinnungsfaktoren V und VIII geschieht durch aktiviertes Protein C (APC) bzw. Protein S (Mahmoud et al., 1997). APC inaktiviert die prokoagulatorischen Faktoren V und VIII in ihrer aktiven Form durch proteolytische Spaltung. Beim Vorliegen einer Faktor-V-Leiden-Mutation läuft diese Spaltung 10 mal langsamer ab (Dörner, 2006; Mahmoud et al., 1997). Daraus ergibt sich, dass aktivierter Faktor V nicht ausreichend inaktiviert werden kann und es besteht eine erhöhte Gerinnungsneigung des Blutes und somit eine erhöhte Thrombosegefahr (Bertina et al., 1994; Dörner, 2006). In Mitteleuropa kommt die FVL G1691A Mutation bei ca. 5 % der Bevölkerung (heterozygote Träger; homozygote Träger sind selten) vor und wird autosomal dominant vererbt (Renz, 2009). Das bedeutet, dass heterozygote Mutationsträger symptomatisch werden können. Heterozygote Träger haben ein fünf- bis zehnfach erhöhtes Thromboserisiko, homozygote Träger sogar ein fünfzig- bis hundertfach erhöhtes Thromboserisiko (Witt, 1998). Die Faktor-V-Leiden-Mutation gehört zur häufigsten Ursache angeborener Thrombophilien (Janssen et al., 2000; Mahmoud et al., 1997; Poort, Rosendaal, Reitsma, & Bertina, 1996) und ist der häufigste genetische Risikofaktor für Venenthrombosen (Kujovich, 2011).

Die Diagnostik einer Faktor-V-Leiden-Mutation erfolgt anhand von Gentests (siehe Teil Methoden). Ein Test für eine Faktor-V-Leiden-Mutation ist heute einer der häufigsten angeforderten molekulargenetischen Tests. Es gibt keine klinisch spezifischen Merkmale für

eine Faktor-V-Leiden-Mutation. Ein Gentest wird bei Patienten mit erhöhter familiärer Mutationsprävalenz sowie bei wiederholten Venenthrombosen in der Vergangenheit oder dem Vorkommen der ersten Venenthrombose vor dem 50. Lebensjahr empfohlen. Zudem sollte ein Test auch bei Patienten mit Venenthrombosen an unüblichen Lokalisationen wie den zerebralen-, mesenterialen-, hepatischen- oder portalen Venen durchgeführt werden (Kujovich, 2011).

Zirka 60 Prozent der Thrombosen im Rahmen einer Faktor-V-Leiden-Mutation treten spontan auf, bei 40 Prozent besteht ein Zusammenhang mit exogenen Risikofaktoren, wie Operation, Schwangerschaft oder der Einnahme oraler Kontrazeptiva (Witt, 1998).

Eine Venenthrombose im Rahmen einer Faktor-V-Leiden-Mutation wird wie Thrombosen im Allgemeinen mit Antikoagulanzen wie Heparin therapiert. Dabei wird bei der ersten akuten Venenthrombose eine Kurzzeittherapie angestrebt. Bei dem Verdacht auf Wiederholungsrisiko einer Venenthrombose wird eine Verlängerung der Antikoagulationstherapie erforderlich. Bei Patienten mit vorübergehenden Risikofaktoren wird eine Therapie von mindestens 3 Monaten empfohlen. Die optimale Dauer einer Antikoagulationstherapie bei heterozygoten Patienten mit einer Faktor-V-Leiden-Mutation ist unklar und nicht prospektiv untersucht. Heterozygote Träger im Allgemeinen haben jedoch keine Indikation für eine Langzeittherapie mit Antikoagulanzen. Eine Langzeittherapie wird nur bei homozygoten Trägern sowie bei Patienten mit mehreren Thrombosen oder weiteren Thrombophilie-Faktoren empfohlen (Kearon et al., 2008; Kujovich, 2011).

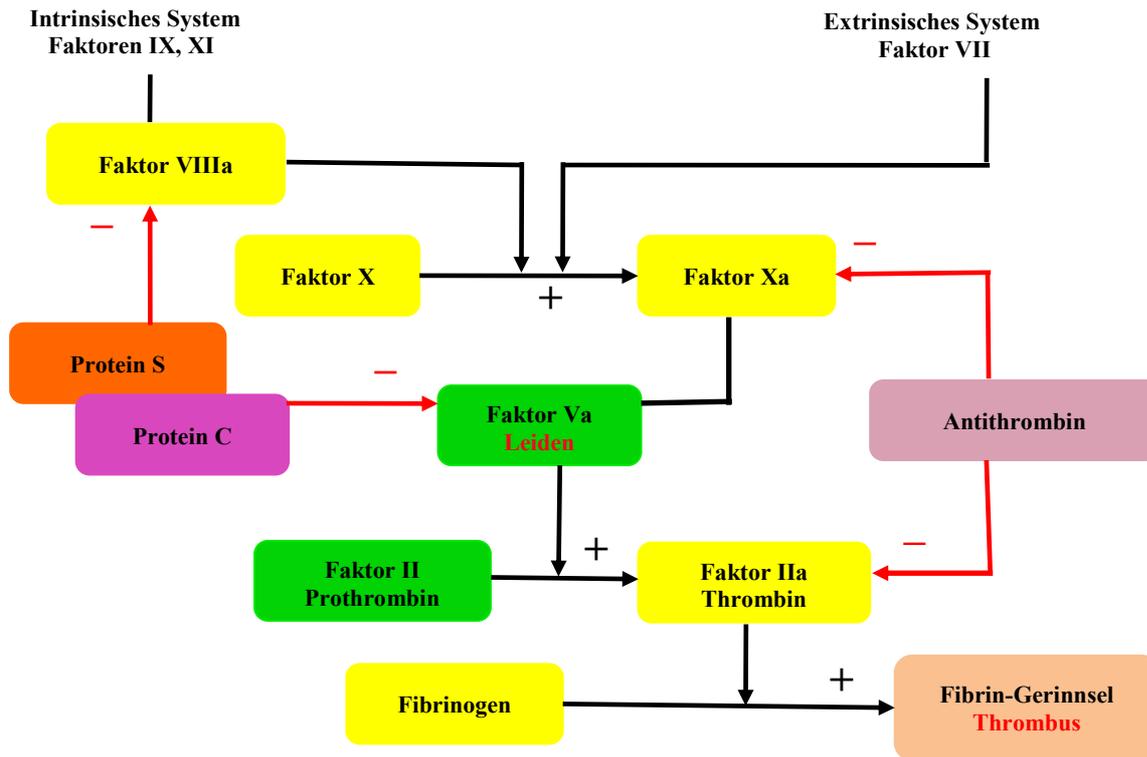


Abb. 5: Vereinfachtes Schema der Gerinnungskaskade in Anlehnung an Schwaab (Schwaab)

1.2.3.3 Prothrombin G20210A Mutation

1996 haben Poort und seine Mitarbeiter eine Mutation im Prothrombin- (Faktor-II-) Gen entdeckt, die mit einem fast 3-fach erhöhten Thromboserisiko einhergeht. Bei gleichzeitigem Vorhandensein einer Prothrombin G20210A Mutation und einer FVL G1691A Mutation besteht ein 20-fach erhöhtes Thromboserisiko. Es handelt sich bei dieser Mutation um einen G→A Basenaustausch an der Position 20210 im 3'-untranslatierten Teil des Gens. Über eine Erhöhung der mRNA-Prozessierung führt dies zu einer vermehrten Proteinsynthese des Prothrombins. Dadurch kommt es zu einer erhöhten Prothrombin- (Faktor-II-) Konzentration im Plasma und einer damit verbundenen erhöhten Gerinnungsneigung (Amitrano et al., 2006; Dörner, 2006; Janssen et al., 2000; McGlennen & Key, 2002). Prothrombin ist die Vorstufe des aktiven Gerinnungsenzyms Thrombin und Thrombin hat eine essentielle Rolle im Ablauf der Gerinnungskaskade (Poort et al., 1996). In der Normalbevölkerung beträgt die Prävalenz dieser Mutation (heterozygote Träger) etwa 1-2% (Dörner, 2006). Siehe Abb. 5.

Zur Diagnose dieser Mutation werden vorwiegend Gentests durchgeführt (siehe Teil Methoden). Diese Tests werden bei Patienten empfohlen, die eine erhöhte familiäre Mutationsprävalenz aufweisen. Außerdem sollte ein solcher genetischer Test bei Patienten mit vermehrten Venenthrombosen in der Vergangenheit sowie bei Vorkommen der ersten

Venenthrombose vor dem 50. Lebensjahr durchgeführt werden. Zudem wird eine Prothrombin G20210A Mutationstestung auch dann empfohlen, wenn die erste Venenthrombose an unüblichen Lokalisationen wie einer zerebralen-, mesenterialen-, portalen- oder hepatischen Vene vorkommt (McGlennen & Key, 2002).

Zirka die Hälfte der Venenthrombosen im Rahmen einer Prothrombin G20210A Mutation treten spontan auf, bei etwa 50 Prozent besteht ein Zusammenhang mit exogenen Risikofaktoren wie Operation, Immobilisation, Schwangerschaft oder die Einnahme oraler Kontrazeptiva. Routinetestungen auf eine Prothrombin G20210A Mutation werden jedoch in der Normalbevölkerung vor Auftreten solcher Ereignisse nicht durchgeführt (McGlennen & Key, 2002).

Venenthrombosen bei Patienten mit einer Prothrombin G20210A Mutation werden mit Antikoagulanzen wie Heparin therapiert. Bei einer ersten akuten Venenthrombose werden Niedermolekulare Heparine bevorzugt. Diese werden vorwiegend gewichtsadaptiert über einen Zeitraum von mindestens 5 Tagen verabreicht. Wenn eine Prothrombin G20210A Mutation als einziger prothrombotischer Risikofaktor für die Entstehung einer Venenthrombose verantwortlich ist, dann wird nach der ersten Venenthrombose keine verlängerte Antikoagulationstherapie durchgeführt, da ein Wiederholungsrisiko gering ist. Somit werden diese Patienten nach einer ersten Venenthrombose gleich lang mit Antikoagulanzen behandelt wie Patienten, die einen normalen Genotyp aufweisen. Bei gleichzeitigem Bestehen einer Prothrombin G20210A Mutation und einer Faktor-V-Leiden-Mutation besteht eine erhöhte Gefahr für wiederholte Venenthrombosen. In diesem Fall ist eine Langzeittherapie mit Antikoagulanzen erforderlich (De Stefano et al., 1999; De Stefano et al., 2001; McGlennen & Key, 2002).

2. Zielsetzung und Fragestellung

Die LCi und MPD sind Hauptrisikofaktoren für die Entstehung einer PVT (Xavier et al., 2010). Bei einem erheblichen Teil der Patienten mit MPD kommt die JAK2 Mutation vor. Einige Studien haben gezeigt, dass bei diesen Patienten mit einer JAK2 Mutation ein deutlich erhöhtes Risiko für die Entstehung einer PVT besteht. Diese thrombotischen Komplikationen sind am wahrscheinlichsten auf eine durch die JAK2 Mutation bedingte Erhöhung der blutbildenden Zellreihen zurückzuführen (Janssen & Leebeek, 2006).

Die Häufigkeit der JAK2 Mutation bei Patienten mit LCi mit oder ohne Vorhandensein einer PVT ist von großer klinischer Bedeutung. Allerdings gibt es im Gegensatz zu den MPD nur wenige Daten, welche die Prävalenz der JAK2 Mutation bei Patienten mit LCi und zugleich bestehender PVT untersucht haben (Qi, Yang, et al., 2011).

Eine PVT zeigt bei Patienten mit einer LCi deutliche klinische Konsequenzen. Somit kann diese beispielsweise zu einer erheblichen Verschlechterung der Erkrankung führen. Außerdem können therapeutische, v.a. lokal-interventionelle und chirurgische Interventionen im Rahmen einer PVT oft nur unter erschwerten Bedingungen stattfinden. In manchen Fällen sind diese sogar nicht möglich. Eine Lebertransplantation kann beispielsweise bei vorhandener PVT unter Umständen nicht durchgeführt werden. Aus diesen Gründen ist eine klare Identifikation der Risikofaktoren für die Entstehung einer PVT bei Patienten mit Lebererkrankungen von großer Bedeutung.

Demzufolge war das Ziel dieser aktuellen Studie, die Häufigkeit der JAK2 V617F Mutation bei Patienten mit LCi und gleichzeitig bestehender PVT zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Fallgruppe wurden mit 2 Kontrollgruppen verglichen. Bei der Kontrollgruppe 1 hatten die Patienten eine LCi, aber das Vorhandensein einer PVT fehlte. Die Kontrollgruppe 2 bestand aus Patienten mit PVT, aber ohne Bestehen einer LCi. Zusätzlich zur JAK2 V617F Mutation wurden auch die Häufigkeiten der FVL G1691A Mutation und der Prothrombin G20210A Mutation bei diesen 3 Gruppen ausgewertet.

Unsere Hypothese ist, dass bei einem klinisch relevanten Anteil der Patienten mit LCi und PVT eine JAK2 V617F Mutation nachgewiesen werden kann.

3. Methoden

3.1 Studiendesign

Diese Fall-Kontroll-Studie wurde in der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München im Zeitraum zwischen Dezember 2009 und August 2011 durchgeführt. Die nötigen Daten für die Studie wurden retrospektiv aus den Krankenakten dokumentiert. Fehlende Informationen wurden von den Patienten zum Zeitpunkt der Studie erfragt und nachgetragen. Um eventuelle Störfaktoren auszuschalten, wurden Patienten mit der zusätzlichen Diagnose eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) von der Studie ausgeschlossen.

3.2 Studienablauf

Patienten mit der Diagnose einer PVT mit oder ohne das Vorhandensein einer LCi, die früher im Klinikum rechts der Isar behandelt worden sind, wurden mit Hilfe der elektronischen Datenbanken (SAP System) des Krankenhauses identifiziert, kontaktiert und nach schriftlicher Einwilligungserklärung für die Studie eingetragen.

Zusätzlich wurden Patienten, bei denen eine PVT mit oder ohne LCi sowie eine LCi ohne PVT neu entdeckt wurde, während des Verlaufs der Studie nach schriftlicher Einwilligungserklärung aufgenommen. Es wurden auch Patienten kontaktiert, von denen ein Teil der Daten bzw. die Blutproben für die Untersuchung der Gen-Mutationen fehlten. Dafür wurde der Patient ans Klinikum rechts der Isar gebeten und die Blutproben abgenommen.

