



## Primäre Myelofibrose (PMF)

### Diagnostische Empfehlung

Methode	Antikoagulans	Empfehlung
Zytomorphologie	EDTA	obligat
Immunphänotypisierung	EDTA oder Heparin	fakultativ
Chromosomenanalyse	Heparin	obligat
FISH	EDTA oder Heparin	fakultativ
Molekulargenetik	EDTA oder Heparin	obligat

Die Primäre Myelofibrose (PMF) zählt zu den myeloproliferativen, *BCR-ABL1*-negativen Neoplasien. Sie ist durch eine dominierende Proliferation der Megakaryozyten und Granulozyten im Knochenmark charakterisiert und weist in fortgeschrittenem Stadium eine zunehmende Retikulin- und/oder Kollagenfibrose auf. Die Inzidenz der PMF liegt bei 0,5-1,5 / 100.000 pro Jahr und tritt überwiegend im Alter von 60-70 Jahren auf.

### Klassifikation

Die PMF zählt gemäß WHO-Klassifikation 2017 zu den Myeloproliferativen Neoplasien (MPN) und wird in ein frühes, präfibrotisches Stadium und ein fibrotisches Stadium unterteilt.

### PMF WHO-Klassifikation 2017

#### Myeloproliferative Neoplasien (MPN)

##### Primäre Myelofibrose (PMF):

- Präfibrotisches/frühes Stadium
- Fibrotisches Stadium

#### Kriterien zur Diagnose der PMF

Gemäß der WHO-Klassifikation müssen alle 3 Hauptkriterien und mindestens 1 Nebenkriterium der Diagnosekriterien erfüllt sein, um die Diagnose einer PMF zu stellen.

#### Hauptkriterien

- Megakaryozytenproliferation und -atypie assoziiert mit Knochenmarkfibrose Grad 2-3 nach WHO
- WHO-Kriterien für ET, PV, *BCR-ABL1* -positive CML, MDS oder andere myeloische Neoplasien nicht erfüllt
- *JAK2*-, *CALR*-, oder *MPL*-Mutation oder bei Abwesenheit dieser Mutationen, Nachweis eines anderen klonalen Markers\*, oder Fehlen einer reaktiven Myelofibrose\*\*

#### Nebenkriterien

Zutreffen von mind. 1 der folgenden Kriterien in 2 aufeinanderfolgenden Bestimmungen

- Anämie, nicht assoziiert mit Komorbiditäten
- Leukozytose  $\geq 11 \times 10^9 / l$
- Tastbare Splenomegalie
- LDH Erhöhung > Upper Limit of Normal (ULN) des laborspezifischen Referenzbereichs
- Leukoerythroblastisches Blutbild

\* z.B. *ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/IDH2*, *SRSF2*, *SF3B1*

\*\* Knochenmarkfibrose durch sekundäre Infektion, Autoimmunerkrankung oder andere chronisch entzündliche Erkrankungen, Haarzelleukämie oder andere lymphoide Neoplasien, metastasierte Tumorerkrankung oder toxische (chronische) Myelopathie

### Fakten

Ca.  
60%

der Patienten mit PMF haben eine *JAK2V617F*-Mutation (Onkopedia Leitlinie PMF)

### Diagnostik

#### Zytomorphologie

Die zytomorphologische Beurteilung bei den MPN bezieht die Zellularität im Gesamten sowie in den einzelnen hämatopoetischen Reihen ein. Wichtig ist auch die Feststellung des Blastenanteils. Für spezielle Fragen (bei Verdacht auf eine refraktäre Anämie mit Ringsideroblasten und Thrombozytose; MDS/MPN-RS-T) ist darüber hinaus die Eisenfärbung relevant. Besteht eine Fibrosierung des Knochenmarks z.B. bei primärer Myelofibrose (PMF), ist oftmals die zytomorphologische Beurteilbarkeit der Präparate eingeschränkt („punctio sicca“).

