

Aus der Klinik für
Hämatologie, Onkologie und Klinische Immunologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

komm. Direktor: Dr. med. U. Germing

**Untersuchung zur klinischen Bedeutung von somatischen
Mutationen bei Patienten mit Myelodysplastischen Syndromen**

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors in der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Anna Maria Offers

2022

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Ulrich Germing

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Harald Hefter

Was wir wissen ist ein Tropfen. Was wir nicht wissen ein Ozean.

Isaac Newton

Zusammenfassung

Bei Patienten mit Myelodysplastischen Syndromen (MDS) ist aktuell wenig über einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Nachweis einer somatischen Mutation und hämatologischen, zytogenetischen, zytomorphologischen und histomorphologischen Parametern bekannt. Vor diesem Hintergrund ist das Ziel der Arbeit Genotyp-Phänotyp-Korrelationen bei Patienten mit MDS zu identifizieren. Die statistische Aufarbeitung wurde SPSS-gestützt mit Deskription der Korrelationen und Ermittlung von Progressionsrisiko- und Überlebenswahrscheinlichkeiten mittels COX-Regression durchgeführt. In der Patientenkohorte waren 60,8% Männer mit einem Durchschnittsalter von 66 Jahren. Zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung Ende März 2019 waren 26,7% der Patienten verstorben und 148 Patienten haben eine AML entwickelt (16,8%).

Insgesamt waren 14 der 55 untersuchten Gene bei mehr als 5% der Patienten mutiert. Je mehr Mutationen pro Patient vorlagen, desto schlechter war das mediane Überleben ($p=0,003$) und desto häufiger ging die Erkrankung in eine AML über ($p=0,001$). Für die Gene RUNX1, ASXL1, EZH2, SF3B1, TP53 ließ sich ein signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit je nach Mutationsstatus nachweisen. Es fanden sich folgende Mutationen in den entsprechenden Subgruppen der WHO Klassifikation überproportional häufiger wieder: RUNX1 bei EB1, EB2, CMML; ASXL1, CBL, SRSF2, TET2 bei CMML; JAK2 bei MDS/MPN RS T, MDS/MPN U SF3B1 bei den Gruppen mit Ringsideroblasten; TP53 bei EB1, EB2, AML.

Diese Genmutationen kamen häufiger bei folgenden Karyotypen nach IPSS-R vor: RUNX1 bei diversen Anomalien und Trisomie 8; ASXL1 und SRSF2 bei Trisomie 8, TET2 bei Trisomie 8 und minus Y; TP53 bei komplexen Karyotypen.

Außerdem konnte gezeigt werden, dass bei einer SF3B1 Mutation häufiger und auch mehr Ringsideroblasten nachgewiesen werden konnten. Bei Vorliegen einer RUNX1 Mutation wiesen die Patienten vor allem ein normo- bis hypozelluläres Knochenmark auf ($p=0,026$), wohingegen bei SF3B1 Mutation häufiger ein normo- bis hyperzelluläres Knochenmark zu finden war ($p=0,001$). Der Anteil der Blasten im Knochenmark zeigte einen signifikanten Zusammenhang zu einer RUNX1, SF3B1, SRSF2 und TP53 Mutation auf. Nur bei Vorliegen einer SF3B1 Mutation war der Anteil der Blasten niedriger als beim Wildtyp.

Es konnten also signifikante Korrelationen zwischen dem Vorliegen bestimmter Genmutationen und zyto- und histomorphologischen Parametern ermittelt werden.

Summary

In patients with myelodysplastic syndromes (MDS), little is currently known about a possible correlation between the detection of a somatic mutation and haematological, cytogenetic, cytomorphological and histomorphological parameters. Therefore, this paper aims to identify genotype-phenotype correlations in patients with MDS. The study was processed statistically through SPSS, describing correlations and to determine the risk of progression and overall survival using COX regression. In the examined cohort, 60.8% were male with an average age of 66 years. At the time of the last follow-up at the end of March 2019, 26.7% of the patients had died and 148 patients had developed AML (16.8%).

Overall, 14 of the 55 genes examined were mutated in more than 5% of the patients. The more mutations a patient displayed, the worse the median survival rate got ($p = 0.003$). The results also indicated a higher probability of the disease progression into AML ($p = 0.001$).

For the genes RUNX1, ASXL1, EZH2, SF3B1, TP53, a significant difference in the overall survival rate was found depending on the mutation status. The following mutations are found in disproportionately higher numbers in the corresponding subgroups of the WHO classification: RUNX1 in EB1, EB2, CMML; ASXL1, CBL, SRSF2, TET2 in CMML; JAK2 in MDS / MPN RS T, MDS / MPN U; SF3B1 in the groups with ringsideroblasts; TP53 at EB1, EB2, AML.

These gene mutations occurred more frequently in the following karyotypes according to IPSS-R: RUNX1 in various anomalies and trisomy 8; ASXL1 and SRSF2 in trisomy 8; TET2 in trisomy 8 and minus Y; TP53 in complex karyotypes.

The study results indicate furthermore that ringsideroblasts presented more often and with a higher quantity in combination with an SF3B1 mutation. An existing RUNX1 mutation exhibited with normocellular to hypocellular bone marrow ($p = 0.026$), whereas normocellular to hypercellular bone marrow was found with SF3B1 mutation ($p = 0.001$). The number of blasts in the bone marrow allowed to conclude a significant relation between RUNX1, SF3B1, SRSF2 and TP53 mutations. In comparison, the proportion of blasts in case of a SF3B1 mutation was lower than in the wild type.

In conclusion, it was possible to determine significant correlations regarding the above-mentioned gene mutations and cytomorphological and histomorphological parameters.

Abkürzungsverzeichnis

abk	Abrundung kernsegmentierte Megakaryozyten im KM
alkyli	Pat. ist bei ED bereits mit alkylierenden Substanzen behandelt
AML	akute myeloische Leukämie
AMLÜ	Nachweis von einem Übergang in eine AML
ANC	absolute Zahl neutrophiler Granulozyten
ANCipssr	Punktwert für ANC nach IPSS-R
ani	Anisozytose im peripheren Blut
ARA	Therapie mit Cytarabin
Auerstäbchen	Auerstäbchen in der KM Zytologie
AZ	Allgemeinzustand bei Erstdiagnose
AZA	Therapie mit 5-Azacytidin
basophil	Basophile im Differenzialblutbild in %
bat	basophile Tüpfelung im peripheren Blut
blaperi	Blasten im peripheren Blut
Blasten im KM	Anteil der Blasten im Knochenmark
BlastenKMipssr	Punktwert für Blasten im KM nach IPSS-R
CHIP	<i>clonal haematopoiesis of indeterminate potential</i>
CI	Konfidenzintervall
CMML	chronisch myelomonozytäre Leukämie
Co-Mutation	von engl. "coexisting", also gleichzeitig vorhandene Mutationen
crea	Kreatininwert des Patienten bei ED
chrometa	Anzahl der untersuchten Metaphasen für den Karyotypen
Chromipssr	Punktwert für Karyotypen nach IPSS-R
Chrom. Kateg.	Einteilung der Karyotypen in Gruppen
comoendo1	endokrine Komorbiditäten
comogastro1	gastrointestinale Komorbiditäten
comoherz1	kardiale Komorbiditäten
comoimmuni1	immunologische Komorbiditäten
comoleber1	hepatische Komorbiditäten
comolunge1	pulmonale Komorbiditäten
comoneuro1	neurologische Komorbiditäten
comopsych1	psychiatrische Komorbiditäten
comorenal1	renale Komorbiditäten

comorheuma1	rheumatologische Komorbiditäten
comotumor1	onkologische Komorbiditäten
DECI	Therapie mit Decitabin
Del	Deletion
del(5q)	Deletion des langen Arms von Chromosom 5
de-novo	lat. „von neuem“, „neu aufgetreten“
DES	definitives Schicksal, meint Versterben eines Pat.
DESF	Therapie mit Deferoxamin
dev	degranulierte Vorstufen im peripheren Blut
df	Freiheitsgrade bei der multivariaten Analyse
die	dimorphe Erythrozyten im peripheren Blut
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dyery1	Dysplasien der Erythrozyten im KM
dygra1	Dysplasien der Granulozyten im KM
dymega1	Dysplasien der Megakaryozyten im KM
eba	Anteil der Erythroblasten im KM in %
eam	Erythrozyten mit atypischen Mitosen im KM
ED	Erstdiagnose
ehy	Hyperplasie der Erythrozyten im KM
eik	Eisenspeicherung
eka	Kernabsprengungen der Erythrozyten im KM
ekb	Kernbrücken der Erythrozyten im KM
ekf	Kernfaltungen der Erythrozyten im KM
Eltrombopag	Therapie mit Eltrombopag
eosinoph	Eosinophile im Differenzialblutbild in %
EPO	Erythropoetin
EPOSpiegel_initial	Erythropoietin-Spiegel bei Erstdiagnose
EPOT	Therapie mit Erythropoetin
ers	Reifungsstörung der Erythrozyten im KM
ery	Erythrozyten im peripheren Blut
ezv	zytoplasmatische Veränderungen der Erythrozyten im KM
EXJADE	Therapie mit Deferasirox
Exp(B)	Veränderung der relativen Wahrscheinlichkeit (Odds Ratio)
FAB	<i>French American British (Cooperative Study Group)</i>
Ferritin	Ferritinspiegel im peripheren Blut

FolatPI	Folatspiegel im Plasma
fra	Fragmentozyten
G-CSF	Granulozyten-stimulierender Faktor
ghy	Hyperplasie der Granulozyten
gli	Linksverschiebung der Granulozyten
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
grundkra	onkologische oder rheumatologische Grunderkrankungen
Hb	Hämoglobin
Hbipssr	Punktwert für Hämoglobin nach IPSS-R
HDinitial	Hämorrhagische Diathesen bei Erstdiagnose
hgl	Hypogranulation
histokmf	Histologie Knochenmarksfibrose
histomultilin	multiliniäre Dysplasien in der Histologie
histozel	KM Zell Biopsie
histozellery	Histologie Erythropoese
histozellgra	Histologie Granulopoese
histozellmega	Histologie Megakaryopoese
hkt	Hämatokrit
hpe	Hyperchromasie
hpo	Hypochromasie
hps	Hypersegmentierung
HYDROXYU	Therapie mit Hydroxyurea
hym	hypersegmentierte Megakaryozyten
IBM	<i>International Business Machines Corporation (IBM)</i>
Induktion	Induktionschemotherapie als zur Verkleinerung des Tumors
ISCN	<i>International System for human Cytogenetic Nomenclature</i>
IPSS	<i>International Prognostic Scoring System</i>
IPSS-R	<i>International Prognostic Scoring System - revised</i>
KHK	koronare Herzkrankheit
KM	Knochenmark
kzz	Zell-Zytologie vom KM
LDH	Laktatdehydrogenase
LENA	Therapie mit Lenalidomid
liv	Linksverschiebung im peripheren Blut

lymphabs	Lymphozyten absolut
lymphocy	Lymphozyten in %
lymphos	Lymphozytenvermehrung
makroery	makrozytäre Transformation
MCV	mittlere Volumen eines Erythrozyten (<i>mean corpuscular volume</i>)
MDS	Myelodysplastische Syndrome
MDS-SLD	MDS mit unilineärer Dysplasie
MDS-MLD	MDS mit multilineärer Dysplasie
MDS-RS-SLD	MDS mit unilineärer Dysplasie und Ringsideroblasten
MDS-RS-MLD	MDS mit multilineärer Dysplasie und Ringsideroblasten
MDS EB 1	MDS mit Blastenexzess 1
MDS EB 2	MDS mit Blastenexzess 2
MDS-U	MDS, unklassifizierbar
MDS/MPN RS T	MDS/MPN mit Ringsideroblasten und Thrombozytose
MDS/MPN U	MDS/MPN unklassifizierbar
MDSPRO	Progress der Erkrankung
MDSPro1	WHO Klassifikation nach Progress
meg	Megalozyten
mek	mehrkernige Erythrozyten im KM
met	megaloblastäre Transformation
metamyel	Metamyelozyten in %
mic	Mikrozytose
mmk	Mikro-Megakaryozyten
nmn	mononukleare Megakaryozyten
moe	Monozyten unspezifische Esterase
mono	Monozytenvermehrung
monoabs	Monozyten absolut
monocyte	Monozyten in %
moz	Anteil monozytärer Zellen im KM in %
MPN	Myeloproliferative Neoplasien
MPV	mittlere Volumen eines Thrombozyten (<i>mean platelet volume</i>)
mRNA	<i>messenger</i> Ribonukleinsäure
multili2	multiliniäre Dysplasien im KM
myelocyt	Myelozyten in %
NEUTRPRO	Neutrophile in %

NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
noxe	Pat. hat bei ED bereits Chemo-/Radiotherapie bekommen
OUTCOME	Todesursache im Krankheitsverlauf
ova	Ovalozyten
PBSCT	Stammzelltransplantation mit peripherem Blut
plasma	Plasmazellvermehrung
poc	Polychromasie
poi	Poikilozytose
pra	Anteil der Promyelozyten im KM
primsek	primäres oder sekundäres MDS
promyelo	Promyelozyten in %
pse	Pseudo-Pleger-Zellen im KM
psp	Pseudo-Pleger-Zellen im peripheren Blut
rem	Reifungsstörung der Megakaryopoese
retiabs	Retikulozyten absolut
retipro	Retikulozyten in %
ringside	Vorhandensein von Ringsideroblasten
ris	Anteil der Ringsideroblasten im KM in %
RNA	Ribonukleinsäure
RS	Ringsideroblasten
SCT	Stammzelltransplantation
segmentk	segmentkernige neutrophile Granulozyten
SPSS	Softwaremarke der Firma IBM (<i>“Statistical Package for the Social Sciences”</i>)
stabkern	stabkernige neutrophile Granulozyten
tan	Thrombozyten Anisometrie
thy	Thrombozyten Hypogranulation
tmi	Thrombozyten Mikro-Megakaryozyten
transfusED	Transfusionsbedarf bei ED
transfuVerlauf	Transfusionsbedarf im Verlauf
tre	Tränenform
tri	Thrombozyten Riesenplättchen
TPO	Thrombopoetin
Thrombozytenipssr	Punktwert für Thrombozytenzahl nach IPSS-R

Vitb12	Vitamin B12 Spiegel im peripheren Blut bei ED
Wald	parametrischer Test, bestimmt Verteilung einer Teststatistik
WHO	<i>World Health Organisation</i>
who2008	WHO Klassifikation der MDS von 2008
who2016	WHO Klassifikation der MDS von 2016
WT	Wildtyp
zem	Zellularität der Megakaryopoese
Zytopenieform	Art und Anzahl der Zytopenien im peripheren Blut
Zytostatika	Therapie mit Zytostatika

GENE

ABL	<i>Abelson murine leukaemia viral oncogene homolog 1</i>
RUNX1	<i>Runt-related transcription factor 1</i> (auch als "acute myeloid leukaemia 1 protein" bekannt, Synonym: AML1RUNX1)
ASXL1	<i>additional sex combs-like 1</i>
ATRX	ATP-abhängige Helikase
BCOR	<i>BCL-6 Co-Repressor</i>
BCORL	<i>BCL-6 Co-Repressor-like protein</i>
BRAF	Serin/Threonin-Protein-Kinase B-Raf
CALR	<i>Calreticulin Protein</i>
CBL	<i>Casitas B-lineage lymphoma</i>
CBLB	<i>Casitas B-lineage lymphoma Proto-Oncogene B</i>
CBLC	<i>Casitas B-lineage lymphoma Proto-Oncogene C</i>
CDKN2	<i>cyclin-dependent kinase inhibitor2</i>
CEBPA	<i>CCAAT Enhancer Binding Protein Alpha</i>
CSF3R	<i>Colony-stimulating factor 3 (granulocyte) b receptor</i>
CUX1	<i>Cut Like Homebox 1 Protein</i>
DNMT3A	<i>DNA methyltransferase 3A</i>
ETV6	<i>E-26 transforming specific ETS variant 6</i>
EZH2	<i>Enhancer of zeste homolog 2</i>
FBXW7	<i>F-box and WD repeat domain containing 7</i>
FLT3	<i>fms like tyrosine kinase 3</i>
GATA1/2	<i>globin transcription factor 1/2</i>
GNAS	<i>Adenylate cyclase-stimulating G alpha protein</i>
HRAS	<i>Harvey rat sarcoma viral oncogene</i>

IDH1/2	<i>isocitrate dehydrogenase 1/2</i>
IKZF1	<i>IKAROS family zinc finger 3</i>
JAK2/3	<i>Janus Kinase 2/3</i>
KDM6A	<i>Lysine-specific demethylase 6A</i>
KIT	<i>Tyrosine-protein kinase KIT</i>
KMT2A	<i>Histone-lysine N-methyltransferase 2A</i>
KRAS	<i>Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
MLL	<i>Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukaemia enzyme</i>
MPL	<i>myeloproliferative leukaemia virus oncogene</i>
MYD88	<i>Myeloid differentiation primary response 88</i>
NOTCH	<i>Transmembranprotein (als Rezeptor für Signaltransduktion)</i>
NPM1	<i>Nucleophosmin 1</i>
NRAS	<i>Neuroblastoma rat sarcoma viral oncogene</i>
PDGFR	<i>platelet-derived growth factor receptor</i>
PHF6	<i>plant homeodomain (PHD)-like finger 6</i>
PTEN	<i>Phosphatase and Tensin homolog</i>
PTPN1	<i>Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 1</i>
RAD21	<i>Double-strand-break repair protein rad21 homolog</i>
SETBP	<i>SET binding protein1</i>
SF3B1	<i>Splicing factor 3B1</i>
SMC1A	<i>Structural maintenance of chromosomes protein 1A</i>
SMC3	<i>Structural maintenance of chromosomes protein 3</i>
SRSF2	<i>Serine/arginine-rich splicing factor 2</i>
STAG2	<i>Cohesin subunit SA-2</i>
TET2	<i>Tet methylcytosine dioxygenase</i>
TP53	<i>Tumorprotein p53</i>
U2AF1	<i>U2 snRNP auxiliary factor 1</i>
WT1	<i>Wilmstumor 1</i>
ZRSR2	<i>U2 Small Nuclear RNA Auxiliary Factor 1-Like</i>

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Epidemiologie	1
1.2	Pathogenese	1
1.3	Klinik bei Erstdiagnose	2
1.4	Diagnose	3
1.5	Klassifikation	4
1.6	Prognosescores und Risikofaktoren	7
1.7	Therapie	8
1.8	Genetische Veränderungen bei MDS	10
1.9	Fragestellung	14
2	Material und Methoden	15
2.1	Angaben zu Patienten	15
2.2	Erhobene Daten	15
2.3	Differentialblutbild und Zytologie	18
2.4	Zytogenetische Analysen	18
2.5	Molekulargenetische Analysen	19
2.6	Statistik	21
2.7	Ethikvotum	21
3	Ergebnisse	22
3.1	Merkmale der Patientenkohorte	22
3.2	Überleben der Patienten	36
3.3	Übergang in eine AML	49
3.4	Zusammenhang zwischen Biomarkern und klinischen Parametern	59
3.5	Korrelation der Gene untereinander	72
3.6	Multivariate Analyse	74
4	Diskussion	76
5	Literatur- und Quellenverzeichnis	88

Abbildungsverzeichnis

Abb. 3.1-1: Verteilung der Subtypen nach der WHO Klassifikation 2016	23
Abb. 3.1-2: Verteilung der Risikogruppen nach IPSS-R	24
Abb. 3.1-3: Verteilung der Chromosomen Kategorien	25
Abb. 3.1-4: Anzahl der Analysen pro Patient	26
Abb. 3.1-5: Anzahl der Mutationen pro Patient (nur die Panel-Patienten)	26
Abb. 3.1-6: Anzahl der Mutationen pro Patient (in der gesamten Kohorte)	26
Abb. 3.2-1: Kaplan Meier Überlebenskurve der gesamten Kohorte	36
Abb. 3.2-2: Kaplan Meier Überlebenskurve nach Risikogruppen des IPSS-R	37
Abb. 3.2-3: Kaplan Meier Überlebenskurve Anzahl der Mutationen p. Pat.	38
Abb. 3.2-4: Kaplan Meier Überlebenskurve Anzahl der Mutationen p. Pat. gruppiert	39
Abb. 3.2-5: Kaplan Meier Überlebenskurve RUNX1	39
Abb. 3.2-6: Kaplan Meier Überlebenskurve ASXL1	40
Abb. 3.2-7: Kaplan Meier Überlebenskurve EZH2	41
Abb. 3.2-8: Kaplan Meier Überlebenskurve SF3B1	41
Abb. 3.2-9: Kaplan Meier Überlebenskurve TP53	42
Abb. 3.3-1: Kurve des AML-Übergangs der gesamten Kohorte	49
Abb. 3.3-2: Kurve des AML-Übergangs nach Risikogruppen des IPSS-R	50
Abb. 3.3-3: Kurve des AML-Übergangs Anzahl der Mutationen p. Pat. gruppiert.....	50
Abb. 3.3-4: Kurve des AML-Übergangs RUNX1	51
Abb. 3.3-5: Kurve des AML-Übergangs DNMT3A	52
Abb. 3.3-6: Kurve des AML-Übergangs SF3B1	52
Abb. 3.3-7: Kurve des AML-Übergangs TP53	53

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.5-1: Overlap Erkrankungen nach WHO 2016	5
Tabelle 1.5-2: WHO Klassifikation von 2016 [19]	6
Tabelle 1.6-1: IPSS-R (International Prognose Scoring System - Revised) [22]	7
Tabelle 1.6-2: Legende für den IPSS-R	7
Tabelle 1.8-1: Zytogenetik bei MDS	10
Tabelle 1.8-2: somatische Mutationen bei MDS	13
Tabelle 3.1-1: Verteilung der Subtypen nach der WHO Klassifikation 2016.....	23
Tabelle 3.1-2: Verteilung der wichtigsten klinischen Parameter	24
Tabelle 3.1-3: Verteilung der Risikogruppen nach IPSS-R.....	24
Tabelle 3.1-4: Verteilung der Karyotypen innerhalb der Studienpopulation.....	25
Tabelle 3.1-5: Anzahl der Mutationen (Analysen) pro Gen.....	28
Tabelle 3.1-6: Anteil der Mutationen in %.....	30
Tabelle 3.1-7: Übersicht über alle kontinuierlichen Variablen.....	32
Tabelle 3.1-8: Übersicht über alle kategoriellen Variablen	33
Tabelle 3.2-1: Übersicht Überlebenszeiten	44
Tabelle 3.3-1: Übersicht AML-Transformation.....	54
Tabelle 3.4-1: Zusammenhang von SF3B1 Mutation und Ringsideroblasten.....	60
Tabelle 3.4-2: Geno-Phänotyp-Korrelationen, p-Werte der Kreuztabellen	63
Tabelle 3.4-3: t-Test, kontinuierliche Variablen	69
Tabelle 3.4-4: Mann-Whitney-U Test, kontinuierliche Variablen.....	70
Tabelle 3.5-1: Gen-Gen Korrelationen p-Werte der Kreuztabellen.....	73
Tabelle 3.6-1: Cox Regression – proportionales Hazard Modell	75

1 Einleitung

Bei Erwachsenen dient ausschließlich das Knochenmark zur Blutbildung. Es werden verschiedene Reifungsstufen der Vorläuferzellen durchlaufen bis differenzierte funktionstüchtige Zellen entstehen. Die Hämatopoese wird direkt zu Beginn in zwei Hauptlinien eingeordnet, aus denen alle Blutzellen entstehen. Dies sind die lymphatische Reihe und die myeloische Reihe. Aus der lymphatischen Vorläuferzelle entstehen die B- und T-Lymphozyten sowie die natürlichen Killerzellen. Die myeloische Vorläuferzelle bildet Thrombozyten, Erythrozyten, Monozyten und Granulozyten. Zu den Krankheitsbildern der myeloischen Reihe zählen myeloproliferative sowie myelodysplastische Erkrankungen und die akute myeloische Leukämie (AML).

Myelodysplastische Syndrome (MDS) sind eine heterogene Gruppe klonaler Stammzellerkrankungen, die mit einer qualitativen und quantitativen Störung der Hämatopoese einhergehen. Durch diese Differenzierungsstörung entstehen dysplastische Zellen, die ihrer eigentlichen Funktion nicht mehr nachgehen können und zusätzlich im Verlauf (zunehmend) durch ungehemmtes Wachstum die gesunde Blutbildung im Knochenmark verdrängen.

1.1 Epidemiologie

Myelodysplastische Syndrome zählen zu den häufigsten malignen hämatologischen Erkrankungen mit einer Inzidenz von ca. 4-5/100.000 Einwohner pro Jahr. Durch den langsamen und auch unentdeckten Verlauf über Jahre hinweg, liegt das mediane Erkrankungsalter bei Erstdiagnose (ED) bei ca. 75 Jahren. Insgesamt steigt die Inzidenz mit zunehmendem Alter an und liegt bei 70-jährigen bei >30/100.000 Einwohner pro Jahr. [1]

1.2 Pathogenese

In 90% der Fälle liegt ein primäres MDS vor, bei dem keine direkte Ursache erkennbar ist. Sekundäre MDS (oft auch therapieassoziiert genannt) können auf Bestrahlung, Chemotherapien, Zytostatika, oder in seltenen Fällen organische Lösungsmittel und radioaktive Strahlung zurückgeführt werden.

Somatische, genetische Veränderungen an hämatopoetischen Stammzellen sind in beiden Fällen mitursächlich für die Entstehung von MDS. Der aktuelle Stand der Wissenschaft ist, dass durch schrittweise Anhäufung von chromosomalen Veränderungen, somatischen Mutationen und epigenetischen Veränderungen eine klonale Stammzelle entsteht. [2, 3] Diese veränderte Stammzelle hat zwei wesentliche Eigenschaften. Zum einen teilt sie sich ungehemmt und zum anderen wird dadurch die gesunde Blutbildung immer ineffizienter. Es entstehen im Knochenmark als Zeichen der ineffektiven Hämatopoese vor allem dysplastische Zellen, die vermehrt zur Apoptose neigen und dadurch im peripheren Blut nur vermindert vorliegen.

Neben chromosomalen Veränderungen gibt es auch einige genetische Punktmutationen die gehäuft, aber nicht ausschließlich bei MDS vorkommen. Dazu zählen Mutationen des Splicingapparates, der Transkriptionsfaktoren und bei der Regulation epigenetischer Modifikation. [4, 5] Ausführlicher wird dies unter 1.8.2 Molekulargenetik besprochen.

Als zweiten Faktor der Krankheitsentstehung ist in den letzten Jahren die Knochenmarksmikroumgebung zunehmend in den Mittelpunkt der Forschung gerückt. Auch genetische Veränderungen der Stromazellen im Knochenmark können dazu führen, dass sich ein Patient klinisch mit einem MDS präsentiert. Es wurde gezeigt, dass blutbildende Zellen aus dem Knochenmark von MDS Patienten auf günstige Wachstumsbedingungen des Knochenmarkstromas angewiesen sind. [6, 7]

1.3 Klinik bei Erstdiagnose

Oft verläuft die Erkrankung lange Zeit asymptomatisch und fällt erst im Rahmen von Routineuntersuchungen durch Zytopenien, meist einer Anämie auf. [8, 9] Durch den langsamen Verlauf bleibt sie bei fast 20% der Patienten lang asymptomatisch und daher unerkannt.

Wie im Kapitel der Pathogenese bereits beschrieben, haben dysplastische Blutzellen eine kürzere Lebensdauer, da sie vermehrt in Apoptose gehen. Aus diesem Grund fällt peripher eine Verminderung der entsprechenden Zellreihe auf. Wenn mehrere Zellreihen betroffen sind, wird dies eine Bi- bzw. Panzytopenie genannt.

Klassische Zeichen einer Anämie sind verminderte Belastbarkeit, chronische Müdigkeit und Blässe. Bei 70–80% der MDS-Patienten ist eine Anämie labordiagnostisch nachweisbar, die bei rascher Entwicklung auch zu Kopfschmerz, Sehstörungen, Verwirrheitszuständen oder Verschlechterung einer vorbestehenden

KHK (Koronaren Herzkrankheit) führen kann. Ein erhöhte Infektneigung ist durch eine Neutropenie beziehungsweise durch die Minderfunktion der neutrophilen Granulozyten zu erklären. Durch eine Thrombozytopenie treten selten Störungen der Blutstillung auf. Diese fallen durch petechiale Blutungen, Zahnfleischbluten oder Hämatome auf.

1.4 Diagnose

Über prognostisch relevante Gene, die bei MDS gehäuft auftreten, wird viel diskutiert. So ist beispielsweise bei gesunden Patienten mit *Clonal Haematopoiesis of Indeterminate Potential* (CHIP) eine erhöhte MDS-Rate im Gegensatz zu der Normalbevölkerung festzustellen. [9-11] Dennoch tritt der Übergang, mit lediglich 0,5-1%, insgesamt sehr selten auf. [3]

Mittelpunkt der Diagnostik ist die Zytomorphologie von Blut- und Knochenmarkszellen (einschließlich der Färbung nach Pappenheim und einer Eisenfärbung). Sie dient der Identifikation von Dysplasiezeichen und der Aussage über die Anzahl der betroffenen Zellreihen. Es müssen mindestens 10% einer Zellreihe dysplastisch sein, damit die Diagnose eines MDS gestellt werden kann. Der periphere und medulläre Blastenanteil sollte möglichst genau bestimmt werden, da dies für die Einteilung des Prognosescores von essenzieller Bedeutung ist.

Sowohl ein allgemeines Blutbild als auch ein Differentialblutbild gehören zur Standarddiagnostik einer hämatologischen Knochenmarkserkrankung dazu. Im Rahmen der Anämie-Abklärung sollten folgende Parameter bestimmt werden: Retikulozyten, Erythropoetin, Ferritin, Folsäure, Vitamin B12. [12] Mit der Untersuchung der Laktatdehydrogenase (LDH) ist die Basisdiagnostik komplettiert.

Die Knochenmarkshistologie ist wichtig, um Gewebearchitektur, Zellularität und Fibrosegrad beurteilen zu können. In den letzten Jahren hat die zytogenetische Betrachtung zunehmend an Bedeutung gewonnen, da oft chromosomale Aberrationen gefunden werden, die Einfluss auf die Prognose haben. [13] Mittlerweile wird auch eine Molekulargenetik der häufigsten ungünstigsten Mutationen empfohlen (ASXL1, EZH2, TP53). [14, 15] Außerdem kann über den Nachweis bestimmter Mutationen eine Abgrenzung zu anderen Erkrankungen erfolgen (wie z.B. BCR-ABL). In Einzelfällen ist eine Immunphänotypisierung sinnvoll. [16]

1.5 Klassifikation

Eine erste Einteilung der MDS erfolgte 1982 von der *French-American-British Cooperative Group* nach zytomorphologischen Eigenschaften. [17] Im Jahr 2000 brachte die World Health Organisation (WHO) eine veränderte Klassifikation der Myelodysplastischen Syndrome heraus, bei der neben der Zytomorphologie auch die Zytogenetik und periphere Blutwerte berücksichtigt wurden. [18]

Diese Einteilung wurde bereits mehrmals überarbeitet. Aktuell ist die WHO Klassifikation von 2016 gültig und soll im Folgenden genauer erläutert werden. [19]

Zum einfacheren Verständnis lassen sich die Myelodysplastischen Syndrome anhand von Blasten und dem Vorhandensein von Ringsideroblasten (RS) verschiedenen Gruppen zuordnen.

Wenn keiner der oben genannten Parameter stark ausgeprägt vorliegt, wird eine Ein- bzw. Mehrliniendysplasie (SLD und MLD) diagnostiziert, abhängig davon wie viele Zellreihen von der Dysplasie betroffen sind. Die zweite Gruppe beinhaltet die Subtypen ohne vermehrten Blastenanteil, aber mit Nachweis von Ringsideroblasten. Innerhalb dieser Gruppe wird auch wieder je nach Anzahl der dysplastischen Zellreihen in MDS RS SLD und MDS RS MLD unterschieden.

Sobald der Blastenanteil bei Patienten erhöht ist, wird von MDS mit Blastenexzess gesprochen. In dieser Gruppe wird je nach Höhe der Blasten in Blut oder Knochenmark in Subtyp EB1 oder EB2 unterschieden.

Eine Besonderheit stellt der Subtyp del(5q) mit Deletion am langen Arms von Chromosom 5 dar, da hier neben allgemeinen Dysplasiezeichen und Fehlen von Blastenvermehrung lediglich die isolierte chromosomale Aberration ausreicht, um Patienten diesem Subtyp zuzuordnen.

Trotz genauer und stetig weiterentwickelter Diagnosekriterien lassen sich manche Patienten keinem Subtyp zuordnen und gelten dann als MDS U für unklassifizierbar.

Als *Overlap*-Erkrankungen werden die Patienten gesehen, die sowohl myelodysplastische (mind. eine Zellreihe mit >10% Dysplasiezeichen) als auch myeloproliferative Charakteristika aufweisen. Dazu zählen u.a. die chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML), die MDS/MPN RS T und MDS/MPN U. Die CMML kennzeichnet sich durch mindestens 10% Monozyten im peripheren Blut und mehr als 1000 Monozyten / μ l im Knochenmark und wird je nach Blastenanteil in drei Gruppen eingeteilt (CMML 0/1/2). Genaue Diagnosekriterien und eine entsprechende Gegenüberstellung der Gruppen finden sich in Tabelle 1.5-1 und Tabelle 1.5-2 wieder.

Wesentliche Änderungen der WHO Klassifikation von 2016 bestehen darin, dass eine neue Bezeichnung der Untergruppen eingeführt wurde. Zudem bilden die multilineären Dysplasien ohne Blasten mit Ringsideroblasten erneut einen eigenen Subtyp. Des Weiteren wurde der Subtyp „MDS del(5q)“ um die Patienten mit einzelnen weiteren chromosomalen Aberrationen erweitert. Die Gruppe mit gemischt myelodysplastischen und myeloproliferativen Phänotyp wurde nun als eigenständige Erkrankung abgegrenzt und zusätzlich die CMML in drei Gruppen unterteilt.

