

Charakterisierung der Hämostaseaktivierung bei Thrombosen im Splanchnikusgebiet

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med. dent.)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Johanna Busse

aus Gelsenkirchen

2025

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Heiko Rühl
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Georg Feldmann

Tag der Mündlichen Prüfung: 29.08.2025

Aus dem Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	8
1.	Einleitung	11
1.1	Splanchnikus Venenthrombosen	11
1.1.1	Definition	11
1.1.2	Anatomie	12
1.1.3	Epidemiologie	13
1.1.4	Ätiologie	13
1.1.5	Lebererkrankungen und SVT	15
1.1.6	Myeloproliferative Neoplasien	16
1.1.6.1	Formen	16
1.1.6.2	Mutationen	16
1.1.6.3	Klinik der MPN und Thromboserisiko	17
1.1.6.4	Therapie und Thromboseprävention	17
1.1.7	Klinik der SVT	18
1.2	Physiologie der Hämostase	20
1.2.1	Primäre Hämostase	20
1.2.2	Sekundäre Hämostase	21
1.2.3	Fibrinolyse	23
1.3	Regulationsmechanismen der Gerinnungsaktivierung: Pathophysiologie und SVT	23
1.3.1	AT-Heparin-System	23
1.3.2	PC-System	24
1.3.3	Weitere Thrombophilien	25
1.3.4	Rolle des PC-Systems im Pathomechanismus der SVT	25
1.4	Ziel der Arbeit	27
2.	Material und Methoden	28
2.1	Erläuterungen zu ethischen Aspekten	28
2.2	Material	28
2.2.1	Verwendete Chemikalien	28

2.2.2	Verwendete Reagenzien	28
2.2.3	Verwendete Pufferlösungen	30
2.2.4	Verwendete Materialien	31
2.2.5	Verwendete Geräte	32
2.2.6	Verwendete kommerziell erhältliche Assays	33
2.3	Patienten und Methoden	34
2.3.1	Probandenrekrutierung	34
2.3.2	Zulassungskriterien der Studienteilnehmer	34
2.3.3	Präanalytik und Probenentnahme	36
2.3.4	Laboranalytik	37
2.3.4.1	Bestimmung von Thrombin und APC mittels OECA	37
2.3.4.1.1	OECA zur Thrombinbestimmung	37
2.3.4.1.2	OECA zur APC-Bestimmung	38
2.3.4.2	Laboranalytik mit kommerziell erhältlichen Assays	39
2.3.4.2.1	Bestimmung der Gerinnungszeiten	40
2.3.4.2.2	Bestimmung von Aktivierungsmarkern der Gerinnung und Fibrinolyse	41
2.3.4.2.3	Bestimmung der Gerinnungsinhibitoren AT, PC und PS	42
2.3.5	Statistische Auswertung	42
3.	Ergebnisse	44
3.1	Klinische Merkmale der Studienpopulation	44
3.2	Blutbildparameter	46
3.3	Hämostaseologische Basisdiagnostik	47
3.4	Aktivierungsmarker der Gerinnung und Fibrinolyse	49
3.4.1	Aktivierungsmarker der Thrombinbildung und APC	50
3.4.2	Aktivierungsmarker der Fibrinolyse	51
3.4.3	D-Dimere	52
3.5	Receiver-Operating-Characteristic-Analyse	53
3.6	Korrelationen zwischen Markern der Gerinnungsaktivierung und Fibrinolyse	54
3.7	Einfluss der Antikoagulation auf Gerinnungs- und Fibrinolysemarker bei Patienten mit SVT	56
3.7.1	Einfluss der Antikoagulationsintensität auf F1+2 und D-Dimere	56

3.7.2	Einfluss der Antikoagulationsintensität auf Thrombin und APC	57
3.7.3	Einfluss der Antikoagulationsintensität auf TAT, t-PA und PAP	58
4.	Diskussion	61
4.1	Erhöhte Thrombin- und APC-Spiegel bei MPN-assoziiierter SVT im Kontext bisheriger Studien	61
4.2	Frühere Untersuchungen zum PC-System bei Patienten mit MPN	62
4.3	Einfluss von Antikoagulation und analytischen Nachweisgrenzen auf weitere Gerinnungsparameter	63
4.4	Erhöhte Aktivierungsmarker der Fibrinolyse bei Patienten mit SVT	65
4.5	Interpretation der D-Dimere bei Patienten mit SVT	66
4.6	Signifikante Korrelationen zwischen Aktivierungsmarkern	67
4.7	Potenzielle klinische Bedeutung von Thrombin und APC als Biomarker bei SVT	68
4.8	Limitationen der Studie	69
5.	Zusammenfassung	70
6.	Abbildungsverzeichnis	72
7.	Tabellenverzeichnis	73
8.	Literaturverzeichnis	74
9.	Erklärung zum Eigenanteil	85
10.	Veröffentlichungen	86
11.	Danksagung	87

Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
APC	Aktiviertes Protein C
aPPT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ASS	Acetylsalicylsäure
AT	Antithrombin
AUC	Area under the Curve
BCS	Budd-Chiari-Syndrom
BSA	Bovines Serumalbumin
CALR	Calreticulin
CT	Computertomographie
DOAK	Direkte orale Antikoagulanzen
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ET	Essenzielle Thrombozythämie
F	Gerinnungsfaktor (in Verbindung mit römischen Ziffern)
FVL	Faktor-V-Leiden-Mutation
F1+2	Prothrombinfragment 1+2
GP	Glykoprotein
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartilbereich
JAK2	Januskinase 2

LEIA	Latex-Enzym-Immunoassay
MPN	Myeloproliferative Neoplasie
MPL	Thrombopoetin-Rezeptor
MRT	Magnetresonanztomographie
MVT	Mesenterialvenenthrombose
OECA	Oligonucleotide-based Enzyme Capture Assay
PAF	Platelet Activating Factor
PAI-1	Plasminogenaktivator-Inhibitor-1
PAP	Plasmin- α 2-Antiplasmin-Komplex
PBS	Phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PC	Protein C
PMF	Primäre Myelofibrose
PS	Protein S
PTM	Prothrombin-G20210A-Mutation
PV	Polycythaemia Vera
PVT	Pfortaderthrombose
ROC	Receiver-Operating-Characteristic
SVT	Splanchnische Venenthrombose
SVT-MPN ⁺	Patienten mit SVT mit nachgewiesener MPN
SVT-MPN ⁻	Patienten mit SVT ohne nachgewiesene MPN
TAT	Thrombin-Antithrombin-Komplex
TBS	Tris-gepufferte Kochsalzlösung

TF	Tissue Factor
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor
TIPS	Transjugulärer portosystemischer Shunt
t-PA	tissue-type Plasminogenaktivator
TPZ	Thromboplastinzeit
V.	Vena
Vv.	Venae
VKA	Vitamin-K-Antagonisten
VTE	Venöse Thromboembolie
vWF	von-Willebrand-Faktor
WHO	Weltgesundheitsorganisation

1. Einleitung

Splanchnische Venenthrombosen (SVT) sind seltene, aber klinisch bedeutsame thrombotische Verschlüsse im Abdominalbereich. Sie sind häufig mit einer verstärkten Gerinnungsaktivierung assoziiert, die das Gleichgewicht zwischen Gerinnung und Fibrinolyse stört. Ein derart gestörtes Gleichgewicht kann das Thromboserisiko erheblich erhöhen, wobei die zugrunde liegenden Mechanismen im Fall der SVT nicht vollständig verstanden sind.

Diese Arbeit befasst sich mit der Charakterisierung der Hämostaseaktivierung bei Patienten mit SVT. Dabei werden die Plasmaspiegel zentraler Gerinnungsenzyme wie Thrombin und aktiviertes Protein C (APC) sowie weiterer Marker der Gerinnungsaktivierung und Fibrinolyse untersucht. In der Einleitung wird zunächst das Krankheitsbild der SVT dargestellt, gefolgt von einer Übersicht über die wichtigsten prädisponierenden Faktoren, insbesondere myeloproliferative Neoplasien (MPN), nicht-hämatologische Malignome und Lebererkrankungen. Anschließend wird die Physiologie der Hämostase erläutert, um die Bedeutung der untersuchten Gerinnungsparameter im Kontext der SVT-Pathogenese darzulegen. Diese strukturierte Einführung bildet die Grundlage für die Ableitung der zentralen Forschungsfragen dieser Arbeit.

1.1 Splanchnische Venenthrombosen

1.1.1 Definition

Das splanchnische Venengebiet umfasst die Venen vom unteren Abschnitt des Ösophagus bis zu den oberen zwei Dritteln des Rektums. Zu den SVT zählt man Thrombosen der Pfortader (Vena (V.) portae hepatis, PVT), der Mesenterialvenen (Venae (Vv.) mesenterica superior und inferior, MVT) oder der Milzvene (V. lienalis). Darüber hinaus wird auch das Budd-Chiari-Syndrom (BCS), das durch eine thrombotische Obstruktion der Lebervenen gekennzeichnet ist, zu den SVT gezählt (Valeriani et al., 2019).