Maßgeblich ist die Diagnosestellung und zur Beurteilung des Fasergrads und der Knochenmarkarchitektur in allen Fällen ist die Histologie, welche bei vermuteter oder gesicherter MPN immer durchgeführt werden muss.



### Chromosomenanalyse

Chromosomale Aberrationen treten bei 35-40% der Patienten mit PMF auf, wobei es sich überwiegend um unbalancierte Ereignisse handelt. So werden Zugewinne von Material des langen Armes von Chromosom 1 (+1q), Deletionen im langen Arm von Chromosom 20 (del(20q)), Trisomie 9, Deletionen im langen Arm von Chromosom 13 (del(13q)), Trisomie 8, Aberrationen von Chromosom 7 (-7, 7q-) sowie von Chromosom 5 (-5, 5q-), Deletionen im kurzen Arm von Chromosom 12 (del(12p)) und eher selten ein Isochromosom des langen Armes von Chromosom 17 (i(17q)) beobachtet. Keine dieser Aberrationen ist spezifisch für die PMF, sie treten ebenfalls bei anderen MPN und auch bei MDS auf (Swerdlow et al., 2017).

### Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH)

Im Falle einer punctio sicca kann ein Nachweis der PMF-typischen zytogenetischen Veränderungen am Blutaussstrich mittels FISH-Analyse durchgeführt werden.

### Molekulargenetik

#### JAK2 V617F-Mutationen sind häufig bei PMF

Molekulargenetisch wird bei etwa 60% der Patienten mit PMF eine JAK2V617F-Mutation nachgewiesen. Die prognostische Relevanz dieser Mutation wird kontrovers diskutiert. (Campbell et al., Blood, 2006; Guglielmelli et al., 2009). Bei 10% aller PMF Patienten ohne JAK2V617F-Mutation wurde eine Mutation im Codon W515 des MPL-Gens nachgewiesen. Eine Mutation im Calreticulin-Gen (CALR) findet sich bei ca. 70% der Patienten mit Myelofibrosen, bei denen keine JAK2- oder MPL-Mutation nachgewiesen wurde (Klampfl et al., 2013; Nangalia et al., 2013). Patienten ohne eine dieser drei Mutationen („tripel-negativ“) haben ein erhöhtes Risiko, eine AML zu entwickeln als Patienten mit einer JAK2-, MPL- oder CALR-Mutation (Rumi et al., 2014; Tefferi et al., 2014). Mutationen im EZH2 Gen finden sich bei 5-7% der Patienten mit PMF und sind nach den bisher vorliegenden Daten mit einem ungünstigen Krankheitsverlauf verbunden (Guglielmelli et al., 2011). Bei 20-30% der PMF-Patienten wird eine Mutation des ASXL1-Gens nachgewiesen (Vannucchi et al., 2013).

Tabelle 1: Häufigkeit verschiedener Mutationen bei PMF (Langabeer et al. 2015)

Gen-Mutation	Häufigkeit (%)
JAK2	55-60
JAK2 Exon 12	selten
MPL	5-10
CALR	25-35
TET2	10-20
IDH1/2	5
DNMT3A	5-10
ASXL1	15-30
EZH2	5-10
CBL	5-10
SF3B1	5-10
SRSF2	10-15
U2AF1	5-15

### Prognose

#### Risikoeinschätzung nach IPSS- und DIPSS-Score

Um eine Aussage über den Verlauf bei PMF treffen zu können, wurden die Scoring-Systeme IPSS und DIPSS etabliert. In beiden Scoring-Systemen werden die Risikofaktoren Alter, B-Symptome, Hämoglobinwert unter 10 g/dl, Leukozyten über  $25 \times 10^9/l$  und über 1% Blasten im peripheren Blut berücksichtigt (Cervantes et al., 2009; Passamonti et al., 2010). Während der IPSS ausschließlich bei Erstdiagnose angewendet werden kann, ist eine Risikoeinteilung nach dem DIPSS, aufgrund einer anderen Gewichtung der Risikofaktoren, während des gesamten Krankheitsverlaufes möglich.