In der aktuellen WHO-Klassifikation werden Patienten mit >20% Blasten definitionsgemäß zur AML gezählt. Der Subtyp AML mit myelodysplasie-assoziierten Veränderungen (im Düsseldorfer MDS-Register „AML(RAEB-T)“ genannt), wird in dieser Arbeit ebenfalls berücksichtigt, da vor allem die Patienten mit einem vorbestehenden MDS und einem Progress in eine AML zu diesem Subtyp zählen.

Tabelle 1.5-1: Overlap Erkrankungen nach WHO 2016

Gruppe/ Subtyp	Abkürzung	Blasten im Knochenmark	Blasten im peripheren Blut	Weitere Merkmale
<i>Overlap-Erkrankungen</i>				
chron. myelomonozytäre Leukämie 0	CMML 0	< 5%	< 2%	> 1000/ µl Monozyten und > 10% der Leukozyten
chron. myelomonozytäre Leukämie 1	CMML 1	6-9%	2-4%	> 1000/ µl Monozyten und > 10% der Leukozyten
chron. myelomonozytäre Leukämie 2	CMML 2	10-19%	5-19%	> 1000/ µl Monozyten und > 10% der Leukozyten, Auerstäbchen möglich
MDS/MPN mit RS und Thrombozytose	MDS/MPN RS T	< 5%	< 1%	Dysplasie der Erythrozyten, Thrombozytose von mind. $450 \times 10^9/L$, > 15% RS da meist SF3B1 Mutation
MDS/MPN unklassifizierbar	MDS/MPN U			

Tabelle 1.5-2: WHO Klassifikation von 2016 [19]

Subtyp	Abkürzung	Dysplastische Reihen	Blasten im Knochenmark	Blasten im peripheren Blut	Ringsideroblasten	Weiter Merkmale
MDS mit unilineärer Dysplasie	MDS-SLD	1	< 5%	< 1%	< 15%	
MDS mit multilineärer Dysplasie	MDS-MLD	2 oder 3	< 5%	< 1%	< 15%	
mit Ringsideroblasten						
MDS mit unilineärer Dysplasie und RS	MDS-RS-SLD	1	< 5%	< 1%	> 15%	
MDS mit multilineärer Dysplasie und RS	MDS-RS-MLD	2 oder 3	< 5%	< 1%	> 15%	
mit Blastenexzess						
MDS mit Blastenexzess 1	MDS EB 1	0-3	5-9%	2-4%	irrelevant	
MDS mit Blastenexzess 2	MDS EB 2	0-3	10-19%	5-19%	irrelevant	peripher Auerstäbchen
MDS mit del(5q)	del(5q)	1-3	< 5%	< 1%	irrelevant	del(5q), ggf. plus Einzelaberration
MDS, unklassifizierbar	MDS-U					
mit 1 % peripheren Blasten		1-3	< 5%	=1%	irrelevant	
Mit Einliniendysplasie und Panzytopenie		1	< 5%	< 1%	irrelevant	
MDS definierende zytogenetische Veränderungen		0	< 5%	< 1%	< 15%	MDS-definierende Abnormalität siehe Leitlinie

1.6 Prognosescores und Risikofaktoren

Allgemeine Risikofaktoren sind wie bei vielen Erkrankungen beispielsweise das Alter, das Geschlecht, koexistierende Vorerkrankungen und ein reduzierter Allgemeinzustand. Hämatologische Parameter wie der Blastenanteil, komplexe chromosomale Aberrationen, der Transfusionsbedarf, LDH und das Ausmaß der Zytopenien können zur Prognoseabschätzung hinzugezogen werden. Um das individuelle Risiko eines Patienten abschätzen zu können, wurden validierte Prognosesysteme entwickelt. Dazu ist es notwendig, dass alle entsprechenden Parameter bei der Initialdiagnostik erfolgt sind. Als erster Prognosescore berücksichtigt das IPSS (*International Prognose Scoring System*) folgende Merkmale: Zytopenien, chromosomale Veränderungen und die medulläre Blastenzahl. [20] Germing et. al konnte 2005 aufzeigen, dass ein erhöhtes LDH unabhängig vom IPSS einen negativen Einfluss auf das Überleben hat und somit auch als Prognoseparameter genutzt werden kann. [21] Im Vergleich zum IPSS wurden beim überarbeiteten IPSS-R (*International Prognose Scoring System- Revised*) von 2012 die zytogenetischen Kategorien erweitert, die Blasten im Knochenmark anders gewichtet und Zytopenien genauer aufgeteilt. [22, 23] Die Parameter des IPSS-R sind in Tabelle 1.6.1 aufgeführt. Tabelle 1.6.2 dient dafür als Legende. Der Einfluss einer somatischen Mutation im TP53-Gen ist trotz schlechtem Karyotypen prognostisch bedeutsam und als erster unabhängiger molekularer Risikofaktor erkannt worden. [24]

Tabelle 1.6-1: IPSS-R (*International Prognose Scoring System - Revised*) [22]

Kategorien / Score-Punkte	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Karyotyp	A		B		C	D	E
Blasten im Knochenmark (%)	≤2		>2-<5		5-10	>10	
Hämoglobin g/dl	≥10		8-<10	<8			
Thrombozyten (/nl)	≥100	50-<100	<50				
Neutrophile (/nl)	≥800	<800					

Tabelle 1.6-2: Legende für den IPSS-R

Punkte	Risikoscore	Legende für Karyotypen
≤1,5	very low risk	A -Y, del(11q)
2-3	low risk	B Normal, del(5q), del(12p), del(20q), Doppelklon mit del(5q) außer Chrom7
3,5-4,5	intermediate risk	C del(7q), +8, +19, i(17q), andere Einzel- o. Doppelklone
5-6	high risk	D -7, inv(3)/t(3q)/del(3q), Doppelklon mit -7/del(7q), komplex (3 Aberrationen)
>6	very high risk	E >3 Aberrationen

1.7 Therapie

Diese Prognosescores dienen maßgeblich als Entscheidungshilfe für die weitere Therapieplanung. Je nach Risikogruppe, vorbestehenden Begleiterkrankungen und vor allem auch je nach Wunsch des Patienten, wird ein Therapieschema etabliert. Als einzige kurative Therapieoption sollte die allogene Stammzelltransplantation den Hochrisiko-Patienten vorbehalten bleiben. In Einzelfällen kann sie aber auch bei Patienten mit Niedrigrisiko-MDS in Erwägung gezogen werden.

1.7.1 Niedrigrisiko-MDS

Eine sogenannte „*wait and watch*“-Strategie (auf Deutsch: abwarten und beobachten) ist bei vielen Patienten zu Beginn der Erkrankung ausreichend.

Die Indikation dennoch mit der Therapie zu starten ist oft die diagnoseführende Anämie mit der entsprechenden Symptomatik. Die Auswahl der Therapie bei Niedrigrisiko-MDS basiert auf supportiven Basismaßnahmen wie Transfusionen, Antibiotikagabe sowie die engmaschige Kontrolle und Behandlung von Komorbiditäten.

Das Ziel hierbei besteht darin, die Lebensqualität der Patienten zu erhalten bzw. zu verbessern. [15] Die Transfusionshäufigkeit von Erythrozyten-Konzentraten entscheidet sich je nach Klinik und Begleiterkrankungen. Thrombozyten-Konzentrate müssen insgesamt seltener gegeben werden. Hierbei sollte stets individuell abgewogen werden und wenn möglich keine prophylaktische Gabe erfolgen. Die Indikation für eine antibiotische Abdeckung bei Infektionen hingegen wird weitaus großzügiger gestellt. [12]

Das Risiko für eine sekundäre Hämochromatose bei polytransfunden Patienten sollte mit regelmäßigen Ferritinkontrollen überwacht und ggf. mit Eisenchelatoren behandelt werden. [25, 26]

Alternativ zu der Gabe von Blutprodukten stehen Wachstumsfaktoren wie Erythropoetin und Granulozyten-stimulierender Faktor (G-CSF) als Therapieoption zur Verfügung, um die Erythropoese anzuregen. Bei Auswahl des entsprechenden Patientenguts kann ein sehr gutes Ansprechen erwartet werden. [27, 28]

Auch in der Therapie nimmt der Subtyp MDS del(5q) eine Sonderstellung ein. Diese Patienten sprechen in ca. 60% der Fälle gut auf die Behandlungen mit Lenalidomid an. Meist wird eine Transfusionsunabhängigkeit, teilweise sogar eine zytogenetische Remission, erzielt. [29, 30]

Für Patienten mit hypozellulärem Knochenmark, niedrigem Krankheitsrisiko und einer geringen Transfusionsbedürftigkeit liegen einzelne positive Erfahrungen vor diese Patienten mit immunsuppressiven Medikamenten zu behandeln. [31]

1.7.2 Hochrisiko-MDS

Die Option einer allogenen Stammzelltransplantation sollte bei allen Patienten, die jünger als 65-70 Jahren sind, sich in einem guten Allgemeinzustand befinden und ein Hochrisiko-MDS haben dringend geprüft werden. Wie bereits oben beschrieben, ist dies die einzige kurative Behandlungsmöglichkeit. [32]

Alternativ steht für Patienten über 65-70 Jahren oder mit einem schlechten Gesundheitszustand die Therapie mit hypomethylierenden Substanzen wie Azacitidin oder Decitabin zur Verfügung. Azacitidin konnte in Studien einen Vorteil gegenüber einer alleinigen Basistherapie zeigen. Decitabin wird vor allem bei Versagen der Therapie mit Azacitidin eingesetzt. [33-35]

Bei Therapieversagen sollten Patienten stets an ein hämatologisches Zentrum angebunden und ggf. in eine Studie eingeschlossen werden.

1.8 Genetische Veränderungen bei MDS

1.8.1 Zytogenetik

Chromosomale Aberrationen sind bei Patienten mit myelodysplastischen Syndromen in ca. 50% nachzuweisen. Bekannte und insbesondere typische Veränderungen für MDS sind in Tabelle 1.8.1 zusammengefasst. Vor allem bei schwieriger Diagnostik mit uneindeutigen histo- und zytomorphologischen Kriterien lässt sich über einen der folgenden Karyotypen die Diagnose MDS-U erhärten. Die Deletionen +8, del(20q), oder-Y (*) gelten nur dann als Diagnosekriterium für MDS, wenn der Nachweis morphologischer MDS-Kriterien erfolgen konnte. [36]

Tabelle 1.8-1: Zytogenetik bei MDS

Unbalancierte Aberration	Häufigkeit bei MDS	Balancierte Aberration	Häufigkeit bei MDS
+8*	10%	t(11;16)(q23.3;p13.3)	3%
-7 or del(7q)	10%	t(3;21)(q26.2;q22.1)	2%
del(5q)/5q Verlust	10%	t(1;3)(p36.3;q21.2)	1%
del(20q)*	5-8%	t(2;11)(p21;q23)	1%
-Y*	5%	inv(3)(q21.3;q26.2)/ t(3;3)(q21.3;q26.2)	1%
i(17q) or t(17p)	3-5%	t(6;9)(p23;q34)	1%
-13 or del(13q)	3%		
del(11q)	3%		
del(12p) or t(12p)	3%		
del(9q)	1-2%		
idic(X)(q13)	1-2%		

Legende:

* +8, del(20q), oder-Y gelten nur als Diagnosekriterium für MDS bei Nachweis morphologischer MDS-Kriterien

1.8.2 Molekulargenetik

Da sich, wie oben beschrieben, bei lediglich der Hälfte aller Patienten mit MDS eine zytogenetische Aberration nachweisen lässt, kann der klonale Charakter der Erkrankung auch auf Gen-Ebene im Sinne von somatischen Punktmutationen nachgewiesen werden. [5, 37]

Genmutationen lassen sich anhand ihrer Funktion auf zellulärer Ebene in verschiedene Gruppen einteilen. Wesentliche pathophysiologische Veränderungen in bestimmten Genen sollen im Folgenden kurz erläutert werden. [38, 39]

Die DNA-Methylierung und Histon-Modifikation werden je nach Autor teilweise auch als Epigenetische Modifikation zusammengefasst.

Splicing-Faktoren

Das Herausschneiden von nicht kodierenden DNA-Abschnitten wird Spleißen genannt. SF3B1 stellt eine Untereinheit des Splicosoms dar. [40]

Eine SF3B1 Mutation existiert mit 20% wie ASXL1 und TET2 als eines der häufigsten mutierten Gene bei Patienten mit myelodysplastischen Syndromen. Schon sehr lange ist bekannt, dass diese Mutation allgemein mit einer guten Prognose und zytomorphologisch mit Ringsideroblasten assoziiert ist. Diese Patienten haben außerdem weniger Zytopenien und einen niedrigeren Blastenanteil. [41-44]

Das Gen SRSF2 gehört auch zum Splicosom und ist in ca. 10% der Fälle als Mutation nachzuweisen. Ebenfalls zum Spleiß-Apparat gehören U2AF1 und ZRSR2. [5, 40]

DNA-Methylierung

Das TET2 Gen gehört zu den Proteinen, die in der Regulation der DNA-Methylierung eine wichtige Rolle spielen und führt zu einer erhöhten Selbsterneuerung und Teilung der Zelle, wenn es mutiert ist. Es ist mit 15-25% eines der häufigsten mutierten Gene bei Patienten mit MDS und mit dem Vorliegen des Subtyps einer CMML assoziiert. [37, 45]

Die DNA-Methyltransferasen sind bei Abläufen wie der Inaktivierung des X-Chromosoms, der Zelldifferenzierung, Proliferation und Apoptose von essenzieller Bedeutung. Fast jeder zehnte Patient mit MDS weist eine Mutation von DNMT3A auf. Beim Progress in eine AML ist es sogar jeder dritte Patient. Insgesamt ist diese Mutation mit einem schlechten Overall Survival assoziiert. [46]

Histon-Modifikation

Die Aufgabe des ASXL1 Gens liegt in der Modifikation von Histonen. Dies sind basische Proteine, auf denen die DNA aufgewickelt wird. Es ist mit ca. 20% eines der häufig mutierten Gene bei MDS und sowohl mit einem schlechten Outcome als auch häufigen Übergang in eine AML verbunden. [4, 47]

Die Histon-Methyltransferase wird von EZH2 kodiert, welches mit 3-8% aller MDS Fälle deutlich seltener mutiert vorliegt als der Gruppenpartner ASXL1. Die Prognose ist bei vorliegender Mutation dennoch genauso mit einem schlechten Überleben assoziiert. [4, 48]

Transkriptionsfaktoren

Die Aktivierung der RNA Polymerasen, welche an der Transkription von DNA zu mRNA beteiligt sind, werden durch sogenannte Transkriptionsfaktoren gesteuert. Der Transkriptionsfaktor TP53 nimmt als Tumorsuppressor eine Schlüsselfunktion in der Zellzyklusregulation ein und wird auch „Wächter des Genoms“ genannt. Wenn dieses Gen nun mutiert vorliegt, kann es seiner physiologischen Aufgabe nicht mehr nachgehen und bei weiteren Zellschäden somit die Zellteilung nicht unterbinden. Dies könnte ein Grund für die häufige Co-Existenz von TP53 Mutationen und komplexen Karyotypen bei Patienten mit MDS sein. Insgesamt ist diese Mutation bei ca. 10% der MDS Patienten zu finden und mit einem verkürzten Gesamtüberleben assoziiert. Außerdem sind Blastenexzess und eine Thrombozytopenie häufig bei diesen Patienten zu finden. [4, 38]

RUNX1 reguliert als Transkriptionsfaktor die Differenzierung von blutbildenden Zellen. 10-15% aller Patienten mit einem MDS haben einen positiven Nachweis einer RUNX1 Mutation. Diese Aberration reduziert sowohl die Überlebenszeit der Patienten als auch den Zeitraum bis zum Progress in eine AML. Häufig treten sowohl eine Thrombozytopenie als auch ein Blastenexzess auf. [4, 37]

Signaltransduktion

Um Informationen zwischen Zellen und innerhalb einer Zelle austauschen zu können sind Signalmoleküle für die Zellkommunikation wichtig. Die Mutation von JAK2 ist vor allem mit myeloproliferativen Erkrankungen assoziiert, da der Signalweg über die Janus-Kinase 2 als Rezeptor zu diesem Zeitpunkt dauerhaft aktiv ist und zu einer unkontrollierten Zellproliferation führt. Bei Patienten mit JAK2 Mutation wird sehr oft eine Thrombozytose diagnostiziert. [38, 49, 50]

Eine CBL Mutation steht mit einem schlechtem Krankheitsverlauf in Verbindung. Pathophysiologisch ist dabei die Zellkommunikation über den Kinase-Signalweg gestört. Daher präsentieren sich die entsprechenden Patienten vor allem mit proliferativen Merkmalen und dem Subtyp CMML. Außerdem wird häufiger eine Linksverschiebung, Monozytose und Fibrose festgestellt. [38, 51]

Tabelle 1.8-2: somatische Mutationen bei MDS

Gruppe je nach Funktion	Mutation	Prognose	Inzidenz	bekannte Assoziationen und Quellen
Splicing	SF3B1	gut	15-30%	Ringsideroblasten, [5, 40-42, 52], Dyserythropoese, Thrombozytopenie [53]
	SRSF2	schlecht	5-10%	CMML, [37, 53, 54] multilineäre Dysplasien und Blastenexzess [40, 43]
	U2AF1	schlecht	5-10%	[40]
	ZRSR2		5%	
DNA-Methylierung	DNMT3A	schlecht	5-10%	[5, 46]
	IDH1/2		4-5%	
	TET2		15-25%	CMML [37, 53, 54]
Histon-Modifikation	ASXL1	schlecht	10-20%	Blastenexzess, Thrombozytopenie, Leukozytose [4, 53]
	EZH2	schlecht	3-8%	[4, 48]
Transkriptionsfaktor	BCOR	schlecht	5-6%	
	ETV6	schlecht	3%	[4]
	RUNX1	schlecht	10%	Blastenexzess und Thrombozytopenie [4, 5, 37]
	TP53	schlecht	5-10%	komplexe Karyotypen, Blastenexzess und Thrombozytopenie [4, 5, 37]
Cohesin Moleküle	STAG2		<10%	
Signalmoleküle	CBL	schlecht	<5%	CMML, MDS/MPN [51, 53]
	JAK2		2-10%	Thrombozytose und MPN [4, 5, 37, 49, 53]
	NRAS	schlecht	<5%	

1.9 Fragestellung

Bisher stehen lediglich begrenzt Daten von Patienten mit MDS zur Verfügung, die eine Beziehung zwischen somatischen Mutationen und klinischen Parametern, wie zum Beispiel dem Blutbild, der Zellularität oder dem Anteil an Blasten im Knochenmark aufzeigen. Der prognostische Einfluss auf den Krankheitsverlauf bei Vorliegen einer Mutation ist hingegen schon länger bekannt. [4]

Es stellt sich daher die Frage, inwiefern bei Vorliegen einer entsprechenden Mutation der Krankheitsverlauf, und dadurch auch die Prognose, durch Ausprägung klinischer Faktoren bestimmt wird. Auch die Frage der Zusammenhänge von somatischen Mutationen und zytogenetischen Veränderungen ist bis jetzt nur unzureichend untersucht. Aus diesem Grund sollte der prognostische Einfluss somatischer Mutationen, unabhängig vom zytogenetischen Bild des Patienten überprüft werden.

Daraus sind folgende Fragen zustande gekommen, die anhand von 878 Patienten aus dem Düsseldorfer MDS-Register diskutiert werden:

1. Gibt es Phänotyp-Genotyp-Korrelationen bei speziellen somatischen Mutationen und krankheitsbezogenen Parametern von Patienten mit MDS?
2. Treten somatische Mutationen überzufällig häufig im Kontext zytogenetischer Aberrationen auf?
3. Ist die klinische Präsentation von Patienten mit MDS abhängig vom Vorliegen von somatischen Mutationen?

Zudem soll die Existenz von Korrelationen zwischen verschiedenen somatischen Co-Mutationen überprüft werden, die überzufällig gemeinsam auftreten.

2 Material und Methoden

2.1 Angaben zu Patienten

In dieser Dissertation wurden die Daten von 878 Patienten aus dem Düsseldorfer MDS-Register, die mindestens eine Analyse von potenziellen somatischen Mutationen vorwiesen, retrospektiv untersucht. Alle Patienten aus dem Register wurden zuvor anhand zytologischer Befunde auf Grundlage der aktuellen Diagnosekriterien nach WHO 2016 gruppiert, um in das Register aufgenommen zu werden. [19] Die Patientenkohorte lässt sich in 534 Männer (60,8%) und 344 Frauen (39,2%) aufteilen. Dieses Patientenkollektiv war bei Erstdiagnose im Durchschnitt 66,2 Jahre alt. Weitere Merkmale der Kohorte sind in Kapitel 3.1 aufgelistet. Von den 878 Patienten, die alle mindestens eine Analyse eines genetischen Markers bekommen haben, wurde bei 192 Patienten ein ganzes Gen-Panel (dies beschreibt eine Hochdurchsatz Sequenzierungsmethode, bei der viele Gene gleichzeitig analysiert werden) mit 54 Genen analysiert. Jedem Patienten aus dem Register ist eine eindeutige Patienten-Identifikationsnummer zugeordnet, sodass die Daten komplett anonymisiert werden konnten.

Alle Patienten, die vor 2005 verstorben sind und Patienten, die mit Erstdiagnose vor 2005 keine Analyse des Karyotyps erhalten haben, wurden zu Beginn aussortiert.

2.2 Erhobene Daten

2.2.1 Klinische und patientenbezogene Daten

Zunächst erfolgte die Zusammenstellung für die Fragestellung geeigneter Parameter und die Entwicklung eines Datensatzes zur Erfassung dieser benötigten Parameter. Folgende, sowohl klinische als auch demographische, Patientendaten wurden zusammengetragen:

Allgemeines: Patienten-ID, Geburtsdatum, Diagnosedatum, Sterbedatum, Datum des letzten *Follow-up*, Übergang in eine AML incl. Datum, Alter bei Erstdiagnose, Geschlecht, Unterscheidung zwischen primärem und sekundärem MDS, Komorbiditäten, WHO 2016-Klassifikation, Prognosescore nach IPSS-R

klinische Parameter: wie zum Beispiel Infektzeichen, Fieber, Blutungszeichen, Symptome bei Erstdiagnose (Leber, Milz, Lymphknoten vergrößert und palpabel)

Zytopenetik und Molekulargenetik: Karyotypen und die 55 eingeschlossenen Gene bei Erstdiagnose und ggf. im Verlauf

Laborwerte: u.a. Hämoglobin, Thrombozyten, Leukozyten, absolute Zahl neutrophiler Granulozyten (ANC), LDH

Zytologie/ Histologie: Blasten in der KM-Zytologie, KM-Histologie, KM-Immunzytologie, Blasten in der Zytologie und Immunzytologie aus dem peripheren Blut, Zellularität und Vorliegen einer Fibrose im Knochenmark

Therapie: Allogene Stammzelltransplantation, Chemotherapie, Lenalidomid, Chelationen, Erythropoese-stimulierende Substanzen, Transfusionen bei Erstdiagnose oder im Verlauf

Um sich in der Diskussion eindeutig auf die Variablen beziehen zu können, erfolgte eine Einteilung in Gruppen und gleichzeitig eine Codierung jeder einzelnen Variable. Die erste Ziffer beschreibt die Qualität der Variable. Kontinuierliche Parameter werden mit eins, kategorielle mit zwei beschriftet. Die zweite Ziffer bestimmt die Zuordnung zur Gruppe. Es gibt Gruppen, wie beispielsweise Allgemeines, Blut Zytologie, Laborparameter etc. von eins bis zwölf. Eine jede Variable bekommt innerhalb ihrer Gruppe eine fortlaufende Nummer. Für den Hämoglobinwert ergibt sich zum Beispiel folgende Codierung: 1.6.12, da es sich um einen kontinuierlichen Parameter handelt (1.X.X), der zu den Laborparameter zählt (1.6.X) und innerhalb dieser Gruppe an 12. Stelle kommt. Die Tabellen mit allen Variablen finden sich in Kapitel 3.1.2.

2.2.2 Nachsorge/ Krankheitsverlauf

Zum Ende der Datenaufbereitung wurden *Follow-up*-Daten erhoben. Es wurde überprüft, ob die Patienten zum Untersuchungszeitpunkt noch lebten oder bereits verstorben sind. Dafür wurde die Klinikdatenbank medico und die Akten des Düsseldorfer MDS-Registers hinzugezogen. In den Fällen, in denen keine aktuellen Informationen vorlagen, wurden Hausärzte, peripher versorgende Krankenhäuser und Einwohnermeldeämter kontaktiert. Das Ende der Datenerhebung für die retrospektive Analyse fand am 29.03.2019 statt.

Die Variablen 1.1.4 und 1.1.5 sind sogenannte Zeitvariablen. Die AML-Transformation (1.1.4) beschreibt den Zeitraum von Erstdiagnose bis zum Übergang in eine AML und das Gesamtüberleben (1.1.5) bezeichnet den Zeitraum von Erstdiagnose bis zum Sterbedatum, falls der Patient bereits verstorben ist. Diese Zeitvariablen sind für die Berechnung der Prognose im Sinne der Überlebenskurven nach Kaplan-Meier (siehe Kapitel 3.2 und 3.3) essenziell.

2.2.3 Methoden der Datenerhebung

Es erfolgte die strukturierte Dokumentation in Excel von hämatologischen, zytomorphologischen, histomorphologischen, zytogenetischen und molekulargenetischen Parametern der entsprechenden Patienten im Zeitraum von Januar 2018 bis März 2019.

Im Januar 2018 wurde für diesen Zweck ein Datensatz von allen zu dem Zeitpunkt im MDS-Register dokumentierten Patienten (6600 Patienten) erstellt.

Aus verschiedenen Quellen (wie zum Beispiel dem MDS-Verbund-Forschungsprojektes) konnten nun fehlende Informationen (v.a. über zytogenetische und molekulargenetische Parameter) ergänzt werden.

Zusätzlich wurde in den Akten der hämatologischen Ambulanz gezielt nach Patienten mit neu gestellter MDS-Diagnose gesucht und die Ergebnisse aktueller Genanalysen übernommen.

Im letzten Schritt konnten Chromosomensätze bei Erstdiagnose, die im Institut für Humangenetik der Uniklinik Düsseldorf bestimmt wurden, mit den Informationen aus dem MDS-Register verglichen und ergänzt werden. In der Regel wurden Chromosomenanalysen innerhalb von drei Monaten nach der Erstdiagnose angefertigt. Nur in wenigen Fällen fanden die Analysen als Verlaufskontrolle statt. Die Dokumentation umfasste maximal fünf Karyotypen im Verlauf (zusätzlich zum initialen Chromosomensatz bei Erstdiagnose). Dokumentiert wurde nach der ISCN (*International System of Cytogenetic Nomenclature*, siehe Kapitel 2.4). Karyotypen mit Analysedatum vor Erstdiagnose wurden nicht festgehalten.

Der letzte Datenexport aus dem MDS-Register erfolgte Ende Februar 2019 mit 7619 Patienten. Die Differenz der Patienten zu dem Export von Januar 2018 wurde mit denselben Quellen wie oben beschrieben ergänzt. Im Anschluss wurden die Patienten in zwei Gruppen geteilt, die einen ohne Genanalyse und die anderen, die Daten über mindestens eine Genanalyse vorweisen konnten. Patienten ohne Daten zu somatischen Mutationen wurden in die folgenden statistischen Analysen nicht mit eingebunden.

2.3 Differentialblutbild und Zytologie

Im Labor für Hämatologie der Uniklinik Düsseldorf wurden die zytomorphologischen Parameter erhoben. Die histomorphologischen Parameter wurden im Institut für Pathologie von Frau Prof. Rudelius ermittelt (Leitung: Frau Prof. Dr. Esposito).

2.4 Zytogenetische Analysen

Die zytogenetischen Untersuchungen bei Erstdiagnose fanden an der Uniklinik Düsseldorf im Institut der Humangenetik (Leitung: Frau Prof. Dr. Wieczorek) durch Frau Dr. Hildebrandt und Frau Dr. Betz statt. Die Analyse der Zytogenetik erfolgte nur dann in einem externen Labor, wenn die Erstdiagnose nicht im Universitätsklinikum Düsseldorf gestellt wurde. Die Chromosomenanalysen, auch Karyotypisierung genannt, werden nach ISCN mit internationaler Gültigkeit angegeben. Im Zuge dessen ist für ein valides Ergebnis die Analyse von 20-25 Metaphasen nötig. [55] Dies ist in den allermeisten Fällen (421 von 492 Patienten) gewährleistet. Um die Vollständigkeit des Datensatzes weiterhin bestehen zu lassen, flossen auch die 77 Patienten mit weniger Metaphasen ein.

Die Notierung der Karyotyp-Formel findet nach einem festgelegten Schema statt. Zuerst wird die Anzahl der Chromosomen angegeben, es folgt die Nennung der Geschlechtschromosomen und anschließend werden die Chromosomenaberrationen aufgelistet. Als Letztes wird die Anzahl der untersuchten Metaphasen in eckigen Klammern notiert.

Zytogenetische Aberrationen lassen sich in numerische und strukturelle Veränderungen aufteilen. Zu den numerischen Aberrationen zählen der Zugewinn oder Verlust eines Chromosoms im Vergleich zum normalen doppelten Chromosomensatz einer gesunden Körperzelle. Strukturelle Aberrationen betreffen nicht ein ganzes Chromosom, sondern lediglich ein oder mehrere Abschnitte eines Chromosoms. Dazu zählen der Verlust von genetischem Material, eine Drehung um 180° eines Genabschnittes, ein Austausch zwischen Chromosomen, eine Deletion, eine Translokation, eine Inversion oder die Ausbildung eines Isochromosoms durch Quer- statt Längsteilung. [56] Für dies gibt es eine vorgegebene Nomenklatur.

Schreibweise für eine numerische Aberration: 45, X, -Y [20] oder 47, XY, +8 [22]

Schreibweise für eine strukturelle Aberration: 46, XY, der (11)t(3;11) (q13; q22) [18]

Bei hämatologischen Erkrankungen ist die Karyotypisierung der Patienten bei Erstdiagnose obligater Bestandteil der Diagnostik und zeigt im Falle eines aberranten Chromosomensatzes den klonalen Charakter der Erkrankung. Außerdem kann unter

Einordnung des Karyotyps in verschiedene Kategorien eine Einschätzung bezüglich der Prognose und damit der empfohlenen Therapien stattfinden. [36]

Für die Chromosomenanalysen wurde von den Patienten 5-10 ml heparinisierter Knochenmark oder, falls dies nicht möglich war, 3-10 ml peripheres Heparinblut abgenommen. Innerhalb von 24 Stunden mussten diese Proben das Labor erreicht haben, damit für die Untersuchung noch vitale Zellen vorhanden sind.

Um die Zellen in der Metaphase zu arretieren, wurden die eingesandten Proben mit Colcemid, einem Colchicin-Derivat, behandelt. Falls notwendig konnte die Anzahl, der sich in Teilung befindlichen Zellen, durch Stimulation erhöht werden. Für die Fixierung wurde eine Methanol-Eisessig-Lösung genutzt. Im Anschluss wurden mittels Färbungen, wie zum Beispiel der Quinacrin- oder Giemsa-Färbung, die verschiedenen Banden der Chromosomen sichtbar gemacht. Aufgrund des unterschiedlichen Färbeverhaltens der Banden lassen sich die Chromosomen identifizieren.

2.5 Molekulargenetische Analysen

Der Großteil der molekulargenetischen Untersuchungen fand im Institut der Humangenetik der Universitätsklinik Düsseldorf im Rahmen der Routinediagnostik (Einzelanalysen oder 16 bzw. 54 Gen-Panel) statt. Außerdem konnten im Jahr 2013/14 durch das MDS-Verbund-Forschungsprojektes (von der Deutschen Krebshilfe gefördert) Proben von ca. 100 Düsseldorfer MDS-Patienten zur Medizinischen Hochschule Hannover (Leitung: Frau Prof. Dr. F. Thol) geschickt und dort analysiert werden.

Die Analyse wurde jeweils mit der gleichen Methode und in der Regel bei Erstdiagnose durchgeführt. Nur in Ausnahmefällen wurden diese Daten während einer Verlaufskontrolle erhoben.

Es existieren verschiedene Gen-Panels, die sich lediglich in der Anzahl der zu analysierenden Gene unterscheiden. Einzelne Gene werden nicht über ein Panel untersucht. In diesem Patientenkollektiv sind sowohl Patienten mit Einzelanalysen eingeschlossen als auch Patienten, bei denen ein ganzes Gen-Panel ermittelt wurde. Aus dem langen Beobachtungszeitraum ergibt sich, dass nicht bei allen Patienten alle Genanalysen durchgeführt wurden. Vor wenigen Jahren war die Methode der *Next-Generation-Sequencing* (NGS) noch nicht ausreichend etabliert, als dass sie routinemäßig bei allen Patienten durchgeführt wurde. [57]

Die Gene des kleineren 16 Gen-Panels sind in der Auflistung unterstrichen. Folgende molekulargenetischen Analysen waren in dem größten Panel enthalten:

ABL, RUNX1, ASXL1, ATRX, BCOR, BCORL, BRAF, CALR, CBL, CBLB, CBLC, CDKN2, CEBPA, CSF3R, CUX1, DNMT3A, ETV6, EZH2, FBXW7, FLT3, GATA1, GATA2, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, IKZF1, JAK2, JAK3, KDM6A, KIT, KMT2A, KRAS, MLL, MPL, MYD88, NOTCH, NPM1, NRAS, PDGFR, PHF6, PTEN, PTPN1, RAD21, SETBP, SF3B1, SMC1A, SMC3, SRSF2, STAG2, TET2, TP53, U2AF1, WT1, ZRSR2. Dabei stellt das Gen MLL eine Ausnahme dar, da es in der aktuelleren 54 Gen-Panel Diagnostik nicht mehr enthalten ist. Früher wurde diesem Gen eine besondere Bedeutung bei Patienten mit MDS zugesprochen. [58] Dementsprechend ist es sowohl im älteren 16 Gen-Panel als auch im Rahmen von Einzelanalysen gelegentlich untersucht worden.