Das BCS wird definitionsgemäß in die primäre und sekundäre Form unterteilt. Das primäre BCS ist durch eine Thrombose im Bereich des venösen hepatischen Abflusses charakterisiert (Plessier und Valla, 2008). Das sekundäre BCS hingegen entsteht durch

eine Invasion oder Kompression der Lebervenen, beispielsweise durch ein Malignom (Iliescu et al., 2019; Hefaiiedh et al., 2013).

1.1.2 Anatomie

Eine schematische Darstellung des splanchnischen Venensystems ist in Abb. 1 dargestellt. Die Pfortader (V. portae hepatis) entsteht auf der Höhe des zweiten Lendenwirbelkörpers durch den Zusammenfluss der V. mesenterica superior und der V. lienalis (syn. V. splenica). Sie verläuft im Ligamentum hepatoduodenale zur Leberpforte.

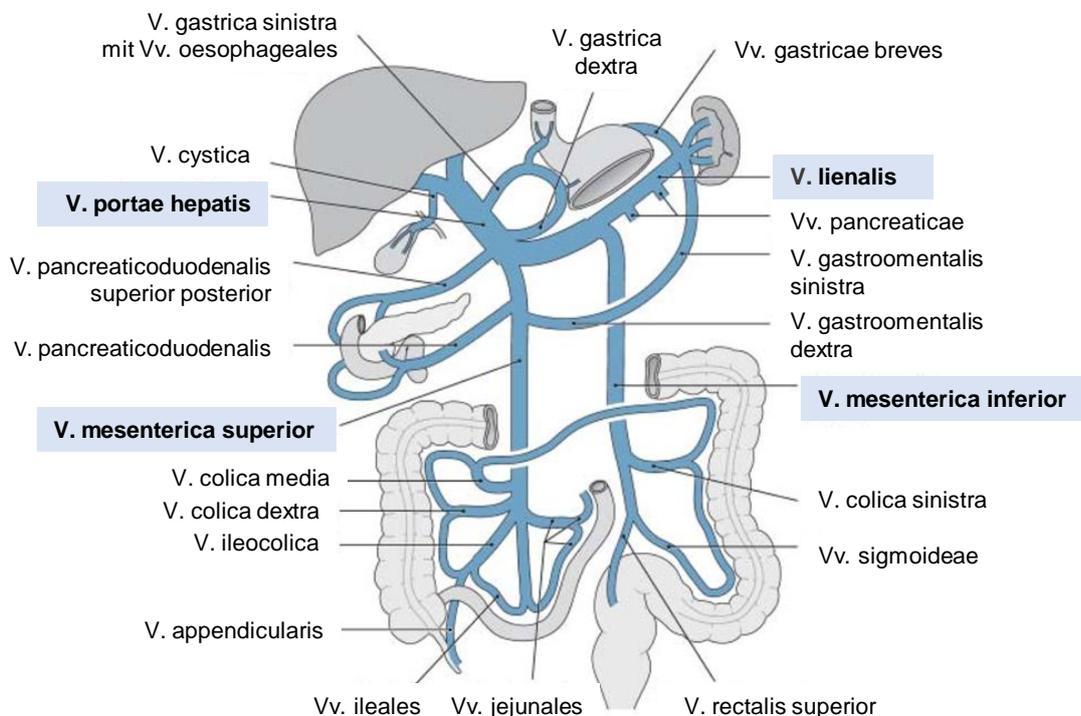


Abb. 1: Vena (V.) portae hepatis und ihre Zuflüsse. Die Venen des Splanchnikusgebietes sind fett hervorgehoben (modifiziert entnommen aus Schulte, 2017)

Die V. lienalis drainiert das venöse Blut aus der Milz und nimmt auf ihrem weiteren Verlauf Blut aus dem Magen-Darm-Trakt auf, darunter aus der V. gastroenterica sinistra, den Vv. gastricae breves, der V. mesenterica inferior und den Vv. pancreaticae. Die V. mesenterica superior sammelt Blut aus Magen, Pankreas, Dün- und Dickdarm. Zusätzlich erhält die Pfortader direkten Zufluss aus den Vv. gastricae dextra und sinistra, der V. cystica, den Vv. paraumbilicales, der V. prepylorica und der V. pancreaticoduodenalis superior posterior. Das Blut der V. mesenterica inferior gelangt

indirekt über die V. lienalis in die Pfortader. Die V. mesenterica inferior drainiert den venösen Abfluss des Dickdarms sowie der oberen Abschnitte des Rektums.