Tabelle 2: Prognose und Risikoabschätzung nach IPSS und DIPSS

Risikofaktoren	Anzahl Risikofaktoren		Prognose (Risiko)	Medianes Überleben Risikofaktoren (Jahre)	
	IPSS	DPSS		IPSS	DPSS
- Alter >65 Jahre	0	0	niedrig	11,2	15,4
- Konstitutionelle Symptome (Fieber, Gewichtsverlust, Nachtschweiß)	1	1-2	intermediär 1	7,9	6,5
- Hb <10g/dl*	2	3-4	intermediär 2	4,0	2,9
- Leukozyten > $25 \times 10^9/l$	≥ 3	≥ 5	hoch	2,3	1,3
- Blasten im peripheren Blut ≥ 1%					

\*doppelt gewichtet bei DIPSS



### DIPSS Plus-Score berücksichtigt auch zytogenetische Aberrationen

Der DIPSS Plus-Score integriert zusätzlich die Parameter Transfusionsbedürftigkeit, Thrombozytenzahl unter  $100 \times 10^9/l$  und zytogenetische Aberrationen in die Risikoeinteilung (Gangat et al., 2011). Zytogenetische Aberrationen werden dabei in zwei prognostische Gruppen eingeteilt. Als prognostisch ungünstige zytogenetische Aberrationen werden ein komplexer Karyotyp ( $\geq 3$  Aberrationen) und ein oder zwei Aberrationen gewertet, die eine Trisomie 8, eine Monosomie 7 bzw. eine 7q-Deletion, eine Aberration von Chromosom 5, ein Isochromosom des langen Armes von Chromosom 17, eine 12p-Deletion, eine Inversion des Chromosoms 3 bzw. eine 11q23-Rearrangement aufweisen.

Da Studien zunehmend auf eine zytogenetische Heterogenität der prognostisch ungünstigen Gruppe hindeuteten, wurde dieses Zwei-Stufenmodell in einer Studie mit 1.002 PMF-Patienten von Tefferi et al. neu untersucht und die Abhängigkeit des Gesamtüberlebens von zytogenetischen Aberrationen neu validiert. Dies führte zu einem verfeinerten 3-Stufenmodell, das eine Risikostratifizierung in 3 prognostische Gruppen favorisiert: günstige, ungünstige, sehr ungünstige (= sehr hohes Risiko) Aberrationen hinsichtlich des Gesamtüberlebens (siehe Tabelle 5). Es bleibt abzuwarten, ob dieses 3-stufige Risikomodell auch Eingang in die bestehenden Risikoscores wie dem DIPSS Plus finden wird.

**Tabelle 3: Neue zytogenetische Risikostratifikation nach Tefferi et al. 2018**

Risikokategorie	Spezifische Aberrationen
Günstig	<b>Normaler Karyotyp</b> <b>Nur eine der folgenden Aberrationen:</b> 20q-, 13q-, +9, Chromosom 1 Translokationen/Duplikationen, Geschlechtschromosomen-Veränderungen inklusive -Y
Ungünstig	<b>Nur eine der folgenden Aberrationen:</b> +8, 7q-, einzelne Translokationen ohne Involvierung von Chromosom 1 <b>Zwei Aberrationen:</b> ohne VHR-Aberrationen <b>Einzel/multiple Aberrationen:</b> 5q-, abnormaler/komplexer Karyotyp ohne VHR-Aberration, monosomaler Karyotyp ohne VHR-Aberration, andere als hier klassifizierte Aberrationen
Sehr hohes Risiko (VHR)	<b>Einzelne/multiple Aberrationen:</b> Monosomie 7, inv(3)/3q21, i(17q), 12p-/12p11.2, 11q-/11q23, autosomale Trisomien andere als +8 oder +9 (z.B. +21, +19)

### Weitere Prognostische Einschätzungen von zytogenetischen Aberrationen

In anderen Veröffentlichungen wurden weitere prognostische Einschätzungen zytogenetischer Aberrationen diskutiert (siehe Tabelle 4).