Für die molekulargenetischen Analysen wurden 5-10 ml antikoaguliertes Blut oder Knochenmark entnommen. Zuerst erfolgte eine Lyse der Erythrozyten, um die Leukozyten zu isolieren und diese in den folgenden Schritten genauer untersuchen zu können. Danach wurden auch die Leukozyten lysiert, um ausschließlich DNA zu erhalten. Das *Next Generation Sequencing* ist eine Hochdurchsatz Sequenzierungsmethode. Dabei können mehrere hunderttausend Genombereiche in kurzer Zeit analysiert werden. Da bei den meisten Erkrankungen, wie auch dem MDS, nicht nur ein Gen, sondern viele verschiedene Gene eine Rolle spielen können, werden viele relevante Gene gleichzeitig untersucht. Diese Art der NGS wird Gen-Panel genannt.

Es gibt verschiedene Anbieter des *Next Generation Sequencing*. Die Analyse des 54 Gen-Panels war von der Firma Illumina und beinhaltet vier Schritte. Das ältere 16 Gen-Panel von der Firma Roche basiert auf dem gleichen Verfahren.

Als erstes ist die *Sample Preparation*, sprich die Vorbereitung der DNA-Proben, notwendig. Es folgt die Vervielfältigung (*Cluster Generation*) der Proben, welche auch Amplifikation genannt wird. Nun findet durch *sequencing-by-synthesis* mit einem MiSeq-System nach Herstellerempfehlung (Illumina, San Diego, CA, USA) die Sequenzierung statt. Im letzten Schritt werden die Daten analysiert. [59-61]

2.6 Statistik

Die graphische und statistische Aufarbeitung der Daten erfolgte mittels des Computerprogramms SPSS der Softwarefirma IBM in der Version 25.0 für Windows. Für kontinuierliche Variablen wurden Mittelwert und Range, für kategorielle Variablen die absolute Anzahl der Patienten und die relative Häufigkeit pro Gruppe errechnet. Die Häufigkeiten der kategoriellen Variablen wurden mittels Pearson Chi Quadrat Test miteinander verglichen und in Form von Kreuztabellen dargestellt.

Besonderer Fokus lag hierbei auf möglichen Korrelationen zwischen molekulargenetischen Parametern und klinischen sowie hämatologischen Parametern.

Um die Mittelwerte von zwei kontinuierlichen Variablen miteinander zu vergleichen, wurde für normalverteilte Variablen ein t-Test und für nicht-normalverteilte Variablen der non parametrische Mann-Whitney-U-Test genutzt. Gesamtüberleben und die Zeit bis zu einer AML-Transformation wurden durch die Kaplan-Meier-Methode analysiert. Wenn bei Patienten kein Sterbedatum, kein AML-Übergang vorliegt oder sie in dem Untersuchungszeitraum noch lebten, so wurden sie in der jeweiligen Rechnung zensiert. Um die Kaplan-Meier-Überlebenskurven von zwei Gruppen (beispielsweise Gen mutiert und Gen nicht mutiert) zu vergleichen, wurde der Log-Rank-Test genutzt. Für die multivariate Analyse des Datensatzes wurde die Proportional Hazard Regression nach Cox verwendet.

Das Signifikanzniveau wurde für alle Analysen auf $\alpha = 0,05$ festgelegt. Ein Ergebnis gilt als höchst signifikant, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $p \leq 0,001$ ist und als sehr signifikant, wenn $p \leq 0,05$. Alle Werte $\geq 0,05$ werden als nicht signifikant gewertet.

2.7 Ethikvotum

Die positiv bewerteten Ethikvoten mit der Nummer 3008, 3768 und 3973 bilden die Grundlage für die Datenzusammentragung und die mit diesen Daten durchgeführten Analysen. Die Patienten haben nach ausführlicher Aufklärung schriftlich in die Genanalysen, nach den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki, eingewilligt.

3 Ergebnisse

3.1 Merkmale der Patientenkohorte

Insgesamt wurden die Daten von 878 Patienten in die Analysen eingeschlossen, bei denen im Zeitraum von 1986 bis 2019 die MDS-Diagnose gestellt wurde. Eine vollständige Übersicht mit allen eingeschlossenen Variablen findet sich unter 3.1.2.

Bei 775 Patienten (88,3%) lag ein primäres MDS vor. Bei 92 Patienten (10,5%) ein sekundäres und für 11 Patienten (1,3%) folgte die Diagnose auf eine andere hämatologische Erkrankung.

Zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung Ende März 2019 betrug der Anteil der lebenden Patienten 73,3% (n=644). Es waren bereits 230 Patienten (26,2%) gestorben und bei vier Patienten (0,5%) konnte der aktuelle Status nicht ermittelt werden, daher gelten sie als ‚lost-to-follow-up‘. Im Durchschnitt lebte diese Kohorte ca. 36 Monate bis zur AML-Transformation bzw. 38 Monate, bis sie verstorben sind. Von den 878 Patienten haben 148 Patienten eine AML entwickelt (16,8%).

Alter und Geschlecht

Die Kohorte bestand aus 534 männlichen Patienten (60,8%) und 344 weiblichen Patientinnen (39,2%), welche im Durchschnitt 66,2 Jahre alt waren. Der jüngste Patient war zum Zeitpunkt der Erstdiagnose 17 Jahre und der älteste Patient 91,2 Jahre alt.

WHO 2016 Klassifikation

Insgesamt konnten 827 Patienten zu einer der Subtypen der WHO Klassifikation zugeordnet werden. In 51 Fällen war dies nicht möglich.

Der größte Subtyp mit fast 32% und 264 Patienten bildete die Mehrlinien-Dysplasie ohne Ringsideroblasten (MDS-MLD). Es folgten die beiden Subtypen mit Blastenexzess (EB1 und 2) mit 104 und 109 Patienten (12,6% und 13,2%).

Auch die ‚Overlap‘-Erkrankungen des myelodysplastischen/ myeloproliferativen Ursprungs (CMML 0,1,2), lassen sich in der neuen Definition wiederfinden und sind in dieser Kohorte mit 6,0%, 4,7% und 3,4% der Patienten vertreten. Der kleinste Subtyp stellt die unklassifizierbaren MDS mit 1,2% bzw. 10 Patienten dar.

Tabelle 3.1-1: Verteilung der Subtypen nach der WHO Klassifikation 2016

	Anzahl Pat.	%
Teilmenge WHO 2016	827	100
MDS SLD	38	4,6
MDS MLD	264	31,9
del5q	27	3,3
MDS RS SLD	43	5,2
MDS RS MLD	44	5,3
MDS EB1	104	12,6
MDS EB2	109	13,2
AML (RAEB-T)	33	4,0
CMML0	50	6,0
CMML1	39	4,7
CMML2	28	3,4
MDS U	10	1,2
MDS/MPN RS T	14	1,7
MDS/MPN U	24	2,9
Fehlend	51	

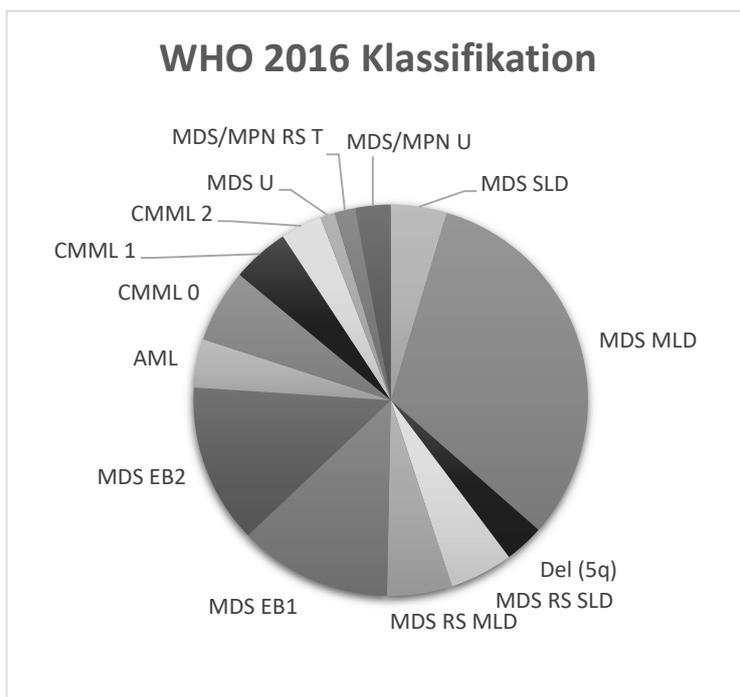


Abb. 3.1-1: Verteilung der Subtypen nach der WHO Klassifikation 2016

Klinische Parameter

Weitere Charakteristika der Kohorte wie zum Beispiel die Anzahl der Analysen, die Anzahl der Mutationen pro Patient und Laborwerte, die im IPSS-R enthalten sind, sind in Tabelle 3.1-2 zusammengefasst.

Tabelle 3.1-2: Verteilung der wichtigsten klinischen Parameter

Gruppe	Variable	Teilmenge	Mittelwert	Median	Std.-Abw.	Minimum	Maximum
1.1 Allgemeines	1 Alter bei Erstdiagnose	871	66,2	68,5	12,0	17	91,2
	2 Analysen pro Pat	878	16,4	6,0	20,5	1	55
	3 Analysen ohne Panel Pat	686	5,9	4,0	5,5	1	29
	6 Mutationen pro Pat	878	1,2	1,0	1,2	0	6
	7 Mutationen nur Panel Pat	192	1,8	2,0	1,5	0	6
1.5 KMZytologie	2 Blasten im KM	620	5,8	4,0	7,0	0	30
1.6 Labor	1 ANC	591	3564,8	1840,9	6303,1	40	71400
	12 Hb	702	10,1	9,9	2,1	4,7	16,3
	15 Leukozyten	695	6941,6	4000,0	10435,9	400	102000
	30 Thrombozyten	705	185,7	119,0	202,8	5	2224

IPSS-R Prognosescore

Für 499 (56,8%) Patienten wurde bei der Erstdiagnose die Prognose mit dem jeweils aktuell gültigen Score ermittelt. Der limitierende Faktor, um den IPSS-R für einen Patienten berechnen zu können besteht darin, dass nicht immer alle Informationen über die relevanten Parameter vorliegen. Die Aufteilung innerhalb des Scores gibt die folgende Tabelle und das Diagramm wieder.

Tabelle 3.1-3:
Verteilung der Risikogruppen nach IPSS-R

	Anzahl Pat.	%
Teilmenge IPSS-R	499	100
Very low risk	49	9,8
Low risk	186	37,3
Intermediate	127	25,5
High risk	83	16,6
Very high risk	54	10,8
Fehlend	379	

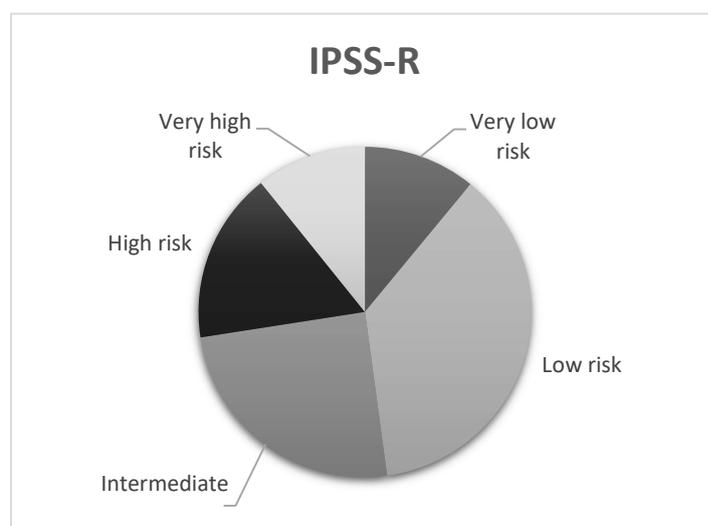


Abb. 3.1-2: Verteilung der Risikogruppen nach IPSS-R

Zytopenetik

Bei 115 Patienten (13,1 %) lag zum Zeitpunkt der Erstdiagnose keine zytopenetische Information vor. Für 763 Patienten (86,9 %) hat eine Analyse des Chromosomensatzes rund um die Erstdiagnose stattgefunden. Von dieser Kohorte erfolgte bei 226 Patienten zusätzlich eine erneute Chromosomenanalyse.

In über 60% (n=459) der Fälle mit zytopenetischer Information konnte ein normaler Karyotyp gefunden werden. Die Karyotypen wurden in folgende Kategorien eingeteilt:

Tabelle 3.1-4: Verteilung der Karyotypen innerhalb der Studienpopulation

	Anzahl Pat.	%
Teilmenge ChromKateg.	763	100
Normal	459	60,2
Del(5q)	40	5,2
Del(7q)	8	1
del(11q23)	7	0,9
Del(20q)	14	1,8
inv(3)/ t(3;3)	2	0,3
Trisomie 8	29	3,8
diverse Anomalien	98	12,8
complex	79	10,4
minus Y	27	3,5
Fehlend	115	

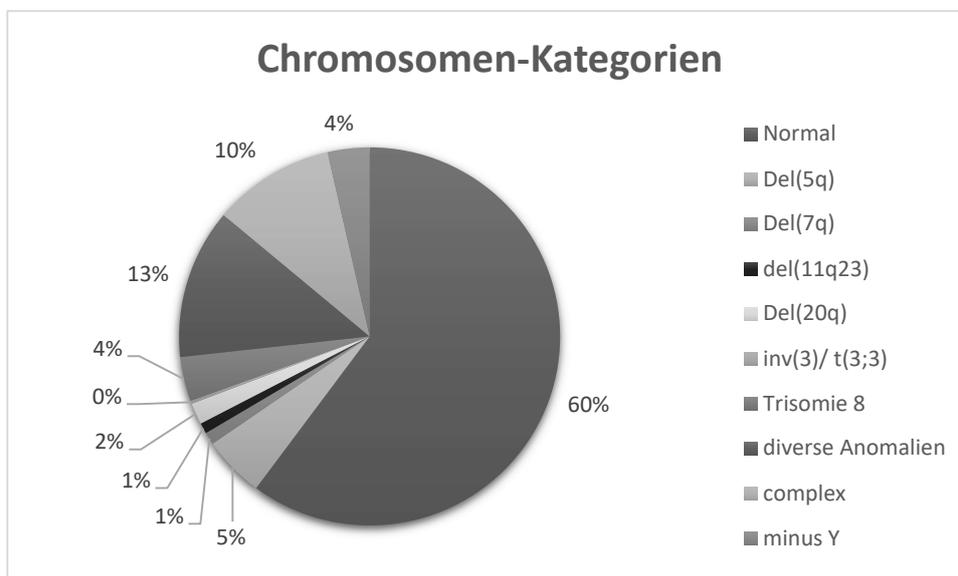


Abb. 3.1-3: Verteilung der Chromosomen Kategorien

Mutationsstatus:

In dieser Kohorte wurden im Durchschnitt bei einem Patienten 16 Genanalysen durchgeführt. Werden lediglich die Patienten betrachtet, die keine komplette Analyse eines Gen-Panels bekommen haben, liegt der Mittelwert bei sechs Analysen pro Patient.

Bei zwölf Patienten wurde zusätzlich zu der „großen“ Gen-Panel-Analyse von 54 Genen auch das Gen „MLL“ analysiert. Dies stellt der kleine Balken bei 55 Analysen dar.

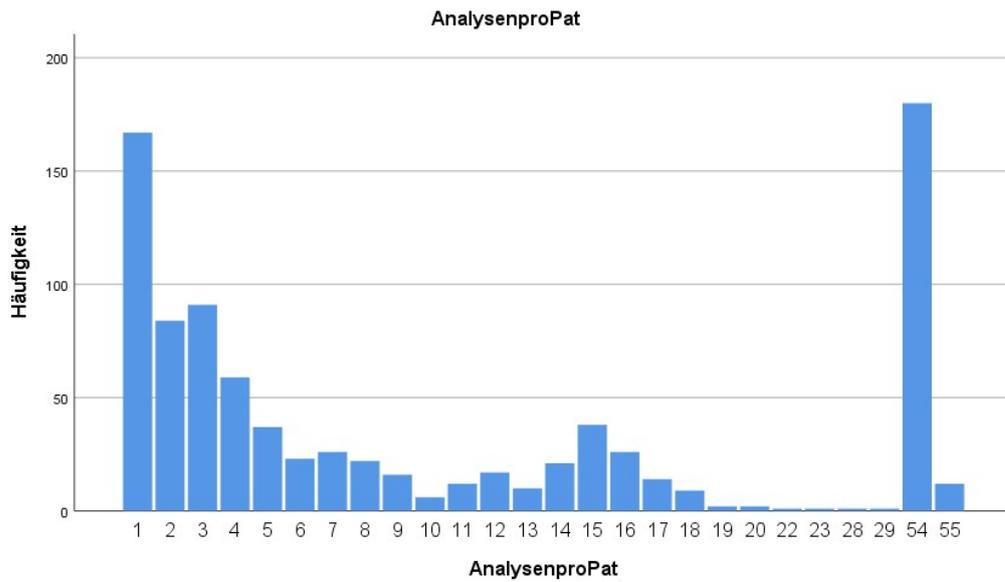


Abb. 3.1-4: Anzahl der Analysen pro Patient

Der Mittelwert der Anzahl an mutierten Genen liegt in der Gesamtkohorte bei 1,22 und bei den Patienten mit Gen-Panel bei 1,82 (siehe Tabelle 3.1-2).

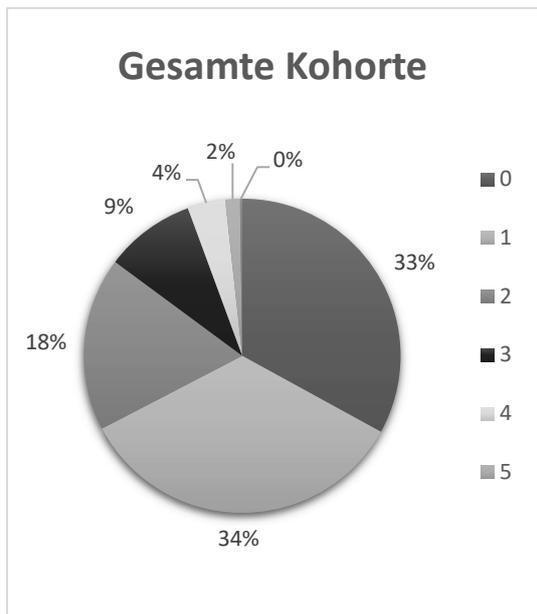


Abb. 3.1-6: Anzahl der Mutationen pro Patient (in der gesamten Kohorte)

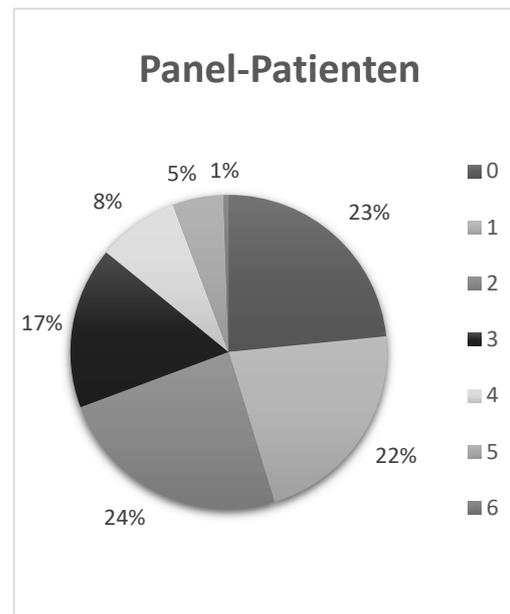


Abb. 3.1-5: Anzahl der Mutationen pro Patient (nur die Panel-Patienten)

3.1.1 Deskriptiver Teil zu Mutationshäufigkeit

Die beiden nun folgenden Tabellen geben zum einen die Anzahl der Analysen bzw. die Anzahl an Mutationen pro Gen wieder (Tabelle 3.1-5). Zum anderen ist der relative Anteil, das heißt zu wie viel Prozent diese Gruppe mutiert ist in Tabelle 3.1-6 dargestellt.

Jede Zeile steht für ein Gen. In der zweiten Spalte ist diejenige Teilmenge aufgeführt, bei der das Gen analysiert wurde. Spalte drei enthält die Patienten mit vollständiger Panel-Analyse. Dementsprechend sind es immer 192 Analysen außer bei dem Gen MLL (siehe Kapitel 2.1 und 2.5). Die folgenden Spalten stehen jeweils für einen MDS-Subtyp.

So kann abgelesen werden, dass bei insgesamt 485 Patienten die Analyse von RUNX1 erfolgte (Tabelle 3.1-5, 3. Zeile, 2. Spalte Zahl in Klammern). Davon war bei 87 Personen (Tabelle I, gleiche Position, Zahl vor der Klammer) das Gen mutiert, welches 17,9% entspricht (Tabelle 3.1-6, gleiche Position).

Insgesamt sind folgende Gene zu mehr als 5% mutiert (grün hinterlegt): RUNX1, ASXL1, CBL, DNMT3A, ETV6, EZH2, JAK2, MLL, SF3B1, SRSF2, STAG2, TET2, TP53, U2AF1. Starke Abweichungen bei der Mutationshäufigkeit in Bezug auf die entsprechende Teilmenge deuten auf eine ungleiche Verteilung der Patienten mit Mutationen einzelner Gruppen hin. Dies wurde farblich mit orange (mind. 10 Patienten mit Mutation) oder hell-orange (weniger als 10 Patienten mit Mutation, aber Tendenz erkennbar) gekennzeichnet.

Alle nun folgenden Rechnungen wurden mit den 14 oben genannten Genen durchgeführt, die zu mehr als 5% in dieser Kohorte mutiert sind.

Tabelle 3.1-5: Anzahl der Mutationen (Analysen) pro Gen

1	Teilmenge	Panel	MDS SLD	MDS MLD	del5q	MDS RS SLD	MDS RS MLD	MDS EB1	MDS EB2	AML	CMML0	CMML1	CMML2	MDS U	MDS/MPN RS T	MDS/MPN U
Analysen		192	38	264	27	43	44	104	109	33	50	39	28	10	14	24
ABL	0 (205)	0 (192)														
RUNX1	87 (485)	29 (192)	4 (26)	21 (153)		1 (18)		16 (62)	14 (60)	4 (20)	6 (25)	10 (22)	4 (15)		1 (5)	
ASXL1	164 (590)	31 (192)	7 (27)	51 (201)	3 (15)	5 (25)	8 (27)	22 (71)	11 (62)	5 (18)	15 (32)	13 (27)	9 (21)			6 (14)
ATRX	0 (192)	0 (192)														
BCOR	9 (192)	9 (192)	2 (11)					2 (24)	4 (26)							
BCORL	5 (192)	5 (192)		2 (54)				2 (24)			1 (9)					
BRAF	2 (196)	2 (192)		1 (54)				1 (24)								
CALR	1 (201)	1 (192)														1 (3)
CBL	20 (389)	10 (192)		3 (132)				2 (49)	1 (38)	2 (14)	4 (23)	3 (17)	3 (15)			
CBLB	0 (192)	0 (192)														
CBLC	0 (192)	0 (192)														
CDKN2	1 (192)	1 (192)			1 (8)											
CEBPA	7 (209)	6 (192)		2 (57)	1 (8)			4 (25)								
CSF3R	5 (196)	5 (192)		1 (54)					1 (26)			1 (5)	1 (8)			
CUX	6 (193)	5 (192)	1 (11)	3 (55)					1 (26)							
DNMT3A	56 (359)	21 (192)	3 (19)	15 (129)	1 (9)	2 (11)		10 (42)	10 (40)	2 (9)	1 (19)		1 (9)	1 (5)		1 (6)
ETV6	17 (245)	11 (192)		5 (68)	1 (12)		1 (15)	3 (29)	2 (32)	1 (5)	2 (13)		1 (9)			1 (4)
EZH2	53 (514)	14 (192)	5 (26)	26 (177)		2 (21)	1 (23)	4 (66)	6 (57)	2 (15)		1 (18)	3 (18)			2 (10)
FBXW7	0 (192)	0 (192)														
FLT3	4 (246)	2 (192)						1 (26)	1 (37)	2 (12)						
GATA1	0 (192)	0 (192)														
GATA2	4 (193)	3 (192)		1 (54)					2 (27)							
GNAS	1 (192)	1 (192)														
HRAS	0 (192)	0 (192)														
IDH1	13 (333)	4 (192)		4 (118)			1 (11)	3 (43)	2 (37)	2 (12)						
IDH2	13 (335)	4 (192)	1 (18)	2 (118)			1 (12)	1 (43)	2 (36)	3 (12)		2 (12)				
IKZF1	3 (192)	3 (192)					1 (5)			2 (5)						

1b	Teilmenge	Panel	MDS SLD	MDS MLD	del5q	MDS RS SLD	MDS RS MLD	MDS EB1	MDS EB2	AML	CMML0	CMML1	CMML2	MDS U	MDS/MPN RS T	MDS/MPN U
JAK2	50 (433)	1 (192)	2 (22)	8 (127)	1 (11)	2 (17)	3 (17)	4 (47)	3 (42)	1 (10)	2 (30)	2 (25)	1 (19)		7 (11)	10 (18)
JAK3	1 (192)	1 (192)		1 (54)												
KDM6A	1 (192)	1 (192)		1 (54)												
KIT	4 (201)	3 (192)		1 (55)	1 (9)				1 (28)							
KMT2A	1 (194)	1 (192)						1 (24)								
KRAS	14 (361)	3 (192)		1 (126)				2 (46)	1 (33)		5 (24)	1 (14)	2 (16)			
MLL	12 (185)	0 (12)		4 (84)				3 (27)	3 (16)	2 (11)						
MPL	2 (216)	0 (192)		1 (64)			1 (12)									
MYD88	0 (192)	0 (192)														
NOTCH	4 (193)	4 (192)		2 (54)					1 (26)	1 (5)						
NPM1	13 (352)	3 (192)						1 (44)	4 (45)	4 (19)	1 (17)	1 (10)	1 (16)			
NRAS	17 (381)	5 (192)	1 (21)					3 (47)	1 (36)		4 (22)	3 (16)	5 (17)			
PDGFR	0 (193)	0 (192)														
PHF6	5 (194)	4 (192)		1 (54)				1 (24)	1 (26)			1 (6)				
PTEN	0 (192)	0 (192)														
PTPN1	2 (195)	2 (192)						1 (24)				1 (5)				
RAD21	0 (192)	0 (192)														
SETBP	7 (198)	7 (192)		3 (54)					1 (27)		1 (10)	1 (5)				
SF3B1	141 (471)	35 (192)	4 (21)	43 (157)	2 (11)	29 (35)	25 (37)	9 (52)	6 (45)	1 (13)	4 (20)		1 (9)		9 (10)	1 (9)
SRSF2	67 (360)	24 (192)		13 (124)		1 (12)	4 (16)	8 (40)	9 (38)	3 (10)	14 (25)	5 (15)	5 (14)			1 (5)
SMC1A	0 (192)	0 (192)														
SMC3	0 (192)	0 (192)														
STAG2	10 (193)	9 (192)		2 (54)	1 (8)			4 (25)	1 (26)							
TET2	148 (459)	42 (192)	6 (22)	44 (151)	1 (10)	5 (15)	6 (16)	13 (58)	16 (51)	2 (13)	17 (29)	14 (26)	12 (17)	1 (7)	1 (4)	3 (9)
TP53	67 (593)	18 (192)	3 (28)	16 (196)	3 (26)	1 (23)	4 (30)	11 (76)	20 (75)	3 (19)			1 (18)	2 (9)		2 (10)
U2AF1	23 (263)	11 (192)		9 (74)		1 (10)	2 (16)	2 (32)	3 (36)	1 (8)			1 (7)			2 (8)
WT1	4 (241)	3 (192)						1 (32)	2 (29)	1 (8)						
ZRSR2	7 (206)	6 (192)		3 (60)			1 (12)					1 (6)			1 (2)	

Tabelle 3.1-6: Anteil der Mutationen in %

2	Teilmenge	Panel	MDS SLD	MDS MLD	del5q	MDS RS SLD	MDS RS MLD	MDS EB1	MDS EB2	AML	CMML0	CMML1	CMML2	MDS U	MDS/MPN RS T	MDS/MPN U
ABL																
RUNX1	17,9	15,1	15,4	13,7		5,6		25,8	23,3	20,0	24,0	45,5	26,7		20,0	
ASXL1	27,8	16,1	25,9	25,4	20,0	20,0	29,6	31,0	17,7	27,8	46,9	48,1	42,9			42,9
ATRX																
BCOR	4,7	4,7	18,2					8,3	15,4							
BCORL	2,6	2,6		3,7				8,3			11,1					
BRAF	1,0	1,0		1,9				4,2								
CALR	0,5	0,5														33,3
CBL	5,1	5,2		2,3				4,1	2,6	14,3	17,4	17,6	20,0			
CBLB																
CBLC																
CDKN2	0,5	0,5			12,5											
CEBPA	3,3	3,1		3,5	12,5			16,0								
CSF3R	2,6	2,6		1,9					3,8			20,0	12,5			
CUX	3,1	2,6	9,1	5,5					3,8							
DNMT3A	15,6	11,0	15,8	11,6	11,1	18,2		23,8	25,0	22,2	5,3		11,1	20,0		16,7
ETV6	6,9	5,7		7,4	8,3		6,7	10,3	6,3	20,0	15,4		11,1			25,0
EZH2	10,3	7,3	19,2	14,7		9,5	4,3	6,1	10,5	13,3		5,6	16,7			20,0
FBXW7																
FLT3	1,6	1,0						3,8	2,7	16,7						
GATA1																
GATA2	2,1	1,6		1,9					7,4							
GNAS	0,5	0,5														
HRAS																
IDH1	3,9	2,1		3,4			9,1	7,0	5,4	16,7						
IDH2	3,9	2,1	5,6	1,7			8,3	2,3	5,6	25,0		16,7				
IKZF1	1,6	1,6				20,0				40,0						

2b	Teilmenge	Panel	MDS SLD	MDS MLD	del5q	MDS RS SLD	MDS RS MLD	MDS EB1	MDS EB2	AML	CMML0	CMML1	CMML2	MDS U	MDS/MPN RS T	MDS/MPN U
JAK2	11,5	0,5	9,1	6,3	9,1	11,8	17,6	8,5	7,1	10,0	6,7	8,0	5,3		63,6	55,6
JAK3	0,5	0,5		1,9												
KDM6A	0,5	0,5		1,9												
KIT	2,0	1,6		1,8	11,1				3,6							
KMT2A	0,5	0,5						4,2								
KRAS	3,9	1,6		0,8				4,3	3,0		20,8	7,1	12,5			
MLL	6,5			4,8				11,1	18,8	18,2						
MPL	0,9			1,6			8,3									
MYD88																
NOTCH	2,1	2,1		3,7					3,8	20,0						
NPM1	3,7	1,6						2,3	8,9	21,1	5,9	10,0	6,3			
NRAS	4,5	2,6	4,8					6,4	2,8		18,2	18,8	29,4			
PDGFR																
PHF6	2,6	2,1		1,9				4,2	3,8			16,7				
PTEN																
PTPN1	1,0	1,0						4,2				20,0				
RAD21																
SETBP	3,5	3,6		5,6					3,7		10,0	20,0				
SF3B1	29,9	18,2	19,0	27,4	18,2	82,9	67,6	17,3	13,3	7,7	20,0		11,1		90,0	11,1
SRSF2	18,6	12,5		10,5		8,3	25,0	20,0	23,7	30,0	56,0	33,3	35,7			20,0
SMC1A																
SMC3																
STAG2	5,2	4,7		3,7	12,5			16,0	3,8							
TET2	32,2	21,9	27,3	29,1	10,0	33,3	37,5	22,4	31,4	15,4	58,6	53,8	70,6	14,3	25,0	33,3
TP53	11,3	9,4	10,7	8,2	11,5	4,3	13,3	14,5	26,7	15,8			5,6	22,2		20,0
U2AF1	8,7	5,7		12,2		10,0	12,5	6,3	8,3	12,5			14,3			25,0
WT1	1,7	1,6						3,1	6,9	12,5						
ZRSR2	3,4	3,1		5,0			8,3					16,7			50,0	

3.1.2 Übersicht aller eingeschlossenen Variablen

Tabelle 3.1-7: Übersicht über alle kontinuierlichen Variablen

Gruppe	Variable	Teilmenge	Mittelwert	Median	Std.-Abw.	Minimum	Maximum
1.1 Allgemeines	1 Alter bei Erstdiagnose	871	66,2	68,5	12,0	17	91,2
	2 Analysen pro Pat	878	16,4	6,0	20,5	1	55
	3 Analysen ohne Panel-Pat	686	5,9	4,0	5,5	1	29
	4 AML Transformation	834					
	5 Gesamtüberleben	870					
	6 Mutationen pro Pat	878	1,2	1,0	1,2	0	6
	7 Mutationen nur Panel Pat.	191	1,8	2,0	1,5	0	6
1.5 KMZytologie	1 eba	216	32,4	30,0	19,4	0	91
	2 Blasten im KM	620	5,8	4,0	7,0	0	30
	3 moz	191	4,6	2,0	7,6	0	55
	4 ris	348	11,3	0,0	20,1	0	89
1.6 Labor	1 ANC	591	3564,8	1840,9	6303,1	40	71400
	2 basophil	460	0,9	0,1	1,6	0	16
	3 blaperi	406	1,7	0,0	5,2	0	58
	4 crea	394	1,0	0,9	0,4	0,29	4,3
	5 eosinoph	503	2,1	1,0	2,6	0	26
	6 EPOSpiegel_initial	190	223,8	71,5	390,7	1,2	2480
	7 ery	487	3,0	3,0	0,9	1	6,01
	8 ferritin	311	640,1	401,0	803,6	6,6	7999
	9 FolatPI	123	10,2	8,9	5,2	2,4	20
	10 GOT	321	26,1	23,0	13,5	0	124
	11 GPT	339	26,4	20,0	20,2	5	191
	12 Hb	702	10,1	9,9	2,1	4,7	16,3
	13 hkt	501	30,5	30,0	6,1	16	49,9
	14 Idh	497	251,9	223,0	125,0	98	1323
	15 Leukozyten	695	6941,6	4000,0	10435,9	400	102000
	16 lymphabs	428	1489,5	1263,0	933,1	117	6000
	17 lymphocy	559	33,1	31,0	17,6	1	88
	18 MCV	566	126,7	95,4	165,2	64	1154,2
	19 metamyel	228	0,9	0,0	2,3	0	15
	20 monoabs	554	882,5	347,6	1944,4	15	26256
	21 monocyte	564	11,4	8,6	9,5	1	55
	22 MPV	102	10,4	10,4	1,4	6,1	13,5
	23 myelocyt	240	1,2	0,0	3,7	0	35
	24 NEUTRPRO	603	47,8	48,0	19,2	1	95
	25 promyelo	217	0,2	0,0	1,1	0	13
	26 retiabs	121	55,2	51,0	36,7	1	199
	27 retipro	151	10,3	3,1	16,5	0	139
	28 stabkern	393	2,5	1,0	4,2	0	41
	29 segmentk	495	46,7	46,0	18,8	3	92
	30 Thrombozyten	705	185,7	119,0	202,8	5	2224
	31 Vitb12	140	646,1	491,5	465,2	162	2000
1.11 Chromosomen	1 chrometa	526	21,2	21,0	4,7	1	35