In der Pfortader fließt somit das Blut aus der Milz und den unpaaren Bauchorganen zusammen, mit Ausnahme der unteren Rektumetagen. Sie transportiert sauerstoffarmes, nährstoffreiches Blut zur Leber, von wo es über die Vv. hepaticae in die V. cava inferior abgeführt wird (Schulte, 2017).

1.1.3 Epidemiologie

Die Angaben zur Epidemiologie der SVT variieren je nach Studie. Im Vergleich zu tiefen Beinvenenthrombosen und Lungenembolien treten SVT mindestens 25-mal seltener auf. Die PVT ist die häufigste Manifestation der SVT, während das BCS die seltenste Form darstellt (Valeriani et al., 2019).

Die Inzidenz der PVT wird mit 2-4 Fällen pro 100.000 Einwohner angegeben (Boccatonda et al., 2024). Epidemiologische Studien zeigen, dass Männer häufiger als Frauen an einer PVT erkranken (Ageno et al., 2017; Rajani et al., 2010). Das mittlere Erkrankungsalter liegt zwischen 50 und 60 Jahren (Kawana et al., 2021; Rajani et al., 2010).

Die Inzidenz des BCS ist mit 1-2 Fällen pro 1.000.000 Einwohner deutlich geringer als die der PVT (Ageno et al., 2017; Rajani et al., 2010). Patienten mit BCS sind im Durchschnitt jünger als PVT-Patienten, mit einem mittleren Erkrankungsalter von etwa 40 Jahren (Ollivier-Hourmand et al., 2018). Im Gegensatz zur PVT besteht beim BCS kein eindeutiger geschlechtsspezifischer Unterschied in der Erkrankungshäufigkeit (Ageno et al., 2017).

1.1.4 Ätiologie

Die Ätiologie der SVT ist heterogen. Zu den Hauptrisikofaktoren zählt insbesondere die Gruppe der myeloproliferativen Neoplasien (MPN). Studien zeigen, dass 15 - 30% der Patienten mit SVT eine MPN aufweisen, während der Anteil beim BCS mit 30-50% noch höher ist (Ollivier-Hourmand et al., 2018; Smalberg et al., 2012). Auch Thrombophilien können die Entstehung einer SVT begünstigen (siehe Abschnitt 1.3.3). Zu den hereditären Thrombophilien zählen ein Mangel an Protein C (PC) oder Protein S (PS), die Faktor-V-Leiden-Mutation (FVL) oder die Prothrombin-G20210A-Mutation (PTM). Neben

genetischen Risikofaktoren spielen auch erworbene Thrombophilien eine Rolle (Intagliata et al., 2019; Kawata et al., 2021).

Lokale Hauptrisikofaktoren für die Entwicklung einer PVT oder MVT sind insbesondere Lebererkrankungen (siehe Abschnitt 1.1.5) und nicht-hämatologische Malignome des Abdomens. Etwa ein Viertel der Patienten mit PVT weist eine maligne Grunderkrankung auf (Kawata et al., 2021; Ogren et al., 2006). Malignome können über verschiedene Mechanismen eine Hyperkoagulabilität fördern, darunter eine verstärkte Endothelaktivierung, eine vermehrte Thrombinbildung sowie eine direkte Gefäßschädigung (Grover et al., 2021; Hisada und Mackman, 2017). Zudem erhöhen Faktoren wie Immobilisation, chirurgische Eingriffe oder Chemotherapie das Thromboserisiko zusätzlich.

Weitere lokale Risikofaktoren für eine SVT sind abdominalchirurgische Eingriffe wie Splenektomie oder Lebertransplantation, intraabdominelle Infektionen wie Pankreatitis oder Divertikulitis sowie Traumata. Auch systemische Risikofaktoren wie Autoimmun- und inflammatorische Erkrankungen (z.B. Morbus Crohn), Hormontherapien oder Schwangerschaft können die Entstehung einer PVT begünstigen (Ageno et al., 2014; Intagliata et al., 2019; Valeriani et al., 2019). Tab. 1 zeigt eine Übersicht der Risikofaktoren der nicht-zirrhatischen SVT.