Bevor mit der Studie begonnen wurde, ist diese von der Ethikkommission der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München begutachtet und zustimmend bewertet worden.

An der Studie haben nur Patienten teilgenommen, von denen vorher eine schriftliche Einwilligungserklärung eingeholt worden ist. In dieser Erklärung stand das Prinzip der Studie beschrieben und es wurde erklärt, wofür die eingeholten Daten verwendet werden. Die Patienten sind somit sowohl schriftlich als auch mündlich ausführlich über den Ablauf der Studie informiert worden.

3.3 Patienten

In der Fallgruppe (FG) (LCi+/PVT+) wurden Patienten mit LCi und PVT, aber ohne bekannten MPD in der Vorgeschichte, auf das Vorhandensein der JAK2 V617F Mutation, der

FVL G1691A Mutation und der Prothrombin G20210A Mutation untersucht. Die Daten der FG wurden dann mit 2 Kontrollgruppen verglichen. Bei der Kontrollgruppe 1 (KG1) (LCi+/PVT-) handelte es sich um Patienten, bei denen eine LCi ohne begleitende PVT festgestellt wurde. In der Kontrollgruppe 2 (KG2) (LCi-/PVT+) hatten die Patienten eine PVT, jedoch fehlte das Vorhandensein einer LCi. Nach intensivem Studium der Krankenakten konnten am Ende 93 Patienten in die Studie aufgenommen werden. Davon gehörten 21 Patienten der FG (LCi+/PVT+) an. Die KG1 (LCi+/PVT-) bestand aus 43 Patienten und die KG2 (LCi-/PVT+) hatte 29 Patienten.

Gruppe 1: Fallgruppe	Patienten mit LCi und PVT (21 Patienten)
Gruppe 2: Kontrollgruppe 1	Patienten mit LCi ohne PVT (43 Patienten)
Gruppe 3: Kontrollgruppe 2	Patienten ohne LCi mit PVT (29 Patienten)

Tab. 4: Verteilung der Patientengruppen

3.4 Erfasste Parameter

Genauere Angaben über die erfassten Parameter der Patienten werden in der Tab. 5 dargestellt. Fehlende Angaben werden in der Tab. 6 gezeigt.

Neben den demografischen Daten wie Alter und Geschlecht wurden klinische Daten mit Hilfe der Krankenakten erfasst. Dabei wurde das Vorhandensein einer PVT und einer LCi dokumentiert. Zusätzlich wurde die Ursache der LCi ermittelt.

Die folgenden Laborwerte wurden bei den Patienten wiederum mit Hilfe der Krankenakten sowie der elektronischen Datenbanken (SAP) erhoben: Hämoglobin, Leukozyten, Thrombozyten, International Normalized Ratio (INR), Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Bilirubin im Serum, Aspartat-Aminotransferase (AST), Alanin-Aminotransferase (ALT), Alkalische Phosphatase (AP), Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT), Albumin im Serum, Gesamtproteine im Serum, Kreatinin im Serum und Blutharnstoff.

Der Schweregrad der LCi wurde mit Hilfe der Child-Pugh-Klassifikation ermittelt. Für diese Einteilung waren neben den Laborparametern Albumin im Serum, Bilirubin im Serum und Quick, die in der Sonografie ermittelte Aszitesmenge sowie der Grad der hepatischen Enzephalopathie erforderlich. Außerdem wurde der Schweregrad der LCi zusätzlich mit dem MELD-Score berechnet. Für diesen wurden die Laborparameter Kreatinin im Serum, Bilirubin im Serum und der INR-Wert verwendet. Aufgrund fehlender Laborwerte konnte die

Methoden

Child-Pugh-Klassifikation und der MELD-Score nur in 29/64 beziehungsweise in 56/64 Fällen der Patienten mit LCi berechnet werden.

Die Blutuntersuchungen erfolgten bei den Patienten mit PVT (LCi+/PVT+ Gruppe und LCi-/PVT+ Gruppe) in etwa um den Zeitraum der Diagnosestellung.

	LCi+/PVT+ Fallgruppe (FG)	LCi+/PVT- Kontrollgruppe 1 (KG1)	LCi-/PVT+ Kontrollgruppe 2 (KG2)
Anzahl der Patienten, n	21	43	29
Alter, Jahre	55±9	58±10	55±15
Geschlecht, Frauen	6	17	11
PVT, n	21	0	29
LCi, n	21	43	0
Alkoholische LCi, n	8	36	-
LCi durch Hepatitis B oder C, n	5	6	-
Kryptogene LCi, n	3	3	-
LCi durch Primär biliäre Zirrhose (PBC), n	2	1	-
LCi durch Primär sklerosierende Cholangitis (PSC), n	2	0	-
LCi durch Morbus Wilson, n	1	0	-
Child-Pugh-Score, Punkte:	9,4±2,3	8,4±2,6	-
MELD-Score Punkte:	15,4 (6,4–28,0)	17,2 (7,5-47,5)	-
Hämoglobin, g/dl	11,8±2,3	10,7±1,9	12,3±2,3
Leukozyten, g/l	6,4 (2,7-10,5)	6,5 (3,1-19,0)	7,9 (3,0-12,7)
Thrombozyten, g/l	71 (32-208)	100 (39-247)	261 (47-633)
International normalized Ratio (INR)	1,3 (1,0-2,2)	1,4 (1,1-3,0)	1,1 (1,0-1,6)
Aktivierete partielle Thromboplastinzeit (aPTT), sec	45 (32-59)	43 (32-81)	33 (27-49)
Bilirubin i.S., mg/dl	2,3 (0,2-9,8)	2,7 (0,7-27,0)	0,9 (0,3-3,3)
Aspartat-Aminotransferase (AST), U/l	54,0 (23,0-418,0)	56,0 (24,0-661,0)	36,0 (19,0-85,0)
Alanin-Aminotransferase (ALT), U/l	32,0 (17,0-336,0)	37,0 (12,0-108,0)	33,0 (12,0-159,0)
Alkalische Phosphatase (AP), U/l	104 (55-574)	147 (67-345)	111 (66-633)
Gamma-Glutamyltransferase (γ-GT), U/l	72 (11-730)	111 (34-1635)	121 (17-1158)
Albumin i.S. g/dl	3,0±0,9	3,1±0,6	4,2±0,4
Gesamtproteine i.S., g/dl	6,0±2,0	6,2±0,9	7,0±1,2
Kreatinin i.S., mg/dl	0,9 (0,6-2,7)	0,9 (0,6-3,5)	0,8 (0,6-1,1)
Blutharnstoff, mg/dl	17 (7-102)	19 (6-74)	12 (5-17)

Tab. 5: Erfasste Parameter der Patienten

Fehlende Laborwerte, n	Fallgruppe n=21	Kontrollgruppe 1 n=43	Kontrollgruppe 2 n=29
Hämoglobin	1	1	1
Leukozyten	1	1	1
Thrombozyten	1	1	1
INR	1	5	2
aPTT	1	5	2
Bilirubin i.S.	2	0	4
AST	2	8	2
ALT	4	10	2
AP	4	8	4
γ -GT	4	8	3
Albumin i.S.	6	28	22
Totalproteine i.S.	11	26	11
Kreatinin i.S.	1	2	3
Blutharnstoff	5	11	4

Tab. 6: Fehlende Laborparameter der Patienten

3.5 Nachweis der JAK2 V617F-, Prothrombin G20210A, -und FVL G1691A Mutation

Die DNA der Blutproben wurde anhand von Standardverfahren aufgearbeitet (Qiagen Blood and Tissue Kit, Qiagen Inc., Valencia, California), die Konzentration photometrisch bestimmt (Nanodrop® [Thermo scientific]), und alle Proben auf eine Konzentration von 30 ng/µl eingestellt. Der Nachweis der JAK2 V617F Mutation, der Prothrombin G20210A Mutation und der FVL G1691A Mutation wurde mit Hilfe der Schmelzkurvenanalyse mit dem Roche LightCycler 480 Real-Time PCR System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) durchgeführt. Es ist ein auf Platten basierendes „Realtime PCR-Verfahren“, welches eine Mutationsanalyse mittels Schmelzkurven ermöglicht. Die Software des LightCycler 480 zur Genotypisierung und zur Auffindung von Mutationen kann kombiniert werden mit optimierten Reagentien, die sowohl für die Genotypisierung als auch für die Gensuche gemacht sind. Dieses System ermöglicht exakte Werte, die auf der Grundlage von Profilen der Schmelzkurvenanalysen entstehen (Grievink & Stowell, 2008; Hoffmann, Hurlebaus, & Weilke, 2008).

„Real-Time-PCR“: Um schnelle Mutationsanalysen in größeren Mengen durchzuführen, wird die sogenannte „Real-Time-PCR“ verwendet. Hierbei erfolgt im Rahmen der Mutationsanalyse im ersten Schritt nur eine Amplifikation des Genabschnittes von Interesse mit konventionellen Primern (FP, RP).

Im nächsten Schritt erfolgt die eigentliche Mutationsanalyse mit Hilfe von Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer (FRET) Hybridisierungsproben (FRET-Sonden), die bereits während der RT-PCR im Probengefäß vorhanden sind. Hierbei handelt es sich um zwei Oligonukleotide, die an benachbarten Sequenzen eines DNA Abschnittes im Bereich der Mutation binden. Jede Sonde ist mit einem unterschiedlichen Farbstoff markiert. Eine messbare Lichtemission erfolgt nur, wenn sich die Farbstoffe in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander befinden, wenn also die Sonden an die Zielsequenz gebunden haben. Da bei niedriger Temperatur (fast) alle Sonden an die Zielsequenz gebunden haben, resultiert eine hohe Lichtemission. Bei steigender Temperatur lösen sich die Bindungen langsam, bis ab einer bestimmten Temperatur nahezu alle Sonden in ungebundener Form vorliegen. Während dieses „Schmelzens“ der Sonden von der DNA nimmt die Lichtemission ab, da sich zunehmend weniger Farbstoffe in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander befinden. Die Sondensequenz kann komplementär zur Wildtyp (wt)-DNA oder komplementär zur DNA mit

der Punktmutation sein. Bei einer Sondensequenz komplementär zur Wildtyp (wt)-Sequenz ist die Bindung der Sonden an wt-DNA stärker als die Bindung der Sonden an einen DNA Abschnitt mit der Punktmutation. Dies hat zur Folge, dass sich bei steigender Temperatur die Bindung einer Sonde von einem mutierten DNA Abschnitt bei niedrigerer Temperatur löst als von einer wt-DNA, d.h. die Lichtemission nimmt bereits bei einer niedrigeren Temperatur ab. Umgekehrt ist die Situation, wenn die Sondensequenz komplementär zur mutierten DNA Sequenz ist.

In jedem Fall kann anhand der verschiedenen Temperaturen, bei denen es zu einer Reduktion der Lichtemission kommt, das Vorhandensein der Mutation gezeigt werden (Abb. 6).

Die Sequenz der Primer und Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer (FRET) Hybridisierungs sonden waren aus der Literatur bekannt (Ameziane et al., 2003; Sutton, Allen, Zhao Zhizhuang, & Dunn, 2007) und werden in der Tab. 7 gezeigt. Bei der Schmelzkurvenanalyse mittels FRET-Sonden handelt es sich um eine sehr sensitive Mutationsnachweismethode. Sie ist eine schnelle, sichere und einfache Nachweismethode für die JAK2 Mutation, die Faktor-V-Leiden Mutation und die Prothrombin Mutation. Zudem ist sie günstiger als manch andere Nachweismethoden (Ameziane et al., 2003).

Die Rahmenbedingungen und der Aufbau für die Schmelzkurvenanalyse werden in der Tab. 8 gezeigt.

Die gewonnene DNA aus HEL-Zellen diente als positive Kontrolle für den Nachweis der JAK2 V617F Mutation (Quentmeier, MacLeod, Zaborski, & Drexler, 2006). Um die Allellast der JAK2 V617F Mutation bei ihren Genträgern zu bestimmen, wurden Schmelzkurven mit einer Verdünnungsreihe bestehend aus der DNA von HEL-Zellen ermittelt und mit den Schmelzkurven der Patienten verglichen. Der zuverlässig ermittelbare Mindestwert der JAK2 V617F Allellast waren 5%.

Als positive Kontrolle für den Nachweis der FVL G1691A Mutation und der Prothrombin G20210A Mutation dienten die Kontrollvorlagen des Faktor V Leiden Kit und des Faktor II (Prothrombin) G20210A Kit (beide wurden mit Roche Diagnostics durchgeführt). DNA von einer gesunden Person diente als Negativkontrolle, eine „No Template Control“ (NTC) diente als Kontaminationskontrolle.

Die repräsentativen Ergebnisse der Schmelzkurvenanalyse werden in der Abb. 6 gezeigt.

JAK2 V617F	Vorwärts- primer	TTC CTT AGT CTT TCT TTG AAG CA
	Rückwärts- primer	GTG ATC CTG AAA CTG AAT TTT CT
	Mutations- probe	LC640-CGT CTC CAC AGA CAC ATA CTC C-SPC3I
	Verankerungs- probe	AGG CAT TAG AAA GCC TGT AGT TTT ACT TAC T-FLU
Prothrombin G20210A	Vorwärts- primer	CCG CTG GTA TCA AAT GGG
	Rückwärts- primer	CAG TAG TAT TAC TGG CTC TTC CT
	Mutations- probe	TGA CTC TCA GCG AGC CTC AAT G-FLU
	Verankerungs- probe	LC640-CCA GTG CTA TTC ATG GGC AGC T-SPC3I
FVL G1691A	Vorwärts- primer	CCC CAT TAT TTA GCC AGG AG
	Rückwärts- primer	ATG AGA GAC ATC GCC TCT GG
	Mutations- probe	AGA TCC CTG GAC AGG CGA GGA ATA-FLU
	Verankerungs- probe	LC640-GGT ATT TTG TCC TTG AAG TAA CCT TTC AG-SPC3I

Tab. 7: Primer und Proben, die für den Nachweis der jeweiligen Mutation verwendet wurden.

Die **roten** Nukleotide markieren die Seite der Mutation. Es werden Wild-Typ Allele gezeigt.