Tabelle 3.1-8: Übersicht über alle kategoriellen Variablen

Gruppe	Variable	Teilmenge	Anteil an Gesamt	Kategorien der jeweiligen Variable
2.1 Allgemeines	1 Geschlecht	878	100,0%	m/w
	2 primsek	878	100,0%	prim/ sek/ nach häm. Erkrankung
	3 who2008	831	94,6%	siehe Einleitung
	4 who2016	827	94,2%	siehe Einleitung
	5 AMLÜ	878	100,0%	ja/ nein
	6 des	878	100,0%	lebend/ lost to follow up/ tot
	7 OUTCOME	455	51,8%	lebend/ AML/ Infektion/ Blutung/ Herzinsuff./ unklar/ sonst.
	8 MDSPRO	379	43,2%	ja/ nein
	9 MDSPro1	212	24,1%	siehe WHO2008
2.2 Prognosescore	1 IPSS	200	22,8%	low risk/ intermediate 1/ intermediate 2/ high risk
	2 IPSS-R	499	56,8%	very low risk/ low risk/ intermediate/ high risk/ very high risk
	3 ANCipssr	591	67,3%	0/ 0,5
	4 BlastenKMipssr	620	70,6%	0/ 1/ 2/ 3
	5 Chromipssr	763	86,9%	very good/ good/ intermediate/ poor/ very poor
	6 Hbipssr	702	80,0%	0/ 1/ 1,5
	7 Thrombozytenipssr	705	80,3%	0/ 0,5/ 1
2.3 Histologie	1 histokmf	341	38,8%	vorhanden/ nicht vorhanden
	2 histomultilin	322	36,7%	ja/ nein
	3 histozel	365	41,6%	hypo-/ normo-/ hyperzellulär
	4 histozellery	329	37,5%	hypo-/ normo-/ hyperzellulär
	5 histozellgra	319	36,3%	hypo-/ normo-/ hyperzellulär
	6 histozellmega	317	36,1%	hypo-/ normo-/ hyperzellulär
2.4. BlutZytologie	1 ani	305	34,7%	vorhanden/ nicht vorhanden
	2 bat	257	29,3%	vorhanden/ nicht vorhanden
	3 dev	212	24,1%	vorhanden/ nicht vorhanden
	4 die	229	26,1%	vorhanden/ nicht vorhanden
	5 fra	244	27,8%	vorhanden/ nicht vorhanden
	6 hpe	270	30,8%	vorhanden/ nicht vorhanden
	7 hpo	287	32,7%	vorhanden/ nicht vorhanden
	8 liv	204	23,2%	vorhanden/ nicht vorhanden
	9 meg	266	30,3%	vorhanden/ nicht vorhanden
	10 mic	273	31,1%	vorhanden/ nicht vorhanden
	11 ova	259	29,5%	vorhanden/ nicht vorhanden
	12 poc	263	30,0%	vorhanden/ nicht vorhanden
	13 poi	288	32,8%	vorhanden/ nicht vorhanden
	14 psp	218	24,8%	vorhanden/ nicht vorhanden
	15 tan	226	25,7%	vorhanden/ nicht vorhanden
	16 thy	216	24,6%	vorhanden/ nicht vorhanden
	17 tmi	224	25,5%	vorhanden/ nicht vorhanden
	18 tre	254	28,9%	vorhanden/ nicht vorhanden
	19 tri	234	26,7%	vorhanden/ nicht vorhanden
2.5 KMZytologie	1 abk	441	50,2%	-/ (+)/ + und ++
	2 Auerstäbchen	453	51,6%	vorhanden/ nicht vorhanden
	3 dyery1	254	28,9%	vorhanden/ nicht vorhanden

Gruppe	Variable	Teilmenge	Anteil an Gesamt	Kategorien der jeweiligen Variable
	4 dygra1	234	26,7%	vorhanden/ nicht vorhanden
	5 dymega1	229	26,1%	vorhanden/ nicht vorhanden
	6 eam	442	50,3%	vorhanden/ nicht vorhanden
	7 ehy	422	48,1%	vorhanden/ nicht vorhanden
	8 eik	445	50,7%	vermindert-fehlend/ normal/ gesteigert/ massiv gesteigert
	9 eka	454	51,7%	-/ (+)/ + und ++
	10 ekb	415	47,3%	-/ (+)/ + und ++
	11 ekf	454	51,7%	-/ (+)/ + und ++
	12 ers	468	53,3%	vorhanden/ nicht vorhanden
	13 ezv	420	47,8%	vorhanden/ nicht vorhanden
	14 ghy	426	48,5%	vorhanden/ nicht vorhanden
	15 gli	474	54,0%	vorhanden/ nicht vorhanden
	16 hgl	458	52,2%	vorhanden/ nicht vorhanden
	17 hps	412	46,9%	vorhanden/ nicht vorhanden
	18 hym	425	48,4%	-/ (+)/ + und ++
	19 kzz	521	59,3%	hypo-/ normo-/ hyperzellulär
	20 lymphos	349	39,7%	vorhanden/ nicht vorhanden
	21 makroery	276	31,4%	vorhanden/ nicht vorhanden
	22 mek	422	48,1%	-/ (+)/ + und ++
	23 met	428	48,7%	-/ (+)/ + und ++
	24 mmk	466	53,1%	-/ (+)/ + und ++
	25 mnm	463	52,7%	-/ (+)/ + und ++
	26 moe	125	14,2%	negativ/ positiv
	27 mono	321	36,6%	vermehrt/ nicht vermehrt
	28 multli2	155	17,7%	ja/ nein
	29 plasma	333	37,9%	vermehrt/ nicht vermehrt
	30 pra	348	39,6%	vermehrt/ nicht vermehrt
	31 pse	469	53,4%	vorhanden/ nicht vorhanden
	32 rem	424	48,3%	-/ (+)/ + und ++
	33 ringside	393	44,8%	vorhanden/ nicht vorhanden
	34 zem	444	50,6%	hypo-/ normo-/ hyperzellulär
2.6 Labor	1 zytopenieform	474	54,0%	Anäm. (1)/ Leukop. (2)/ Thrombop. (3)/ 1+2/ 1+3/ 2+3/ Panzytopenie/ normwertig
2.7 Comorbiditäten	1 comoendo1	340	38,7%	ja/ nein
	2 comogastro1	328	37,4%	ja/ nein
	3 comoherz1	467	53,2%	ja/ nein
	4 comoimmuni1	303	34,5%	ja/ nein
	5 comoleber1	395	45,0%	ja/ nein
	6 comolunge1	405	46,1%	ja/ nein
	7 comoneuro1	307	35,0%	ja/ nein
	8 comopsych1	298	33,9%	ja/ nein
	9 comorenal1	390	44,4%	ja/ nein
	10 comorheuma1	301	34,3%	ja/ nein
	11 comotumor1	416	47,4%	ja/ nein

Gruppe	Variable	Teilmenge	Anteil an Gesamt	Kategorien der jeweiligen Variable
2.8 Klinik	1 AZ	267	30,4%	gut/ ausreichend/ reduziert/ stark reduziert
	2 Anämiesympt.init.	304	34,6%	ja/ nein
	3 Fieber	243	27,7%	ja/ nein
	4 HDinitial	227	25,9%	Petechien/ Haematurie/ Epistaxis/ GI-Blut./ Retinablut./ nicht vorhanden
	5 Infektanfälligkeit	241	27,4%	respiratorisch/ Harnwege/ sonstiges/ nicht vorhanden
	6 Leber	228	26,0%	verkleinert/ normal/ bis 2cm untern RB/ >2cm untern RB
	7 LKschwellunglnit.	267	30,4%	vorhanden/ nicht vorhanden
	8 Milz	261	29,7%	normal/ bis 2cm untern RB/ >2cm untern RB/ Riesenzyste
	9 Thromb.emb.E.	194	22,1%	TBVT/ LAE/ TIA/ sonstiges/ AVK/ nicht vorhanden
2.9 Grunderkrankungen	1 alkyl	32	3,6%	ja/ nein
	2 grundkra	113	12,9%	M. Hodgkin/ NHL/ Myelom/ MGUS/ MammaCA/ ThyroidCA/ benigne/ divers/ OvarialCA/ RectumCA/ Polyarthrit/ LarynxCA/ ColonCA/ M.Wegner/ AML/ BronchialCA/ ProstataCA/ unbekannt/ M.Basedow/ apl.Anämie/ Oligoastrozytom
	3 noxe	96	10,9%	Chemo/ Radio/ Radioiod/ Chemo u. Radio/ divers/ unb.
2.10 Therapie	1 ARA	274	31,2%	ja/ nein
	2 AZA	355	40,4%	ja/ nein
	3 DECI	110	12,5%	ja/ nein
	4 DESF	276	31,4%	ja/ nein
	5 Eltrombopag	242	27,6%	ja/ nein
	6 EPOT	366	41,7%	ja/ nein
	7 EXJADE	304	34,6%	ja/ nein
	8 GCSF	264	30,1%	ja/ nein
	9 HYDROXYU	298	33,9%	ja/ nein
	10 LENA	287	32,7%	ja/ nein
	11 Zytostatika	378	43,1%	nicht durchgeführt/ lowdose AraC/ mittel AraC/ TAD/ andere/ allogene PBSCT,KMT/ ICE/ Idarubin, AraC/ Litalir
	12 Induktion	42	4,8%	ja/ nein
	13 PBSCTgenau	678	77,2%	keine/ allogen KMT/ allogene SZT
	14 pbsct	878	100,0%	transplantiert/ nicht transplantiert
	15 transfusED	410	46,7%	ja/ nein/ unbekannt
	16 transfuVerlauf	387	44,1%	ja/ nein/ unbekannt
2.11 Chromosomen	1 Chromosomen_Kateg.	763	86,9%	siehe Ergebnisse
	2 ZYTOGENE bei ED	878	100,0%	ja/ nein
	3 ZYTOGENE im Verlauf	240	27,3%	ja/ nein
	4 ZYTOGENE follow up	878	100,0%	ja/ nein

3.2 Überleben der Patienten

3.2.1 Gesamte Kohorte

Von 878 eingeschlossenen Patienten verstarben bis zum Ende der Beobachtungszeit 230 Patienten (26,2%). Die mediane Überlebenszeit der Kohorte beträgt 109 Monate also ca. 9,1 Jahre (95% Konfidenzintervall, CI: 77-141 Monate).

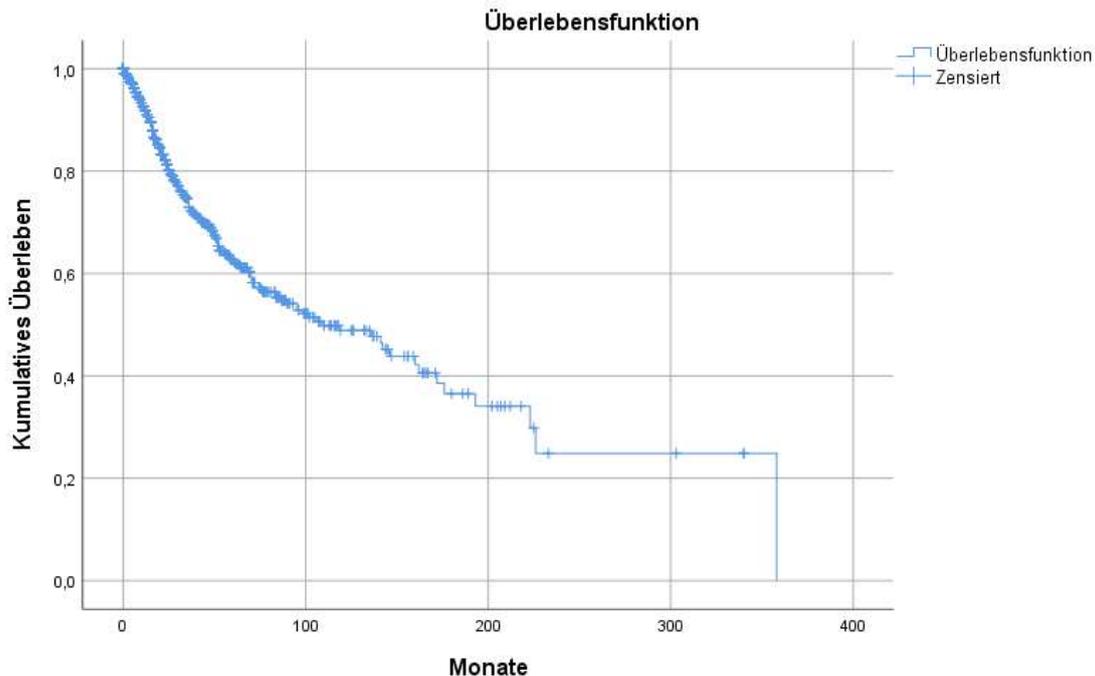


Abb. 3.2-1: Kaplan Meier Überlebenskurve der gesamten Kohorte

Die Tabelle unter 3.2.6 gibt eine Übersicht bezüglich des Überlebens dieses Patientenkollektivs für die einzelnen Variablen wieder. Im Folgenden werden die signifikanten Überlebenskurven genauer erläutert.

3.2.2 Risikoscore

Das mediane Überleben je nach IPSS-R unterscheidet sich von der *low risk*-Gruppe mit 109 Monaten (95% CI 37 - 180 Monate) bis zur *very high risk*-Gruppe mit 33 Monaten (95% CI 24 – 41 Monate) **hoch signifikant** (p-Wert <0,0001).

Für die *very low risk*-Gruppe konnte kein medianes Überleben errechnet werden, da weniger als die Hälfte der Patienten dieser Kohorte verstorben sind, und der Wert somit noch nicht erreicht wurde.

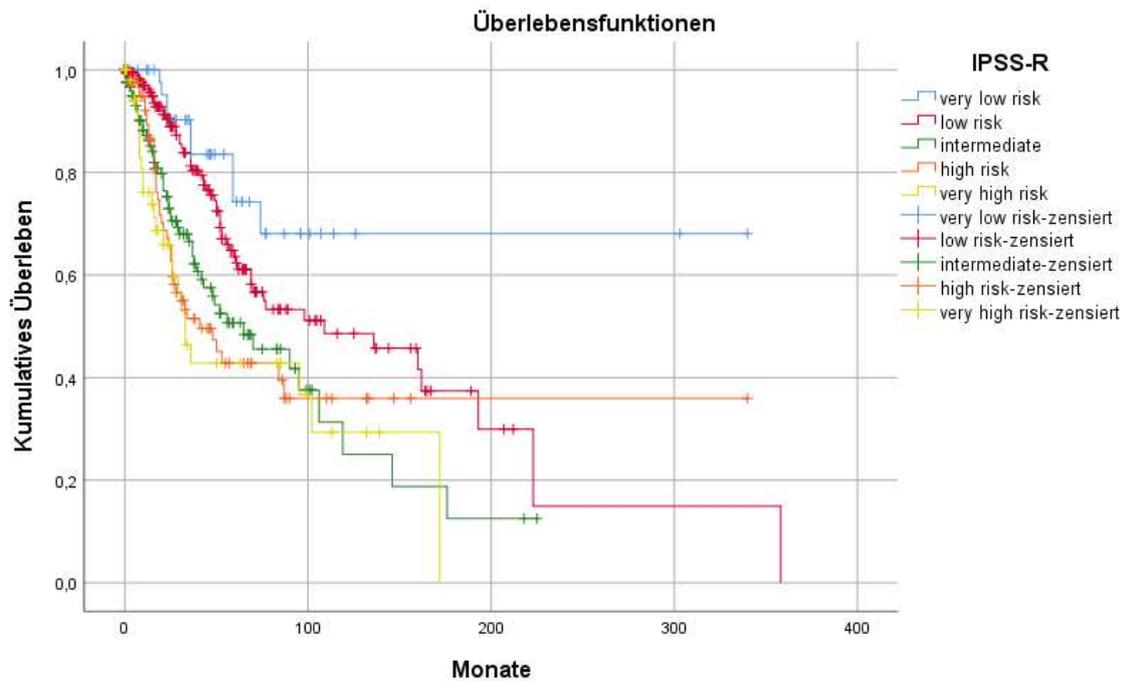


Abb. 3.2-2: Kaplan Meier Überlebenskurve nach Risikogruppen des IPSS-R

3.2.3 Anzahl der Mutationen

Je mehr Mutationen pro Patient vorlagen, desto schlechter war das mediane Überleben. Bei einem Nachweis von sechs Mutationen überlebten Patienten im Durchschnitt 17 Monate. Wenn keine Mutation nachgewiesen werden konnte, lag es bei 141 Monaten (95% CI 60 – 222 Monate, $p=0,003$). Wenn die Patienten nicht mit einbezogen wurden, die transplantiert wurden, so ist der Unterschied noch eindeutiger und mit $p<0,0001$ **hoch signifikant**.

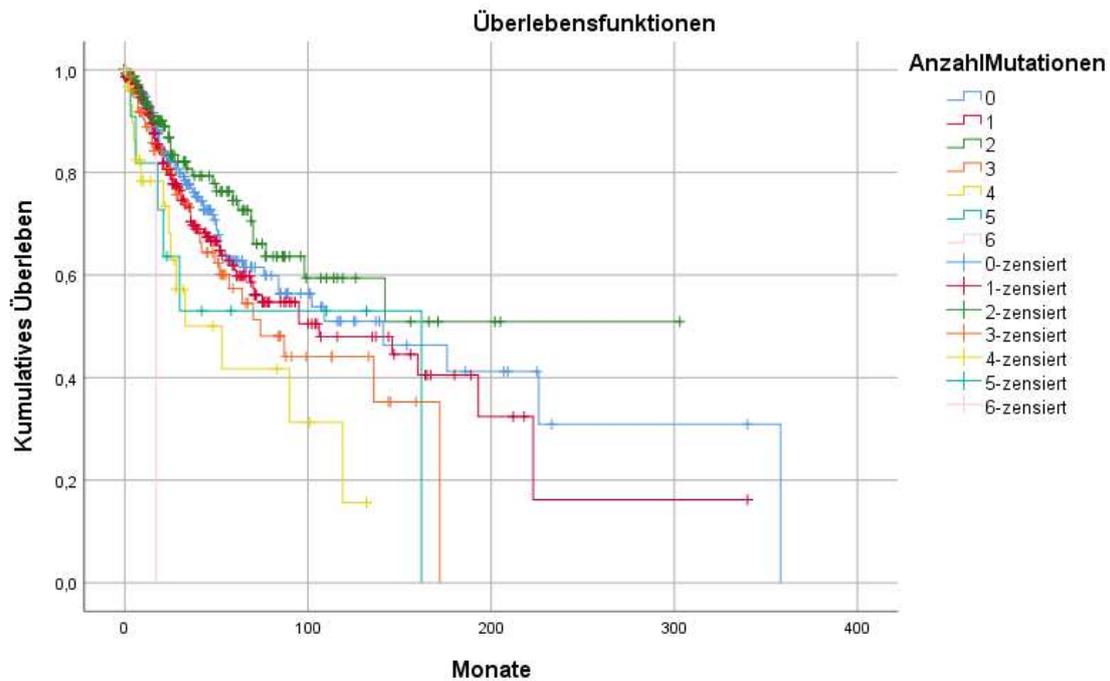


Abb. 3.2-3: Kaplan Meier Überlebenskurve Anzahl der Mutationen p. Pat.

Um Unterschiede im Überleben deutlicher heraus arbeiten zu können, wurde die Anzahl der Mutationen in drei Gruppen einsortiert. Patienten mit keiner oder maximal zwei Mutationen hatten ein medianes Überleben von 141 Monaten (95% CI 97– 186 Monate), Patienten mit drei Mutationen 74 Monate (95% CI 41 – 107 Monate) und diejenigen mit 4 oder mehr Mutationen lebten im Median nur 33 Monate (95% CI 0 – 68 Monate). Dieser Unterschied ist mit $p=0,002$ **signifikant**.

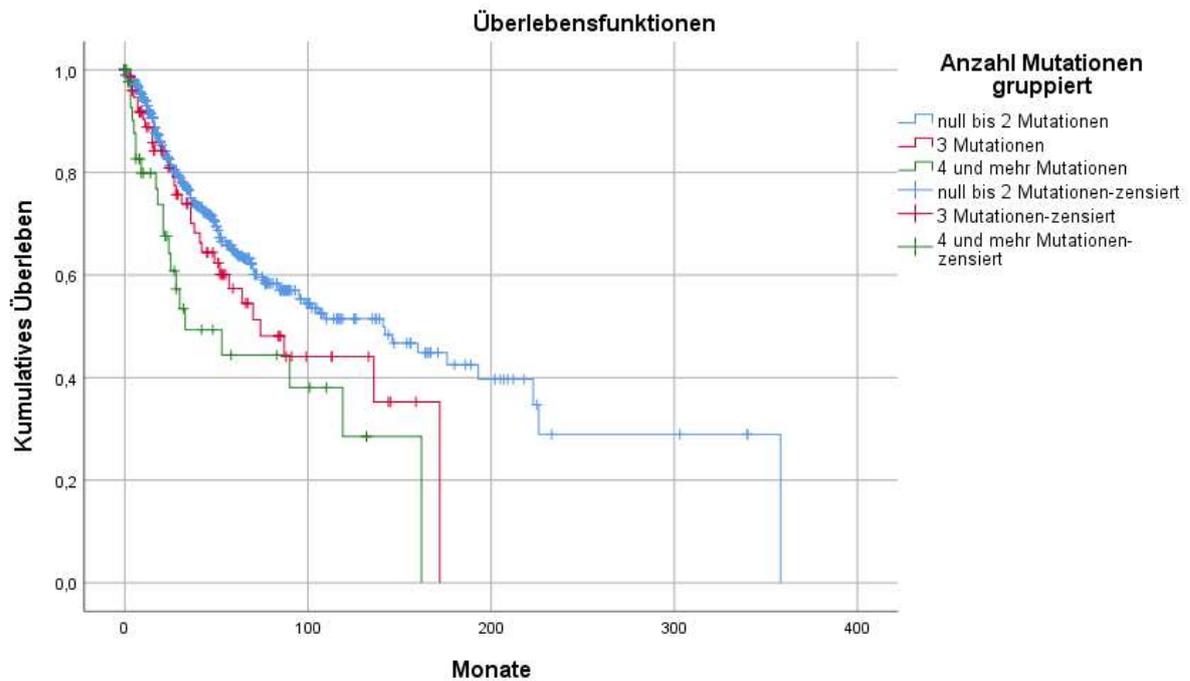


Abb. 3.2-4: Kaplan Meier Überlebenskurve Anzahl der Mutationen p. Pat. gruppiert

3.2.4 Mutationsstatus ausgewählter Gene

Patienten mit RUNX1 Mutation überlebten im Median 53 Monate (95% CI 11 – 95 Monate), im Vergleich zu den Patienten ohne diese Mutation, welche im Median 160 Monate überlebten (95% CI 106 – 2015). Dieser Unterschied ist mit $p=0,008$ **signifikant**.

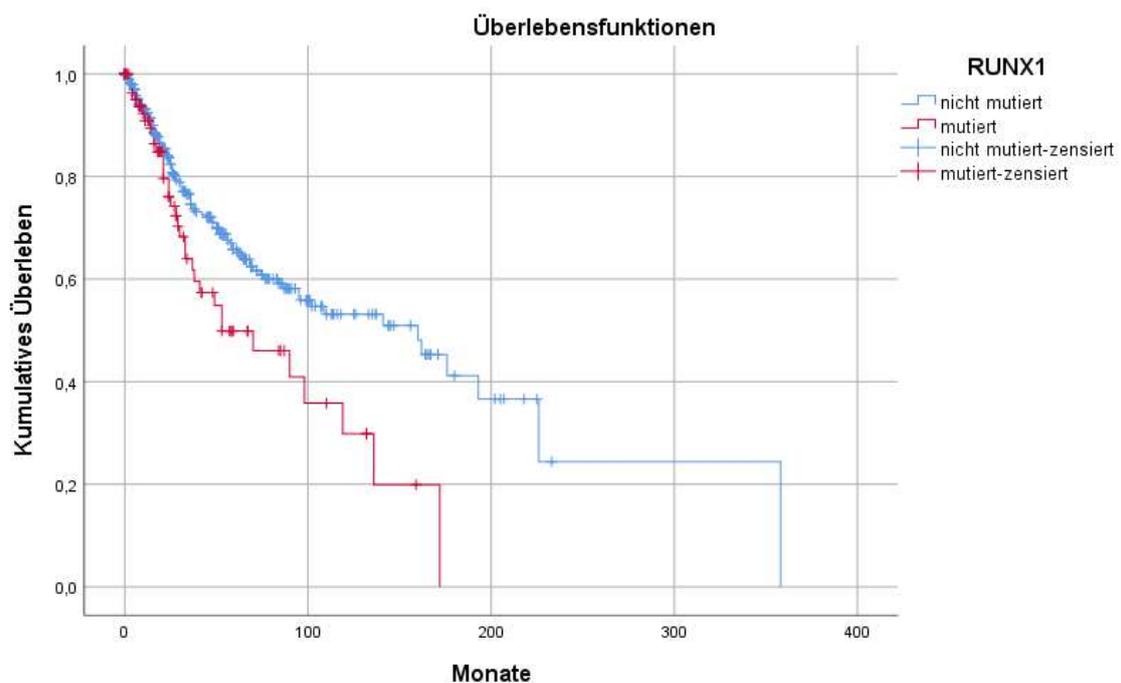


Abb. 3.2-5: Kaplan Meier Überlebenskurve RUNX1

Patienten ohne Mutation leben mit 141 Monaten (95% CI 91 – 191 Monate) deutlich länger als diejenigen mit Mutationsnachweis im ASXL1 Gen mit 50 Monaten (95% CI 23 – 77 Monate). Dieser Unterschied ist mit $p < 0,0001$ **hoch signifikant**.

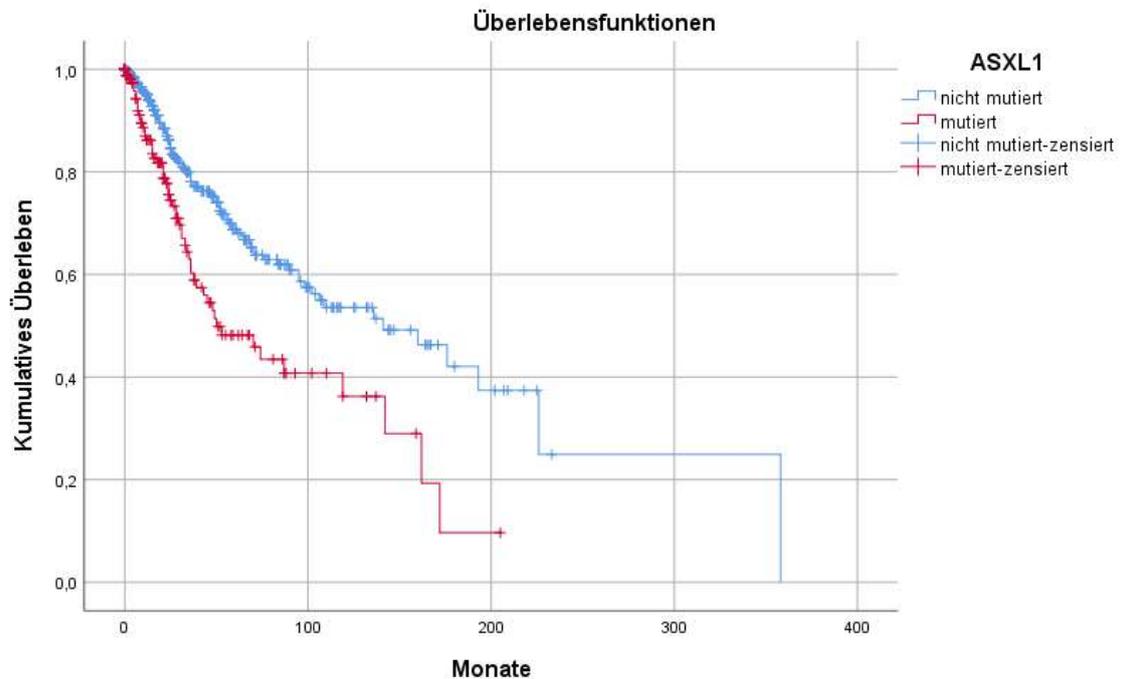


Abb. 3.2-6: Kaplan Meier Überlebenskurve ASXL1

Auch hier überlebten Patienten bei Vorliegen einer EZH2 Mutation im Median kürzer mit 36 Monaten (95% CI 20 – 52 Monate) als vergleichsweise Patienten ohne Nachweis einer Genmutation mit 136 Monaten (95% CI 94 – 179 Monate). Dieser Unterschied ist mit $p < 0,0005$ **hoch signifikant**.

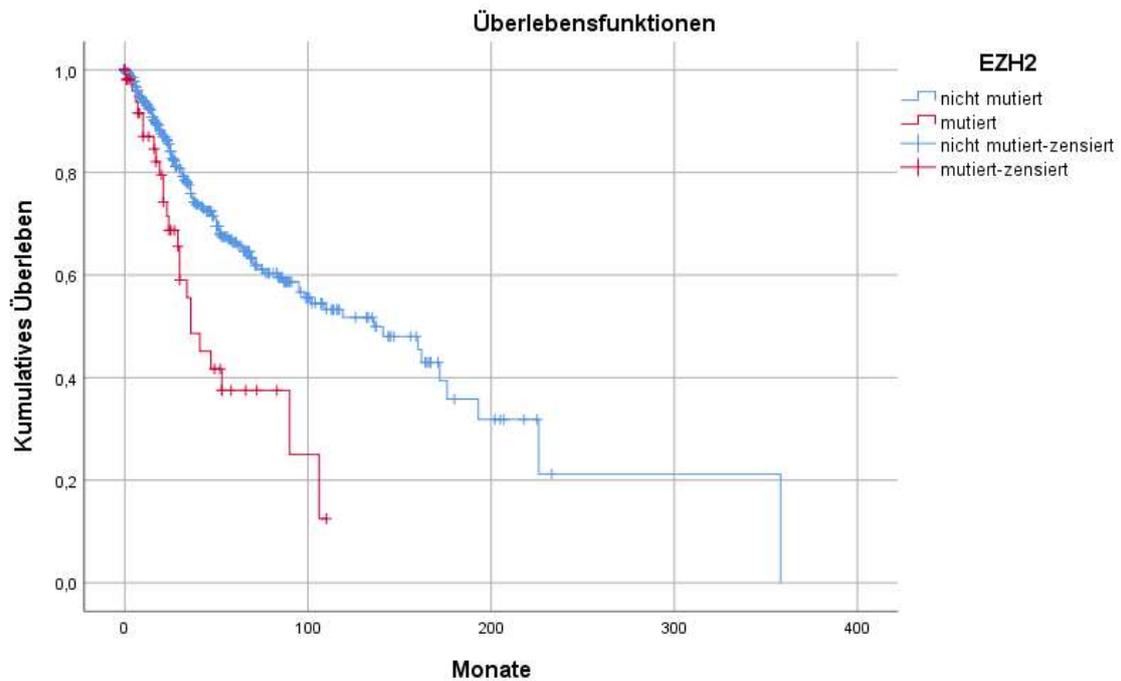


Abb. 3.2-7: Kaplan Meier Überlebenskurve EZH2

Im Gegensatz zu den bisher genannten Genen hatten Patienten mit einer SF3B1 Mutation ein längeres medianes Überleben mit 193 Monaten (95% CI 86 – 300 Monate), als die Patienten mit Wildtyp dieses Gens mit 109 Monaten (95% CI 59 – 159 Monate). Dieser Unterschied ist **signifikant** mit $p=0,007$.

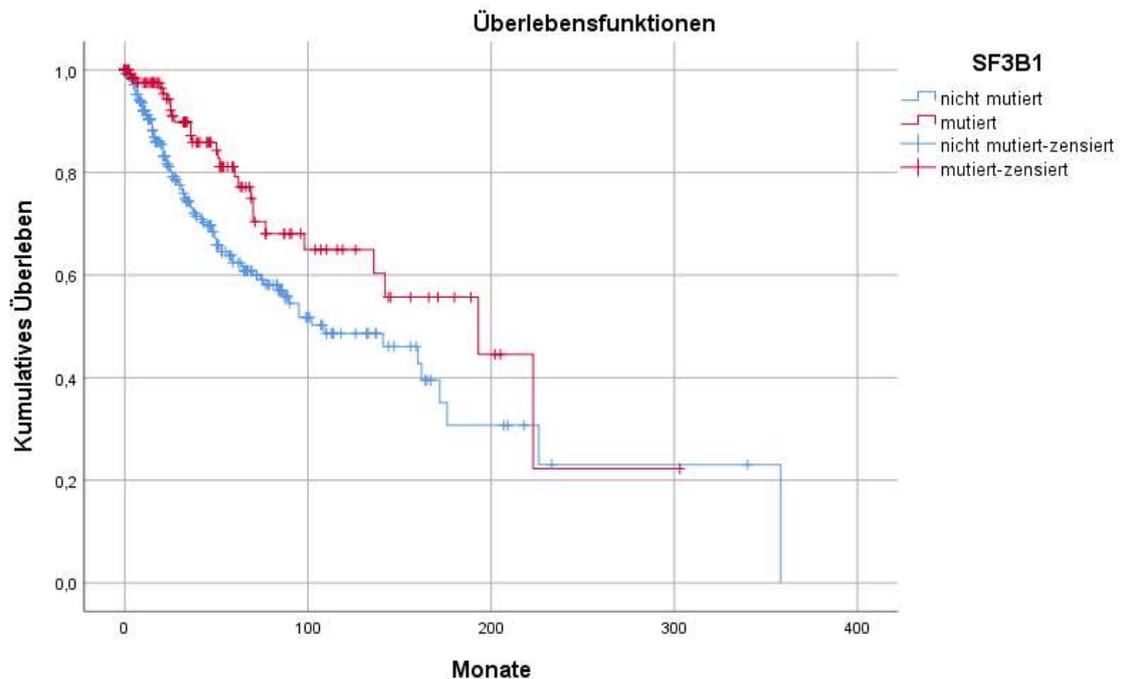


Abb. 3.2-8: Kaplan Meier Überlebenskurve SF3B1

Patienten mit TP53 Mutation starben früher als ohne Mutation. Das Mediane Überleben liegt bei Wildtyp bei 141 Monate (95% CI 97 – 185 Monate) und bei Vorliegen einer Mutation bei 28 Monate (95% CI 19 – 37 Monate). Dieser Unterschied ist **hoch signifikant** mit $p < 0,0001$.