Tab. 1: Risikofaktoren der nicht-zirrhatischen SVT. JAK2, Januskinase 2; MPN, Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Intagliata et al., 2019).

Maligne Erkrankungen <ul style="list-style-type: none"> • MPN • JAK2-Mutation • Andere Malignome 	Nicht-maligne systemische Risikofaktoren <ul style="list-style-type: none"> • Autoimmunerkrankungen und Vaskulitiden • Inflammatorische Darmerkrankungen • Schwangerschaft • Hormontherapien
Hereditäre Thrombophilien <ul style="list-style-type: none"> • Faktor-V-Leiden-Mutation • Prothrombin-G20210A-Mutation • Protein-C- oder Protein-S-Mangel • Antithrombinmangel 	Lokale Risikofaktoren <ul style="list-style-type: none"> • Intraabdominale Entzündungen • Traumata • Abdominelle Malignome • Abdominelle Operationen
Erworbene Thrombophilien <ul style="list-style-type: none"> • Antiphospholipidsyndrom • Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie 	

1.1.5 Lebererkrankungen und SVT

Die Leberzirrhose ist die häufigste Lebererkrankung, die die Pathogenese einer SVT begünstigt (Rajani et al., 2010). Die Pathogenese ist multifaktoriell und lässt sich durch die sogenannte Virchow-Trias erklären, die eine Kombination aus reduziertem portalvenösem Blutfluss, Hyperkoagulabilität und Endothelschädigung umfasst (Intagliata et al., 2019; Senzolo et al., 2021). Eine klinische Studie zeigte, dass Patienten mit einem Pfortaderfluss von <15 cm/s ein signifikant höheres Risiko für eine PVT haben als Patienten mit einem Pfortaderfluss >15 cm/s (Stine et al., 2018).

Die Leberzirrhose ist mit Veränderungen der Hämostase verbunden, die das Gleichgewicht in Richtung Hyperkoagulabilität verschieben (Intagliata et al., 2019; Senzolo et al., 2021). Charakteristisch sind ein erhöhter Spiegel von Faktor VIII (FVIII) sowie eine Verminderung des Protein C (PC), das in seiner aktivierten Form (APC) physiologisch als Neutralisator von aktiviertem FVIII wirkt. Eine Verschiebung des PC/FVIII Verhältnisses kann das Risiko für eine Thrombusbildung erhöhen (Intagliata et al., 2019). Darüber hinaus weisen Patienten mit Leberzirrhose häufig erhöhte Plasmapiegel des von-Willebrand-Faktors (vWF) auf, der ebenfalls zur Hyperkoagulabilität beiträgt und das PVT-Risiko steigert.

Neben der systemischen Gerinnungsaktivierung können auch lokale Faktoren die Entstehung einer PVT begünstigen. Eine vermehrte Endothelschädigung der Pfortader durch bakterielle Translokation, lokale Entzündungsprozesse und Endotoxämie wurde als zusätzlicher Mechanismus beschrieben (Senzolo et al., 2021). Zudem können Therapien oder chirurgische Eingriffe im Zusammenhang mit Leberzirrhose oder malignen Lebertumoren, wie Hepatektomie oder Radioembolisation die Entwicklung einer PVT fördern. Auch nach Anlage eines transjugulären intrahepatischen Shunts (TIPS) kann es in Einzelfällen zur Thrombosebildung kommen (Intagliata et al., 2019).

Neben der Leberzirrhose sind weitere Lebererkrankungen mit einem erhöhten PVT-Risiko assoziiert. Dazu zählen alkoholbedingte Lebererkrankungen, Virushepatitiden, kryptogene Leberzirrhose, Autoimmunhepatitis und die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (Rajani et al., 2010).

1.1.6 Myeloproliferative Neoplasien

1.1.6.1 Formen

MPN sind klonale Erkrankungen der hämatopoetischen Stammzellen, die durch eine unkontrollierte Vermehrung differenzierter Blutzellen gekennzeichnet sind. Sie gehören zu den malignen hämatologischen Erkrankungen und umfassen unter den Philadelphia-negativen Formen insbesondere Polycythaemia Vera (PV), essenzielle Thrombozythämie (ET) und primäre Myelofibrose (PMF) (Nangalia und Green, 2017). Während PV vorrangig durch eine übermäßige Erythropoese charakterisiert ist, steht bei ET die gesteigerte Produktion von Thrombozyten im Vordergrund. Bei PMF führt die klonale Expansion hämatopoetischer Vorläuferzellen zu einer reaktiven Knochenmarkfibrose mit zunehmender hämatopoetischer Insuffizienz (Greenfield et al., 2021).