	Temperatur °C	Zeit	Anstiegsrate C/s	Akquirierung
Erstdenaturierung	95°C	10 min.	4,4	Keine
Amplifikationszyklen 1-45	95°C	10 sec.	4,4	Keine
	58°C	20 sec.	2,2	Keine
	72°C	10 sec.	4,4	Keine
Schmelzkurve	95°C	1 min.	4,4	Keine
	40°C	1 min.	1,5	Keine
	75°C	N/A	0,11	Kontinuierlich
Kühlung	40°C	30 sec.	2,2	Keine

Tab. 8: Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Protokoll für die Amplifikation und Schmelzkurvenanalyse der JAK2 V617F-, Prothrombin G20210A- und FVL G1691A Mutation.

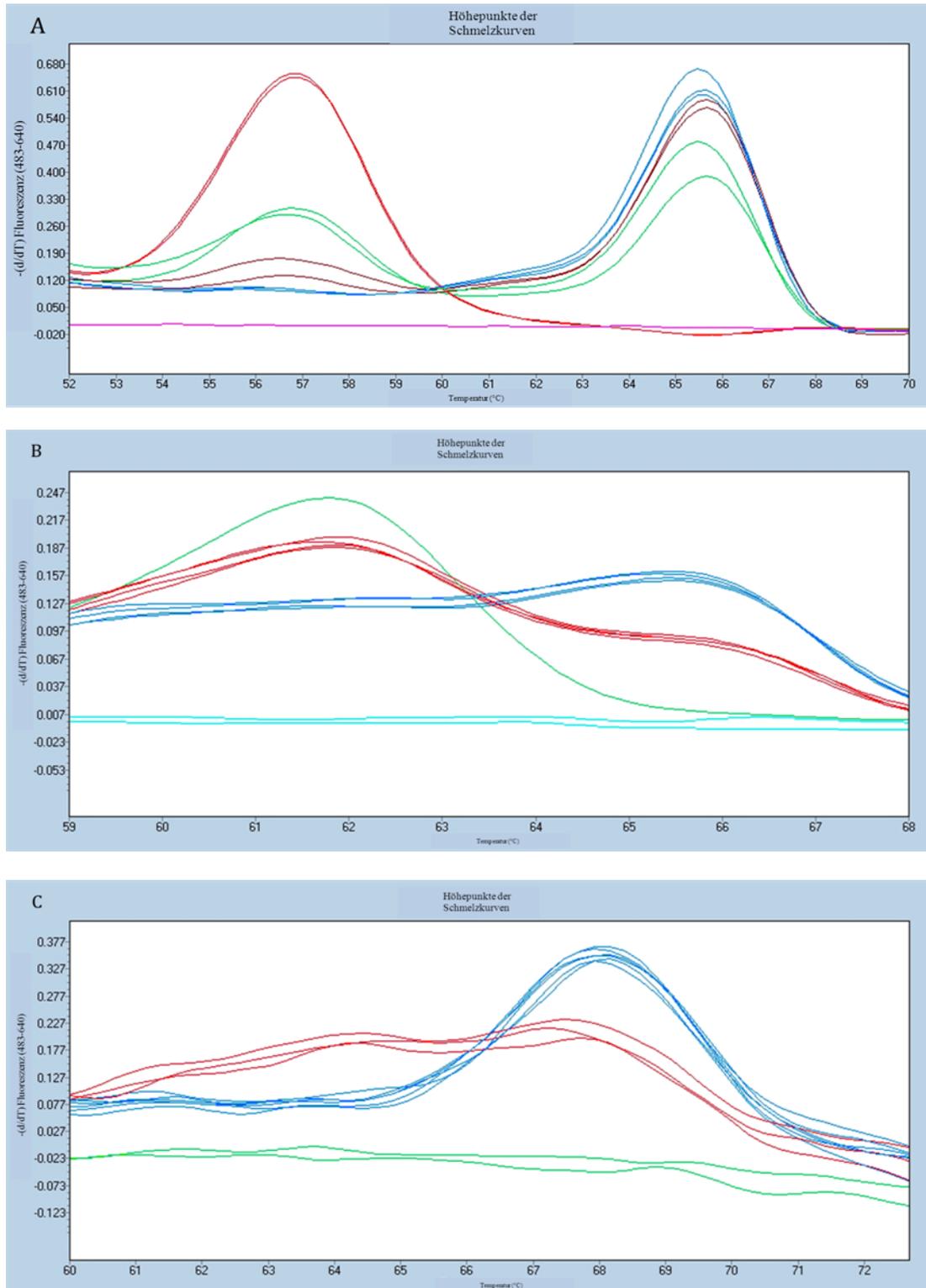


Abb. 6: Repräsentative Schmelzkurven der Patienten und Kontrollen für die JAK2 V617F-, FVL G1691A, -und Prothrombin G20210A Mutation

Die Kurven wurden hergeleitet, indem die Änderungen des Fluoreszenz-Signals im Verlauf der Zeit auf der Y-Achse (dF/dT) mit der Temperatur ($^{\circ}\text{C}$) auf der X-Achse korreliert wurden.

A) JAK2 V617F Mutation: Der erste Peak bei 56,8 °C zeigt die Mutant-Allele, der zweite Peak bei 65,5 °C zeigt die Wild-Typ Allele. Die roten Kurven resultieren aus den homozygoten HEL Zelllinien (Positiv-Kontrolle). Die blauen Kurven zeigen gesunde Individuen. Die grünen und die braunen Kurven kennzeichnen Patienten, die heterozygot sind im Bezug auf die JAK2 V617F. Die lilane Linie zeigt die „No Template Control“, bei der kein Amplifikationsprodukt erscheint.

B) FVL G1691A Mutation: Der erste Peak bei 61,8 °C zeigt die Mutant-Allele, wohingegen sich der Peak bei 65,6 °C auf die Wild-Typ Allele bezieht. Die blauen Kurven deuten auf gesunde Individuen hin. Die roten Kurven bezeichnen Patienten, die heterozygot sind im Bezug auf die FVL G1691A Mutation. Es ist zu beachten, dass die Patienten homozygot für die FVL G1691A Mutation sind, die keinen Peak bei 65,6 °C zeigen (grüne Kurve). Die hellblauen Linien zeigen, die „No Template Control“, bei der kein Amplifikationsprodukt erscheint.

C) Prothrombin G20210A Mutation: Der erste Peak bei ungefähr 64,2 °C zeigt die Mutant-Allele und der Peak bei 68°C präsentiert die Wild-Typ Allele. Die roten Kurven stellen die Patienten dar, die heterozygot in Bezug auf die Prothrombin G20210A Mutation sind. Die blauen Kurven zeigen gesunde Individuen. Die grünen Linien zeigen, die „No Template Control“, bei der kein Amplifikationsprodukt erscheint.

3.6 Statistische Analyse

Zur Analyse der statistischen Daten wurden sowohl deskriptive als auch explorative Methoden verwendet. Eine Beschreibung der Daten erfolgte durch Messgrößen für Lage und Variabilität.

Abhängig von der Art der Verteilung, sind die quantitativen Messgrößen durch den Mittelwert \pm Standardabweichung (bei normal verteilten Daten) oder den Median und Perzentilabstand (5% Perzentil – 95% Perzentil) (bei nicht normal verteilten Daten) gegeben. Ebenso wurden entsprechende Vergleiche der Studiengruppen bei normal verteilten Daten mit Hilfe des Student's T-Test durchgeführt. Bei Gruppenvergleichen von nicht normal verteilten Daten wurde hingegen der nicht parametrische Wilcoxon-Rangsummen-Test verwendet.

Die Verteilung der qualitativen Daten wurde anhand von Kontingenztabelle, welche sowohl absolute als auch relative Häufigkeiten beinhalten, aufgezeigt. Der Vergleich der relativen Häufigkeiten wurde in Abhängigkeit von den erwarteten Zelhäufigkeiten mittels Pearsons

Chi-Quadrat Test oder dem exakten Test nach Fisher angestellt. Alle Tests wurden auf einem 2-seitigen 5%-Signifikanzniveau durchgeführt.

Die statistischen Auswertungen erfolgten unter Verwendung des Programmpaketes IBM SPSS Statistics 19 (SPSS inc., Chicago, IL, USA) und dem statistischen Software-Paket R (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

4. Ergebnisse

4.1 Patienten und Patientenkriterien

Während der Studienperiode erfüllten ursprünglich 144 Patienten die Einschlusskriterien für diese Studie. Von diesen 144 Patienten verweigerten allerdings 32 die nötige Einverständniserklärung und konnten somit nicht in die Studienanalyse aufgenommen werden. Von diesen 32 Patienten, die dann von der Studie ausgeschlossen wurden, gehörten 6 Patienten der LCi+/PVT+ Gruppe (FG) an, 24 Patienten waren ursprünglich Teil der Gruppe der LCi+/PVT- (KG1) und 2 Patienten davon hätten der LCi-/PVT+ Gruppe (KG2) angehört.

19 Patienten wurden aufgrund eines hepatozellulären Karzinoms von der Studienanalyse ausgeschlossen. Von diesen 19 Patienten waren 7 Patienten ursprünglich in der Gruppe der LCi+/PVT+ und 12 Patienten davon gehörten ursprünglich in die LCi+/PVT- Gruppe.

Nach Ausschluss der oben genannten Patienten standen 93 Patienten zur Untersuchung in der gegenwärtigen Studie zur Verfügung. Die Anzahl und Verteilung der jeweiligen Patientengruppen wird in der Abb. 7 dargestellt.

Patienten, die eine LCi mit gleichzeitiger Diagnose einer PVT hatten, gehörten in die zu untersuchende Fallgruppe (FG) (LCi+/PVT+ Gruppe; 21 Patienten). Die Kontrollgruppe 1 (KG1) beinhaltete diejenigen Patienten, die als Diagnose eine LCi ohne bestehender PVT hatten (LCi+/PVT- Gruppe; 43 Patienten). In der Kontrollgruppe 2 (KG2) befanden sich nun die Patienten, bei denen eine PVT in Abwesenheit einer LCi diagnostiziert wurde (LCi-/PVT+ Gruppe; 29 Patienten).

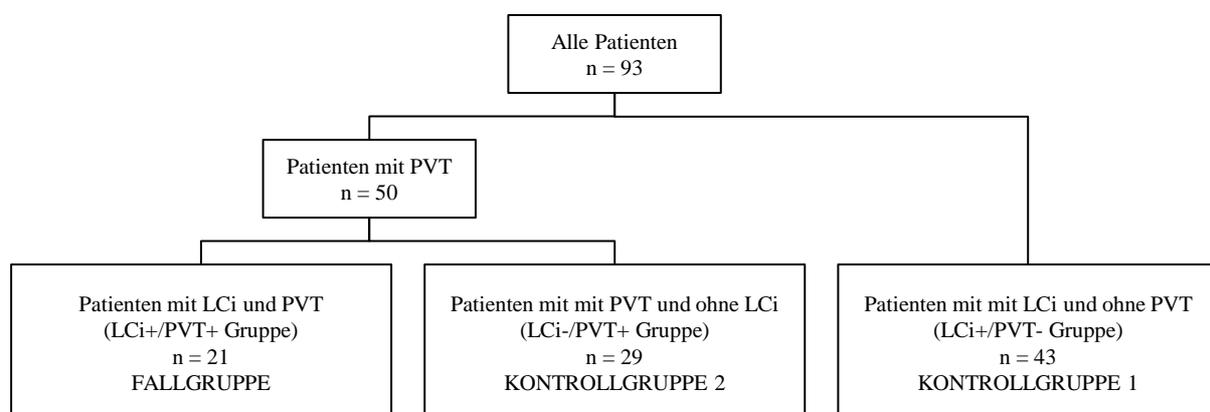


Abb. 7: Anzahl und Verteilung der jeweiligen Patientengruppen

4.1.1 Alter und Geschlecht der Patienten

In der LCI+/PVT+ Gruppe (FG) hatten die Patienten ein Alter von 55 ± 9 Jahren. Bei der LCI+/PVT- Gruppe (KG1) waren es 58 ± 10 Jahre und in der Gruppe der LCI-/PVT+ (KG2) waren die Patienten 55 ± 15 Jahre alt. Es zeigten sich keine signifikanten Altersunterschiede zwischen den Gruppen. Siehe dazu Tab. 9:

	LCI+/PVT+ (FG)	LCI+/PVT- (KG1)	LCI-/PVT+ (KG2)	p-Wert der Gruppenvergleiche		
				FG vgl. KG1	FG vgl. KG2	KG1 vgl. KG2
Alter, Jahre	55±9 Jahre	58±10 Jahre	55±15 Jahre	0,296	0,959	0,357

Tab. 9: Vergleich des Alters zwischen den Patientengruppen

In der LCI+/PVT+ Gruppe (FG) waren insgesamt 21 Patienten vertreten. Von diesen 21 Patienten waren 6 Frauen (29%). Bei der LCI+/PVT- Gruppe (KG1) hatten von insgesamt 43 Patienten 17 davon das weibliche Geschlecht (40%). Von der LCI-/PVT+ Gruppe (KG2) waren von insgesamt 29 Patienten 11 davon weiblich (38%). Alle 3 Patientengruppen bestanden aus mehr Männern als Frauen. Siehe dazu Tab. 10.

	LCI+/PVT+ (FG)	LCI+/PVT- (KG1)	LCI-/PVT+ (KG2)	p-Wert der Gruppenvergleiche		
				FG vgl. KG1	FG vgl. KG2	KG1 vgl. KG2
Anzahl der Patienten, n	21	43	29	-		
Geschlecht, Frauen	6 (29%)	17 (40%)	11 (38%)	0,391	0,490	0,891

Tab. 10: Vergleich des Geschlechts zwischen den Patientengruppen

4.1.2 Laborparameter der Patienten

Erwähnt werden v.a. die Laborparameter, welche bei den Gruppenvergleichen relevante Unterschiede zeigten. Für alle übrigen Vergleiche der Laborwerte siehe Tab. 11. **Fett** gedruckte Zahlenwerte in der Tab. zeigen eine statistische Signifikanz.

Hämoglobin (g/dl): Ein signifikanter Unterschied bei den Hämoglobinwerten bestand zwischen der KG1 und der KG2 (p-Wert=0,003). Dabei hatten Patienten der LCi+/PVT-Gruppe niedrigere Hämoglobinwerte als Patienten der LCi-/PVT+ Gruppe.

Leukozyten (g/l): Bei den Durchschnittswerten der Leukozyten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Patientengruppen.

Thrombozyten (g/l): Ein signifikanter Unterschied bei der durchschnittlichen Thrombozytenzahl zeigte sich zwischen der FG und der KG1, der FG und der KG2 sowie zwischen der KG1 und der KG2 (p-Wert=0,019 bzw. p-Wert <0,001 bzw. p-Wert <0,001). Patienten mit LCi zeigten deutlich niedrigere Thrombozytenzahlen als Patienten ohne LCi.