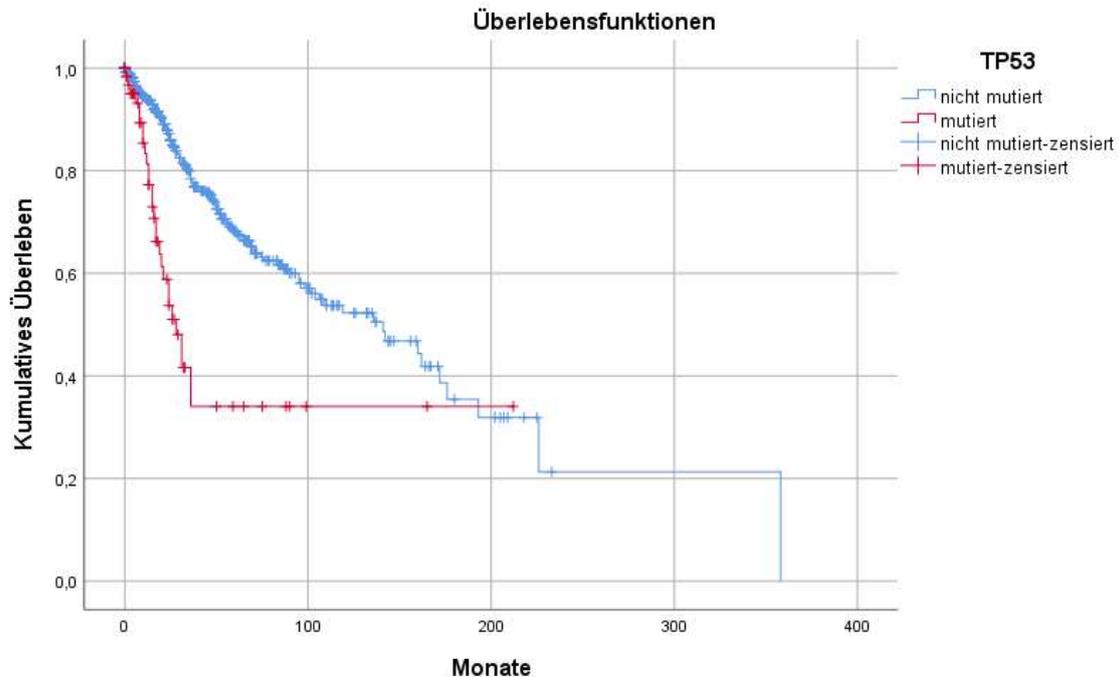


Abb. 3.2-9: Kaplan Meier Überlebenskurve TP53

3.2.5 Vergleich der Anzahl der Mutationen mit SF3B1 als Sonderstellung

Die Anzahl der Mutationen hatte prinzipiell einen schlechten Einfluss auf die Prognose der Patienten (siehe 3.2.3). Das bedeutet, dass Patienten mit steigender Anzahl der Mutationen ein kürzeres medianes Überleben vorwiesen. In dieser Kohorte wiesen Patienten mit zwei Mutationen das längste Überleben auf. Außerdem konnte gezeigt werden, dass eine SF3B1 Mutation einen günstigen Effekt auf die Überlebenszeit hat. Es besteht daher die Vermutung, dass der Grund für das längste Überleben bei Patienten mit zwei Mutationen das Vorliegen einer SF3B1 Mutation sein könnte. Um das Problem der fehlenden Werte zu umgehen, wurden für die folgenden Rechnungen nur die Patienten eingeschlossen, bei denen das ganze Panel bestimmt wurde. Die Patienten wurden in folgende sechs Untergruppen eindeutig eingeteilt:

- | | |
|---------------------------------------|--------------------------------------|
| 1) keine Mutation | 2) SF3B1 mutiert |
| 3) eine Mutation, nicht SF3B1 | 4) zwei Mutationen, eine davon SF3B1 |
| 5) zwei Mutationen, davon keine SF3B1 | 6) mehr als zwei Mutationen |

Mit diesen sechs Kategorien ergeben sich 15 mögliche Vergleiche. Folgende Vergleiche (als Mutationskategorie bezeichnet) wurden ausgewählt:

Mutationskategorie 1: Vergleich zwischen zwei Mutationen, eine davon SF3B1 und zwei Mutationen, davon keine SF3B1. Patienten mit einer SF3B1 Mutation waren zu 6,7% verstorben, wohingegen der Anteil in der anderen Kategorie bei 25,8% lag ($p=0,109$).

Mutationskategorie 2: Vergleich von Patienten mit zwei Mutationen, wovon eine SF3B1 ist und den Patienten mit einer Mutation, die nicht SF3B1 ist. Hierbei verstarben 6,7% von der Kategorie mit zwei Mutationen, wohingegen 18,8% der Kohorte mit einer Mutation, welche nicht SF3B1 ist, den Beobachtungszeitraum nicht überlebten ($p=0,195$).

Mutationskategorie 3: Zwei Mutationen davon eine SF3B1 und keine Mutation im Vergleich. Das Ergebnis war wie bei Kategorie 2. Die Patienten mit SF3B1 Mutation überlebten häufiger ($p=0,081$).

Mutationskategorie 4: SF3B1 mutiert und eine Mutation, die nicht SF3B1 ist. Die Patienten mit einer Mutation starben zu 12,5% und die Patienten mit einer anderen Mutation als SF3B1 starben in 18,8% ($p= 0,751$).

Mutationskategorie 5: Vergleich von Patienten mit einer SF3B1 Mutation gegen Patienten ohne Mutationen. In der einen Kategorie verstarben 12,5% in der anderen 17,8%. ($p=0,970$) Alle vorgestellten Vergleiche sind nicht signifikant.

3.2.6 Übersicht Überlebenszeiten

Tabelle 3.2-1: Übersicht Überlebenszeiten

Legende:	weiß hinterlegt	ALLE PATIENTEN
	grau hinterlegt	OHNE TRANSPLANTIERTE
	n.e.	nicht erreicht
	CI u. G / CI o. G	95% Konfidenzintervall untere / obere Grenze

Variable	Kategorien	Teilmenge	Anzahl	Prozent	medianes ÜI (M)	CI u.G	CI o.G	p-Wert	Anteil verstorben (%)
Geschlecht	m	870	532	61,1%	87	65,66	108,34	0,042	28,0%
	w		338	38,9%	146	92,61	199,39		23,7%
	m	738	445	60,3%	70	53,95	86,05	0,017	27,6%
	w		293	39,7%	146	59,07	232,93		23,2%
Alter Gruppe	<60	870	230	26,4%	226	171,38	280,62	<0,0001	17,0%
	>60		640	73,6%	69	55,58	82,42		29,7%
	<60	738	146	19,8%	358	-	-	<0,0001	12,3%
	>60		592	80,2%	65	51,08	78,92		29,2%
WHO2016 gruppiert	low	792	430	54,3%	172	128,35	215,65	<0,0001	25,1%
	high		245	30,9%	102	70,39	133,61		29,4%
	CMML		117	14,8%	52	32,60	71,40		32,5%
WHO2016 gruppiert 2	non CMML	792	675	85,2%	141	101,52	180,48	0,002	26,7%
	CMML		117	14,8%	52	32,60	71,40		32,5%
IPSS-R Codierung	very low	499	49	9,8%	n.e.	-	-	<0,0001	18,4%
	low		186	37,3%	109	37,75	180,25		30,6%
	intermediate		127	25,5%	65	30,20	99,80		39,4%
	high		83	16,6%	41	18,99	63,01		47,0%
	very high		54	10,8%	33	24,44	41,56		46,3%
ANC	>800/ μ l	589	474	80,5%	106	66,47	145,53	<0,0001	30,2%
	<800/ μ l		115	19,5%	36	26,81	45,19		49,6%

Variable	Kategorien	Teilmenge	Anzahl	Prozent	medianes ÜI (M)	CI u.G	CI o.G	p-Wert	Anteil verstorben (%)
Chomosomen	very good	761	34	4,5%	n.e.	-	-	0,002	14,7%
	good		515	67,7%	119	75,69	162,31		25,4%
	intermediate		98	12,9%	90	63,64	116,36		28,6%
	poor		47	6,2%	95	42,97	147,03		34,0%
	very poor		67	8,8%	33	4,30	61,70		40,3%
Hb	>10 mg/dl	699	340	48,6%	141	74,43	207,57	0,002	25,0%
	8-10 mg/dl		243	34,8%	69	34,72	103,28		33,7%
	<8 mg/ dl		116	16,6%	70	42,06	97,94		39,7%
Blasten im KM	<2 %	619	154	24,9%	142	77,98	206,02	0,010	33,8%
	>2%- >5%		220	35,5%	76	50,87	101,13		30,5%
	>5% - <10%		140	22,6%	90	41,29	138,71		33,6%
	>10%		105	17,0%	53	1,47	104,53		39,0%
Thrombozyten	>100	702	412	58,7%	136	71,23	200,77	<0,0005	25,5%
	50-100		160	22,8%	53	27,20	78,80		37,5%
	<50		130	18,5%	84	32,95	135,05		36,9%
Anzahl Mutationen	0	870	289	33,2%	141	59,84	222,16	0,003	22,8%
	1		295	33,9%	106	37,94	174,06		27,1%
	2		157	18,0%	n.e.	-	-		19,7%
	3		81	9,3%	74	40,77	107,23		38,3%
	4		34	3,9%	53	14,20	91,80		41,2%
	5		12	1,4%	162	-	-		50,0%
	6		2	0,2%	17	-	-		50,0%
	0	738	250	33,9%	141	34,69	247,31	<0,0001	22,0%
	1		263	35,6%	95	33,58	156,42		27,4%
	2		129	17,5%	142	-	-		19,4%
	3		64	8,7%	64	42,56	85,44		39,1%
	4		25	3,4%	28	22,65	33,35		40,0%
	5		5	0,7%	30	-	124,08		60,0%
6		2	0,3%	17	-	-	50,0%		

Variable	Kategorien	Teilmenge	Anzahl	Prozent	medianes ÜI (M)	CI u.G	CI o.G	p-Wert	Anteil verstorben (%)
Anzahl Mutationen gruppiert	0-2	870	741	85,2%	141	96,50	185,50	0,002	23,9%
	3		81	9,3%	74	40,77	107,23		38,3%
	4-6		48	5,5%	33	-	67,53		43,8%
	0-2	738	642	87,0%	141	86,59	195,41	<0,0001	23,7%
	3		64	8,7%	64	42,56	85,44		39,1%
	4-6		32	4,3%	28	21,22	34,78		43,8%
Mutationskategorie 1	2 M davon 1 SF3B1	46	15	32,6%	n.e.	-	-	0,109	6,7%
	2 M nicht SF3B1		31	67,4%	n.e.	-	-		25,8%
Mutationskategorie 2	2 M davon 1 SF3B1	47	15	31,9%	n.e.	-	-	0,195	6,7%
	1 M nicht SF3B1		32	68,1%	n.e.	-	-		18,8%
Mutationskategorie 3	2 M davon 1 SF3B1	60	15	25,0%	n.e.	-	-	0,081	6,7%
	keine M		45	75,0%	109	93,28	124,72		17,8%
Mutationskategorie 4	SF3B1 mutiert	40	8	20,0%	n.e.	-	-	0,751	12,5%
	1 M nicht SF3B1		32	80,0%	n.e.	-	-		18,8%
Mutationskategorie 5	SF3B1 mutiert	53	8	15,1%	n.e.	-	-	0,970	12,5%
	keine M		45	84,9%	109	93,28	124,72		17,8%
RUNX1	Wildtyp	482	396	82,2%	160	105,50	214,50	0,008	26,3%
	mutiert		86	17,8%	53	11,34	94,66		39,5%
	Wildtyp	392	332	84,7%	160	98,11	221,89	<0,0001	24,4%
	mutiert		60	15,3%	37	26,19	47,81		45,0%
ASXL1	Wildtyp	585	423	72,3%	141	90,67	191,33	<0,0001	23,9%
	mutiert		162	27,7%	50	23,08	76,92		34,6%
	Wildtyp	488	355	72,7%	160	90,89	229,11	<0,0001	22,8%
	mutiert		133	27,3%	45	14,51	75,49		34,6%
CBL	Wildtyp	386	366	94,8%	109	72,10	145,90	0,836	30,3%
	mutiert		20	5,2%	160	-	355,75		30,0%
	Wildtyp	308	295	95,8%	95	40,18	149,82	0,483	29,5%
	mutiert		13	4,2%	160	-	374,88		30,8%

Variable	Kategorien	Teilmenge	Anzahl	Prozent	medianes ÜI (M)	CI u.G	CI o.G	p-Wert	Anteil verstorben (%)
DNMT3A	Wildtyp	356	301	84,6%	136	84,37	187,63	0,209	30,9%
	mutiert		55	15,4%	90	45,71	134,29		34,5%
	Wildtyp	279	237	84,9%	98	28,45	167,55	0,648	30,8%
	mutiert		42	15,1%	95	33,33	156,67		31,0%
ETV6	Wildtyp	244	227	93,0%	141	93,68	188,32	0,884	22,0%
	mutiert		17	7,0%	n.e.	-	-		29,4%
	Wildtyp	175	166	94,9%	162	-	-	0,260	16,9%
	mutiert		9	5,1%	-	-	-		33,3%
EZH2	Wildtyp	510	457	89,6%	136	93,46	178,54	<0,0005	26,5%
	mutiert		53	10,4%	36	20,14	51,86		45,3%
	Wildtyp	417	377	90,4%	119	52,49	185,51	0,002	26,3%
	mutiert		40	9,6%	36	20,73	51,27		42,5%
JAK2	Wildtyp	430	381	88,6%	109	67,45	150,55	0,217	29,9%
	mutiert		49	11,4%	n.e.	-	-		22,4%
	Wildtyp	349	301	86,2%	84	34,73	133,27	0,129	29,9%
	mutiert		48	13,8%	n.e.	-	-		22,9%
MLL	Wildtyp	185	173	93,5%	74	49,21	98,79	0,231	44,5%
	mutiert		12	6,5%	27	-	115,33		50,0%
	Wildtyp	168	160	95,2%	70	44,32	95,68	<0,0005	44,4%
	mutiert		8	4,8%	6	-	27,12		62,5%
SF3B1	Wildtyp	465	326	70,1%	109	58,63	159,37	0,007	29,4%
	mutiert		139	29,9%	193	85,57	300,43		19,4%
	Wildtyp	381	254	66,7%	87	26,66	147,34	0,001	29,1%
	mutiert		127	33,3%	193	137,73	248,27		17,3%
SRSF2	Wildtyp	358	292	81,6%	136	87,32	184,68	0,778	32,2%
	mutiert		66	18,4%	162	-	-		27,3%
	Wildtyp	278	223	80,2%	98	28,83	167,17	0,463	31,4%
mutiert		55	19,8%	70	30,72	109,28	29,1%		

Variable	Kategorien	Teilmenge	Anzahl	Prozent	medianes ÜI (M)	CI u.G	CI o.G	p-Wert	Anteil verstorben (%)
STAG2	Wildtyp	192	182	94,8%	141	94,93	187,07	0,365	24,2%
	mutiert		10	5,2%	n.e.	-	-		10,0%
	Wildtyp	126	119	94,4%	162	117,92	206,08	0,956	16,8%
	mutiert		7	5,6%	n.e.	-	-		14,3%
TET2	Wildtyp	457	311	68,1%	136	87,29	184,71	0,958	30,5%
	mutiert		146	31,9%	95	47,14	142,86		28,1%
	Wildtyp	374	244	65,2%	95	27,75	162,25	0,551	30,7%
	mutiert		130	34,8%	95	46,17	143,83		26,2%
TP53	Wildtyp	589	523	88,8%	141	97,43	184,57	<0,0001	24,1%
	mutiert		66	11,2%	28	19,25	36,75		42,4%
	Wildtyp	491	438	89,2%	141	89,78	192,22	<0,0005	23,7%
	mutiert		53	10,8%	28	18,94	37,06		37,7%
U2AF1	Wildtyp	260	237	91,2%	141	112,79	169,21	0,999	20,3%
	mutiert		23	8,8%	n.e.	-	-		13,0%
	Wildtyp	190	169	88,9%	162	-	-	0,456	14,2%
	mutiert		21	11,1%	n.e.	-	-		14,3%

3.3 Übergang in eine AML

3.3.1 Gesamte Kohorte

Für 112 Patienten (13,4%) konnte in dem Beobachtungszeitraum mittels der Kaplan-Meier-Methode der Übergang in eine AML graphisch dargestellt werden.

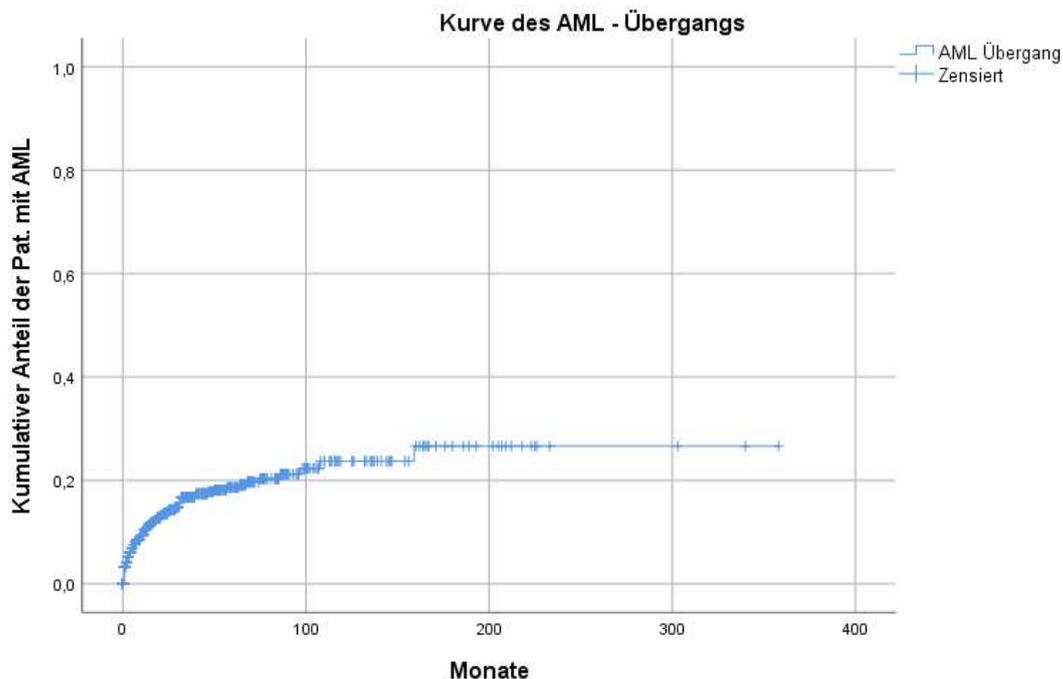


Abb. 3.3-1: Kurve des AML-Übergangs der gesamten Kohorte

Die Tabelle unter 3.3.5 gibt eine Übersicht bezüglich dem Übergang in eine AML dieses Patientenkollektivs für die einzelnen Variablen wieder. Im Folgenden werden ausschließlich die signifikanten Kurven genauer erläutert.

3.3.2 Risikoscore

Die Einteilung der Patienten anhand des Risikoprognosescores IPSS-R ist nicht nur für die Abschätzung der medianen Überlebenszeit hilfreich, sondern auch für die Abschätzung einer möglichen AML-Transformation nützlich. In der untersuchten Kohorte hatte kein Patient der *very low risk* Gruppe während der Beobachtungszeit einen Übergang in eine AML gezeigt. Wohingegen 36% der *very high risk* Patienten diese Transformation aufwiesen.

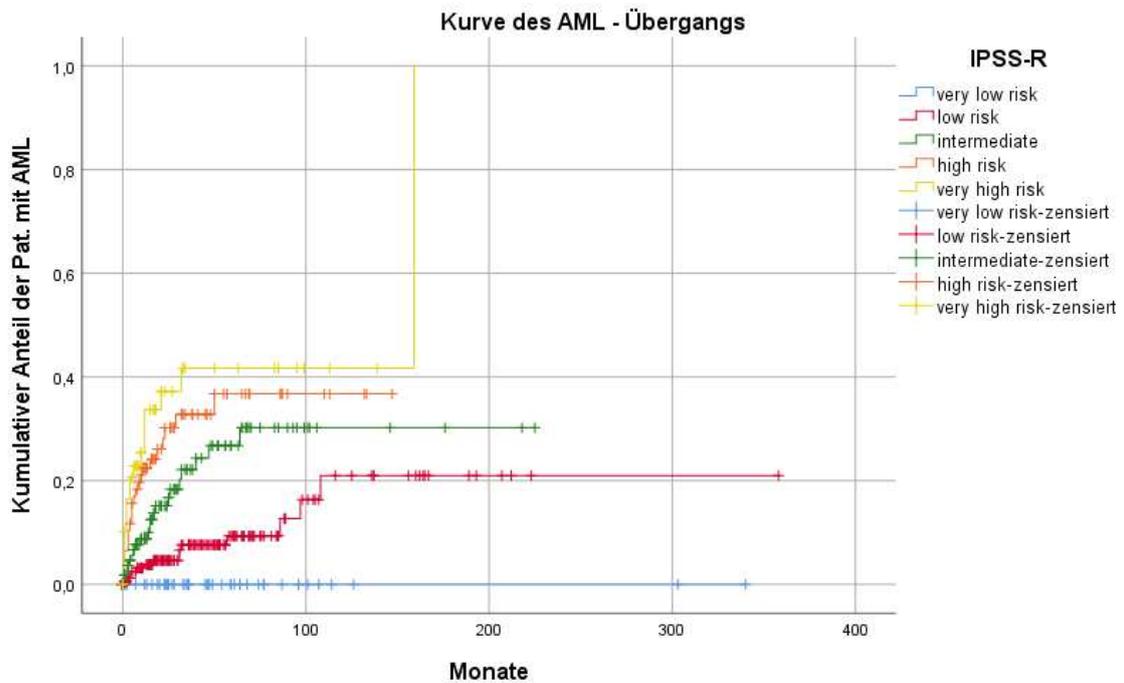


Abb. 3.3-2: Kurve des AML-Übergangs nach Risikogruppen des IPSS-R

3.3.3 Anzahl der Mutationen

Je mehr Mutationen bei einem Patienten vorlagen, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass das MDS in eine AML überging. Patienten mit 4 oder mehr Mutationen bekamen zu 28,3% eine AML, Patienten mit 2 oder weniger Mutationen nur in 12% der Fälle.

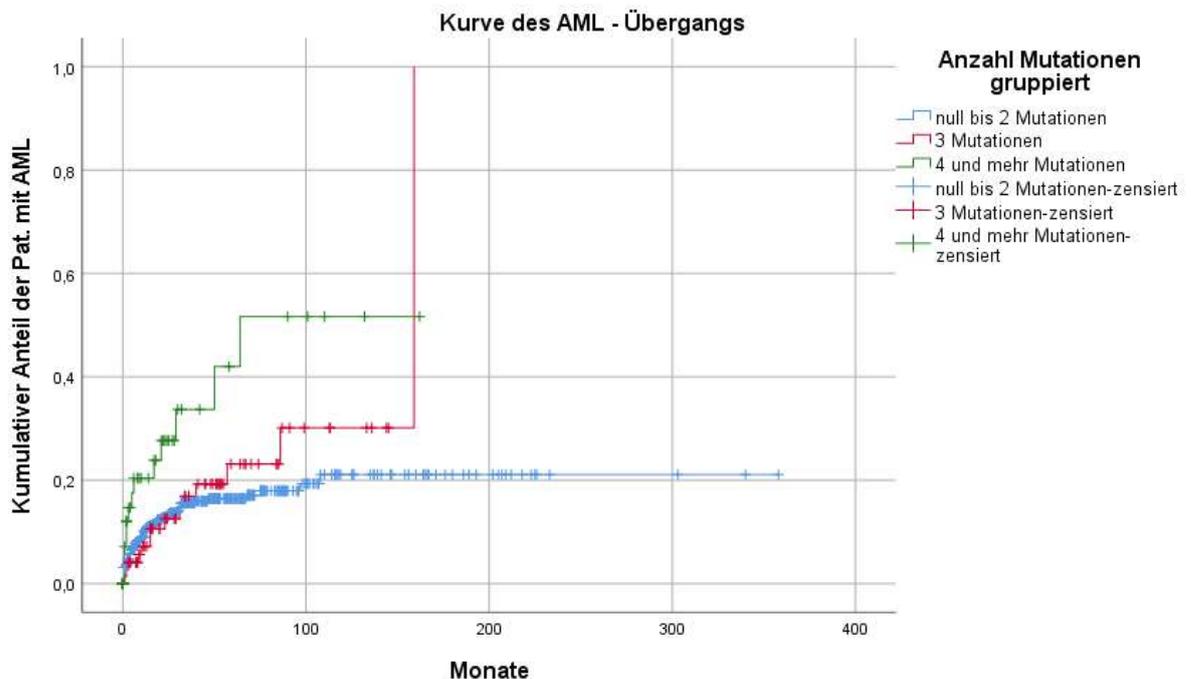


Abb. 3.3-3: Kurve des AML-Übergangs Anzahl der Mutationen p. Pat. gruppiert

3.3.4 Mutationsstatus ausgewählter Gene

Patienten mit RUNX1 Mutation bekamen häufiger (23,7%) eine AML als Patienten, die diese Mutation nicht vorwiesen (11,2%).

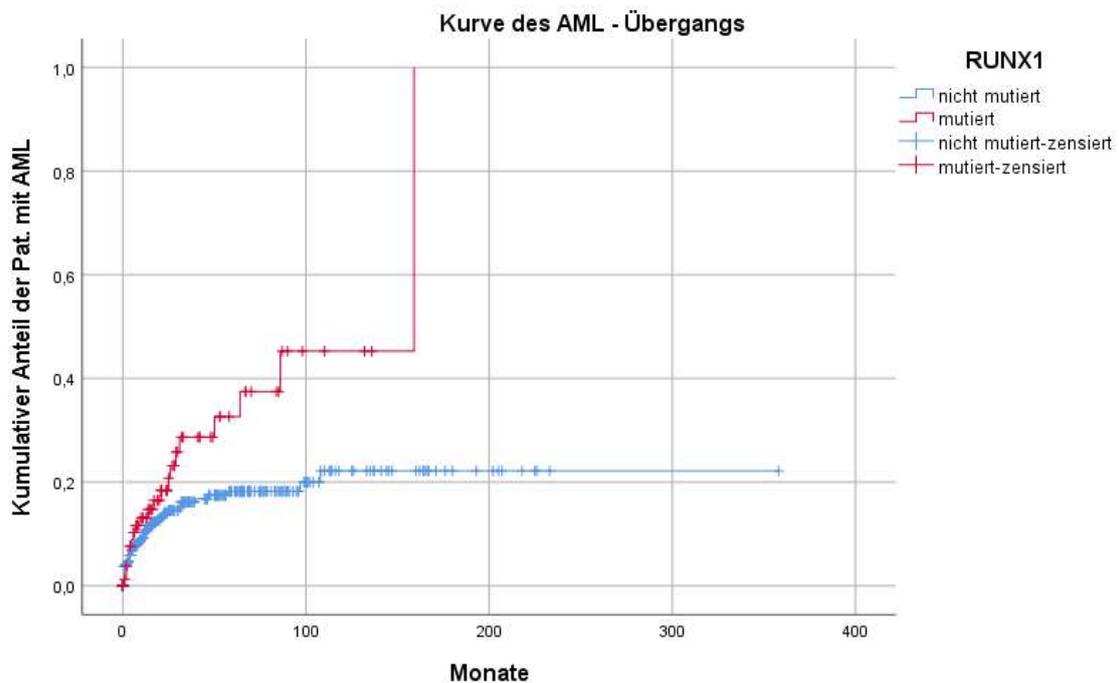


Abb. 3.3-4: Kurve des AML-Übergangs RUNX1

Werden die Kaplan-Meier-Kurven von Patienten betrachtet, die eine DNMT3A Mutation aufweisen, so ergab sich kein signifikanter Zusammenhang in Bezug auf die AML-Transformation. Werden allerdings die Patienten herausgerechnet, die transplantiert wurden, so zeigt sich ein eindeutig signifikantes Ergebnis. Demzufolge haben Patienten mit Mutation eine höhere Wahrscheinlichkeit, an einer AML zu erkranken (ohne transplantierte Pat. $p=0,026$ / mit allen Patienten $p=0,284$).

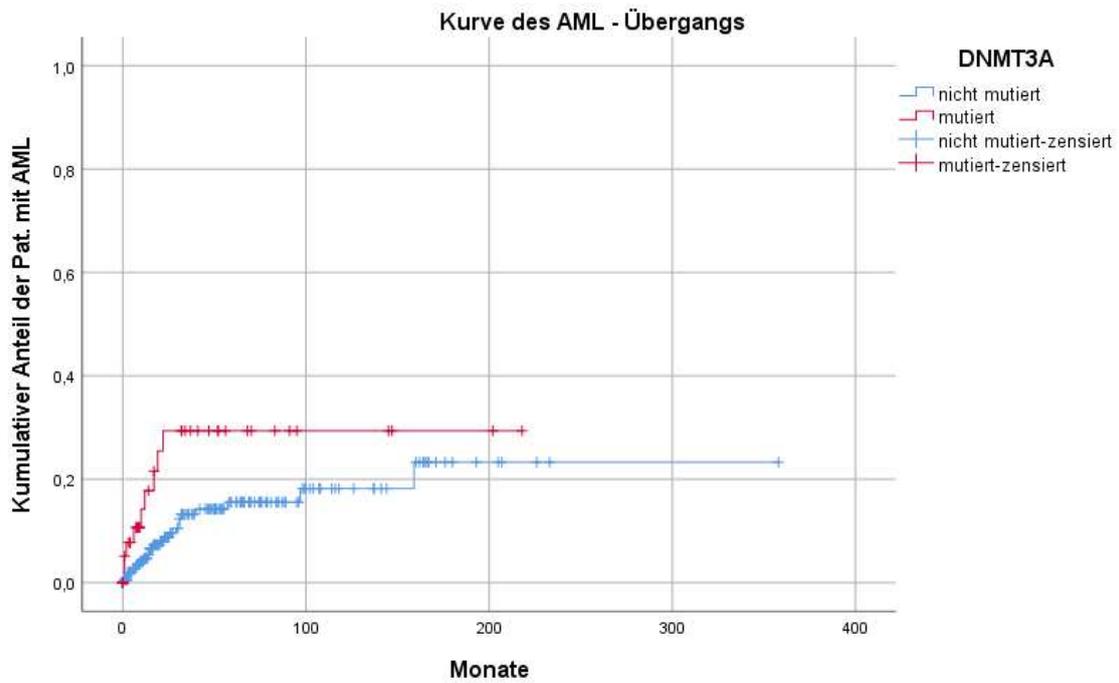


Abb. 3.3-5: Kurve des AML-Übergangs DNMT3A

Patienten mit einer SF3B1 Mutation haben ein eindeutig geringeres Risiko eine AML zu bekommen (30,2%) im Vergleich zum Vorliegen des Wildtyps (69,8%). Dieser Unterschied ist mit $p=0,011$ **signifikant**.

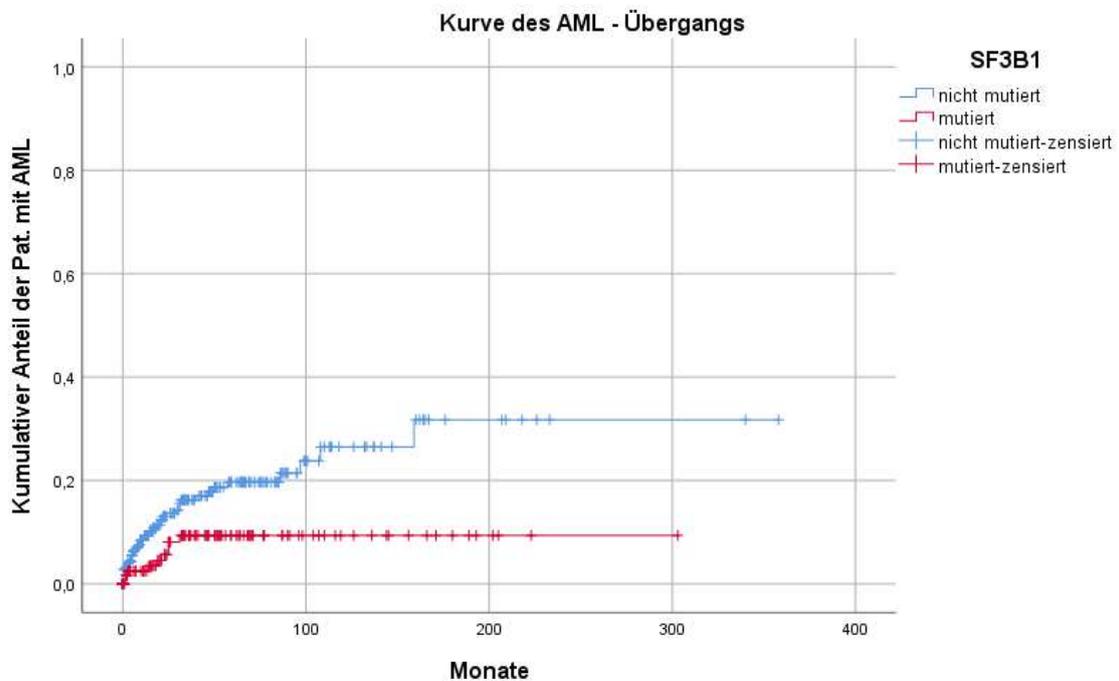


Abb. 3.3-6: Kurve des AML-Übergangs SF3B1

Eine TP53 Mutation brachte ein höheres Risiko mit sich, dass die Erkrankung in eine AML übergeht. 37,5% der Patienten mit Mutation (n=18) bekamen eine AML, wobei nur bei 9,0% der Patienten ohne die Mutation (n=38) der Übergang in eine AML dokumentiert wurde.