**Tabelle 4: Prognostische Einschätzung zytogenetischer Veränderungen**

	Günstig	Intermediär	Ungünstig	Sehr ungünstig
Tam et al. Blood 2009	+9 (auch mit einer Zusatzaberration), 13q-, 20q-	NK	Aberrationen von Chromosom 5 bzw. 7, komplex	Aberrationen von Chromosom 17
Hussein et al. Blood 2010	+9, 13q-, 20q-	NK	Andere Aberrationen	+8, komplex
Caramazza et al. Leukemia 2011	NK, Aberrationen, die nicht ungünstig sind		komplex, +8, -7/7q-, i(17q), -5/5q-, 12p-, inv(3), 11q23-Rearrangements	
Brecqueville et al. Haematologica 2013	Assoziation zwischen 12p-, 17q-, 20q- und Transformation in eine AML			
Tefferi et al. Blood 2014	NK, +9, 13q-	20q-, 1q+, -Y	komplex-nicht-monosomal, 5q-, +8, eine bzw. zwei andere Aberrationen	monosomaler KT, inv(3), i(17q), -7/7q-, 11q bzw. 12p Aberrationen

KT: Karyotyp, NK: normaler Karyotyp, komplex  $\geq 3$  Aberrationen

### CALR und ASXL1-Mutationen sind DIPSS Plus-unabhängige prognostische Faktoren

CALR- und ASXL1-Mutationen scheinen DIPSS Plus unabhängig mit einem günstigen bzw. ungünstigen Krankheitsverlauf assoziiert zu sein. Dabei zeigen Patienten mit CALR-Mutation in Abwesenheit einer ASXL1-Mutation die beste, Patienten ohne CALR-Mutation, jedoch mit ASXL1-Mutation die ungünstigste Prognose (Tefferi et al., 2014). Neben ASXL1-Mutationen sind Mutationen der Gene *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1* und *IDH2* unabhängig vom IPSS und DIPSS Plus mit einem kürzeren Überleben und höheren Risiko der Transformation in eine akute Leukämie assoziiert (Vannucchi et al., 2013). Dabei ist das Auftreten von zwei oder mehr Mutationen dieser Gene verglichen mit einer oder keiner Mutation prognostisch ungünstiger einzuschätzen (Guglielmelli et al., 2014).

Um dem prognostischen Einfluss von Mutationen Rechnung zu tragen, wurden der MIPSS und GPSS entwickelt. Der MIPSS berücksichtigt zusätzlich zu den Risikofaktoren des DIPSS *JAK2*-, *MPL*-, *ASXL1*- und *SRSF2*-Mutationen (Vannucchi et al. 2014). Im GPSS werden darüber hinaus CALR-Mutationen und eine zytogenetische Risikoeinteilung mit einbezogen (Tefferi et al., 2014).

### Empfehlung

Neben der Erhebung klinischer und laborchemischer Parameter sind eine histologische und eine zytomorphologische Untersuchung des Knochenmarks und Blutes, eine zytogenetische Analyse sowie molekulargenetische Untersuchungen (*JAK2 V617F*-Mutation, wenn negativ, *CALR*, wenn negativ *MPL*) empfohlen. Gemäß der WHO Klassifikation 2017 sind zusätzlich ggfs. weitere molekulargenetische Analysen zu ergänzen (*ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/IDH2*, *SRSF2*, *SF3B1*).

### Referenzen

Die zugehörigen Referenzen finden Sie hier:

<https://www.mll.com/diagnostisches-angebot/myeloproliferative-neoplasien/primare-myelofibrose-pmf.html#referenzen>