INR: Die FG hatte eine signifikant höhere INR als die KG2 (p-Wert=0,004). So hatte auch die KG1 eine signifikant höhere INR als die KG2 (p-Wert <0,001).

aPTT (sec): Die FG hatte eine signifikant höhere aPTT als die KG2 (p-Wert <0,001). Auch die KG1 hatte eine signifikant höhere aPTT als die KG2 (p-Wert <0,001).

Bilirubin i.S. (mg/dl): Die LCi+/PVT+ Gruppe (FG) hatte signifikant höhere Bilirubinwerte als die LCi-/PVT+ Gruppe (KG2) (p-Wert=0,001). Die LCi+/PVT- Gruppe (KG1) hatte auch signifikant höhere Bilirubinwerte als die LCi-/PVT+ Gruppe (KG2) (p-Wert <0,001). Patienten mit LCi zeigten somit höhere Bilirubinwerte als Patienten ohne LCi.

AST (U/l): Bei den Patienten der KG1 mit LCi waren die AST-Werte signifikant höher als bei der KG2, die keine LCi hatte.

ALT (U/l), AP (U/l): Bei diesen Werten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientengruppen.

γ -GT (U/l): Die FG zeigte signifikant niedrigere Werte als die KG1 (p-Wert=0,022)

Albumin i.S. (g/dl): Die FG hatte signifikant niedrigere Albumin-Werte als die KG2. So hatte auch die KG1 niedrigere Werte als die KG2. Patienten mit LCi hatten somit niedrigere Albuminwerte als Patienten ohne LCi.

Gesamtproteine i.S. (g/dl): Bei diesem Wert gab es keine signifikanten Differenzen zwischen den einzelnen Gruppen.

Kreatinin i.S. (mg/dl): Auch bei diesem Wert zeigten sich keine signifikanten Differenzen zwischen den 3 Untersuchungsgruppen.

Blutharnstoff (mg/dl): Bei diesem Wert zeigte sowohl die FG als auch die KG1 signifikant höhere Werte als die KG2. Somit hatten Patienten mit LCi deutlich höhere Blutharnstoffwerte als Patienten ohne LCi.

	LCi+/PVT+ (FG)	LCi+/PVT- (KG1)	LCi-/PVT+ (KG2)	p-Wert der Gruppenvergleiche		
				FG vgl. KG1	FG vgl. KG2	KG1 vgl. KG2
Laborchemische Parameter:						
Hämoglobin, g/dl, norm: f: 11,7-15,7; m: 13,3-17,7	11,8±2,3	10,7±1,9	12,3±2,3	0,067	0,475	0,003
Leukozyten, g/l, norm: 4,3-10	6,4 (2,7-10,5)	6,5 (3,1-19,0)	7,9 (3,0-12,7)	0,275	0,177	0,919
Thrombozyten, g/l, norm: 150- 450	71 (32-208)	100 (39-247)	261 (47-633)	0,019	<0,001	<0,001
INR, norm: 0,8- 1,2	1,3 (1,0-2,2)	1,4 (1,1-3,0)	1,1 (1,0-1,6)	0,295	0,004	<0,001
aPTT, sec, norm: 35-40	45 (32-59)	43 (32-81)	33 (27-49)	0,840	<0,001	<0,001
Bilirubin i.S., mg/dl, norm: bis 1,1	2,3 (0,2-9,8)	2,7 (0,7-27,0)	0,9 (0,3-3,3)	0,891	0,001	<0,001
AST, U/l, norm: f: < 35; m: < 59	54,0 (23,0-418,0)	56,0 (24,0-661,0)	36,0 (19,0-85,0)	0,704	0,052	0,003
ALT, U/l, norm: f: < 35; m: < 50	32,0 (17,0-336,0)	37,0 (12,0-108,0)	33,0 (12,0-159,0)	0,782	0,952	0,829
AP, U/l, norm: f: 35-105; m: 40-130	104 (55-574)	147 (67-345)	111 (66-633)	0,136	0,768	0,294
γ-GT, U/l, norm: f: < 40; m: < 60	72 (11-730)	111 (34-1635)	121 (17-1158)	0,022	0,192	0,737
Albumin i.S. g/dl, norm: 3,5- 5,3	3,0±0,9	3,1±0,6	4,2±0,4	0,691	0,001	<0,001
Gsamt-proteine i.S., g/dl, norm: 6,4-8,3	6,0±2,0	6,2±0,9	7,0±1,2	0,719	0,168	0,041
Kreatinin i.S., mg/dl, norm: 0,5-1,2	0,9 (0,6-2,7)	0,9 (0,6-3,5)	0,8 (0,6-1,1)	0,982	0,059	0,051
Blutharnstoff, mg/dl, norm: 12-48	17 (7-102)	19 (6-74)	12 (5-17)	0,768	0,016	0,016

Tab. 11: Vergleich laborchemischer Parameter der Patienten. Mit **Blau** sind die Referenzwerte markiert (Dörner, 2006).

4.2 Pfortaderthrombose

Insgesamt wurde bei 50 Patienten (FG und KG2) eine PVT festgestellt. Dabei hatten 21 Patienten der FG (LCi+/PVT+) eine PVT, was 42% entspricht. Die restlichen 29 Patienten

(58%) mit der Diagnose einer PVT gehörten der KG2 (LCi-/PVT+) an, wie in Tab. 12 ersichtlich.

	Anzahl der Patienten mit PVT, n gesamt: 50
FG (LCi+/PVT+)	21 Patienten, 42 %
KG2 (LCi-/PVT+)	29 Patienten, 58%

Tab. 12: Häufigkeitsverteilung der PVT

Dabei erfolgte die Diagnosesicherung primär mit Hilfe der Sonografie. Bei 38 Patienten und somit 76% wurde die PVT sonografisch gesichert. Bei 11 Patienten (22%) wurde die Diagnose mit Hilfe der CT gestellt. Nur bei einem Patienten erfolgte die Diagnosestellung der PVT durch die MRT, was einem Prozentanteil von 2% der gesicherten PVTs entspricht. Siehe Tab. 13.

Diagnosesicherung der PVT bei den 50 PVT Patienten	
Sonografie	38 Patienten, 76 %
CT	11 Patienten, 22 %
MRT	1 Patient, 2%

Tab. 13: Häufigkeitsverteilung der PVT Diagnosesicherung

4.3 Leberzirrhose

Insgesamt zeigten 64 Patienten (FG und KG1) eine LCi. Davon waren 21 Patienten in der FG (LCi+/PVT+). 33% der Patienten mit LCi waren in der FG. Die restlichen 43 Patienten (67%) mit LCi waren in der KG1 (LCi+/PVT-). Siehe dazu Tab. 14.

	Anzahl der Patienten mit LCi, n gesamt: 64
FG (LCi+/PVT+)	21 Patienten, 33%
KG1 (LCi+/PVT-)	43 Patienten, 67%

Tab. 14. Häufigkeitsverteilung der LCi

Zu den Ursachen der LCi zählten die folgenden (für die genaue Verteilung der Ursachen siehe Tab. 15):

Alkohol: Bei 8 von 21 Patienten der FG wurde die LCi durch Alkohol verursacht. Dies entspricht einem Prozentanteil von 38%. Bei der KG1 zeigten 36 von 43 Patienten (84%) eine LCi, die durch Alkohol verursacht wurde. Bei den Patienten der KG1 (LCi+/PVT-) wurden signifikant mehr LCi durch Alkohol verursacht als bei den Patienten der FG (LCi+/PVT+).

Chron. Hepatitis B und C: 5 von 21 Patienten (24%) der FG zeigten eine chron. Hepatitis B oder C als Ursache für die Entstehung einer LCi. Bei der KG1 waren 6 von 43 (14%) LCi durch chron. Hepatitis B oder C verursacht. Bei beiden Gruppen trat diese Ursache mit einer ähnlichen Häufigkeit auf.

Kryptogen: Eine kryptogene LCi zeigte sich bei 3 von 21 Patienten (14%) der FG. In der KG1 wiesen 3 von 43 Patienten (7%) eine kryptogene LCi auf. Zwischen der PVT+/LCi+ Gruppe und der LCi+/PVT- Gruppe konnte kein signifikanter Häufigkeitsunterschied bei der Entstehung einer kryptogenen LCi nachgewiesen werden.

PBC: Bei 2 von den insgesamt 21 Patienten der FG wurde die LCi durch eine Primär biliäre Zirrhose verursacht. Dies waren 10%. Bei der KG1 hatte 1 von den insgesamt 43 Patienten eine LCi, die durch eine PBC verursacht wurde. Dies entspricht einem Prozentanteil von 2%. Die LCi wurde in beiden Gruppen ähnlich häufig durch PBC verursacht.

PSC: Die Primär skleorsierende Cholangitis war bei 2 von 21 Patienten (10%) der FG verantwortlich für eine LCi. Keiner der 42 Patienten (0%) in der KG1 zeigte eine LCi, die durch eine PSC verursacht wurde. Auch die PSC als Ursache für eine LCi zeigte in den beiden Vergleichsgruppen keinen signifikanten Häufigkeitsunterschied.

Morbus Wilson: Bei 1 Patienten (5%) der FG wurde die LCi durch einen Morbus Wilson verursacht. Bei keinem der Patienten (0%) in der KG1 wurde ein Morbus Wilson als Ursache für die LCi festgestellt. Auch hier war die Häufigkeitsverteilung der Ursache in beiden Vergleichsgruppen (LCi+/PVT+ und LCi+/PVT-) ähnlich und zeigte somit keinen signifikanten Unterschied.

Ursachen der LCi	LCi+/PVT+ (FG),	LCi+/PVT- (KG1),	p-Wert der Gruppenvergleiche
	21 Patienten	43 Patienten	FG vgl. KG1
Alkoholische LCi, n (%) ^a	8 Patienten, 38%	36 Patienten, 84%	<0,001
Chron. Hepatitis B oder C, n (%) ^a	5 Patienten, 24%	6 Patienten, 14%	0,481*
Kryptogene LCi, n (%) ^a	3 Patienten, 14%	3 Patienten, 7%	0,385*
PBC, n (%) ^a	2 Patienten, 10%	1 Patient, 2%	0,249*
PSC, n (%) ^a	2 Patienten, 10%	0 Patienten, 0%	0,104*
Morbus Wilson, n (%) ^a	1 Patient, 5%	0 Patienten, 0%	0,328*

Tab. 15. Häufigkeitsverteilung der Ursachen bei den Patienten mit LCi

Fett gedruckte Zahlenwerte bedeuten statistische Signifikanz

* Exakter Test nach Fisher; a mehr als 1 ätiologische Ursache für die LCi bei 1 Patienten möglich

Der Schweregrad der LCi wurde mit Hilfe der Child-Pugh-Klassifikation und des MELD-Scores eingeteilt. Für genaue Angaben siehe Tab. 16.

Child-Pugh-Score: In der FG zeigten die Patienten eine Punktevergabe von $9,3 \pm 2,3$. Die KG1 hatte Punkte von $8,4 \pm 2,6$. Die beiden Vergleichsgruppen zeigten keinen signifikanten Unterschied in der Punktevergabe.

MELD-Score: Der durchschnittliche Wert des MELD-Scores lag in der FG bei 15,4 Punkten. Die KG1 zeigte einen Durchschnittswert von 17,3 Punkten. Die Punkte der beiden Gruppen zeigten somit ähnlich hohe Werte.

Punktevergabe	LCi+/PVT+ (FG)	LCi+/PVT- (KG1)	p-Wert der Gruppenvergleiche
			FG vgl. KG1
Child-Pugh-Klassifikation	9,4 ± 2,3	8,4 ± 2,6	0,268
MELD-Score	15,4 (6,4-28,0)	17,2 (7,5-47,5)	0,377

Tab. 16: Punktevergabe der Child-Pugh-Klassifikation und des MELD-Scores

Child-Pugh-Klassifikation: ≤ 6 Punkte: Child A; 7–9 Punkte: Child B; 10–15 Punkte: Child C

4.4 JAK2 V617F Mutation

Für die Verteilung der Mutation siehe Tab. 17. Für die genaue statistische Auswertung siehe Tab. 21.

Unter all den Patienten, die in dieser Studie ausgewertet wurden, konnte bei 11 Patienten die JAK2 V617F Mutation erkannt werden. Die Allellast der JAK2 V617F Mutation bei den 11 Patienten, die Genträger dieser Mutation waren, reichte von 5-50%. Die genaue Verteilung der Allellast unter den 11 Genträgern sowie die Anzahl der Blutzellwerte (Leukozyten, Thrombozyten und Hämoglobin) werden in Tab. 18 gezeigt.

In der Gruppe der LCi+/PVT+ (FG) war die JAK2 V617F Mutation bei 2/21 Patienten vorhanden. 10% der Patienten in der FG zeigten somit ein JAK2 V617F Mutation.

Dahingegen zeigte keiner (0%) der Patienten in der LCi+/PVT- Gruppe (KG1) die JAK2 V617F Mutation.

Bei den Patienten der LCi-/PVT+ Gruppe (KG2) konnte die Mutation in 9/29 Fällen und somit bei 31% beobachtet werden.

Es bestand ein Unterschied zwischen dem Vorkommen der JAK2 V617F Mutation in der Gruppe der LCi+/PVT+ (FG) und in der Gruppe der LCi+/PVT- (KG1) (10% verglichen mit 0%). Trotzdem war das Vorkommen dieser Mutation in der FG nicht signifikant höher als in der KG1 (p-Wert=0,104).

Die JAK2 V617F Mutation war bei den Patienten ohne LCi mit PVT (LCi-/PVT+ Gruppe) (KG2) öfter vorhanden als bei den Patienten, die sowohl eine LCi als auch eine PVT (LCi+/PVT+ Gruppe) (FG) hatten. Jedoch war das Vorkommen der JAK2 V617F Mutation bei der KG2 nicht signifikant höher als bei der FG.

Ein signifikanter Unterschied im Vorkommen dieser Mutation zeigte sich jedoch zwischen den Patienten mit PVT ohne LCI (LCi-/PVT+ Gruppe) (KG2) im Vergleich zu den Patienten mit LCI ohne PVT (LCi+/PVT- Gruppe) (KG1) (Tab. 21).