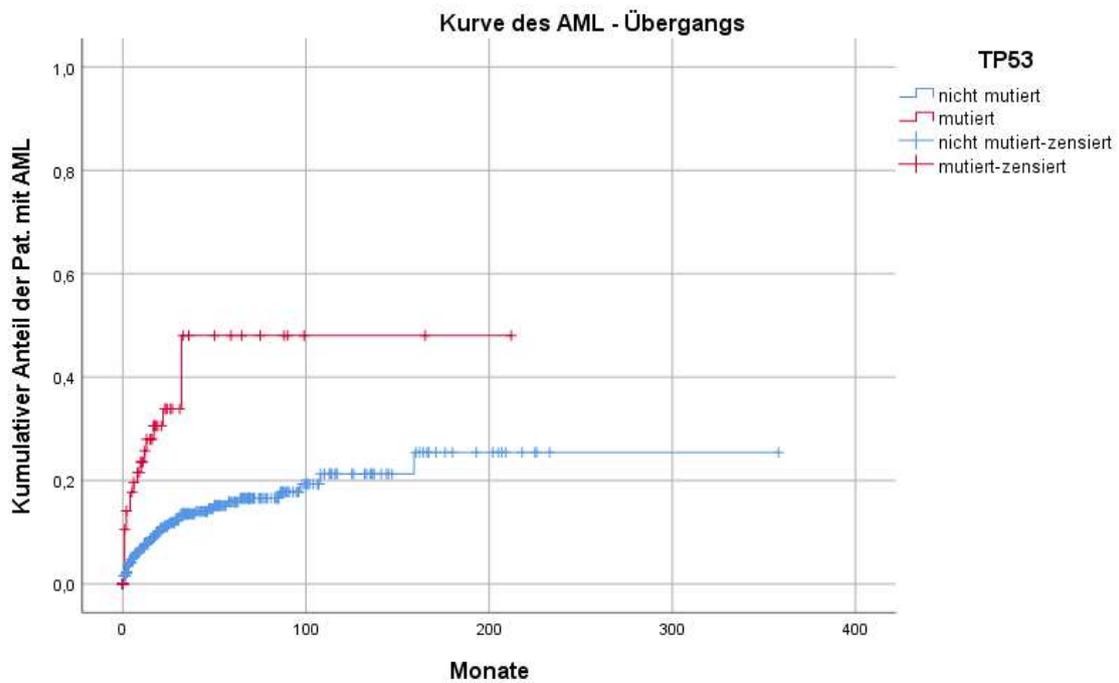


Abb. 3.3-7: Kurve des AML-Übergangs TP53

3.3.5 Übersicht AML-Transformation

Tabelle 3.3-1: Übersicht AML-Transformation

Legende:	weiß hinterlegt	ALLE PATIENTEN
	grau hinterlegt	OHNE TRANSPLANTIERTE

Variable	Kategorie	Teilmenge	Anzahl	Prozent	AML Übergang in %	p-Wert
Geschlecht	m	834	514	61,6%	15,6%	0,016
	w		320	38,4%	10,0%	
	m	707	430	60,8%	12,6%	0,033
	w		277	39,2%	7,9%	
Alter Gruppe	<60	834	223	26,7%	14,3%	0,432
	>60		611	73,3%	13,1%	
	<60	707	143	20,2%	8,4%	0,067
	>60		564	79,8%	11,3%	
WHO2016 gruppiert	low	757	424	56,0%	5,4%	<0,0001
	high		220	29,1%	30,9%	
	CMML		113	14,9%	14,2%	
WHO2016 gruppiert 2	non CMML	757	644	85,1%	14,1%	0,581
	CMML		113	14,9%	14,2%	
IPSS-R Codierung	very low	483	49	10,1%	0,0%	<0,0001
	low		183	37,9%	7,7%	
	intermediate		122	25,3%	17,2%	
	high		79	16,4%	29,1%	
	very high		50	10,4%	36,0%	
ANC	>800/ μ l	571	462	80,9%	11,0%	<0,0001
	<800/ μ l		109	19,1%	28,4%	

Variable	Kategorie	Teilmenge	Anzahl	Prozent	AML Übergang in %	p-Wert	
Chromosomen	very good	731	32	4,4%	9,4%	<0,0001	
	good		494	67,6%	11,3%		
	intermediate		96	13,1%	17,7%		
	poor		45	6,2%	22,2%		
	very poor		64	8,8%	32,8%		
Hb	>10 mg/dl	671	329	49,0%	13,1%	0,411	
	8-10 mg/dl		232	34,6%	16,4%		
	<8 mg/ dl		110	16,4%	14,5%		
Blasten im KM	<2 %	596	150	25,2%	4,7%	<0,0001	
	>2%- >5%		218	36,6%	8,3%		
	>5% - <10%		135	22,7%	23,0%		
	>10%		93	15,6%	36,6%		
Thrombozyten	>100	674	397	58,9%	13,1%	0,153	
	50-100		153	22,7%	17,0%		
	<50		124	18,4%	16,1%		
Anzahl Mutationen	0	834	280	33,6%	12,1%	0,001	
	1		279	33,5%	11,8%		
	2		150	18,0%	12,0%		
	3		79	9,5%	17,7%		
	4		33	4,0%	36,4%		
	5		11	1,3%	9,1%		
	6		2	0,2%	0,0%		
	0	707	243	34,4%	8,6%		<0,0005
	1		248	35,1%	10,1%		
	2		123	17,4%	8,9%		
	3		62	8,8%	17,7%		
	4		24	3,4%	33,3%		
	5		5	0,7%	0,0%		
6		2	0,3%	0,0%			

Variable	Kategorie	Teilmenge	Anzahl	Prozent	AML Übergang in %	p-Wert
Anzahl Mutationen gruppiert	0-2	834	709	85,0%	12,0%	0,002
	3		79	9,5%	17,7%	
	4-6		46	5,5%	28,3%	
	0-2	707	614	86,8%	9,3%	0,001
	3		62	8,8%	17,7%	
	4-6		31	4,4%	25,8%	
Mutationskategorie 1	2 M davon 1 SF3B1	46	15	32,6%	13,3%	0,943
	2 M nicht SF3B1		31	67,4%	12,9%	
Mutationskategorie 2	2 M davon 1 SF3B1	45	15	33,3%	13,3%	0,827
	1 M nicht SF3B1		30	66,7%	10,0%	
Mutationskategorie 3	2 M davon 1 SF3B1	57	15	26,3%	13,3%	0,758
	keine M		42	73,7%	7,1%	
Mutationskategorie 4	SF3B1 mutiert	38	8	21,1%	0,0%	0,377
	1 M nicht SF3B1		30	78,9%	10,0%	
Mutationskategorie 5	SF3B1 mutiert	50	8	16,0%	0,0%	0,534
	keine M		42	84,0%	7,1%	
RUNX1	Wildtyp	468	384	82,1%	13,3%	0,008
	mutiert		84	17,9%	25,0%	
	Wildtyp	381	322	84,5%	11,2%	0,005
	mutiert		59	15,5%	23,7%	
ASXL1	Wildtyp	561	411	73,3%	11,4%	0,279
	mutiert		150	26,7%	13,3%	
	Wildtyp	467	345	73,9%	9,6%	0,216
	mutiert		122	26,1%	11,5%	
CBL	Wildtyp	372	354	95,2%	13,3%	0,906
	mutiert		18	4,8%	11,1%	
	Wildtyp	297	286	96,3%	10,8%	0,302
	mutiert		11	3,7%	0,0%	

Variable	Kategorie	Teilmenge	Anzahl	Prozent	AML Übergang in %	p-Wert
DNMT3A	Wildtyp	348	293	84,2%	14,0%	0,284
	mutiert		55	15,8%	18,2%	
	Wildtyp	274	232	84,7%	10,3%	0,026
	mutiert		42	15,3%	21,4%	
ETV6	Wildtyp	238	221	92,9%	11,8%	0,237
	mutiert		17	7,1%	23,5%	
	Wildtyp	171	162	94,7%	9,3%	0,962
	mutiert		9	5,3%	11,1%	
EZH2	Wildtyp	492	441	89,6%	12,9%	0,957
	mutiert		51	10,4%	11,8%	
	Wildtyp	402	363	90,3%	10,7%	0,856
	mutiert		39	9,7%	10,3%	
JAK2	Wildtyp	416	370	88,9%	12,2%	0,235
	mutiert		46	11,1%	6,5%	
	Wildtyp	338	293	86,7%	9,6%	0,405
	mutiert		45	13,3%	6,7%	
MLL	Wildtyp	180	169	93,9%	19,5%	0,316
	mutiert		11	6,1%	27,3%	
	Wildtyp	164	157	95,7%	15,9%	0,043
	mutiert		7	4,3%	28,6%	
SF3B1	Wildtyp	451	315	69,8%	14,0%	0,011
	mutiert		136	30,2%	6,6%	
	Wildtyp	370	246	66,5%	11,0%	0,018
	mutiert		124	33,5%	4,8%	
SRSF2	Wildtyp	348	285	81,9%	12,6%	0,807
	mutiert		63	18,1%	12,7%	
	Wildtyp	272	218	80,1%	10,1%	0,993
	mutiert		54	19,9%	9,3%	

Variable	Kategorie	Teilmenge	Anzahl	Prozent	AML Übergang in %	p-Wert
STAG2	Wildtyp	187	177	94,7%	12,4%	0,883
	mutiert		10	5,3%	10,0%	
	Wildtyp	123	116	94,3%	8,6%	0,466
	mutiert		7	5,7%	0,0%	
TET2	Wildtyp	443	300	67,7%	12,7%	0,348
	mutiert		143	32,3%	9,1%	
	Wildtyp	363	235	64,7%	10,2%	0,491
	mutiert		128	35,3%	7,8%	
TP53	Wildtyp	567	506	89,2%	11,5%	<0,0001
	mutiert		61	10,8%	32,8%	
	Wildtyp	472	424	89,8%	9,0%	<0,0001
	mutiert		48	10,2%	37,5%	
U2AF1	Wildtyp	253	231	91,3%	11,3%	0,476
	mutiert		22	8,7%	13,6%	
	Wildtyp	185	165	89,2%	7,9%	0,153
	mutiert		20	10,8%	15,0%	

3.4 Zusammenhang zwischen Biomarkern und klinischen Parametern

Bei dem vorliegenden Patientenkollektiv wurden sowohl Daten zu somatischen Mutationen als auch Angaben zu klinischen Parametern erfasst. Alle 55 Gene wurden den klinischen Werten gegenübergestellt, welche in thematisch zusammengehörende Gruppen eingeteilt wurden (Kapitel 3.1.2). Die Korrelationen erfolgten dennoch für jeden Wert einzeln.

3.4.1 Kategorielle Variablen

Für kategorielle Variablen konnte mittels Kreuztabellen ein grundlegender Zusammenhang zwischen den Variablen und Biomarkern festgestellt werden, welcher anschließend durch den Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest nach Pearson auf Signifikanz geprüft wurde.

Einen Überblick für die Gegenüberstellung der Biomarker und kategorieller klinischer Parameter gibt die Tabelle 3.4.2 wieder. Da aufgrund der Menge der Rechnungen nicht auf alle Korrelationen eingegangen werden kann, sollen einzelne klinisch relevanten Ergebnisse im Folgenden herausgearbeitet werden.

Allgemeines und Prognosescores

Die WHO Klassifikation zeigte signifikante Zusammenhänge zu den Genen RUNX1, ASXL1, CBL, JAK2, SF3B1, SRSF2, TET2 und TP53. So fanden sich folgende Mutationen in den entsprechenden Subtypen überproportional häufiger wieder:

- RUNX1 Mutation häufiger bei EB1, EB2 und CMML,
- ASXL1 Mutation häufiger bei CMML,
- CBL Mutation häufiger bei CMML,
- DNMT3A Mutation häufiger bei EB1, EB2 und AML (nicht signifikant),
- JAK2 Mutation häufiger bei MDS/MPN RS T und MDS/MPN U,
- SF3B1 Mutation häufiger bei MDS RS SLD, MDS RS MLD und MDS/MPN RS T,
- SRSF2 Mutation häufiger bei CMML,
- TET2 Mutation häufiger bei CMML,
- TP53 Mutation häufiger bei EB1, EB2 und AML,

Es bestanden außerdem signifikante Korrelationen zwischen dem IPSS-R und einzelnen Genmutationen. Eine SF3B1 Mutation fand sich vor allem in den Patientengruppen, die eine gute Prognose haben. Im Falle einer RUNX1 oder TP53 Mutation zeigte sich das Gegenteil und Patienten mit Mutation lassen sich häufiger in den prognostisch schlechteren Subtypen finden. Analog dazu wiesen die Patienten mit RUNX1 oder TP53 Mutation häufiger einen Übergang in eine AML auf. Wohingegen bei Patienten mit SF3B1 Mutation dies seltener zu verzeichnen war.

Eine TP53 oder MLL Mutation war signifikant häufiger bei Patienten mit sekundärem MDS zu finden.

Histologie, Blut Zytologie und KM Zytologie

Es bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer CBL Mutation und einer Linksverschiebung im peripheren Blut. Nur bei den Patienten, die im peripheren Blut eine Linksverschiebung aufwiesen, wurde auch eine Mutation gefunden. Dementsprechend war ohne Linksverschiebung kein Patient mit Nachweis einer Mutation in der Kohorte.

Auch die Korrelation zwischen einer ASXL1 Mutation und dem Nachweis vermehrter Monozyten war signifikant. Wenn die Anzahl der Monozyten im Knochenmark erhöht ist, so ist die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer ASXL1 Mutation mit 50% mehr als doppelt so hoch, als wenn die Anzahl der Monozyten im Normbereich liegt (21,6%). Der Vergleich von Zellularität und RUNX1 Mutation bzw. SF3B1 Mutation war signifikant. Bei RUNX1 Mutation wiesen die Patienten vor allem ein normo- bis hypozelluläres Knochenmark auf. Wohingegen bei SF3B1 Mutation häufiger ein normo- bis hyperzelluläres Knochenmark zu finden war.

Besonderes Augenmerk gilt hier außerdem der Korrelation von einer SF3B1 Mutation und dem Nachweis von Ringsideroblasten. Diese wurden zusätzlich noch genauer auseinandergerechnet. Es bestand ein eindeutiger Zusammenhang darin, dass bei einer SF3B1 Mutation öfter, und auch absolut gesehen mehr, Ringsideroblasten nachgewiesen werden konnten.

Tabelle 3.4-1: Zusammenhang von SF3B1 Mutation und Ringsideroblasten

	Teilmenge	SF3B1 mutiert	Wildtyp	p-Wert
ris vorhanden	205	46	24	0,0001
ris nicht vorhanden		23	112	
>5% ris	198	70	23	0,0001
<5% ris		12	93	
>15% ris	198	56	17	0,0001
<15% ris		26	99	

Insgesamt konnte festgehalten werden, dass sowohl in der Histologie, Blut-Zytologie als auch KM-Zytologie sich einzelne signifikante Korrelationen finden lassen.

Labor

Da die Laborwerte fast ausschließlich kontinuierliche Variablen sind, wurden die Ergebnisse unter 3.4.3 festgehalten. Als einziger kategorieller Parameter gibt die Variable der Zytopenieform Informationen darüber, welche Art der Zytopenie und ein mögliches Vorliegen einer Kombination von mehreren Zytopenien bei Erstdiagnose wieder. Hierbei ergab sich ein möglicher Zusammenhang zu SF3B1 und SRSF2.

Komorbiditäten

Unter den Komorbiditäten konnte keine wesentliche Systematik oder Häufung zu Gen Korrelationen herausgearbeitet werden.

Klinik

Sowohl Thromboembolische Ereignisse als auch hämorrhagische Diathesen zeigten eine signifikante Korrelation zur ETV6 Mutation. Ohne diese genannte Symptomatik war in den allermeisten Fällen keine Mutation nachzuweisen.

Grunderkrankungen

Es konnte ein eindeutiger Zusammenhang zwischen alkylierenden Substanzen, vorbestehenden Grunderkrankungen (wie zum Beispiel M.Hodgkin, NHL, Myelome, Karzinome, rheumatologische Erkrankungen) und dem Vorliegen einer TP53 Mutation in dieser Studienpopulation gezeigt werden. Dies wurde durch die Variable ‚noxe‘ unterstützt, welche das Vorhandensein einer Chemo- oder Radiotherapie kodiert und auch signifikant zu einer TP53 Mutation ist.

Therapie

Bei Vorliegen einer TP53 Mutation wurden überproportional häufig die Medikamente Cytarabin, Azacitidin und Decitabin für Patienten in der Therapie verwendet.

Im Gegensatz dazu wurden die Patienten mit Vorliegen einer SF3B1 Mutation häufig mit Erythropoetin, EXJADE oder G-CSF behandelt.

Auch bei der Transplantation ließen sich signifikante Korrelationen zeigen.

Bei Vorliegen einer RUNX1, JAK, MLL oder TET2 Mutation musste ein Patient häufiger transplantiert werden. Auch hier zeigte sich eine SF3B1 Mutation im gegenteiligen Verhalten, denn diese Patienten werden eindeutig seltener transplantiert.

Chromosomen

Beim Vergleich der Chromosomensätze (eingeteilt in Kategorien siehe Tabelle 3.1-4) und den Biomarkern wiesen folgende Genmutationen einen signifikanten Zusammenhang zu bestimmten Kategorien der Karyotypen auf:

- RUNX1 Mutation häufiger bei diversen Anomalien, Trisomie 8 und del(20q),
- ASXL1 Mutation häufiger bei Trisomie 8 und del(11q23)
- CBL Mutation häufiger bei diversen Anomalien
- SRSF2 Mutation häufiger bei Trisomie 8 und inv(3) /t,(3;3)
- TET2 Mutation häufiger bei Trisomie 8 und minus Y,
- TP53 Mutation häufiger bei komplexen Karyotypen,
- U2AF1 Mutation häufiger bei Del(20q)

Wird die Einteilung der Karyotypen nach IPSS-R betrachtet und diese den Genmutationen gegenübergestellt, so blieb für folgende Vergleiche die Signifikanz bestehen: RUNX1, ASXL1, SRSF2, TET2, TP53.

„neu gruppierte“ Variablen

Für die „neu gruppierten“ Variablen wurden bestehende „schwache“ Zusammenhänge eindeutiger herausgearbeitet, indem Variablen mit vielen Freiheitsgraden zusammengefasst wurden. Zum Beispiel hat die Variable ‚WHO2016‘ ursprünglich 14 Freiheitsgrade und wurde im zweiten Schritt einmal in low risk, high risk und CMML Subtypen aufgeteilt bzw. in *non-CMML* und CMML, das heißt in lediglich drei beziehungsweise zwei Freiheitsgrade.

Es wurde aus der kontinuierlichen Variable des Alters eine kategorielle Variable (AlterEDGruppe) mit den Kategorien <50 Jahre, 50-60 Jahre, 60-70 Jahre, 70-80 Jahre und >80 Jahre geschaffen. Zusätzlich wurde eine dichotome Variable mit den Optionen <60 Jahre und >60 Jahre erstellt (AlterEDGruppe3). Beide zeigen eine eindeutige Korrelation zu den Genen MLL und TET2.

3.4.2 Korrelation von kategoriellen Variablen und Genen

Tabelle 3.4-2: Geno-Phänotyp-Korrelationen, p-Werte der Kreuztabellen

Legende:

grün hinterlegt	signifikantes Ergebnis
" - "	Variable ist konstant
0,0001	bedeutet, dass der Wert der Zelle $\leq 0,0001$ ist
0,0005	bedeutet, dass der Wert der Zelle $\leq 0,0005$ ist

Gruppe	Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
2.1.	1 Geschlecht	0,48	0,038	0,786	0,096	0,39	0,777	0,864	0,227	0,964	0,08	0,313	0,176	0,177	0,003
	2 primsek	0,674	0,111	0,84	0,387	0,402	0,337	0,205	0,0001	0,205	0,242	0,954	0,324	0,001	0,875
	3 who2008	0,011	0,007	0,017	0,419	0,954	0,339	0,0005	0,183	0,0001	0,0005	0,755	0,001	0,003	0,841
	4 who2016	0,004	0,017	0,006	0,322	0,883	0,289	0,0001	0,544	0,0001	0,0001	0,578	0,001	0,006	0,793
	5 AMLÜ	0,019	0,088	0,635	0,755	0,286	0,889	0,619	0,335	0,02	0,719	0,678	0,156	0,0001	0,589
	7 OUTCOME	0,13	0,0005	0,134	0,406	0,777	0,001	0,012	0,912	0,149	0,801	0,864	0,776	0,089	0,849
	8 MDSPRO	0,696	0,152	0,925	0,334	0,015	0,196	0,24	0,787	0,205	0,82	0,272	0,071	0,151	0,381
	9 MDSPro1	0,904	0,014	0,682	0,949	0,919	0,965	0,845	0,045	0,088	0,026	0,379	0,035	0,231	0,975
	2.2.	1 IPSS Codierung	0,013	0,599	0,323	0,255	0,837	0,074	0,542	0,19	0,009	0,807	0,15	0,373	0,0001
2 IPSS-R		0,004	0,249	0,169	0,001	0,658	0,443	0,5	0,003	0,041	0,673	0,906	0,004	0,0001	0,827
3 ANCipssr		0,668	0,699	0,668	0,012	0,542	0,766	0,437	0,606	0,003	0,899	0,402	0,253	0,099	0,268
4 BlastenKMipssr		0,006	0,088	0,015	0,13	0,883	0,779	0,59	0,428	0,002	0,201	0,442	0,433	0,034	0,375
5 Chromipssr		0,006	0,011	0,342	0,722	0,125	0,026	0,311	0,431	0,15	0,048	0,902	0,0001	0,0001	0,054
6 Hbipssr		0,836	0,351	0,245	0,714	0,204	0,179	0,189	0,404	0,0005	0,022	0,765	0,125	0,26	0,556
7 Thrombozytenipssr		0,232	0,84	0,926	0,124	0,321	0,618	0,229	0,654	0,0001	0,065	0,529	0,146	0,109	0,431
2.3.	1 histokmf	0,305	0,536	0,213	0,073	0,89	0,647	0,009	0,618	0,586	0,363	0,565	0,767	0,004	0,34
	2 histomultilin	0,016	0,196	0,932	0,897	0,981	0,08	0,65	0,109	0,345	0,552	0,296	0,234	0,052	0,436
	3 histozel	0,439	0,575	0,869	0,054	0,642	0,707	0,3	0,59	0,017	0,092	0,186	0,007	0,031	0,345

Gruppe	Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
	4 histozellery	0,465	0,037	0,197	0,909	0,996	0,225	0,005	0,127	0,018	0,067	0,786	0,143	0,178	0,539
	5 histozellgra	0,777	0,337	0,667	0,797	0,307	0,65	0,315	0,071	0,529	0,109	0,336	0,118	0,469	0,31
	6 histozellmega	0,074	0,655	0,263	0,183	0,889	0,796	0,478	0,215	0,0005	0,154	0,972	0,254	0,619	0,716
2.4.	1 ani	0,113	0,685	0,311	0,189	1	0,923	0,331	0,078	0,341	0,06	0,408	0,602	0,482	0,966
	2 bat	0,082	0,508	0,718	0,394	0,631	0,21	0,067	0,105	0,053	0,77	0,786	0,843	0,377	0,545
	3 dev	0,697	0,87	0,732	0,407	0,676	0,0001	0,342	0,588	0,644	0,633	0,766	0,072	0,079	0,186
	4 die	0,902	0,089	0,572	0,254	0,474	0,457	0,95	0,443	0,093	0,729	0,082	0,741	0,783	0,219
	5 fra	0,777	0,14	0,781	0,586	0,056	0,472	0,558	0,76	0,483	0,421	0,782	0,245	0,248	0,541
	6 hpe	0,46	0,26	0,825	0,505	-	0,542	0,613	0,695	0,18	0,675	-	0,643	0,462	0,609
	7 hpo	0,414	0,882	0,832	0,934	0,029	0,082	0,432	0,617	0,411	0,213	0,296	0,03	0,33	0,588
	8 liv	0,406	0,651	0,0001	0,852	0,296	0,537	0,124	0,364	0,951	0,007	0,537	0,171	0,223	0,401
	9 meg	0,625	0,835	0,462	0,825	0,932	0,433	0,341	0,263	0,524	0,825	0,55	0,734	0,112	0,777
	10 mic	0,992	0,709	0,148	0,271	0,459	0,489	0,33	0,328	0,306	0,322	0,676	0,849	0,05	0,178
	11 ova	0,876	0,05	0,693	0,428	0,55	0,947	0,334	0,075	0,363	0,349	0,739	0,868	0,371	0,025
	12 poc	0,063	0,001	0,107	0,235	0,805	0,339	0,553	0,461	0,041	0,832	0,124	0,482	0,785	0,35
	13 poi	0,68	0,509	0,863	0,306	0,965	0,815	0,486	0,959	0,888	0,049	0,985	0,38	0,784	0,054
	14 psp	0,438	0,593	0,588	0,975	0,276	0,991	0,861	0,899	0,637	0,203	0,667	0,042	0,758	0,458
	15 tan	0,894	0,307	0,021	0,341	0,683	0,25	0,052	0,144	0,041	0,29	0,358	0,133	0,013	0,45
	16 thy	0,505	0,415	0,883	0,554	-	0,073	0,032	0,594	0,376	-	-	0,199	0,453	0,123
	17 tmi	0,241	0,637	0,694	0,323	0,39	0,115	0,388	0,106	0,319	0,027	0,614	0,906	0,554	0,79
	18 tre	0,067	0,121	0,426	0,229	0,767	0,391	0,505	0,336	0,356	0,881	0,332	0,626	0,575	0,253
	19 tri	0,25	0,072	0,002	0,286	0,303	0,161	0,002	0,217	0,101	0,736	0,213	0,496	0,477	0,499
2.5.	1 abk	0,284	0,752	0,057	0,344	0,855	0,469	0,056	0,208	0,02	0,154	0,611	0,596	0,421	0,922
	2 Auerstäbchen	0,814	0,554	0,702	0,173	0,438	0,386	0,529	0,767	1	0,848	0,648	0,153	0,766	0,466
	3 dyery1	1	0,196	0,106	0,97	0,206	0,823	0,216	0,153	0,835	0,602	0,721	0,535	0,473	0,558
	3 dygra1	0,805	0,249	0,052	0,448	0,503	0,968	0,731	0,015	0,342	0,156	0,11	0,16	0,789	0,863
	5 dymega1	0,135	0,168	0,826	0,638	0,238	0,09	0,447	0,488	0,1	0,469	0,026	0,663	0,85	0,347
	6 eam	0,532	0,151	0,056	0,638	0,169	0,452	0,734	0,239	0,333	0,864	0,251	0,074	0,194	0,064

Gruppe	Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
	7 ehy	0,501	0,836	0,224	0,724	0,711	0,787	0,204	0,104	0,01	0,01	0,96	0,088	0,827	0,738
	8 eik	0,194	0,734	0,566	0,278	0,27	0,814	0,368	0,941	0,008	0,273	0,325	0,979	0,482	0,933
	9 eka	0,818	0,508	0,824	0,636	0,369	0,197	0,032	0,27	0,546	0,628	0,006	0,443	0,749	0,72
	10 ekb	0,362	0,203	0,76	0,741	0,464	0,441	0,43	0,19	0,76	0,238	0,789	0,527	0,467	0,108
	11 ekf	0,157	0,346	0,024	0,756	0,095	0,437	0,008	0,772	0,127	0,496	0,445	0,438	0,578	0,863
	12 ers	0,407	0,77	0,02	0,124	0,044	0,115	0,247	0,823	0,031	0,476	0,281	0,976	0,749	0,226
	13 ezv	0,53	0,309	0,386	0,322	0,461	0,521	0,182	0,353	0,843	0,328	0,539	0,066	0,408	0,442
	14 ghy	0,275	0,524	0,388	0,139	0,038	0,229	0,654	0,323	0,025	0,254	0,476	0,141	0,295	0,3
	15 gli	0,049	0,135	0,555	0,649	0,262	0,146	0,6	0,473	0,002	0,072	0,82	0,878	0,486	0,638
	16 hgl	0,694	0,289	0,949	0,555	0,088	0,092	0,762	0,303	0,546	0,124	0,617	0,044	0,006	0,209
	17 hps	0,475	0,874	0,743	0,37	0,885	0,457	0,617	0,384	0,712	0,175	0,726	0,977	0,298	0,789
	18 hym	0,431	0,615	0,796	0,469	0,064	0,568	0,679	0,827	0,435	0,001	0,806	0,639	0,513	0,382
	19 kzz	0,163	0,677	0,055	0,026	0,572	0,774	0,319	0,395	0,141	0,316	0,624	0,132	0,075	0,233
	20 lymphos	0,652	0,566	0,604	0,858	0,408	0,9	0,151	0,462	0,137	0,417	0,125	0,765	0,467	0,425
	21 makroery	0,41	0,935	0,469	0,287	0,201	0,533	0,024	0,392	0,119	0,434	0,365	0,287	0,515	0,946
	22 mek	0,149	0,867	0,811	0,679	0,128	0,58	0,632	0,001	0,181	0,176	0,805	0,126	0,976	0,207
	23 met	0,338	0,624	0,452	0,175	0,531	0,702	0,093	0,632	0,001	0,61	0,285	0,666	0,584	0,445
	24 mmk	0,547	0,885	0,129	0,456	0,993	0,055	0,921	0,341	0,572	0,115	0,771	0,472	0,877	0,836
	25 mnm	0,973	0,65	0,08	0,702	0,719	0,305	0,225	0,904	0,086	0,634	0,648	0,991	0,337	0,387
	26 moe	0,772	0,12	0,847	0,02	0,127	0,813	0,253	0,017	0,017	0,749	-	0,369	0,945	0,234
	27 mono	0,14	0,0005	0,002	0,608	0,485	0,843	0,473	0,49	0,164	0,487	0,402	0,016	0,552	0,273
	28 multil2	0,421	0,801	0,238	0,856	0,063	0,945	0,679	0,475	0,882	0,941	0,744	0,04	0,695	0,578
	29 plasma	0,217	0,14	0,646	0,605	0,07	0,265	0,214	0,341	0,562	0,295	0,608	0,164	0,431	0,469
	30 pra	0,017	0,416	0,345	0,987	0,47	0,674	0,175	0,157	0,018	0,52	0,119	0,282	0,865	0,714
	31 pse	0,2	0,822	0,752	0,426	0,332	0,668	0,127	0,233	0,569	0,01	0,299	0,039	0,08	0,493
	32 rem	0,44	0,135	0,021	0,979	0,825	0,234	0,944	0,022	0,713	0,737	0,211	0,672	0,8	0,45
	33 ringside	0,372	0,171	0,344	0,691	0,753	0,514	0,633	0,702	0,0001	0,059	0,684	0,479	0,019	0,182
	34 zem	0,026	0,545	0,217	0,307	0,375	0,056	0,398	0,277	0,001	0,312	0,97	0,348	0,711	0,409