	Anzahl der Patienten mit JAK2 V617F Mutation, n gesamt: 11
FG (LCi+/PVT+)	2 von 21 Patienten, 10%
KG1 (LCi+/PVT-)	0 von 43 Patienten, 0%
KG2 (LCi-/PVT+)	9 von 29 Patienten, 31%

Tab. 17: Vorkommen der JAK2 V617F Mutation bei den Untersuchungsgruppen

Gruppe	Patienten	Leukozyten (G/L)	Thrombozyten (G/L)	Hämoglobin (g/dL)	Allellast der JAK2 V617F Mutation (%)
FG (LCi+/PVT+)	1	6,5	225	15,9	10
	2	5,2	43	10,2	25
KG2 (LCi-/PVT+)	3	9,4	305	15,5	27
	4	3,2	77	15,6	5
	5	11,9	461	12,4	50
	6	8,3	1,176	7,9	25
	7	12,5	153	12,3	30
	8	9,7	567	14,1	5
	9	8,1	553	15,0	28
	10	3,0	53	8,2	5
	11	12,7	589	15,1	10

Tab. 18: Anzahl der Blutzellwerte und Verteilung der Allellast unter den 11 JAK2 V617F Mutation Genträgern

4.5 FVL G1691A Mutation

Für die Verteilung der Mutation siehe Tab. 19. Für die genaue statistische Auswertung siehe Tab. 21.

Unter allen ausgewerteten Patienten konnte die FVL G1691A Mutation insgesamt 8 Mal entdeckt werden. Dabei zeigte sie sich bei 1 von den insgesamt 21 Patienten in der Gruppe der LCI+/PVT+ (FG). Die Mutation wurde somit bei 5% der Patienten in dieser Gruppe festgestellt.

Bei den Patienten der LCI+/PVT- Gruppe (KG1) konnte die FVL G1691A Mutation bei 5 von 43 Patienten entdeckt werden, was einen Prozentanteil von 12% ergibt.

Bei der LCI-/PVT+ Gruppe (KG2) hatten 2 von den insgesamt 29 Patienten in dieser Gruppe eine FVL G1691A Mutation. Dies entspricht einem Prozentanteil von 7%.

Bei der FVL G1691A Mutation konnte kein signifikanter Unterschied betreffend die Häufigkeit des Vorkommens dieser Mutation zwischen den 3 Patientengruppen, die in dieser Studie evaluiert wurden, gefunden werden. (Tab. 21).

	Anzahl der Patienten mit FVL G1691A Mutation, n gesamt: 8
FG (LCi+/PVT+)	1 von 21 Patienten, 5%
KG1 (LCi+/PVT-)	5 von 43 Patienten, 12%
KG2 (LCi-/PVT+)	2 von 29 Patienten, 7%

Tab. 19: Vorkommen der FVL G1691A Mutation bei den Untersuchungsgruppen

4.6 Prothrombin G20210A Mutation

Bei den insgesamt 93 untersuchten Patienten konnte die Prothrombin G20210A Mutation 5 Mal entdeckt werden. Dabei zeigte keiner der 21 Patienten mit LCi und PVT (LCi+/PVT+ Gruppe) (FG) eine Prothrombin G20210A Mutation.

Bei 1 von 43 Patienten (2%) mit LCi ohne PVT (LCi+/PVT- Gruppe) (KG1) konnte die Prothrombin G20210A Mutation gefunden werden.

Bei 4 der insgesamt 29 Patienten (14%), die eine PVT ohne LCi (LCi-/PVT+ Gruppe) (KG2) hatten, konnte diese Mutation nachgewiesen werden.

Die Häufigkeit des Vorkommens dieser Mutation zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen. (Tab. 20).

	Anzahl der Patienten mit Prothrombin G20210 A Mutation, n gesamt: 5
FG (LCi+/PVT+)	0 von 21 Patienten, 0%
KG1 (LCi+/PVT-)	1 von 43 Patienten, 2%
KG2 (LCi-/PVT+)	4 von 29 Patienten, 14%

Tab. 20: Vorkommen der Prothrombin G20210A Mutation bei den Untersuchungsgruppen

	LCi+/PVT+ (FG)	LCi+/PVT- (KG1)	LCi-/PVT+ (KG2)	p-Wert der Gruppenvergleiche		
				FG vgl. KG1	FG vgl. KG2	KG1 vgl. KG2
JAK2 V617F, n/n (%)	2/21 (10%)	0/43 (0%)	9/29 (31%)	0,104*	0,092*	<0,001*
FVL G1691A, n/n (%)	1/21 (5%)	5/43 (12%)	2/29 (7%)	0,654*	>0,999*	0,694*
Prothrombin G20210A, n/n (%)	0/21 (0%)	1/43 (2%)	4/29 (14%)	>0,999*	0,129*	0,150*

Tab. 21: Verteilung und statistische Auswertung der JAK2 V617F-, FVL G1691A -und Prothrombin G20210A Mutation

Fett gedruckte Zahlenwerte bedeuten statistische Signifikanz.

*Exakter Test nach Fisher

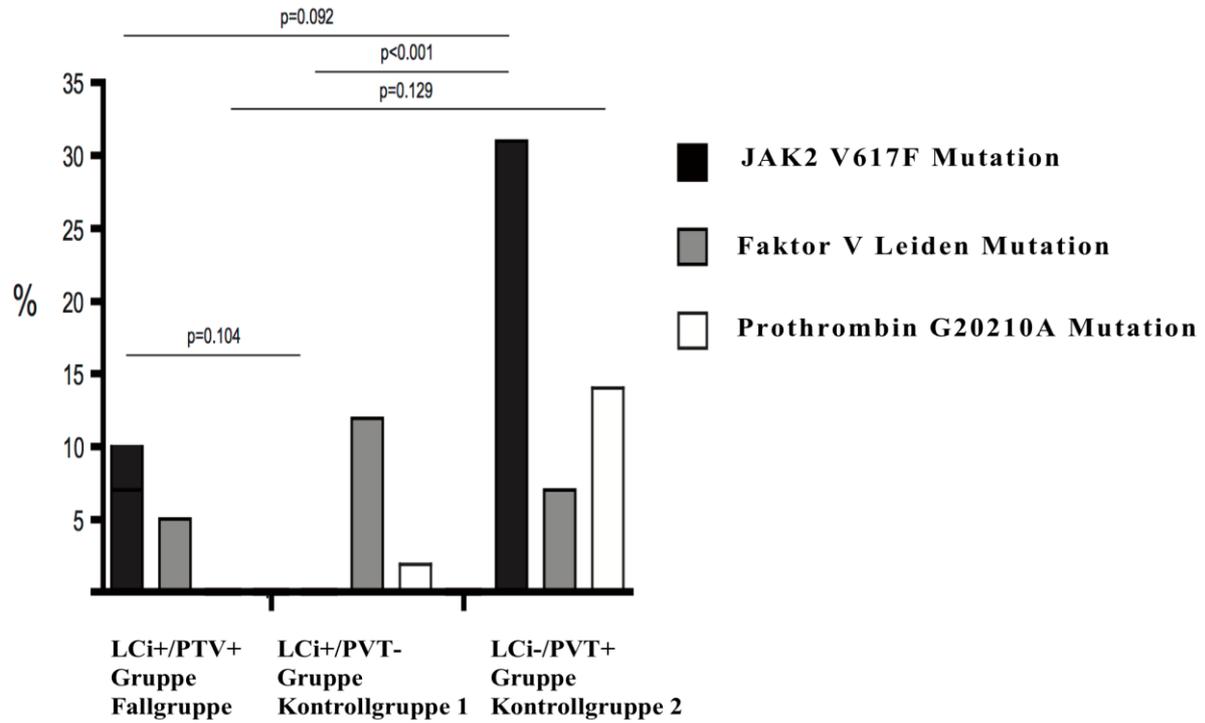


Abb. 8: Häufigkeitsverteilung der 3 Mutationen im Vergleich

5. Diskussion

In dieser Studie wurde die Häufigkeit der JAK2 V617F-, FVL G1691A- und Prothrombin G20210A Mutation bei Patienten mit LCi und bestehender PVT untersucht (FG). Diese Patientengruppe wurde einerseits mit Patienten verglichen, bei denen eine LCi ohne das Vorhandensein einer PVT vorlag. Andererseits wurde ein Vergleich zu Patienten gezogen, die eine PVT in Abwesenheit einer LCi zeigten.

Vorherige Studien haben sich bereits mit der Prävalenz der JAK2 Mutation bei Patienten mit Venenthrombosen im Splanchnikus-Gebiet (SVT) beschäftigt. Bei einer überwiegenden Mehrheit dieser Studienuntersuchungen war von vornherein festgelegt worden, dass die Anwesenheit einer LCi als Ausschlusskriterium für eine Aufnahme in diese Studien galt (Bayraktar et al., 2008; Colaizzo et al., 2007; De Stefano et al., 2007; Kiladjian et al., 2008; Orr et al., 2010; Primignani et al., 2006; Sarin & Agarwal, 2002).

Im Gegensatz zu den vorherigen Studien war das Ziel dieser aktuellen Studie, die Häufigkeit dieser Mutationen (JAK2 V617F, FVL G1691A und G20210A) bei Patienten mit bestehender PVT und LCi zu untersuchen. Für das Vorhaben dieser Untersuchungen gab es 2 Hauptgründe. Zum einen könnten Patienten mit einer LCi, die zusätzlich diese Genmutationen besitzen, ein besonders hohes Risiko für die Entstehung einer PVT haben. Bei Patienten mit einer LCi kann eine Lebertransplantation unter Umständen notwendig sein. Aus diesem Grund sollte das Risiko einer PVT und die dadurch entstehende Transformation der Pfortader minimiert werden.

Zum anderen kann eine Knochenmarkssuppression bei Patienten mit LCi durch multifaktorielle Gründe verursacht sein. Typisch für eine LCi ist eine Thrombozytopenie bei Hypersplenismus und verminderter hepatischer Thrombopoetinbildung (Herold, 2013). Deshalb kann es passieren, dass MPD, ausgelöst durch JAK2 Mutationen, im Rahmen einer LCi übersehen werden. Bei MPD kommt es zu einer autonomen Proliferation einer oder mehrerer hämatopoetischer Zellreihen. In diesem Fall wäre im Gegensatz zur LCi eine Thrombozytose das typische Bild. Aufgrund der LCi könnte diese Thrombozytose jedoch maskiert sein. Aus diesem Grund sind Standard-Blutbildanalysen bei Patienten mit LCi und gleichzeitig bestehender MPD nicht geeignet (Briere, 2006; Chait et al., 2005; Herold, 2013; Michiels et al., 2000; Michiels & Thiele, 2002; Qi, Yang, et al., 2011; Smalberg et al., 2011).

5.1 JAK2 V617F Mutation

In dieser Studie zeigten etwa 30% der Patienten mit einer PVT ohne LCi (KG2) eine JAK2 V617F Mutation. Dieses Ergebnis stimmt mit vorherigen Daten überein, die zeigten, dass JAK2 Mutation positive MPD häufig bei Patienten gefunden werden, die keine LCi haben (DeLeve et al., 2009).

Dahingegen wurde bei keinem der 43 Patienten mit LCi ohne PVT (KG1), die in dieser Studie untersucht wurden, eine JAK2 V617F Mutation festgestellt. Eine JAK2 V617F Mutation konnte allerdings bei 2 von 21 Patienten (10%) mit gleichzeitigem Bestehen einer PVT und LCi (FG) nachgewiesen werden. Beide dieser Patienten, bei denen die JAK2 Mutation ein positives Ergebnis zeigte, hatten im Vorfeld keine Diagnose einer MPD. Die Wichtigkeit des Ergebnisses der hier untersuchten FG wird dadurch hervorgehoben, dass die JAK2 V617F Mutation in der Gesamtpopulation mit einer sehr geringen Häufigkeit von nur ca. 0,2% vorkommt (Nielsen, Birgens, Nordestgaard, Kjaer, & Bojesen, 2011).

Es gibt einige vorhergehende Kohortenstudien, welche die Prävalenz der JAK2 V617F Mutation bei Patienten mit LCi und SVT beschrieben haben (Colaizzo, Amitrano, Guardascione, Balzano, & Margaglione, 2008; Qi et al., 2012; Xavier et al., 2010). Bei zwei dieser Studien ist die Häufigkeit des Auftretens einer JAK2 V617F Mutation bei Patienten mit PVT vergleichbar mit den Ergebnissen dieser aktuell durchgeführten Studie (Colaizzo et al., 2008; Xavier et al., 2010). Dabei zeigten in der Studie von Colaizzo et al. 5,5% der 91 untersuchten Patienten mit bestehender SVT das Vorhandensein einer JAK2 V617F Mutation (Colaizzo et al., 2008). Bei einer weiteren retrospektiven Studie wurden 20 Patienten mit SVT untersucht. Von diesen 20 Patienten zeigten 2 Probanden (10%) eine JAK2 V617F Mutation (Xavier et al., 2010). Im Gegensatz dazu zeigte eine Studie von Qi et al. jedoch eine Mutationsprävalenz von nur 1,4% bei 71 untersuchten chinesischen Patienten mit LCi und PVT (Qi et al., 2012).

5.2 FVL G1691A -und Prothrombin G20210A Mutation

Die in dieser Studie erhobenen Daten bezüglich der Prävalenz der FVL G1691A und der Prothrombin G20210A Mutation bei Patienten mit PVT waren vergleichbar mit denen aus vorherigen Studien. Bei der hier durchgeführten Studie wurde die FVL G1691A Mutation bei 7% der Patienten mit PVT ohne LCi festgestellt. Die Prothrombin G20210A Mutation kam bei diesen Patienten mit einer Häufigkeit von 14% vor. Bei vorangegangenen Studien lag die

Prävalenz der FVL G1691A Mutation bei 3-9% und die Prävalenz der Prothrombin G20210A Mutation bei 3-22% in dieser Patientengruppe (Denninger et al., 2000; Dentali et al., 2008; Janssen et al., 2000; Primignani et al., 2005; Smalberg et al., 2011). Bei der kaukasischen Gesamtbevölkerung wurde das Vorkommen der FVL G1691A Mutation und der Prothrombin G20210A Mutation mit einer Häufigkeit von 3-7% und ca. 2% beschrieben (Franchini, 2012; Rosendaal et al., 1998).

Die Häufigkeit der FVL G1691A Mutation war zwischen den einzelnen Untersuchungsgruppen dieser aktuellen Studie ähnlich verteilt. Dabei hatten 5% der FG (LCi+/PVT+), 12% der KG1 (LCi+/PVT-) und 7% der KG2 (LCi-/PVT+) die FVL G1691A Mutation. Dahingegen war die Prothrombin G20210A Mutation mit 14% bedeutend öfter bei Patienten mit PVT ohne LCi (KG2) vorhanden. Im Vergleich dazu hatte kein Patient mit einer LCi und PVT (FG) die Prothrombin G20210A Mutation. Auch bei Patienten mit LCi ohne PVT (KG1) war diese Mutation nur bei 2% der Patienten vorhanden. Passend zu diesem Ergebnis wird die Prothrombin G20210A Mutation als ein wichtiger Risikofaktor für die Entstehung einer PVT angesehen (Dentali et al., 2008; Smalberg et al., 2011).

5.3 Screening für die JAK2 V617F Mutation

Aufgrund einer relativ geringen Stichprobengröße kann eine definitive Schlussfolgerung für die Prävalenz prothrombotischer Mutationen bei Patienten mit PVT und LCi weder mit den Ergebnissen dieser Studie noch mit den Daten vorheriger Studien eindeutig belegt werden.

Trotzdem erbrachten die Resultate dieser Studie den klinisch bedeutsamen Nachweis, dass bei ca. 5-10% der Patienten mit LCi und PVT die JAK2 V617F Mutation vorliegt. Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen kommt die JAK2 V617F Mutation in der Gesamtbevölkerung jedoch nur mit einer Häufigkeit von 0,2% vor (Nielsen et al., 2011). Somit ist es möglich, dass die Prävalenz dieser Mutation in der klinischen Praxis unterschätzt wird.

Während ein Screening für die JAK2 V617F Mutation bei Patienten mit PVT ohne zugrundeliegende Krankheit zu einem festen Teil der Diagnose gehört (Smalberg et al., 2011), wird selbiges Screening nicht routinemäßig bei Patienten mit LCi und PVT durchgeführt, da eine Reduktion des Blutflusses in der Pfortader als sehr häufige Ursache für die PVT angenommen wird (Ögren et al., 2006; Okuda et al., 1985; Zocco et al., 2009).

Auf Basis der vorhandenen Daten können keine definitiven Schlüsse über die Nützlichkeit eines Screenings für die JAK2 V617F Mutation bei Patienten mit LCi und PVT gezogen

werden (Qi, Yang, et al., 2011). Allerdings könnte es ein interessanter Ansatz für künftige Studien sein, Patienten mit LCi, die ein erhöhtes Risiko für die Entstehung einer PVT haben, mittels genetischem Screening zu identifizieren.

In Anbetracht der hohen Morbidität und Mortalität, die mit einer PVT einhergehen, sind weitere prospektive Untersuchungen zur Prävalenz dieser prothrombotischen Mutationen (JAK2 V617F, FVL G1691A, Prothrombin G20210A) in der Gruppe der Patienten mit PVT und LCi nötig. Abhängig von dieser Prävalenz, wäre eine prospektive Studie, welche bei Patienten mit LCi und zusätzlichen prothrombotischen Risikofaktoren die Nützlichkeit einer prophylaktischen Antikoagulationstherapie testet, der nächste Schritt. Hierzu sollte optimalerweise kontrolliert-randomisiert eine Gruppe eine prophylaktische Antikoagulationstherapie vs. keiner Antikoagulation verabreicht bekommen. Das könnte zur Klärung beitragen, ob eine prophylaktische Antikoagulationstherapie das Risiko für die Entstehung einer PVT und deren Folgen bei Patienten mit LCi und prothrombotischen Risikofaktoren minimiert.

5.4 Einschränkungen der Studie

Die Ergebnisse und Schlussfolgerungen dieser Studie unterliegen einigen Einschränkungen. Trotz einer Studienperiode von fast zwei Jahren, wurde bei dieser Analyse nur eine begrenzte Anzahl an Patienten untersucht. Die geringe Anzahl der Patienten limitiert daher die statistische Aussagekraft der erhobenen Ergebnisse. Des Weiteren war die Ursache für die Entstehung einer LCi bei den untersuchten Patienten uneinheitlich, was jedoch dem klinischen Alltag entspricht. Zudem wurde die hier dargelegte Studie nur an einem einzigen Zentrum (Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München) durchgeführt, so dass ein diesbezüglicher Bias in der Diagnostik und Therapie der Patienten nicht ausgeschlossen werden kann.

Die Ergebnisse der hier durchgeführten Studie zeigen jedoch trotz dieser Einschränkungen, dass bei einer relevanten Anzahl der Patienten mit LCi bei gleichzeitig bestehender PVT eine JAK2 V617F Mutation vorliegt. Die Aufgabe zukünftiger Studien sollte es nun sein, die Nützlichkeit eines Screenings für diese Mutation bei Patienten mit LCi mit oder ohne PVT prospektiv und kontrolliert zu evaluieren.

6. Zusammenfassung

Leberzirrhose (LCi), Myeloproliferative Erkrankungen (MPD) und prothrombotische Mutationen sind ätiologische Faktoren für die Entstehung einer Pfortaderthrombose (PVT).

Die Rolle und die Häufigkeit von thrombotischen und genetischen Risikofaktoren bei Patienten mit LCi sind noch nicht ausreichend belegt. In dieser Fall-Kontroll-Studie wurde die Häufigkeit der Januskinase 2 (JAK2) (JAK2 V617F) Mutation, der Faktor V Leiden (FVL G1691A) Mutation und der Prothrombin (G20210A) Mutation bei Patienten mit LCi und PVT (LCi+/PVT+ Gruppe, Fallgruppe, n=21) untersucht und mit 2 Kontrollgruppen verglichen. Bei der Kontrollgruppe 1 handelte es sich um Patienten, bei denen eine LCi in Abwesenheit einer PVT festgestellt wurde (Patienten mit LCi ohne PVT, LCi+/PVT- Gruppe, n=43). Bei der Kontrollgruppe 2 hatten die Patienten eine PVT ohne dem Vorhandensein einer LCi (PVT Patienten ohne LCi, LCi-/PVT+ Gruppe, n=29).

In der LCi+/PVT+ Gruppe wurde die JAK2 V617F Mutation bei 2 von 21 Patienten (10%) festgestellt (p-Wert=0,104 verglichen mit der LCi+/PVT- Gruppe; p-Wert=0,092 im Vergleich zu der LCi-/PVT+ Gruppe). Dahingegen hatte keiner von 43 Patienten (0%) der LCi+/PVT- Gruppe die JAK2 V617F Mutation (p-Wert <0.001 verglichen mit der LCi-/PVT+ Gruppe). 9 von 29 Patienten der LCi-/PVT+ Gruppe (31%) waren Träger der JAK2 V617F Mutation. Siehe dazu Abb. 8.

Die FVL G1691A Mutation konnte bei 1 von 21 Patienten (5%) in der Gruppe der LCi+/PVT+, bei 5 von 43 Patienten (12%) in der Gruppe der LCi+/PVT- und bei 2 von 29 Patienten (7%) in der Gruppe der LCi-/PVT+ festgestellt werden.

Die Prothrombin G20210A Mutation wurde bei 0 von 21 (0%) Patienten in der Gruppe der LCi+/PVT+, bei 1 von 43 (2%) Patienten in der Gruppe der LCi+/PVT- und bei 4 von 29 Patienten (14%) in der Gruppe der LCi-/PVT+ entdeckt.

Diese Studie zeigte somit, dass bei einem relevanten Anteil der Patienten, die eine LCi und zugleich eine PVT hatten, eine JAK2 V617F Mutation festgestellt werden konnte.

7. Literaturverzeichnis

- Ameziane, N., Lamotte, M., Lamoril, J., Lebret, D., Deybach, J. C., Kaiser, T., & de Prost, D. (2003). Combined factor V Leiden (G1691A) and prothrombin (G20210A) genotyping by multiplex real-time polymerase chain reaction using fluorescent resonance energy transfer hybridization probes on the Rotor-Gene 2000. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, *14*(4), 421-424.
- Amitrano, L., Brancaccio, V., Guardascione, M. A., Margaglione, M., Iannaccone, L., D'Andrea, G., Marmo, R., Ames, P. R., & Balzano, A. (2000). Inherited coagulation disorders in cirrhotic patients with portal vein thrombosis. *Hepatology*, *31*(2), 345-348. doi: 10.1002/hep.510310213
- Amitrano, L., & Guardascione, M. A. (2009). Management of portal vein thrombosis in cirrhotic patients. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, *1*(3), e2009014. doi: 10.4084/MJHID.2009.014
- Amitrano, L., Guardascione, M. A., & Ames, P. R. (2007). Coagulation abnormalities in cirrhotic patients with portal vein thrombosis. *Clin Lab*, *53*(9-12), 583-589.
- Amitrano, L., Guardascione, M. A., Ames, P. R., Margaglione, M., Iannaccone, L., Brancaccio, V., & Balzano, A. (2006). Increased plasma prothrombin concentration in cirrhotic patients with portal vein thrombosis and prothrombin G20210A mutation. *Thromb Haemost*, *95*(2), 221-223. doi: 10.1267/THRO06020221
- Amitrano, L., Guardascione, M. A., Brancaccio, V., Margaglione, M., Manguso, F., Iannaccone, L., Grandone, E., & Balzano, A. (2004). Risk factors and clinical presentation of portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis. *J Hepatol*, *40*(5), 736-741. doi: 10.1016/j.jhep.2004.01.001
- Arasté, K. (2009). *Duale Reihe Innere Medizin* (2 ed.). Stuttgart: Thieme.
- Austin, S. K., & Lambert, J. R. (2008). The JAK2 V617F mutation and thrombosis. *Br J Haematol*, *143*(3), 307-320.
- Bajaj, J. S. (2010). Review article: the modern management of hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther*, *31*(5), 537-547. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.04211.x
- Baxter, E. J., Scott, L. M., Campbell, P. J., East, C., Fourouclas, N., Swanton, S., Vassiliou, G. S., Bench, A. J., Boyd, E. M., Curtin, N., Scott, M. A., Erber, W. N., & Green, A. R. (2005). Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*, *365*(9464), 1054-1061. doi: 10.1016/S0140-6736(05)71142-9
- Bayraktar, Y., Harmanci, O., Buyukasik, Y., Shorbagi, A. I., Sungur, A. H., Boylu, C. A., Gurgey, A., & Balkanci, F. (2008). JAK2V617F mutation in patients with portal vein thrombosis. *Dig Dis Sci*, *53*(10), 2778-2783. doi: 10.1007/s10620-008-0225-y
- Belli, L., Romani, F., Sansalone, C. V., Aseni, P., & Rondinara, G. (1986). Portal thrombosis in cirrhotics. A retrospective analysis. *Ann Surg*, *203*(3), 286-291.
- Bellucci, S., & Michiels, J. J. (2006). The role of JAK2 V617F mutation, spontaneous erythropoiesis and megakaryocytopoiesis, hypersensitive platelets, activated leukocytes, and endothelial cells in the etiology of thrombotic manifestations in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost*, *32*(4 Pt 2), 381-398. doi: 10.1055/s-2006-942759
- Bertina, R. M., Koeleman, B. P., Koster, T., Rosendaal, F. R., Dirven, R. J., de Ronde, H., van der Velden, P. A., & Reitsma, P. H. (1994). Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*, *369*(6475), 64-67. doi: 10.1038/369064a0

- Bhattacharyya, M., Makharia, G., Kannan, M., Ahmed, R. P., Gupta, P. K., & Saxena, R. (2004). Inherited prothrombotic defects in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a study from North India. *Am J Clin Pathol*, 121(6), 844-847. doi: 10.1309/F2U1-XBV4-RXYU-AYG0
- Briere, J. B. (2006). Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis associated with myeloproliferative disorders: diagnosis and management. *Semin Thromb Hemost*, 32(3), 208-218. doi: 10.1055/s-2006-939432
- Campbell, P. J., Scott, L. M., Buck, G., Wheatley, K., East, C. L., Marsden, J. T., Duffy, A., Boyd, E. M., Bench, A. J., Scott, M. A., Vassiliou, G. S., Milligan, D. W., Smith, S. R., Erber, W. N., Bareford, D., Wilkins, B. S., Reilly, J. T., Harrison, C. N., & Green, A. R. (2005). Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet*, 366(9501), 1945-1953. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67785-9
- Chait, Y., Condat, B., Cazals-Hatem, D., Rufat, P., Atmani, S., Chaoui, D., Guilmin, F., Kiladjian, J. J., Plessier, A., Denninger, M. H., Casadevall, N., Valla, D., & Briere, J. B. (2005). Relevance of the criteria commonly used to diagnose myeloproliferative disorder in patients with splanchnic vein thrombosis. *British Journal of Haematology*, 129(4), 553-560. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05490.x
- Chawla, Y., Duseja, A., & Dhiman, R. K. (2009). Review article: the modern management of portal vein thrombosis. *Aliment Pharmacol Ther*, 30(9), 881-894. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.04116.x
- Cohen, J., Edelman, R. R., & Chopra, S. (1992). Portal vein thrombosis: a review. *Am J Med*, 92(2), 173-182.
- Colaizzo, D., Amitrano, L., Guardascione, M. A., Balzano, A., & Margaglione, M. (2008). Janus kinase-2 mutation, cirrhosis and splanchnic vein thrombosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 20(3), 245-246. doi: 10.1097/MEG.0b013e3282f1cff7
- Colaizzo, D., Amitrano, L., Tiscia, G. L., Scenna, G., Grandone, E., Guardascione, M. A., Brancaccio, V., & Margaglione, M. (2007). The JAK2 V617F mutation frequently occurs in patients with portal and mesenteric venous thrombosis. *J Thromb Haemost*, 5(1), 55-61. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02277.x
- Condat, B., & Valla, D. (2006). Nonmalignant portal vein thrombosis in adults. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 3(9), 505-515. doi: 10.1038/ncpgasthep0577
- De Stefano, V., Fiorini, A., Rossi, E., Za, T., Farina, G., Chiusolo, P., Sica, S., & Leone, G. (2007). Incidence of the JAK2 V617F mutation among patients with splanchnic or cerebral venous thrombosis and without overt chronic myeloproliferative disorders. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 5, 708-714.
- De Stefano, V., Martinelli, I., Mannucci, P. M., Paciaroni, K., Chiusolo, P., Casorelli, I., Rossi, E., & Leone, G. (1999). The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med*, 341(11), 801-806. doi: 10.1056/NEJM199909093411104
- De Stefano, V., Martinelli, I., Mannucci, P. M., Paciaroni, K., Rossi, E., Chiusolo, P., Casorelli, I., & Leone, G. (2001). The risk of recurrent venous thromboembolism among heterozygous carriers of the G20210A prothrombin gene mutation. *Br J Haematol*, 113(3), 630-635.
- DeLeve, L. D., Valla, D. C., & Garcia-Tsao, G. (2009). Vascular disorders of the liver. *Hepatology*, 49(5), 1729-1764. doi: 10.1002/hep.22772
- Delorme, S., Debus, J., & Jenderka, K. V. (2012). *Duale Reihe Sonografie* (3 ed.). Stuttgart: Thieme.