Gruppe	Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
2.6.	1 Zytopenieform	0,379	0,851	0,434	0,646	0,406	0,758	0,376	0,051	0,0001	0,006	0,995	0,153	0,359	0,694
2.7.	1 comoendo1	0,542	0,157	0,49	0,471	0,823	0,939	0,757	0,688	0,067	0,175	0,56	0,794	0,285	0,42
	2 comogastro1	0,326	0,318	0,55	0,059	0,086	0,817	0,02	0,79	0,831	0,653	0,583	0,911	0,093	0,336
	3 comoherz1	0,357	0,098	0,564	0,186	0,908	0,61	0,081	0,958	0,701	0,013	0,374	0,23	0,776	0,448
	4 comoimmuni1	0,84	0,981	0,791	0,805	0,801	0,656	0,096	0,604	0,354	0,482	0,889	0,232	0,7	0,318
	5 comoleber1	0,73	0,241	0,456	0,01	0,034	0,532	0,217	0,418	0,052	0,991	0,673	0,784	0,579	0,179
	6 comolunge1	0,928	0,064	0,976	0,672	0,941	0,635	0,915	0,305	0,973	0,507	0,446	0,092	0,532	0,786
	7 comoneuro1	0,724	0,011	0,735	0,589	0,57	0,945	0,419	0,562	0,519	0,952	0,003	0,168	0,179	0,139
	8 comopsych1	0,569	0,644	0,79	0,84	0,468	0,685	0,295	0,487	0,968	0,122	0,004	0,367	0,117	0,545
	9 comorenal1	0,063	0,282	0,372	0,219	0,061	0,73	0,617	0,824	0,035	0,07	0,643	0,489	0,424	0,333
	10 comorheuma1	0,438	0,441	0,764	0,016	0,211	0,598	0,881	0,522	0,833	0,906	0,706	0,946	0,389	0,344
	11 comotumor1	0,277	0,145	0,69	0,482	0,026	0,727	0,12	0,862	0,711	0,718	0,412	0,428	0,064	0,958
2.8.	1 AZ	0,469	0,591	0,58	0,047	0,117	0,825	0,316	0,521	0,03	0,746	0,791	0,875	0,212	0,987
	2 Anämiesympt. init.	0,905	0,235	0,849	0,868	0,032	0,217	0,978	0,779	0,689	0,602	0,36	0,283	0,459	0,391
	3 Fieber	0,004	0,147	0,655	0,768	0,039	0,514	0,354	0,658	0,648	0,89	0,831	0,199	0,267	0,061
	4 HDinitial	0,527	0,102	0,978	0,97	0,0001	0,881	0,307	0,99	0,372	0,007	0,0001	0,122	0,846	0,871
	5 Infekt-anfälligkeit	0,472	0,648	0,805	0,906	0,028	0,014	0,019	0,013	0,316	0,563	0,816	0,346	0,517	0,659
	6 Leber	0,076	0,015	0,78	0,431	0,212	0,307	0,305	0,027	0,208	0,115	0,9	0,318	0,415	0,847
	7 Lkschwellung Init.	0,926	0,643	0,747	0,33	0,075	0,006	0,993	0,829	0,455	0,954	0,763	0,84	0,23	0,219
	8 Milz	0,016	0,0001	0,077	0,509	0,006	0,702	0,001	0,014	0,073	0,037	0,947	0,586	0,217	0,766
	9 Thromb.emb.E.	0,01	0,085	0,974	0,124	0,0001	0,896	0,746	0,92	0,698	0,032	0,879	0,105	0,199	0,684
2.9.	1 alkyli	0,605	0,156	-	0,429	-	-	-	0,121	0,429	-	-	0,124	0,006	-
	2 grundkra	0,61	0,862	0,001	0,891	0,047	0,746	0,57	0,226	0,852	0,959	-	0,427	0,001	0,975
	3 noxe	0,365	0,337	0,66	0,464	0,886	0,664	0,085	0,285	0,653	0,695	-	0,595	0,018	0,976
2.10.	1 ARA	0,32	0,125	0,452	0,876	0,13	0,262	0,869	0,0001	0,481	0,771	0,599	0,007	0,041	0,028
	2 AZA	0,141	0,342	0,258	0,245	0,331	0,193	0,784	0,324	0,613	0,519	0,794	0,073	0,0005	0,372
	3 DECI	0,555	0,449	0,036	0,405	0,314	0,249	0,384	0,655	0,12	0,491	0,684	0,464	0,002	0,033
	4 DESF	0,148	0,365	0,632	0,394	0,596	0,765	0,552	0,518	0,155	0,764	0,804	0,616	0,962	0,774

Gruppe	Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
	5 Eltrombopag	0,523	0,718	0,816	0,714	0,716	0,746	0,65	-	0,538	0,69	0,796	0,661	0,737	0,767
	6 EPOT	0,81	0,509	0,807	0,717	0,142	0,377	0,012	0,371	0,0001	0,466	0,436	0,316	0,232	0,646
	7 EXJADE	0,411	0,186	0,275	0,48	0,83	0,917	0,06	0,917	0,0001	0,021	0,026	0,948	0,241	0,882
	8 GCSF	0,693	0,732	0,46	0,936	0,852	0,804	0,501	0,386	0,017	0,636	0,459	0,572	0,067	0,339
	9 HYDROXYU	0,11	0,005	0,012	0,655	0,539	0,448	0,005	0,5	0,996	0,187	0,412	0,474	0,384	0,259
	10 LENA	0,59	0,97	0,387	0,799	0,81	0,512	0,086	0,375	0,221	0,855	0,355	0,914	0,662	0,41
	11 Zytostatika	0,002	0,004	0,299	0,981	0,021	0,683	0,025	0,003	0,136	0,0005	0,454	0,057	0,078	0,951
	12 Induktion	0,432	0,586	0,022	0,692	0,621	0,835	0,221	0,656	0,451	0,008	-	0,102	-	-
	13 PBSCTgenau	0,008	0,743	0,233	0,837	0,141	0,461	0,021	0,002	0,005	0,449	0,833	0,024	0,1	0,159
	14 pbsct	0,003	0,613	0,086	0,726	0,073	0,199	0,001	0,003	0,001	0,205	0,774	0,005	0,501	0,042
	15 transfusED	0,594	0,078	0,189	0,744	0,104	0,544	0,648	0,456	0,692	0,251	0,351	0,274	0,218	0,927
	16 transfuVerlauf	0,321	0,026	0,045	0,34	0,351	0,638	0,237	0,503	0,803	0,363	0,615	0,153	0,807	0,489
2.11.	1 Chromosomen_Kategorien	0,008	0,0001	0,003	0,526	0,464	0,151	0,271	0,312	0,055	0,002	0,758	0,0001	0,0001	0,023
neu	AlterEDGruppe	0,407	0,614	0,131	0,132	0,041	0,119	0,278	0,031	0,39	0,1	0,224	0,0005	0,603	0,728
gruppiert	AlterEDGruppe2	0,176	0,41	0,944	0,259	0,78	0,133	0,238	0,019	0,142	0,04	0,865	0,0005	0,347	0,42
	AlterEDGruppe3	0,168	0,182	0,977	0,139	0,535	0,082	0,289	0,008	0,052	0,053	0,6	0,0001	0,377	0,19
	who2016 _gruppiert1	0,0005	0,0005	0,0001	0,003	0,708	0,228	0,454	0,013	0,0001	0,0001	0,167	0,0001	0,0001	0,634
	who2016 _gruppiert2	0,002	0,0001	0,0001	0,075	0,731	0,252	0,366	0,205	0,006	0,0001	0,272	0,0001	0,009	0,397
	OUTCOME _gruppiert	0,065	0,0001	0,426	0,188	0,778	0,285	0,908	0,42	0,021	0,332	0,887	0,665	0,004	0,809
	Leber _gruppiert	0,063	0,004	0,401	0,113	0,081	0,415	0,939	0,017	0,061	0,177	0,675	0,688	0,297	0,598
	Milz _gruppiert	0,349	0,0001	0,025	0,194	0,019	0,437	0,059	0,033	0,079	0,679	0,544	0,197	0,791	0,922
	Thromb.emb.E _gruppiert	0,006	0,035	0,636	0,808	0,0001	0,438	0,52	0,684	0,796	0,017	0,879	0,942	0,772	0,684
	Zytostatika-therapie _gruppiert	0,001	0,002	0,08	0,917	0,016	0,89	0,11	0,0005	0,033	0,078	0,27	0,26	0,204	0,873

3.4.3 Kontinuierliche Variablen

T-Test, kontinuierliche Variablen

Da von den eingeschlossenen Variablen nur sehr wenige auch kontinuierlich und normalverteilt sind, gibt es insgesamt nicht viele signifikante Unterschiede der Mittelwerte dieser Parameter. Auf den Hämoglobinwert soll exemplarisch genauer eingegangen werden. Dieser zeigte sich bei SRSF2 (→mit Mutation 11,2g/dl im Vergleich zu 9,9g/dl) TET2 (mit Mutation 10,7g/dl im Vergleich zu 10,0g/dl) und TP53 (mutiert 9,5g/dl im Vergleich zu 10,2g/dl) signifikant unterschiedlich.

Mann-Whitney-U Test, kontinuierlich und nicht normalverteilt

Der Anteil der Blasten im Knochenmark wies einen signifikanten Zusammenhang zu einer RUNX1, SF3B1, SRSF2 und TP53 Mutation auf.

Wenn keine Mutation vorhanden war, sind bei den Patienten im Durchschnitt ca. 5% Blasten im Knochenmark zu finden. Nur bei einer SF3B1 Mutation war der Anteil der Blasten signifikant niedriger mit 3,1%. Bei den drei anderen Genen sind mit Nachweis einer Mutation im Durchschnitt mehr Blasten vorhanden (ca. 6,4 % bei RUNX1, 6,5% bei SRSF2, 6,9% bei TP53)

Die Korrelation von Ringsideroblasten und einer SF3B1 Mutation wurde in Kapitel 3.4.1 bereits erwähnt und mit Tabelle 3.4-1 genauer erläutert. Auch der Vergleich von SF3B1 Mutation mit der absoluten Zahl der Ringsideroblasten mittels Mann-Whitney-U Test unterstreicht diese Ergebnisse ($p < 0,0001$).

Laborwerte wie GOT, GPT, Ferritin, VitaminB12, EPO Spiegel initial, FolatPI wiesen kaum signifikante Ergebnisse auf. LDH zeigt einen signifikanten Unterschied bei Mutation der Gene ASXL1, JAK2, SRSF2 und U2AF1.

Es ließen sich vor allem für folgende Gene ASXL1, CBL, JAK2, SF3B1, SRSF2, TET2, TP53 bei Nachweis einer Mutation Veränderungen in der Zellbildung und -verteilung festhalten.

Es zeigten sich bei Mutation der Gene RUNX1, JAK2, SF3B1, SRSF2 und TP53 verschiedenartige Thrombozytenwerte im peripheren Blut der Patienten.

3.4.4 Korrelation von kontinuierlichen Variablen und Genen

Tabelle 3.4-3: t-Test, kontinuierliche Variablen

Legende:

grün hinterlegt	t-Test auf Mittelwertgleichheit ist signifikant (bei Varianzhomogenität!)
" - "	Variable ist konstant
0,0001	bedeutet, dass der Wert der Zelle $\leq 0,0001$ ist
0,0005	bedeutet, dass der Wert der Zelle $\leq 0,0005$ ist

Gruppe	Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
1.1.	1 Alter bei Erstdiagnose	0,395	0,159	0,458	0,422	0,075	0,016	0,112	0,004	0,029	0,012	0,166	0,0001	0,905	0,192
1.6.	4 crea	0,445	0,370	0,882	0,213	0,131	0,439	0,974	0,927	0,142	0,932	0,518	0,440	0,017	0,432
	7 ery	0,744	0,852	0,434	0,852	0,272	0,557	0,912	0,920	0,002	0,0005	0,616	0,003	0,463	0,813
	12 Hb	0,433	0,283	0,181	0,661	0,324	0,110	0,359	0,702	0,009	0,0005	0,838	0,002	0,019	0,274
	13 hkt	0,301	0,789	0,575	0,982	0,077	0,061	0,831	0,194	0,225	0,0001	0,872	0,004	0,320	0,159
	22 MPV	0,166	0,412	0,240	0,188	0,515	0,337	-	-	0,340	0,933	0,898	0,795	0,351	0,736
	24 NEUTRPRO	0,639	0,653	0,728	0,041	0,496	0,151	0,008	0,328	0,041	0,115	0,490	0,734	0,106	0,953
	29 segmentk	0,313	0,864	0,599	0,054	0,988	0,043	0,164	0,204	0,124	0,166	0,415	0,623	0,129	0,285

Tabelle 3.4-4: Mann-Whitney-U Test, kontinuierliche Variablen

Legende:

grün hinterlegt	signifikante Ergebnisse
" - "	Variable ist konstant
0,0001	bedeutet, dass der Wert der Zelle $\leq 0,0001$ ist
0,0005	bedeutet, dass der Wert der Zelle $\leq 0,0005$ ist

Gruppe	Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
1.5.	1 eba	0,211	0,277	0,823	0,857	0,272	0,889	0,992	0,741	0,057	0,060	0,216	0,259	0,896	0,789
	2 Blasten im KM	0,034	0,132	0,060	0,095	0,676	0,740	0,344	0,149	0,0005	0,045	0,885	0,738	0,008	0,444
	3 moz	0,961	0,224	0,836	0,424	0,519	0,762	0,607	0,845	0,368	0,022	-	0,233	0,668	0,074
	4 ris	0,253	0,055	0,355	0,823	0,519	0,205	0,181	0,706	0,0001	0,080	0,809	0,857	0,201	0,154
1.6.	1 ANC	0,225	0,322	0,105	0,034	0,897	0,465	0,012	0,489	0,014	0,191	0,284	0,042	0,011	0,543
	2 basophil	0,320	0,761	0,053	0,761	0,593	0,461	0,431	0,420	0,895	0,737	0,157	0,044	0,070	0,926
	3 blaperi	0,185	0,743	0,322	0,334	0,685	0,219	0,058	0,164	0,117	0,190	0,341	0,898	0,192	0,474
	5 eosinoph	0,981	0,704	0,286	0,358	0,985	0,470	0,913	0,868	0,025	0,229	0,895	0,003	0,318	0,350
	6 EPOSpiegel_initial	0,421	0,168	0,481	0,220	0,021	0,951	0,666	0,849	0,556	0,417	0,433	0,127	0,146	0,833
	8 ferritin	0,239	0,871	0,747	0,733	0,563	0,203	0,031	0,784	0,001	0,395	0,512	0,752	0,657	0,371
	9 FolatPI	0,031	0,836	0,513	0,797	0,940	0,630	0,306	0,463	0,555	0,172	0,229	0,678	0,067	0,687
	10 GOT	0,660	0,276	0,550	0,633	0,288	0,366	0,441	0,267	0,815	0,023	0,563	0,522	0,026	0,558
	11 GPT	0,660	0,501	0,786	0,638	0,123	0,722	0,780	0,015	0,580	0,319	0,838	0,260	0,140	0,198
	14 ldh	0,388	0,004	0,466	0,203	0,555	0,404	0,001	0,491	0,109	0,011	0,886	0,309	0,480	0,004
	15 Leukozyten	0,107	0,049	0,044	0,081	0,899	0,819	0,016	0,543	0,001	0,047	0,268	0,009	0,005	0,969
	16 lymphabs	0,210	0,142	0,225	0,388	0,657	0,250	0,998	0,048	0,429	0,030	0,942	0,848	0,618	0,187
	17 lymphocy	0,845	0,124	0,431	0,983	0,367	0,118	0,184	0,270	0,671	0,383	0,203	0,089	0,657	0,727
	18 MCV	0,768	0,406	0,072	0,630	0,942	0,131	0,310	0,117	0,0001	0,002	0,535	0,057	0,001	0,199
	19 metamyel	0,413	0,340	0,035	0,417	0,630	0,318	0,432	0,202	0,661	0,110	0,937	0,565	0,161	0,737
	20 monoabs	0,322	0,0005	0,046	0,152	0,161	0,458	0,267	0,294	0,030	0,0005	0,051	0,0001	0,009	0,910

Gruppe	Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
	21 monocyte	0,206	0,002	0,070	0,195	0,029	0,171	0,009	0,268	0,628	0,0005	0,045	0,0001	0,254	0,609
	23 myelocyt	0,431	0,108	0,891	0,155	0,614	0,124	0,137	0,107	0,917	0,418	0,692	0,938	0,325	0,793
	25 promyelo	0,868	0,424	0,577	0,628	0,240	0,913	0,395	0,758	0,603	0,0005	0,054	0,908	0,627	0,534
	26 retiabs	0,494	0,192	0,051	0,301	0,071	0,491	0,553	0,117	0,020	0,266	1,000	0,540	0,076	0,049
	27 retipro	0,486	0,256	0,668	0,223	0,776	0,007	0,157	0,478	0,435	0,004	0,435	0,730	0,324	0,824
	28 stabkern	0,175	0,149	0,004	0,354	0,696	0,318	0,061	0,765	0,014	0,529	0,760	0,844	0,527	0,118
	30 Thrombozyten	0,004	0,424	0,592	0,838	0,104	0,440	0,008	0,375	0,0001	0,006	0,655	0,567	0,015	0,871
	31 Vitb12	0,276	0,0005	0,169	0,641	0,242	0,237	0,148	0,227	0,865	0,945	0,564	0,368	0,555	0,181
	ris ohne null	0,456	0,466	0,209	0,941	0,029	0,834	0,005	0,793	0,020	0,489	0,847	0,392	0,882	0,721

3.5 Korrelation der Gene untereinander

Wie bereits in Kapitel 3.1 aufgearbeitet, besteht eine große Spannweite in der Anzahl der Mutationen, die bei einem einzelnen Patienten vorliegen können. In diesem Patientenkollektiv mit 878 Patienten lag diese zwischen keiner bis hin zu sechs Mutationen. Es wurden nicht nur Korrelationen zwischen den einzelnen Genen und klinischen Parametern ermittelt, sondern auch zwischen den Genen untereinander. Dies wurde mittels Kreuztabellen und anschließend mit dem Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest errechnet, um die mögliche Koexistenz von bestimmten Mutationskombinationen aufzudecken.

Alle signifikanten Werte wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Die einen, die gezeigt haben, dass zwei Gene überzufällig häufig gemeinsam mutiert waren (dunkleres grün) und die anderen, die zwar auch signifikant sind, aber bei denen das Gen eher als alleinige Mutation vorliegt (hellgrün).

Das Gen ASXL1 war häufig gemeinsam mit RUNX1, EZH2, MLL, SRSF2 und U2AF2 mutiert. Ähnliche Zusammenhänge zeigten sich bei RUNX1 welches überzufällig häufig mit ASXL1, ETV6, EZH2, SRSF2 und TET2 mutiert ist. Auch die Gene JAK2 und SRSF2 zeigten ein häufiges Vorliegen einer weiteren Mutation. Wie zum Beispiel JAK2 häufig mit SF3B1, SRSF2, TET2 oder U2AF1 als Co-Mutation vorlag. Bei SRSF2 galt dies zu den oben genannten Kombinationen zusätzlich für CBL, ETV6, STAG2 und TET2.

Im Gegensatz dazu ist hervorzuheben, dass das Gen SF3B1 in der Mehrheit der Korrelationen bevorzugt als einzige Mutation vorlag. Dies gilt für die Kombination mit den Genen RUNX1, EZH2, SRSF2, U2AF1.

TET2 und TP53 waren häufig gemeinsam mutiert.

Tabelle 3.5-1: Gen-Gen Korrelationen p-Werte der Kreuztabellen

Legende:

hellgrün	signifikant, Genkombination selten
dunkelgrün	signifikant, Genkombination häufig
" - "	Variable ist konstant

Variablen	RUNX1	ASXL1	CBL	DNMT3A	ETV6	EZH2	JAK2	MLL	SF3B1	SRSF2	STAG2	TET2	TP53	U2AF1
RUNX1														
ASXL1	0,0001													
CBL	0,435	0,16												
DNMT3A	0,239	0,145	0,659											
ETV6	0,019	0,321	0,142	0,211										
EZH2	0,0001	0,0005	0,979	0,278	0,181									
JAK2	0,456	0,087	0,493	0,411	0,577	0,369								
MLL	0,436	0,002	0,728	0,34	-	0,389	0,424							
SF3B1	0,043	0,437	0,243	0,029	0,085	0,017	0,0001	0,665						
SRSF2	0,0001	0,02	0,026	0,024	0,001	0,129	0,037	0,83	0,004					
STAG2	0,69	0,218	0,448	0,927	0,449	0,364	0,815	-	0,317	0,009				
TET2	0,003	0,268	0,897	0,547	0,862	0,087	0,003	0,337	0,02	0,0001	0,89			
TP53	0,141	0,022	0,215	0,824	0,159	0,284	0,997	0,359	0,364	0,056	0,94	0,004		
U2AF1	0,678	0,0005	0,079	0,557	0,718	0,785	0,001	-	0,043	0,151	0,425	0,154	0,424	

3.6 Multivariate Analyse

Um den Effekt der bisher einzeln untersuchten Variablen auf die Überlebenszeit zu untersuchen, wurde das Cox-Modell (proportionales Hazard-Modell) eingesetzt. Es konnten so Variablen definiert werden, die einen unabhängigen prognostischen Einfluss auf die Überlebenszeit besitzen.

In die Regressionsanalyse wurden die prognostisch relevanten Mutationen (RUNX1, ASXL1, EZH2, TP53), die Risikoeinschätzung nach IPSS-R, das Alter, die Einteilung der Karyotypen und die Anzahl der Mutationen miteinbezogen.

Bei einer SF3B1 Mutation gibt es zwar auch einen signifikanten Zusammenhang zum Überleben der Patienten, dieser ist aber entgegen allen anderen Genen von protektivem Wert. Deshalb wurde die Variable nicht in die Multivariate Analyse eingeschlossen.

EZH2, ASXL1, TP53 und die Einteilung der Karyotypen zeigten sich als unabhängige Prognoseparameter. Eine ASXL1 Mutation hatte mit Wald=22,35 die größte prognostische Relevanz. Die dazugehörigen Signifikanzwerte werden in Tabelle 3.6.1 dargestellt.

Tabelle 3.6-1: Cox Regression – proportionales Hazard Modell

0,0001 bedeutet, dass der Wert der Zelle < 0,0001

	Wald	df	Signifikanz	Exp(B)	Unteres CI für Exp(B)	Oberes CI für Exp(B)
Schritt 1 ASXL1	19,140	1	0,0001	0,429	0,294	0,627
Schritt 2 ASXL1	22,866	1	0,0001	0,391	0,266	0,574
TP53	16,774	1	0,0001	0,324	0,189	0,555
Schritt 3 ASXL1	20,045	1	0,0001	0,413	0,281	0,609
EZH2	15,176	1	0,0001	0,383	0,237	0,621
TP53	16,331	1	0,0001	0,330	0,193	0,565
Schritt 4 ASXL1	22,349	1	0,0001	0,390	0,264	0,576
EZH2	18,105	1	0,0001	0,343	0,209	0,561
TP53	8,558	1	0,0034	0,424	0,239	0,753
Chromosomen IPSS-R Kategorien	10,960	4	0,0270			
Chromosomen IPSS-R Kategorien (1)	3,129	1	0,0769	0,327	0,095	1,128
Chromosomen IPSS-R Kategorien (2)	10,053	1	0,0015	0,383	0,212	0,693
Chromosomen IPSS-R Kategorien (3)	6,310	1	0,0120	0,390	0,187	0,813
Chromosomen IPSS-R Kategorien (4)	2,527	1	0,1119	0,536	0,248	1,156

4 Diskussion

Durch Untersuchungen von Genotyp-Phänotyp-Korrelationen soll in dieser Arbeit anhand von 878 Patienten aus dem Düsseldorfer MDS-Register der Einfluss von somatischen Mutationen auf klinische Parameter betrachtet werden. Außerdem wurden Überlebenszeitrisiko und Risiko der Progression in eine AML berechnet.

Es lassen sich folgende Kernaussagen treffen:

- 1) Für die Gene RUNX1, ASXL1, EZH2, SF3B1, TP53 ließ sich ein signifikanter Unterschied in der Überlebenszeit je nach Mutationsstatus nachweisen.
- 2) Der Zeitraum bis zum AML Übergang war bei RUNX1, DNMT3A, SF3B1 und TP53 Mutation signifikant unterschiedlich.
- 3) Je mehr Mutationen pro Patient vorlagen, desto schlechter war das mediane Überleben, und desto häufiger ging die Erkrankung in eine AML über.
- 4) ASXL1, EZH2 und TP53 zeigten ein signifikant kürzeres Überleben unabhängig vom Karyotyp des Patienten.
- 5) Bei Vorliegen einer RUNX1 Mutation wiesen die Patienten vor allem ein normo- bis hypozelluläres Knochenmark auf, wohingegen bei SF3B1 Mutation häufiger ein normo- bis hyperzelluläres Knochenmark zu finden war.
- 6) Der Anteil der Blasten im Knochenmark zeigte einen signifikanten Zusammenhang zu einer RUNX1, SF3B1, SRSF2 und TP53 Mutation. Nur bei Vorliegen einer SF3B1 Mutation war der Anteil der Blasten niedriger als beim Wildtyp.

Ungefähr vor zehn Jahren rückte der Blick bei Patienten mit Myelodysplastischen Syndromen zunehmend auf die Identifikation von veränderten Genen. Dies geschah wesentlich durch die Arbeit von Bejar et al. 2011, in der zum ersten Mal in großem Rahmen die Häufigkeiten verschiedener Genmutationen bei MDS beschrieben wurden. [4] Weitere wichtige Arbeiten, die beispielsweise auch die somatischen Mutationen des Splicing Apparates betrachten, oder sich der Verteilung von einzelnen Mutationen innerhalb der WHO Subtypen gewidmet haben, sind im ähnlichen Zeitraum veröffentlicht worden. [5, 37, 40]

Die am häufigsten mutierten Gene bei MDS Patienten sind in der Literatur wie folgt beschrieben und hier vereinfacht zusammengefasst:

- 15-30% für SF3B1 [40, 42]
- 15-25% für TET2 [45]
- 10-20% für ASXL1 [47]
- ca. 10% für RUNX1 und STAG2 [5]
- < 10% für DNMT3A [46], TP53 [4], SRSF2, U2AF1 [43] für EZH2 [48] JAK2 [62]
- <5% CBL, ETV6, ZRSR2, IDH1/2, BCOR, NRAS

Die Häufigkeiten der selten mutierten Gene (<5%) decken sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Mutationen der Gene TP53, SF3B1, JAK2, U2AF1 und STAG2 kamen in dieser Kohorte mit 11,3%, 29,9%, 11,5%, 8,7%, 5,2% auch im Rahmen der bekannten Häufigkeiten vor. Lediglich die Gene TET2, DNMT3A, ASXL1, EZH2, RUNX1 und SRSF2 waren bei den Patienten aus dem Düsseldorfer MDS-Register deutlich häufiger mutiert, als dass es die aktuelle Literatur beschreibt. Ein Grund dafür könnte sein, dass in der Uniklinik insgesamt häufiger auf eine Genmutation untersucht wird. Außerdem sind es gerade die Patienten, die sich mit einem schlechten Verlauf und allgemein schlechterem klinischen Zustand in einem Zentrum präsentieren. Daher ist es nicht verwunderlich, dass die prognostisch schlechten Gene im Düsseldorfer MDS-Register häufiger eine Mutation aufwiesen.

Durch den relativ kurzen Beobachtungszeitraum bei dieser oft mild verlaufenden Erkrankung waren in dieser Kohorte verhältnismäßig wenig Patienten zum Untersuchungszeitpunkt verstorben (230 von 878 Patienten, 26,2%). Daher ist die Aussagekraft gegebenenfalls leicht zugunsten der noch Lebenden verzerrt. Myelodysplastische Syndrome waren in dieser Arbeit mit 60,8% etwas häufiger bei Männern zu finden, wie dies auch in der Literatur beschrieben wurde. [5, 37] Die Kohorte hatte ein geringeres Durchschnittsalter bei Erstdiagnose (66,2 Jahre), da vor allem diejenigen eingeschlossen wurden, bei denen eine Genanalyse durchgeführt wurde und dadurch möglicherweise ältere Patienten ausgeschlossen wurden. Dies erklärt auch gleichzeitig, aus welchem Grund zum Zeitpunkt der letzten Untersuchung in der Kohorte wenig Patienten verstorben waren. Die Verteilung der aktuellen WHO Klassifikation von 2016 in dieser Arbeit deckt sich mit der Veröffentlichung von Strupp et al. [63]

Die Anzahl der untersuchten Metaphasen bei der Chromosomenanalyse soll laut aktueller Literatur bei ca. 20-25 liegen. Darüber hinaus untersuchte Metaphasen bringen in den allermeisten Fällen keinen zusätzlichen Informationszugewinn. [55] In dieser Arbeit wurden alle Patienten mit einem Karyotypen und mehr als neun untersuchten Metaphasen in die Rechnungen mit eingebunden. Durch de Swart et al. wurde beschrieben, dass bei Patienten mit weniger analysierten Zellen und normalem Karyotypen die Aussagekraft im klinischen Alltag vertretbar ist. [64]

Prognose der Patienten

Die Prognoseeinschätzung ist bei dem heterogenen Krankheitsverlauf eine der wichtigsten Säulen, um die Therapie für Patienten entsprechend planen zu können. Bereits 1997 wurde es durch den von Greenberg et al. vorgestellten Prognosescore IPSS mittels klinischer Kriterien möglich, Patienten in verschiedene Risikogruppen oder andere Grenzwerte bekannter Parameter zu finden, um die Prognose von Patienten noch genauer vorhersagen zu können. Aktuell ist der Prognosescore von Greenberg et al. aus dem Jahr 2012 international anerkannt und im klinischen Alltag tief verwurzelt. [22] Die Verteilung der IPSS-R Kategorien in der Literatur entspricht auch der Verteilung dieser untersuchten Daten. Die Patienten zeigten je nach Kategorie des IPSS-R signifikant andere Überlebenszeiten und andere Häufigkeiten für die Transformation in eine AML. Auch wenn schon einiges über die Risikoeinschätzung bei Nachweis von einzelnen Mutationen bekannt ist, fließt diese Information aktuell noch nicht in den Risikoscore mit ein.

Besonders hervorzuheben ist die äußerst gute Prognose, die Patienten mit SF3B1 Mutation aufweisen. Dies zeigt sich sowohl in dieser Arbeit, in den Überlebenskurven und dem Risiko für eine AML, als auch in aktuellen Daten. [52] Außerdem wurden weniger Zytopenien bei Patienten mit SF3B1 Mutation nachgewiesen. [5, 42]

Im Gegensatz dazu waren TP53, RUNX1, ASXL1, EZH2, ETV6, SRSF2, DNMT3A Mutationen mit einem kürzeren Gesamtüberleben und verringerter Zeit bis zur Progression in eine AML assoziiert. [4, 41, 46, 47, 65, 66]

Für die Gene TP53, RUNX1, ASXL1 und EZH2 konnte in dieser Arbeit ebenfalls der negative Einfluss auf das Gesamtüberleben gezeigt werden. Allerdings bestand für ETV6, SRSF2 und DNMT3A in dieser Patientenkohorte kein signifikanter Unterschied. Für Patienten mit TET2 Mutation konnte in dieser Kohorte kein Unterschied im Überleben festgestellt werden, wie auch in der aktuellen Studie von Coltro et al.

gezeigt wurde. [67] Als zusätzlich prognostisch wichtiger Faktor gilt das Alter der Patienten bei Erstdiagnose. In Bezug auf das Überleben wurden die entsprechenden Zeiten in Tabelle 3.2.1 dargestellt. In der Gruppe mit Personen unter 60 Jahren scheint es, als wenn die Patienten ohne Transplantation länger leben würden. Der Grund dafür ist, dass vor allem jüngere Hochrisiko-Patienten transplantiert werden, die sonst (ohne Transplantation) noch kürzer leben würden.

Die Wahrscheinlichkeit für einen Übergang in eine AML und die Zeitspanne bis zu diesem Ereignis stellte sich für RUNX1, DNMT3A, SF3B1 und TP53 in dieser Arbeit signifikant unterschiedlich dar. Dies deckt sich mit aktueller Literatur und Übersichtsarbeiten der letzten Jahre. [37, 68-70] Auch hier ist eine SF3B1 Mutation die einzig prognostisch günstige Aberration.

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass je mehr Mutationen pro Patient vorlagen, desto schlechter das mediane Überleben war, und umso häufiger die Erkrankung in eine AML überging. Es ist bekannt, dass weniger Mutationen insgesamt für ein längeres Überleben der Patienten sprechen. [5] Deshalb wurde mit der Variable „Mutationskategorie“ die Anzahl der Mutationen mit dem Vorhandensein von einer SF3B1 Mutation kombiniert. Es sollte der gemeinsame Einfluss auf das Überleben von der prognostisch günstigen Mutation SF3B1 mit der prognostisch schlechten Variable „Anzahl der Mutationen“ getestet werden. Ein mögliches Ergebnis hätte sein können, dass Patienten mit mehreren Mutationen und Nachweis von SF3B1 Veränderungen dennoch eine bessere Prognose haben, als die Patienten mit der gleichen Anzahl an Mutationen ohne SF3B1 Aberration. Diese Untergruppe der Kohorte war zu klein, als dass signifikante Ergebnisse ausgearbeitet werden konnten. Ganz aktuell hat Bersanelli et al. auch einen Bezug zwischen einer Co-Mutation im SF3B1 Gen und besserem Outcome hergestellt. [65]

In verschiedenen Studien wurde bereits mehrfach versucht, nicht nur den einfachen Effekt von somatischen Mutationen, sondern auch mit anderen prognostisch bedeutsamen Parametern den gemeinsamen Einfluss auf die Überlebenszeit zu untersuchen. So konnte von Haferlach 2014 und von Bejar 2011 jeweils ein Modell vorgestellt werden, in welches sowohl Alter, Geschlecht, die IPSS-R Kategorien, als auch die häufigsten mutierten Gene mit eingebunden waren. Zusätzlich zu den klinischen Parametern hatten in diesen Studien die Information über mögliche Mutationen der Gene TP53, EZH2, ETV6, RUNX1, ASXL1 einen signifikanten und unabhängigen Nutzen für die Abschätzung der Prognose der Patienten ergeben. [4, 5]

Außerdem konnte gezeigt werden, dass Patienten mit Mutationen im RUNX1, ASXL1, EZH2 und TP53-Gen unabhängig vom IPSS (alles Niedrigrisiko-Patienten) mit einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert waren. Dies ermöglicht auch bei Niedrigrisiko-Patienten über einen früheren Therapiestart und andere Therapiemöglichkeiten zu diskutieren, von denen sie profitieren könnten. [71] Im Jahr 2016 hat die Arbeitsgruppe von Nazha et al. diese Erkenntnisse bestätigt und konnte zeigen, dass Alter, IPSS-R, EZH2, SF3B1 und TP53 unabhängige Prognosefaktoren sind. [72]

In dieser Arbeit wurden die bis dato univariat untersuchten Variablen nun mittels Cox-Regression auf ihren gemeinsamen Einfluss auf die Überlebenszeit überprüft. In diese Rechnungen wurden die prognostisch relevanten Mutationen (RUNX1, ASXL1, EZH2, TP53), der IPSS-R, das Alter, die Einteilung der Karyotypen und die Anzahl der Mutationen mit einbezogen. Letztendlich konnte gezeigt werden, dass die folgenden Gene ASXL1, EZH2 und TP53 und der Karyotyp des Patienten in der multivariaten Analyse ein signifikantes Ergebnis ergaben. Für den klinischen Alltag bedeutet das, dass, unabhängig vom Chromosomensatz, der Nachweis von einer dieser drei Mutationen für die Prognoseeinschätzung und damit Therapieplanung einen Mehrwert an Informationen darstellt. Für eine TP53 Mutation konnte dies bereits in Bezug auf einen schlechten Karyotypen von Haase et al. dargelegt werden. [24] Auf der anderen Seite konnten diese drei Gene gegenüber dem IPSS-R in dieser Arbeit kein signifikantes Ergebnis erzielen. Der Einfluss der somatischen Mutationen ist bereits über die klinischen Variablen wie Hämoglobin, Blasten im KM, Thrombozyten und absolute Zahl neutrophiler Granulozyten im IPSS-R festgehalten worden. [4]

Auch Bejar et al. hatte Schwierigkeiten, Mutationsdaten in die Prognoseabschätzung zu implementieren und kam zu dem Schluss, dass weiterhin viele Patienten bei Erstdiagnose auf Mutationen analysiert werden sollten, um in Zukunft bessere Daten bezüglich des Krankheitsverlaufs auswerten zu können. [73] Ein routinemäßiges Screening auf die wichtigsten Mutationen wird zum Beispiel auch von Thol und Platzbecker et al. empfohlen und könnte möglicherweise in Zukunft in einen überarbeiteten Risikoscore mit einfließen. [4, 5, 14]

Geno-Phänotyp-Korrelationen

Anhand der Untersuchungen der 878 Patienten aus dem Düsseldorfer MDS-Register soll im Folgenden die Ausprägung klinischer Merkmale bei Vorliegen einer Mutation diskutiert werden. So finden sich diese Mutationen in den entsprechenden Subtypen der WHO-Klassifikation überproportional häufiger wieder. TET und SRSF2 Mutationen kamen jeweils vor allem bei dem Subtyp CMML und myelodysplastisch/myeloproliferativen Erkrankungen vor. [37, 40, 53, 54, 74] Bei TET2 und SRSF2 Mutation konnte außerdem eine Korrelation zu multilineären Dysplasien und Subtypen mit einem Blastenexzess hergestellt werden. [43, 75, 76] Auch in dieser Arbeit konnte eine Häufung der SRSF2 und TET2 Mutation bei CMML Subtyp festgehalten werden. Außerdem kam eine SF3B1 Mutation häufiger bei MDS RS SLD, MDS RS MLD und MDS/MPN RS T vor. Dies wurde auch bereits in der Literatur beschrieben, und konnte somit bestätigt werden. [40, 53] Yoshida et al. hat zudem davon berichtet, dass eine SF3B1 Mutation seltener bei einer de-novo AML vorliegt. Diese Tendenz war in dieser Arbeit ebenfalls zu sehen, jedoch sind die Unterschiede nicht signifikant. Da die Analyse bestimmter Gene bereits in die Diagnosestellung miteinfließt, erklärt dies entsprechende Zusammenhänge von SF3B1 bei den Subgruppen mit Ringsideroblasten und TET2 bei CMML.