- Denninger, M. H., Chait, Y., Casadevall, N., Hillaire, S., Guillin, M. C., Bezeaud, A., Erlinger, S., Briere, J., & Valla, D. (2000). Cause of portal or hepatic venous thrombosis in adults: the role of multiple concurrent factors. *Hepatology*, *31*(3), 587-591. doi: 10.1002/hep.510310307
- Dentali, F., Galli, M., Gianni, M., & Ageno, W. (2008). Inherited thrombophilic abnormalities and risk of portal vein thrombosis. a meta-analysis. *Thromb Haemost*, *99*(4), 675-682. doi: 10.1160/TH07-08-0526
- Dentali, F., Squizzato, A., Brivio, L., Appio, L., Campiotti, L., Crowther, M., Grandi, A. M., & Ageno, W. (2009). JAK2V617F mutation for the early diagnosis of Ph-myeloproliferative neoplasms in patients with venous thromboembolism: a meta-analysis. *Blood*, *113*(22), 5617-5623. doi: 10.1182/blood-2008-12-196014
- Dörner, K. (2006). *Klinische Chemie und Hämatologie* (6 ed.). Stuttgart; New York: Thieme.
- Englesbe, M. J., Kubus, J., Muhammad, W., Sonnenday, C. J., Welling, T., Punch, J. D., Lynch, R. J., Marrero, J. A., & Pelletier, S. J. (2010). Portal vein thrombosis and survival in patients with cirrhosis. *Liver Transpl*, *16*(1), 83-90. doi: 10.1002/lt.21941
- Fimognari, F. L., & Violi, F. (2008). Portal vein thrombosis in liver cirrhosis. *Intern Emerg Med*, *3*(3), 213-218. doi: 10.1007/s11739-008-0128-0
- Franchini, M. (2012). Utility of testing for factor V Leiden. *Blood Transfus*, *10*(3), 257-259. doi: 10.2450/2012.0095-12
- Gerok, W., & Blum, H. E. (1995). *Hepatology* (2 ed.). München: Urban & Schwarzenberg.
- Greten, H. (2005). *Innere Medizin Verstehen-Lernen-Anwenden* (12 ed.). Stuttgart; New York: Thieme.
- Greten, H., Rinninger, F., & Greten, T. (2010). *Innere Medizin* (13 ed.). Stuttgart; New York: Thieme.
- Grievink, H., & Stowell, K. M. (2008). Identification of ryanodine receptor 1 single-nucleotide polymorphisms by high-resolution melting using the LightCycler 480 System. *Anal Biochem*, *374*(2), 396-404. doi: 10.1016/j.ab.2007.11.019
- Herold, G. (2013). *Innere Medizin*. Köln: Herold.
- Hoekstra, J., & Janssen, H. L. (2009). Vascular liver disorders (II): portal vein thrombosis. *Neth J Med*, *67*(2), 46-53.
- Hoffmann, M., Hurlbaus, J., & Weilke, C. (2008). The LightCycler[reg] 480 real-time PCR system: a versatile platform for genetic variation research. *Nat Meth*, *5*(3), 17-18.
- Horn, T. (2009). *JAK 2 V617F Die Bedeutung der aktivierenden Mutation JAK2 V617F bei chronisch-myeloproliferativen Syndromen*. Saarbrücken: Südwestdeutscher Verlag für Hochschulschriften.
- James, C., Ugo, V., Casadevall, N., Constantinescu, S. N., & Vainchenker, W. (2005). A JAK2 mutation in myeloproliferative disorders: pathogenesis and therapeutic and scientific prospects. *Trends Mol Med*, *11*(12), 546-554. doi: 10.1016/j.molmed.2005.10.003
- James, C., Ugo, V., Le Couédic, J. P., Staerk, J., Delhommeau, F., Lacout, C., Garçon, L., Raslova, H., Berger, R., Bennaceur-Griscelli, A., Villeval, J. L., Constantinescu, S. N., Casadevall, N., & Vainchenker, W. (2005). A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*, *434*(7037), 1144-1148. doi: 10.1038/nature03546
- Janssen, H. L., & Leebeek, F. W. (2006). JAK2 mutation: The best diagnostic tool for myeloproliferative disease in splanchnic vein thrombosis? *Hepatology*, *44*(6), 1391-1393. doi: 10.1002/hep.21489

- Janssen, H. L., Meinardi, J. R., Vleggaar, F. P., van Uum, S. H., Haagsma, E. B., van Der Meer, F. J., van Hattum, J., Chamuleau, R. A., Adang, R. P., Vandenbroucke, J. P., van Hoek, B., & Rosendaal, F. R. (2000). Factor V Leiden mutation, prothrombin gene mutation, and deficiencies in coagulation inhibitors associated with Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: results of a case-control study. *Blood*, *96*(7), 2364-2368.
- Jones, A. V., Kreil, S., Zoi, K., Waghorn, K., Curtis, C., Zhang, L., Score, J., Seear, R., Chase, A. J., Grand, F. H., White, H., Zoi, C., Loukopoulos, D., Terpos, E., Vervessou, E. C., Schultheis, B., Emig, M., Ernst, T., Lengfelder, E., Hehlmann, R., Hochhaus, A., Oscier, D., Silver, R. T., Reiter, A., & Cross, N. C. (2005). Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood*, *106*(6), 2162-2168. doi: 10.1182/blood-2005-03-1320
- Kearon, C., Kahn, S. R., Agnelli, G., Goldhaber, S., Raskob, G. E., & Comerota, A. J. (2008). Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*, *133*(6 Suppl), 454S-545S. doi: 10.1378/chest.08-0658
- Kiladjian, J. J., Cervantes, F., Leebeek, F. W. G., Marzac, C., Cassinat, B., Chevret, S., Cazals-Hatem, D., Plessier, A., Garcia-Pagan, J. C., Murad, S. D., Raffa, S., Janssen, H. L. A., Gardin, C., Cereja, S., Tonetti, C., Giraudier, S., Condat, B., Casadevall, N., Fenaux, P., & Valla, D. C. (2008). The impact of JAK2 and MPL mutations on diagnosis and prognosis of splanchnic vein thrombosis: a report on 241 cases. *Blood*, *111*(10), 4922-4929. doi: 10.1182/blood-2007-11-125328
- Kocher, G., & Himmelmann, A. (2005). Portal vein thrombosis (PVT): a study of 20 non-cirrhotic cases. *Swiss Med Wkly*, *135*(25-26), 372-376. doi: 2005/25/smw-11035
- Kralovics, R., Passamonti, F., Buser, A. S., Teo, S. S., Tiedt, R., Passweg, J. R., Tichelli, A., Cazzola, M., & Skoda, R. C. (2005). A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*, *352*(17), 1779-1790. doi: 10.1056/NEJMoa051113
- Kujovich, J. L. (2011). Factor V Leiden thrombophilia. *Genet Med*, *13*(1), 1-16. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181faa0f2
- Kumar, P., & Clark, M. (2012). *Clinical Medicine* (8 ed.). Edinburgh; New York: Saunders Elsevier.
- Lambert, J. F., & Duchosal, M. A. (2007). Hämatologie: Myeloproliferative Syndrome - Eine Kinase folgt der anderen. *Schweiz Med Forum*(7), 11-13.
- Levine, R. L., Wadleigh, M., Cools, J., Ebert, B. L., Wernig, G., Huntly, B. J., Boggon, T. J., Wlodarska, I., Clark, J. J., Moore, S., Adelsperger, J., Koo, S., Lee, J. C., Gabriel, S., Mercher, T., D'Andrea, A., Frohling, S., Dohner, K., Marynen, P., Vandenbergh, P., Mesa, R. A., Tefferi, A., Griffin, J. D., Eck, M. J., Sellers, W. R., Meyerson, M., Golub, T. R., Lee, S. J., & Gilliland, D. G. (2005). Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*, *7*(4), 387-397. doi: 10.1016/j.ccr.2005.03.023
- Mahmoud, A. E., Elias, E., Beauchamp, N., & Wilde, J. T. (1997). Prevalence of the factor V Leiden mutation in hepatic and portal vein thrombosis. *Gut*, *40*(6), 798-800.
- McGlennen, R. C., & Key, N. S. (2002). Clinical and laboratory management of the prothrombin G20210A mutation. *Arch Pathol Lab Med*, *126*(11), 1319-1325. doi: 10.1043/0003-9985(2002)126<1319:CALMOT>2.0.CO;2
- Meuwly, J. Y., Saverot-Chevalier, A. L., & Sgourdos, G. (2012). Phortaderthrombose. *Schweiz Med Forum*, *12*(6), 119-125.

- Michiels, J. J., Barbui, T., Finazzi, G., Fuchtmann, S. M., Kutti, J., Rain, J. D., Silver, R. T., Tefferi, A., & Thiele, J. (2000). Diagnosis and treatment of polycythemia vera and possible future study designs of the PVSG. *Leuk Lymphoma*, *36*(3-4), 239-253. doi: 10.3109/10428190009148845
- Michiels, J. J., & Thiele, J. (2002). Clinical and pathological criteria for the diagnosis of essential thrombocythemia, polycythemia vera, and idiopathic myelofibrosis (agnogenic myeloid metaplasia). *Int J Hematol*, *76*(2), 133-145.
- Mucino-Bermejo, J., Carrillo-Esper, R., Uribe, M., & Mendez-Sanchez, N. (2013). Coagulation abnormalities in the cirrhotic patient. *Ann Hepatol*, *12*(5), 713-724.
- Ng, V. L. (2009). Liver disease, coagulation testing, and hemostasis. *Clin Lab Med*, *29*(2), 265-282. doi: 10.1016/j.cll.2009.05.001
- Nielsen, C., Birgens, H. S., Nordestgaard, B. G., Kjaer, L., & Bojesen, S. E. (2011). The JAK2 V617F somatic mutation, mortality and cancer risk in the general population. *Haematologica*, *96*(3), 450-453. doi: 10.3324/haematol.2010.033191
- Ögren, M., Bergqvist, D., Björck, M., Acosta, S., Eriksson, H., & Sternby, N. H. (2006). Portal vein thrombosis: Prevalence, patient characteristics and lifetime risk: a population study based on 23796 consecutive autopsies. *World J Gastroenterol*, *12*(13), 2115-2119.
- Okuda, K., Ohnishi, K., Kimura, K., Matsutani, S., Sumida, M., Goto, N., Musha, H., Takashi, M., Suzuki, N., Shinagawa, T., Suzuki, N., Ohtsuki, T., Arakawa, M., & Nakashima, T. (1985). Incidence of portal vein thrombosis in liver cirrhosis. An angiographic study in 708 patients. *Gastroenterology*, *89*(2), 279-286.
- Orr, D. W., Patel, R. K., Lea, N. C., Westbrook, R. H., O'Grady, J. G., Heaton, N. D., Pagliuca, A., Mufti, G. J., & Heneghan, M. A. (2010). The prevalence of the activating JAK2 tyrosine kinase mutation in chronic porto-splenomesenteric venous thrombosis. *Aliment Pharmacol Ther*, *31*(12), 1330-1336. doi: 10.1111/j.1365-2036.2010.04299.x
- Piper, W. (2007). *Innere Medizin*. Heidelberg: Springer.
- Ponziani, F. R., Zocco, M. A., Campanale, C., Rinninella, E., Tortora, A., Di Maurizio, L., Bombardieri, G., De Cristofaro, R., De Gaetano, A. M., Landolfi, R., & Gasbarrini, A. (2010). Portal vein thrombosis: insight into physiopathology, diagnosis, and treatment. *World J Gastroenterol*, *16*(2), 143-155. doi: 10.3748/wjg.v16.i2.143
- Poort, S. R., Rosendaal, F. R., Reitsma, P. H., & Bertina, R. M. (1996). A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*, *88*(10), 3698-3703.
- Primignani, M., Barosi, G., Bergamaschi, G., Gianelli, U., Fabris, F., Reati, R., Dell'era, A., Bucciarelli, P., & Mannucci, P. M. (2006). Role of the JAK2 mutation in the diagnosis of chronic myeloproliferative disorders in splanchnic vein thrombosis. *Hepatology*, *44*(6), 1528-1534. doi: 10.1002/hep.21435
- Primignani, M., Martinelli, I., Bucciarelli, P., Battaglioli, T., Reati, R., Fabris, F., Dell'era, A., Pappalardo, E., & Mannucci, P. M. (2005). Risk factors for thrombophilia in extrahepatic portal vein obstruction. *Hepatology*, *41*(3), 603-608. doi: 10.1002/hep.20591
- Qi, X., Bai, M., Yang, Z., Yuan, S., Zhang, C., Han, G., & Fan, D. (2011). Occlusive portal vein thrombosis as a new marker of decompensated cirrhosis. *Med Hypotheses*, *76*(4), 522-526.

- Qi, X., Yang, Z., Bai, M., Shi, X., Han, G., & Fan, D. (2011). Meta-analysis: the significance of screening for JAK2V617F mutation in Budd-Chiari syndrome and portal venous system thrombosis. *Aliment Pharmacol Ther*, 33(10), 1087-1103. doi: 10.1111/j.1365-2036.2011.04627.x
- Qi, X., Zhang, C., Han, G., Zhang, W., He, C., Yin, Z., Liu, Z., Bai, W., Li, R., Bai, M., Yang, Z., Wu, K., & Fan, D. (2012). Prevalence of the JAK2V617F mutation in Chinese patients with Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a prospective study. *J Gastroenterol Hepatol*, 27(6), 1036-1043. doi: 10.1111/j.1440-1746.2011.07040.x
- Quentmeier, H., MacLeod, R. A., Zaborski, M., & Drexler, H. G. (2006). JAK2 V617F tyrosine kinase mutation in cell lines derived from myeloproliferative disorders. *Leukemia*, 20(3), 471-476. doi: 10.1038/sj.leu.2404081
- Rajani, R., Bjornsson, E., Bergquist, A., Danielsson, A., Gustavsson, A., Grip, O., Melin, T., Sangfelt, P., Wallerstedt, S., & Almer, S. (2010). The epidemiology and clinical features of portal vein thrombosis: a multicentre study. *Aliment Pharmacol Ther*, 32(9), 1154-1162. doi: 10.1111/j.1365-2036.2010.04454.x
- Reiche, D. (2003). *Roche Lexikon Medizin* (5 ed.). München: © Elsevier GmbH, Urban & Fischer.
- Renz, H. (2009). *Praktische Labordiagnostik*. Berlin; New York: Walter de Gruyter.
- Rodriguez-Castro, K. I., Simioni, P., Burra, P., & Senzolo, M. (2012). Anticoagulation for the treatment of thrombotic complications in patients with cirrhosis. *Liver Int*, 32(10), 1465-1476. doi: 10.1111/j.1478-3231.2012.02839.x
- Rosendaal, F. R. (2005). Venous thrombosis: the role of genes, environment, and behavior. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 1-12. doi: 10.1182/asheducation-2005.1.1
- Rosendaal, F. R., Doggen, C. J., Zivelin, A., Arruda, V. R., Aiach, M., Siscovick, D. S., Hillarp, A., Watzke, H. H., Bernardi, F., Cumming, A. M., Preston, F. E., & Reitsma, P. H. (1998). Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost*, 79(4), 706-708.
- Roskos, M. (2008). Budd-Chiari Syndrom und Portalvenenthrombose – Bedeutung der JAK2-Mutation als neuer Risikomarker / Budd-Chiari syndrome and portal venous thrombosis – relevance of the JAK2 mutation as a new risk marker. *LaboratoriumsMedizin*, 32(6), 387-396. doi: 10.1515/JLM.2008.062
- Sacerdoti, D., Serianni, G., Gaiani, S., Bolognesi, M., Bombonato, G., & Gatta, A. (2007). Thrombosis of the portal venous system. *J Ultrasound*, 10(1), 12-21. doi: 10.1016/j.jus.2007.02.007
- Sarin, S. K., & Agarwal, S. R. (2002). Extrahepatic portal vein obstruction. *Semin Liver Dis*, 22(1), 43-58. doi: 10.1055/s-2002-23206
- Schwaab, E. Thrombosen und Embolien. Retrieved 20.11.2013, from <http://www.humangenetik-online.de/html/altern.html>
- Scott, L. M., Campbell, P. J., Baxter, E. J., Todd, T., Stephens, P., Edkins, S., Wooster, R., Stratton, M. R., Futreal, P. A., & Green, A. R. (2005). The V617F JAK2 mutation is uncommon in cancers and in myeloid malignancies other than the classic myeloproliferative disorders. *Blood*, 106(8), 2920-2921. doi: 10.1182/blood-2005-05-2087
- Shetty, S., Kulkarni, B., Pai, N., Mukundan, P., Kasatkar, P., & Ghosh, K. (2010). JAK2 mutations across a spectrum of venous thrombosis cases. *Am J Clin Pathol*, 134(1), 82-85. doi: 10.1309/AJCP7VO4HAIZYATP

- Smalberg, J. H., Kruij, M., Janssen, H. L. A., Rijken, D. C., Leebeek, F. W. G., & de Maat, M. P. M. (2011). Hypercoagulability and hypofibrinolysis and risk of deep vein thrombosis and splanchnic vein thrombosis: similarities and differences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *31*(3), 485-493. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.213371
- Steensma, D. P., Dewald, G. W., Lasho, T. L., Powell, H. L., McClure, R. F., Levine, R. L., Gilliland, D. G., & Tefferi, A. (2005). The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. *Blood*, *106*(4), 1207-1209. doi: 10.1182/blood-2005-03-1183
- Sutton, B. C., Allen, R. A., Zhao Zhizhuang, J., & Dunn, S. T. (2007). Detection of the JAK2 V617F mutation by asymmetric PCR and melt curve analysis. *Cancer Biomarkers*, *3*, 315-324.
- Tefferi, A., Skoda, R., & Vardiman, J. W. (2009). Myeloproliferative neoplasms: contemporary diagnosis using histology and genetics. *Nature Reviews Clinical Oncology*, *6*(11), 627-637. doi: 10.1038/nrclinonc.2009.149
- Thurn, P., Bücheler, E., Lackner, K. J., & Thelen, M. (1998). *Einführung in die radiologische Diagnostik* (10 ed.). Stuttgart; New York: Thieme.
- Tsochatzis, E. A., Senzolo, M., Germani, G., Gatt, A., & Burroughs, A. K. (2010). Systematic review: portal vein thrombosis in cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*, *31*(3), 366-374. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.04182.x
- Turi, S., Schilling, D., & Riemann, J. F. (2003). Entzündliche, infektiöse und maligne Erkrankungen - Thromboserisiko bei gastro-enterologischen Erkrankungen. *Notfallmedizin*, *29*(05), 200-207.
- Villevall, J. L., James, C., Pisani, D. F., Casadevall, N., & Vainchenker, W. (2006). New insights into the pathogenesis of JAK2 V617F-positive myeloproliferative disorders and consequences for the management of patients. *Semin Thromb Hemost*, *32*(4 Pt 2), 341-351. doi: 10.1055/s-2006-942755
- Walker, A. P. (2005). Portal vein thrombosis: what is the role of genetics? *Eur J Gastroenterol Hepatol*, *17*(7), 705-707.
- Webster, G. J., Burroughs, A. K., & Riordan, S. M. (2005). Review article: portal vein thrombosis -- new insights into aetiology and management. *Aliment Pharmacol Ther*, *21*(1), 1-9. doi: 10.1111/j.1365-2036.2004.02301.x
- Witt, I. (1998). APC-Resistenz (Faktor-V-Mutation): Klinische Bedeutung, Pathophysiologie und Diagnostik. *Dtsch Arztebl International*, *95*(38), 2316-2323.
- Wood, M. E., & Philips, G. K. (2003). *Hematology/Oncology Secrets* (3 ed.). Philadelphia: Henley and Belfus.
- Xavier, S. G., Gadelha, T., Pimenta, G., Eugenio, A. M., Ribeiro, D. D., Gomes, F. M., Bonamino, M., Zalberg, I. R., & Spector, N. (2010). JAK2V617F mutation in patients with splanchnic vein thrombosis. *Dig Dis Sci*, *55*(6), 1770-1777. doi: 10.1007/s10620-009-0933-y
- Zhao, R., Xing, S., Li, Z., Fu, X., Li, Q., Krantz, S. B., & Zhao, Z. J. (2005). Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem*, *280*(24), 22788-22792. doi: 10.1074/jbc.C500138200
- Zocco, M. A., Di Stasio, E., De Cristofaro, R., Novi, M., Ainora, M. E., Ponziani, F., Riccardi, L., Lancellotti, S., Santoliquido, A., Flore, R., Pompili, M., Rapaccini, G. L., Tondi, P., Gasbarrini, G. B., Landolfi, R., & Gasbarrini, A. (2009). Thrombotic risk factors in patients with liver cirrhosis: correlation with MELD scoring system and portal vein thrombosis development. *J Hepatol*, *51*(4), 682-689. doi: 10.1016/j.jhep.2009.03.013

8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Grobknotige LCI (Reiche, 2003).....	9
Abb. 2: Sonografisches Bild: Patient mit LCI (Delorme, Debus, & Jenderka, 2012)	11
Abb. 3: Darstellung einer PVT in der Sonografie.	15
Abb. 4: Signalweg der EPO- und TPO-Rezeptoren und die JAK2 V617F Mutation in Anlehnung an Lambert & Duchosal (Lambert & Duchosal, 2007).....	17
Abb. 5: Vereinfachtes Schema der Gerinnungskaskade in Anlehnung an Schwaab (Schwaab).....	20
Abb. 6: Repräsentative Schmelzkurven der Patienten und Kontrollen für die JAK2 V617F-, FVL G1691A, -und Prothrombin G20210A Mutation.....	30
Abb. 7: Anzahl und Verteilung der jeweiligen Patientengruppen.....	33
Abb. 8: Häufigkeitsverteilung der 3 Mutationen im Vergleich	44

9. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Ursachen der LCi (Greten et al., 2010)	10
Tab. 2: Child-Pugh-Klassifikation der LCi (Greten et al., 2010)	12
Tab. 3: Stadien der Hepatischen Enzephalopathie (Bajaj, 2010; Herold, 2013).....	13
Tab. 4: Verteilung der Patientengruppen	24
Tab. 5: Erfasste Parameter der Patienten	25
Tab. 6: Fehlende Laborparameter der Patienten	26
Tab. 7: Primer und Proben, die für den Nachweis der jeweiligen Mutation verwendet wurden.....	29
Tab. 8: Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Protokoll für die Amplifikation und Schmelzkurvenanalyse der JAK2 V617F-, Prothrombin G20210A- und FVL G1691A Mutation.....	29
Tab. 9: Vergleich des Alters zwischen den Patientengruppen	34
Tab. 10: Vergleich des Geschlechts zwischen den Patientengruppen	34
Tab. 11: Vergleich laborchemischer Parameter der Patienten. Mit Blau sind die Referenzwerte markiert (Dörner, 2006).....	36
Tab. 12: Häufigkeitsverteilung der PVT	37
Tab. 13: Häufigkeitsverteilung der PVT Diagnosesicherung.....	37
Tab. 14. Häufigkeitsverteilung der LCi	37
Tab. 15. Häufigkeitsverteilung der Ursachen bei den Patienten mit LCi.....	39
Tab. 16: Punktevergabe der Child-Pugh-Klassifikation und des MELD-Scores.....	40
Tab. 17: Vorkommen der JAK2 V617F Mutation bei den Untersuchungsgruppen	41
Tab. 18: Anzahl der Blutzellwerte und Verteilung der Allellast unter den 11 JAK2 V617F Mutation Genträgern.....	41
Tab. 19: Vorkommen der FVL G1691A Mutation bei den Untersuchungsgruppen.....	42
Tab. 20: Vorkommen der Prothrombin G20210A Mutation bei den Untersuchungsgruppen.....	43
Tab. 21: Verteilung und statistische Auswertung der JAK2 V617F-, FVL G1691A -und Prothrombin G20210A Mutation	43

10. Publikationen

Teile dieser Dissertation wurden vorveröffentlicht in:

Saugel B, Lee M, Feichtinger S, Hapfelmeier A, Schmid RM, Siveke JT. (2014). Thrombophilic factor analysis in cirrhotic patients with portal vein thrombosis. *J Thromb Thrombolysis*. doi: 10.1007/s11239-014-1124-z

Abstract

Liver cirrhosis, myeloproliferative disorders (MPDs) and prothrombotic mutations are aetiologic factors for portal vein thrombosis (PVT). The role and frequency of thrombophilic genetic risk factors in cirrhotic patients is not well established. In this case-control study, we investigated the frequency of Janus kinase 2 (JAK2) (JAK2 V617F), Factor V Leiden (FVL G1691A), and Prothrombin (G20210A) mutations in cirrhotic patients with PVT (LCi+/PVT+ group, n = 21) in comparison with two control collectives (cirrhotic patients without PVT, LCi+/PVT- group, n = 43; PVT patients without liver cirrhosis, LCi-/PVT+ group, n = 29). In the LCi+/PVT+ group, JAK2 V617F was present in 2/21 patients (10 %; p = 0.104 compared to LCi+/PVT-; p = 0.092 compared to LCi-/PVT+), whereas 0/43 LCi+/PVT- patients (0 %; p < 0.001 compared to LCi-/PVT+) and 9/29 LCi-/PVT+ patients (31 %) harboured this mutation. The FVL G1691A mutation was identified in 1/21 patients (5 %) in the LCi+/PVT+ group, in 5/43 patients (12 %) in the LCi+/PVT- group, and in 2/29 patients (7 %) in the LCi-/PVT+ group. The Prothrombin G20210A mutation was present in 0/21 LCi+/PVT+ patients (0 %), in 1/43 LCi+/PVT- patients (2 %), and in 4/29 patients (14 %) in the LCi-/PVT+ group. This study provides evidence that a relevant proportion of cirrhotic patients with PVT harbours a JAK2 V617F mutation.

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei einigen Menschen für ihre Unterstützung bedanken.

Erst einmal möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Jens Siveke (II. Medizinische Klinik und Poliklinik, Klinikum rechts der Isar) bedanken, der mir die Rahmenbedingungen für diese Doktorarbeit ermöglicht hat.

Ein ganz besonderes Dankeschön gilt meinem Doktorarbeitsbetreuer PD Dr. Bernd Saugel, der mich bei meiner Doktorarbeit langjährig begleitet hat und mir mit viel Geduld bei jeder kleinsten Frage tatkräftig zur Seite gestanden ist. Wertvolle Anregungen und Ratschläge habe ich ihm zu verdanken sowie ein detailliertes Lesen und Korrigieren dieser Arbeit.

Weiters möchte ich Marcel Lee für seine Unterstützung im Labor danken.

Vielen Dank auch an Alexander Hapfelmeier für die Unterstützung bei der statistischen Analyse.

Auch meiner lieben Freundin Marisa möchte ich für ihre Geduld und Hilfe während meines ganzen Studiums danken. Zu zweit durch ein Studium zu gehen, erleichtert so einige Sorgen.

Ein großes Dankeschön auch meiner lieben Schwester Victoria und meiner besten Freundin Nathalie, die immer an meiner Seite sind.

Den größten Dank möchte ich zum Schluss meinen Eltern Michael und Christine aussprechen, die mir durch ihre großzügige finanzielle und menschliche Unterstützung dieses Studium und somit auch die Vollendung dieser Doktorarbeit ermöglicht haben.

12. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Feichtinger
Vorname: Pia Stephanie Inés
Geburtsdatum/-ort: 01.06.1986, Feldkirch (A)
Eltern: Dr. jur. E. Michael Feichtinger,
Dr. jur. A. Christine Feichtinger
Staatsangehörigkeit: Fürstentum Liechtenstein (FL)
Familienstand: ledig

Schulbildung:

06 / 2006 Matura, Allgemeine Hochschulreife
08 / 1998 – 06 / 2006 Gymnasium Sacré Coeur Riedenburg (Internat), Bregenz (A)
08 / 1993 – 06 / 1998 Primarschule Ebenholz, Vaduz (FL)

Hochschulbildung:

06 / 2013 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03 / 2009 – 06 / 2013 Studium der Humanmedizin an der Technischen Universität München
03 / 2009 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Physikum)
10 / 2006 – 03 / 2009 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München

Beruf:

Seit 05/2014 Assistenzärztin für Dermatologie und Venerologie,
Hautarztpraxis Dr. Braun und Bodensee Laserklinik,
Überlingen (D)
08 / 2013 Approbation als Ärztin