Circa 60% der Patienten mit RARS-T bzw. myelodysplastisch/myeloproliferativen Subtypen wiesen eine Mutation im JAK2 Gen auf. [50, 53, 62, 74] Durch die neue WHO Klassifikation werden die Subtypen heutzutage anderweitig benannt. Die entsprechenden Patienten würden durch die neue Klassifikation vermutlich unter MDS/MPN RS T einsortiert werden. Auch mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine JAK2 Mutation vor allem bei den Subtypen mit myeloproliferativen Eigenschaften (MDS/MPN RS T und MDS/MPN U) vorkam. Malcovati et al. hat hinzufügend die Vermutung aufgestellt, dass diese Overlap-Erkrankungen bei vorbestehendem MDS unter anderem durch den Zugewinn von einer JAK2 Mutation die myeloproliferative Eigenschaften ausbilden. [77]

Genau wie die Mutationen TET2 und SRSF2 wiesen auch eine DNMT3A und STAG2 Mutation einen unabhängigen Zusammenhang zu multilineären Dysplasien auf. [76] Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass eine DNMT3A Mutation häufiger bei den Subtypen EB1, EB2 und AML vorlag. Dies war jedoch nicht signifikant. Die Tendenz für einen AML-ähnlichen Phänotyp wird den Genmutationen RUNX1, STAG2 und

IDH1/2 vorausgesagt. Außerdem liege bei einer RUNX1 und TP53 Mutation häufiger ein Blastenexzess vor. [4, 74]

In Rahmen dieser Untersuchungen konnte eine Häufung von RUNX1 und TP53 Mutation bei den Subtypen mit Blastenexzess festgehalten werden. RUNX1 kam zudem signifikant häufiger bei der CMML, und TP53 bei AML(RAEB-T) vor. Dass eine ASXL1 und CBL Mutation mit CMML in Korrelation stehen, geben sowohl die Daten dieser Arbeit als auch die aktuelle Literatur wieder. [51, 53]

Der Hämoglobinwert zeigte bei SRSF2 (mutiert: 11,2g/dl, Wildtyp: 9,9g/dl) TET2 (mutiert: 10,7g/dl, Wildtyp: 10,0g/dl) und TP53 (mutiert 9,5g/dl, Wildtyp:10,2g/dl) einen signifikanten Unterschied je nach Mutationsstatus. Gerade in Bezugnahme der Einteilung des IPSS-R wird deutlich, dass bei SRSF2, und TP53 Mutation zudem ein Sprung in der IPSS-R-Hb-Einteilung vorlag. Die Grenze des bekannten Prognose-Scores bestätigt demnach die Auftrennung von Risikogruppen. So besteht bei Patienten mit SF3B1 Mutation ein niedrigeres Hämoglobin, mit TET2 Mutation häufig ein höheres Hämoglobin und bei TP53 konnte bis jetzt kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. [24, 37, 44, 67]

Die Anzahl der Blasten im Knochenmark zeigte einen signifikanten Zusammenhang zu einer Mutation der Gene RUNX1, SF3B1, SRSF2 und TP53. Die Ergebnisse dieser Arbeit sind in Klammern aufgeführt. Dabei gilt SF3B1 als einziges als prognostisch günstig, weil bei den Patienten mit Mutation weniger Blasten vorliegen (mutiert: 3,1%, Wildtyp: 5,3%). [42, 44] Bei den Genen RUNX1 (mutiert: 6,4%, Wildtyp: 5,5%) SRSF2 (mutiert: 6,5%, Wildtyp: 5,1%) und TP53 (mutiert: 6,9%, Wildtyp: 5,2%) lassen sich bei Mutation im Knochenmark mehr Blasten nachweisen. [4, 24] Bemerkenswert hierbei ist, dass bei eine SF3B1 Mutation der Anteil von im Durchschnitt 5,3% Blasten bei unter 5% lag, und dies in der Diagnosestellung mit der WHO Klassifikation von 2016 auch die Grenze für bestimmte Subtypen darstellt. Es könnte grundlegend dafür sein, weshalb eine SF3B1 Mutation seltener in den Subtypen mit vermehrten Blasten vorkommt (EB1, EB2 und AML/RAEB T). Zusätzlich zu den oben beschriebenen Genen mit unterschiedlichem Blastenanteil, wurde in der Literatur eine höhere Blastenzahl bei DNMT3A Mutation und eine niedrige bei TET2 Mutation beschrieben. [46, 67]

Es ist bekannt, dass eine Veränderung der Gene JAK2, SF3B1 und U2AF1 zu einer abweichenden Zahl an Leukozyten und neutrophile Granulozyten führt. [44, 50, 75, 78] Für eine JAK2 und SF3B1 Mutation konnte in dieser Arbeit der bisherige Wissenstand

bestätigt werden und zusätzlich für DNMT3A, TET2 und TP53 ein Unterschied herausgearbeitet werden. Haase et al. hatte zuvor keine Differenz bei TP53 Mutation gesehen. [24]

Die zuvor vorgestellten Untersuchungen zeigten bei Mutation der Gene RUNX1, JAK2, SF3B1, SRSF2 und TP53 verschiedenartige Thrombozytenwerte im peripheren Blut der Patienten. Frühere Arbeiten konnten bereits Zusammenhänge zwischen einer somatischen Mutation und der quantitativen Befunde von Thrombozyten feststellen. Bei JAK2 und SF3B1 Mutation haben die Patienten oft eine Thrombozytose. [44, 49, 50, 75, 76, 79] Bei TET2, TP53, U2AF1 RUNX1, und NRAS Mutation liegt häufiger eine Thrombozytopenie vor. [4, 24, 67, 78]

Auch in dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass bei Vorliegen einer SF3B1 Mutation die Patienten häufiger Ringsideroblasten im Blut vorweisen. [37, 40-42, 44, 52] Dass vermehrt Defekte der Erythropoese bei SF3B1 Mutation bestehen, wurde durch die Arbeit von Damm et al. hervorgehoben. [44] Außerdem stellt sich bei positivem Nachweis einer Mutation im SF3B1 Gen eine höhere Menge von Megakaryozyten dar. [79] Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass bei Vorliegen einer SF3B1 Mutation die Patienten häufiger ein normo- bis hyperzelluläres Knochenmark aufwiesen, wohingegen bei einer RUNX1 Mutation vor allem ein normo- bis hypozelluläres Knochenmark zu finden war. Zusätzlich erwies sich ein Zusammenhang zwischen verändertem ASXL1 Gen und einer Monozytose.

Nur bei Patienten mit Linksverschiebung der Granulopoese wurde in dieser Arbeit eine CBL Mutation gefunden. Einschränkend muss jedoch hinzugefügt werden, dass für diese Korrelation lediglich von 113 Patienten Informationen vorlagen. Da CBL jedoch insgesamt nicht sehr häufig mutiert ist und daher seltener Analysen gemacht werden, besteht ein entsprechender Aufwand deutlich größere Kohorten zu rekrutieren. Auch Schwaab et al. hat eine gehäufte Linksverschiebung sowie Monozytose und myeloproliferativen Eigenschaften bei CBL Mutation gesehen. Es wird daher empfohlen, bei Patienten mit den Subtypen MDS/MPN, die keine Mutation in den Genen ABL und JAK2 aufweisen, ein Screening auf eine CBL Mutation vorzunehmen. [51]

Beim Vergleich der Chromosomensätze mit genetischen Aberrationen sind manche Genmutationen signifikant häufiger bei bestimmten Kategorien der Karyotypen zu finden. Eine RUNX1 Mutation trat in dieser Kohorte häufiger bei diversen Anomalien

und Trisomie 8 auf. Auch eine ASXL1 oder SRSF2 Mutation war überproportional häufiger bei Patienten mit Trisomie 8 nachzuweisen. Veränderungen im TET2 Gen werden vor allem bei Patienten mit Trisomie 8 oder minus Y als Karyotypen gefunden. Wie bereits häufig in der Literatur beschrieben ist eine TP53 Mutation vermehrt bei Patienten mit komplexen Karyotypen oder del(5q) festzustellen. [4, 37] Dies kann durch die Ergebnisse dieser Arbeit auch bestätigt werden. Im Gegensatz dazu ist SF3B1 kaum bei einem komplexen Karyotypen mutiert, sondern liegt meist als alleinige Mutation vor. [37, 78] Auch durch diese Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass je höher die Risikogruppe des Karyotypen nach IPSS-R ist, desto geringer ist der Anteil der Patienten mit SF3B1 Mutation (*very good* mit 40,6% *bis very poor* 16,2%). Die in der Einleitung gestellte Frage, ob somatische Mutationen überzufällig häufig im Kontext zytogenetischer Aberrationen stehen, kann somit deutlich bestätigt werden.

Als Symptomatik bei Erstdiagnose zeigte eine ETV6 Mutation sowohl zu thromboembolischen Ereignissen, als auch zu hämorrhagischen Diathesen eine signifikante Korrelation. Ohne diese genannte Symptomatik ist in den allermeisten Fällen keine Mutation nachzuweisen. Möglicherweise ist also bei Aberration in dem ETV6 Gen die Hämostase der Patienten insofern beeinträchtigt, dass neben Blutungskomplikationen auch thromboembolische Ereignisse zu Stande kommen. Zumindest Bejar et al. hat beschrieben, dass bei einer ETV6 Mutation mehr Patienten kleinere Thrombozytenwerte haben. [4] Einschränkend muss hinzugefügt werden, dass in diesem untersuchten Patientenkollektiv wenig Patienten mit Analysen und noch weniger mit Mutation im ETV6 Gen vorlagen. Zukünftige Studien könnten mit mehr Patienten dieser Frage spezifischer nachgehen.

Außerdem konnte in dieser Studienpopulation ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer TP53 Mutation und früherer Exposition mit alkylierenden Substanzen sowie vorbestehenden Grunderkrankungen (wie zum Beispiel M.Hodgkin, NHL, Myelome, Karzinome, rheumatologische Erkrankungen) gezeigt werden. Gleichzeitig haben diese Patienten mit TP53 Mutation oft in der Vorgeschichte bereits eine Chemo- oder Radiotherapie erhalten. Vermutlich ist der iatrogene Zellschaden die Ursache für die TP53 Mutation und erklärt den Zusammenhang zu einem sekundären MDS.

Neben der Assoziation von Genotyp-Phänotyp Korrelationen sind manche Gene eindeutig häufiger mit anderen Genen gleichzeitig mutiert und liegen als sogenannte Co-Mutationen vor. In der Literatur sind folgende Zusammenhänge beschrieben:

- U2AF1 Mutation mit ASXL1, DNMT3A Mutationen [43]
- TET2 Mutation mit CBL, SRSF2 und ZRSR2 [67, 75, 76]
- SRSF2 Mutation mit ASXL1, TET2, JAK2, RUNX1, IDH2, CBL, STAG2, NRAS, IDH1 [43, 74, 78]
- SF3B1 Mutation zu TET2, DNMT3A, SRSF2, ASXL1. [66, 75]
- TP53 Mutationen sind selten bei den Patienten mit SF3B1 Mutation nachzuweisen [41]

In dieser Arbeit wurde auch die Existenz von Korrelationen zwischen verschiedenen somatischen Co-Mutationen überprüft. Wie im Ergebnisteil bereits dargestellt war das Gen ASXL1 häufig gemeinsam mit RUNX1, EZH2, SRSF2 und U2AF1 mutiert. Bei RUNX1 waren es ASXL1, ETV6, EZH2, SRSF2 und TET2. In der Kohorte konnte außerdem dargestellt werden, dass eine SRSF2 Mutation häufig in Kombination mit CBL, ETV6, SF3B1, STAG2, TET2 oder U2AF1 vorlag. TET2 und TP53 waren häufig gemeinsam mutiert und JAK2 war häufig mit Mutation des Splicing-Apparates verbunden, insbesondere JAK2 und SF3B1 Mutation bei den MDS/MPN-Subtypen.

Im Gegensatz dazu ist hervorzuheben, dass das Gen SF3B1 in der Mehrheit bevorzugt als einzige Mutation vorliegt. Möglicherweise ist dieser Zusammenhang ein geringer Bestandteil für die prognostische Aussagekraft der Genmutationen. Wenn bestimmte Gene besonders häufig mit anderen Mutationen als Co-Mutationen vorliegen, ist allein die Anzahl der Mutationen pro Patient (siehe Kapitel 3.2.3) mit einem schlechten Einfluss auf das Überleben des Patienten verknüpft, welches sich dann wiederum auf die Prognose der mutierten Gene niederschlägt. Dabei ist es nicht verwunderlich, dass eine prognostisch günstige Mutationen, wie die des SF3B1 Gens vornehmlich allein mutiert vorliegt.

Martin et al. konnte zeigen, dass bei dem seltenen Vorliegen von einer DNMT3A und SF3B1 Co-Mutation die Patienten in diesem Fall als Folge häufiger transfusionspflichtig waren, ein größerer Anteil in eine AML übergang und diese Gruppe insgesamt mit einem schlechteren klinischen Outcome verbunden war. [80] Patienten mit einer SF3B1 Mutation und einer weiteren genetischen Veränderung (vor allem in DNA-Methylierung codierenden Genen) wiesen vermehrt eine Mehrliniendysplasie auf. [41]

Außerdem haben Patienten sowohl mit TET2 als auch SRSF2 Mutation überproportional häufig eine Monozytose und wiesen eine MDS/MPN-Erkrankung als Subtyp auf (CMML oder MDS/MPN). [81]

Die Arbeit von Todisco hat Co-Mutationen zu einer SRSF2 Mutation in Bezug auf den klinischen Phänotyp der Patienten untersucht. Bei JAK2 lag signifikant häufiger eine Myelofibrose, bei TET2 Mutation eine Monozytose und bei STAG2, RUNX1 oder IDH1/2 ein Blastenexzess vor. [74]

Ausblick

Aktuelle Studien haben sich mit der Frage auseinandergesetzt, inwiefern die Anzahl der Mutationen pro Gen sowie der Umstand, dass die Mutationen auf einem Allel oder beiden Allelen vorzuweisen sind, einen Einfluss auf das Überleben oder klinische Parameter hat. In zwei Veröffentlichungen (je für TET2 und für TP53) konnte gezeigt werden, dass multiple Mutationen oft mit biallelischen (beide Allele betreffend) Veränderungen verbunden sind und gleichzeitig mit einem komplexen Karyotypen, schlechtem Gesamtüberleben, häufigen Co-Mutationen und AML-Übergängen assoziiert sind. [82, 83] In der Arbeit von Bernard et al. konnte außerdem eine Unabhängigkeit dieser Ergebnisse vom IPSS-R dargelegt werden. Die Patienten, die nur Veränderungen auf einem Allel vorwiesen, haben sich überraschenderweise nicht von den Patienten ohne Mutation unterschieden. [83] Dass vor allem zweite oder weitere folgende genetische Veränderungen den Phänotypen prägen, unterstützt auch die Arbeit von Nagata. [54] Molekulare Mechanismen beeinflussen maßgeblich den Krankheitsverlauf bei Myelodysplastischen Syndromen mit Progression in Richtung AML. Es wird genetisch von sogenannten „*Driver*“-Mutationen gesprochen, die als Teil der klonalen Evolution („*second/ multiple hit*“) an der Entwicklung der Erkrankung beteiligt sind. [84, 85] Weitere Untersuchungen sind an dieser Stelle notwendig, um einzelne Mutationen als „*Driver*“ Mutationen identifizieren und den Einfluss auf die Prognose in Zukunft leichter benennen zu können. [37]

Schlussfolgerung

Abschließend kann festgehalten werden, dass bei bestimmten Mutationen einige klinische Parameter verändert vorliegen und somit die Prognose im Sinne der Überlebensdauer und bis zum Übergang in eine AML beeinflusst wird. Die stärksten unabhängigen prognostischen Parameter stellen in dieser Arbeit die Mutationen der Gene ASXL1, EZH2 und TP53 sowie des Karyotypen dar. Eine Verbesserung der Aussagekraft des IPSS-R konnte in dieser Studie leider nicht gezeigt werden, da der Einfluss von somatischen Mutationen vermutlich über die klinischen Variablen wie Hämoglobin, Blasten im Knochenmark, Thrombozyten und Neutrophile bereits in den Risikoscore einfließt. Eine routinemäßige Untersuchung des Mutationsstatus bei Erstdiagnose ist dennoch sinnvoll und bereits durch verschiedene Paper vorgeschlagen worden. Es dient der besseren Abschätzung des individuellen Risikos eines Patienten und somit der optimierten Therapieplanung im klinischen Alltag.

5 Literatur- und Quellenverzeichnis

1. Neukirchen, J., et al., *Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Dusseldorf MDS-registry*. Leuk Res, 2011. **35**(12): p. 1591-6.
2. Cermak, J., et al., *The presence of clonal cell subpopulations in peripheral blood and bone marrow of patients with refractory cytopenia with multilineage dysplasia but not in patients with refractory anemia may reflect a multistep pathogenesis of myelodysplasia*. Leuk Res, 2005. **29**(4): p. 371-9.
3. Steensma, D.P., et al., *Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes*. Blood, 2015. **126**(1): p. 9-16.
4. Bejar, R., et al., *Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes*. N Engl J Med, 2011. **364**(26): p. 2496-506.
5. Haferlach, T., et al., *Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes*. Leukemia, 2014. **28**(2): p. 241-7.
6. Medyouf, H., et al., *Myelodysplastic cells in patients reprogram mesenchymal stromal cells to establish a transplantable stem cell niche disease unit*. Cell Stem Cell, 2014. **14**(6): p. 824-37.
7. Geyh, S., et al., *Insufficient stromal support in MDS results from molecular and functional deficits of mesenchymal stromal cells*. Leukemia, 2013. **27**(9): p. 1841-51.
8. Cazzola, M. and L. Malcovati, *Myelodysplastic syndromes--coping with ineffective hematopoiesis*. N Engl J Med, 2005. **352**(6): p. 536-8.
9. Stauder, R., P. Valent, and I. Theurl, *Anemia at older age: etiologies, clinical implications, and management*. Blood, 2018. **131**(5): p. 505-514.
10. Heuser, M., F. Thol, and A. Ganser, *Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential*. Dtsch Arztebl Int, 2016. **113**(18): p. 317-22.
11. Jaiswal, S., et al., *Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes*. N Engl J Med, 2014. **371**(26): p. 2488-98.
12. Germing, U., et al., *Myelodysplastic syndromes: diagnosis, prognosis, and treatment*. Dtsch Arztebl Int, 2013. **110**(46): p. 783-90.
13. Ciabatti, E., et al., *Myelodysplastic syndromes: advantages of a combined cytogenetic and molecular diagnostic workup*. Oncotarget, 2017. **8**(45): p. 79188-79200.
14. Thol, F. and U. Platzbecker, *Do next-generation sequencing results drive diagnostic and therapeutic decisions in MDS?* Blood Adv, 2019. **3**(21): p. 3449-3453.
15. Malcovati, L., et al., *Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet*. Blood, 2013. **122**(17): p. 2943-64.
16. Valent, P., et al., *Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions*. Oncotarget, 2017. **8**(43): p. 73483-73500.
17. Bennett, J.M., et al., *Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes*. Br J Haematol, 1982. **51**(2): p. 189-99.
18. Bennett, J.M., *World Health Organization classification of the acute leukemias and myelodysplastic syndrome*. Int J Hematol, 2000. **72**(2): p. 131-3.
19. Arber, D.A., et al., *The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia*. Blood, 2016. **127**(20): p. 2391-405.

20. Greenberg, P., et al., *International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes*. Blood, 1997. **89**(6): p. 2079-88.
21. Germing, U., et al., *Refinement of the international prognostic scoring system (IPSS) by including LDH as an additional prognostic variable to improve risk assessment in patients with primary myelodysplastic syndromes (MDS)*. Leukemia, 2005. **19**(12): p. 2223-31.
22. Greenberg, P.L., et al., *Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes*. Blood, 2012. **120**(12): p. 2454-65.
23. Schanz, J., et al., *New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge*. J Clin Oncol, 2012. **30**(8): p. 820-9.
24. Haase, D., et al., *TP53 mutation status divides myelodysplastic syndromes with complex karyotypes into distinct prognostic subgroups*. Leukemia, 2019. **33**(7): p. 1747-1758.
25. Gattermann, N., *The treatment of secondary hemochromatosis*. Dtsch Arztebl Int, 2009. **106**(30): p. 499-504, I.
26. List, A.F., et al., *Deferasirox reduces serum ferritin and labile plasma iron in RBC transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndrome*. J Clin Oncol, 2012. **30**(17): p. 2134-9.
27. Hellstrom-Lindberg, E., et al., *Erythroid response to treatment with G-CSF plus erythropoietin for the anaemia of patients with myelodysplastic syndromes: proposal for a predictive model*. Br J Haematol, 1997. **99**(2): p. 344-51.
28. Platzbecker, U., et al., *A phase 3 randomized placebo-controlled trial of darbepoetin alfa in patients with anemia and lower-risk myelodysplastic syndromes*. Leukemia, 2017. **31**(9): p. 1944-1950.
29. Fenaux, P., et al., *A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q*. Blood, 2011. **118**(14): p. 3765-76.
30. Raza, A., et al., *Phase 2 study of lenalidomide in transfusion-dependent, low-risk, and intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes with karyotypes other than deletion 5q*. Blood, 2008. **111**(1): p. 86-93.
31. Passweg, J.R., et al., *Immunosuppressive therapy for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized multicenter phase III trial comparing antithymocyte globulin plus cyclosporine with best supportive care--SAKK 33/99*. J Clin Oncol, 2011. **29**(3): p. 303-9.
32. Platzbecker, U., *Treatment of MDS*. Blood, 2019. **133**(10): p. 1096-1107.
33. Silverman, L.R., et al., *Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B*. J Clin Oncol, 2002. **20**(10): p. 2429-40.
34. Fenaux, P., et al., *Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study*. Lancet Oncol, 2009. **10**(3): p. 223-32.
35. Lubbert, M., et al., *Low-dose decitabine versus best supportive care in elderly patients with intermediate- or high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) ineligible for intensive chemotherapy: final results of the randomized phase III study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Leukemia Group and the German MDS Study Group*. J Clin Oncol, 2011. **29**(15): p. 1987-96.

36. Haase, D., et al., *New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients*. Blood, 2007. **110**(13): p. 4385-95.
37. Papaemmanuil, E., et al., *Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes*. Blood, 2013. **122**(22): p. 3616-27; quiz 3699.
38. Lindsley, R.C. and B.L. Ebert, *Molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes*. Annu Rev Pathol, 2013. **8**: p. 21-47.
39. Bravo, G.M., et al., *Integrating genetics and epigenetics in myelodysplastic syndromes: advances in pathogenesis and disease evolution*. Br J Haematol, 2014. **166**(5): p. 646-59.
40. Yoshida, K., et al., *Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia*. Nature, 2011. **478**(7367): p. 64-9.
41. Malcovati, L., et al., *SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts*. Blood, 2015. **126**(2): p. 233-41.
42. Papaemmanuil, E., et al., *Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts*. N Engl J Med, 2011. **365**(15): p. 1384-95.
43. Thol, F., et al., *Frequency and prognostic impact of mutations in SRSF2, U2AF1, and ZRSR2 in patients with myelodysplastic syndromes*. Blood, 2012. **119**(15): p. 3578-84.
44. Damm, F., et al., *SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes: clinical associations and prognostic implications*. Leukemia, 2012. **26**(5): p. 1137-40.
45. Delhommeau, F., et al., *Mutation in TET2 in myeloid cancers*. N Engl J Med, 2009. **360**(22): p. 2289-301.
46. Walter, M.J., et al., *Recurrent DNMT3A mutations in patients with myelodysplastic syndromes*. Leukemia, 2011. **25**(7): p. 1153-8.
47. Thol, F., et al., *Prognostic significance of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes*. J Clin Oncol, 2011. **29**(18): p. 2499-506.
48. Ernst, T., et al., *Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders*. Nat Genet, 2010. **42**(8): p. 722-6.
49. Gattermann, N., et al., *High frequency of the JAK2 V617F mutation in patients with thrombocytosis (platelet count >600x10⁹/L) and ringed sideroblasts more than 15% considered as MDS/MPD, unclassifiable*. Blood, 2007. **109**(3): p. 1334-5.
50. Zipperer, E., et al., *MPL 515 and JAK2 mutation analysis in MDS presenting with a platelet count of more than 500 x 10⁹/l*. Ann Hematol, 2008. **87**(5): p. 413-5.
51. Schwaab, J., et al., *Activating CBL mutations are associated with a distinct MDS/MPN phenotype*. Ann Hematol, 2012. **91**(11): p. 1713-20.
52. Malcovati, L., et al., *Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms*. Blood, 2011. **118**(24): p. 6239-46.
53. Palomo, L., et al., *Molecular landscape and clonal architecture of adult myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms*. Blood, 2020. **136**(16): p. 1851-1862.
54. Nagata, Y., et al., *Invariant patterns of clonal succession determine specific clinical features of myelodysplastic syndromes*. Nat Commun, 2019. **10**(1): p. 5386.
55. Steidl, C., et al., *Adequate cytogenetic examination in myelodysplastic syndromes: analysis of 529 patients*. Leuk Res, 2005. **29**(9): p. 987-93.

56. *An international system for human cytogenetic nomenclature (1978), ISCN (1978). Report of the Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature.* Birth Defects Orig Artic Ser, 1978. **14**(8): p. 313-404.
57. Bacher, U., et al., *Challenges in the introduction of next-generation sequencing (NGS) for diagnostics of myeloid malignancies into clinical routine use.* Blood Cancer J, 2018. **8**(11): p. 113.
58. Andersen, M.K., et al., *Duplication or amplification of chromosome band 11q23, including the unrearranged MLL gene, is a recurrent abnormality in therapy-related MDS and AML, and is closely related to mutation of the TP53 gene and to previous therapy with alkylating agents.* Genes Chromosomes Cancer, 2001. **31**(1): p. 33-41.
59. Bentley, D.R., et al., *Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry.* Nature, 2008. **456**(7218): p. 53-9.
60. Wang, Z., M. Gerstein, and M. Snyder, *RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics.* Nat Rev Genet, 2009. **10**(1): p. 57-63.
61. Wilhelm, B.T. and J.R. Landry, *RNA-Seq-quantitative measurement of expression through massively parallel RNA-sequencing.* Methods, 2009. **48**(3): p. 249-57.
62. Baxter, E.J., et al., *Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders.* Lancet, 2005. **365**(9464): p. 1054-61.
63. Strupp, C., et al., *New proposals of the WHO working group (2016) for the diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS): Characteristics of refined MDS types.* Leuk Res, 2017. **57**: p. 78-84.
64. de Swart, L., et al., *Prognostic impact of a suboptimal number of analyzed metaphases in normal karyotype lower-risk MDS.* Leuk Res, 2018. **67**: p. 21-26.
65. Bersanelli, M., et al., *Classification and Personalized Prognostic Assessment on the Basis of Clinical and Genomic Features in Myelodysplastic Syndromes.* J Clin Oncol, 2021. **39**(11): p. 1223-1233.
66. Janusz, K., et al., *Clinical, biological, and prognostic implications of SF3B1 co-occurrence mutations in very low/low- and intermediate-risk MDS patients.* Ann Hematol, 2021.
67. Coltro, G., et al., *Phenotypic correlates and prognostic outcomes of TET2 mutations in myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasm overlap syndromes: A comprehensive study of 504 adult patients.* Am J Hematol, 2020. **95**(4): p. E86-E89.
68. Haferlach, T., *The Molecular Pathology of Myelodysplastic Syndrome.* Pathobiology, 2019. **86**(1): p. 24-29.
69. Kennedy, J.A. and B.L. Ebert, *Clinical Implications of Genetic Mutations in Myelodysplastic Syndrome.* J Clin Oncol, 2017. **35**(9): p. 968-974.
70. Mufti, G.J., et al., *Diagnostic algorithm for lower-risk myelodysplastic syndromes.* Leukemia, 2018. **32**(8): p. 1679-1696.
71. Bejar, R., et al., *Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes.* J Clin Oncol, 2012. **30**(27): p. 3376-82.
72. Nazha, A., et al., *Incorporation of molecular data into the Revised International Prognostic Scoring System in treated patients with myelodysplastic syndromes.* Leukemia, 2016. **30**(11): p. 2214-2220.
73. Bejar, R., *Myelodysplastic Syndromes Diagnosis: What Is the Role of Molecular Testing?* Curr Hematol Malig Rep, 2015. **10**(3): p. 282-91.

74. Todisco, G., et al., *Co-mutation pattern, clonal hierarchy, and clone size concur to determine disease phenotype of SRSF2(P95)-mutated neoplasms*. Leukemia, 2020.
75. Damm, F., et al., *Mutations affecting mRNA splicing define distinct clinical phenotypes and correlate with patient outcome in myelodysplastic syndromes*. Blood, 2012. **119**(14): p. 3211-8.
76. Malcovati, L., et al., *Driver somatic mutations identify distinct disease entities within myeloid neoplasms with myelodysplasia*. Blood, 2014. **124**(9): p. 1513-21.
77. Malcovati, L., et al., *Molecular and clinical features of refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis*. Blood, 2009. **114**(17): p. 3538-45.
78. Liu, Y.C., G.M. Illar, and N.G. Bailey, *Clinicopathologic characterisation of myeloid neoplasms with concurrent spliceosome mutations and myeloproliferative-neoplasm-associated mutations*. J Clin Pathol, 2020. **73**(11): p. 728-736.
79. Shingai, N., et al., *Impact of splicing factor mutations on clinical features in patients with myelodysplastic syndromes*. Int J Hematol, 2018. **108**(6): p. 598-606.
80. Martin, I., et al., *Negative impact on clinical outcome of the mutational co-occurrence of SF3B1 and DNMT3A in refractory anemia with ring sideroblasts (RARS)*. Leuk Lymphoma, 2017. **58**(7): p. 1686-1693.
81. Sallman, D.A., et al., *Impact of TP53 mutation variant allele frequency on phenotype and outcomes in myelodysplastic syndromes*. Leukemia, 2016. **30**(3): p. 666-73.
82. Awada, H., et al., *Invariant phenotype and molecular association of biallelic TET2 mutant myeloid neoplasia*. Blood Adv, 2019. **3**(3): p. 339-349.
83. Bernard, E., et al., *Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes*. Nat Med, 2020. **26**(10): p. 1549-1556.
84. Walter, M.J., et al., *Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia*. N Engl J Med, 2012. **366**(12): p. 1090-8.
85. Meggendorfer, M., et al., *Karyotype evolution and acquisition of FLT3 or RAS pathway alterations drive progression of myelodysplastic syndrome to acute myeloid leukemia*. Haematologica, 2015. **100**(12): p. e487-90.

Danksagung

An erster Stelle gilt mein persönlicher Dank meinem Doktorvater Herr Prof. Dr. Germing für seine hervorragende Betreuung und uneingeschränkte Unterstützung während der gesamten Bearbeitungsphase meiner Dissertation. Seine konstruktive Kritik und sein stetiges Vertrauen in die Fertigstellung dieser Arbeit haben mir zur persönlichen Weiterentwicklung verholfen.

Mein herzlicher Dank gilt außerdem Frau Dr. Kaivers für die Übernahme der Co-Betreuung sowie Herrn Prof. Dr. Hefter für die Übernahme des Koreferates.

Ohne die vom MDS-Register und dem Institut für Humangenetik zur Verfügung gestellten Daten, wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Der Dank gilt dem ganzen Team des MDS-Sekretariats für die Vorarbeit und Instandhaltung des Registers sowie Frau Dr. Betz und Frau Dr. Hildebrandt für die zyto- und molekulargenetischen Analysen.

Für die Durchsicht dieser Arbeit danke ich Johanna Baum.

Ganz besonders möchte ich an dieser Stelle auch meinen Freunden, Eltern und Geschwistern für die unermüdliche Unterstützung, ihr entgegengebrachtes Verständnis und ihre liebevolle Geduld während der Arbeit an dieser Dissertation danken.