1.1.6.2 Mutationen

Die molekulargenetische Grundlage der MPN beruht auf somatischen Mutationen, die in den betroffenen Zellklonen nachweisbar sind und sich gegenseitig ausschließen. Die häufigsten sind Mutationen im Januskinase-2-Gen (JAK2), im Calreticulin-Gen (CALR) und im Thrombopoetin-Rezeptor-Gen (MPL). Während bei PV in über 95 % der Fälle eine JAK2-V617F-Mutation nachweisbar ist, treten CALR- oder MPL-Mutationen hier nicht auf. Bei ET liegt die JAK2-V617F-Mutation in etwa 60 % der Fälle vor, während CALR- und MPL-Mutationen mit einer Prävalenz von etwa 20 % bzw. 3 % beschrieben sind. Bei PMF zeigt sich eine ähnliche Verteilung mit einer JAK2-Mutationshäufigkeit von etwa 60 %, CALR-Mutationen in 25 % und MPL-Mutationen in 7 % der Fälle (Tefferi und Pardanani, 2015).

Bezogen auf SVT haben epidemiologische Studien gezeigt, dass die JAK2-V617F-Mutation bei 17-35 % der Patienten mit PVT und 30-45 % der Patienten mit BCS nachgewiesen werden kann (Smalberg et al., 2012). Diese hohe Prävalenz unterstreicht die pathogenetische Bedeutung der Mutation im Kontext thrombotischer Komplikationen. Entsprechend ist das molekulargenetische Screening auf JAK2-V617F mittlerweile Bestandteil der Standarddiagnostik bei Patienten mit SVT (Smalberg et al., 2012).

1.1.6.3 Klinik der MPN und Thromboserisiko

MPN manifestieren sich typischerweise zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr (El-Sharkawy und Margolskee, 2021). Gemäß den Kriterien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) umfasst die Diagnostik neben klinischen Parametern das periphere Blutbild, die Untersuchung der Knochenmarkmorphologie, die Karyotypanalyse und molekulargenetische Tests (Kvasnicka, 2019). Neben der Gefahr der leukämischen Transformation oder einer fibrotischen Progression stellen thrombotische Komplikationen die häufigste und klinisch relevanteste Manifestation der MPN dar (Teffeni und Pardanani, 2015).

Das Thromboserisiko ist einerseits durch die erhöhte Zellzahl bedingt, andererseits durch funktionelle Veränderungen der Blutzellen, die zu einer Hyperkoagulabilität führen. Dazu zählen die verstärkte Expression von Adhäsionsmolekülen auf Thrombozyten und Leukozyten sowie eine vermehrte Sekretion proinflammatorischer Zytokine. Diese Prozesse fördern die Aktivierung des Endothels, was in Kombination mit oxidativem Stress und proteolytischen Enzyme aus Leukozyten zu einer prothrombotischen Gefäßveränderung führt (Barbui et al., 2013). Die pathophysiologische Bedeutung dieser Mechanismen zeigt sich auch in einer erhöhten Plasmakonzentration von Gerinnungsaktivierungsmarkern. Zudem konnte in Studien bei MPN-Patienten eine erworbene APC-Resistenz nachgewiesen werden (Barbui et al., 2013), die insbesondere bei Trägern der JAK2-V617F-Mutation mit ET oder PV ausgeprägt ist (Barbui et al., 2013). Zusätzlich wurde gezeigt, dass die Expression der JAK2-V617F-Mutation in Endothelzellen die Adhäsion mononukleärer Zellen verstärkt, was die prothrombotische Neigung weiter begünstigt (Farina et al., 2021).

1.1.6.4 Therapie und Thromboseprävention

Die Therapie der MPN zielt primär auf die Reduktion der klonalen Zellproliferation ab und hat gleichzeitig eine antiinflammatorische Wirkung (Moliterno et al., 2021). Zur Thromboseprophylaxe erhalten Patienten mit PV und ET in der Regel niedrig dosierte Acetylsalicylsäure (ASS), während bei Hochrisikopatienten eine zusätzliche zytoreduktive Therapie indiziert ist. Am häufigsten wird hierzu Hydroxyharnstoff eingesetzt, wobei Interferon-alfa und Busulfan als Alternativen zur Verfügung stehen (Teffeni und Pardanani, 2015). In den letzten Jahren wurden vermehrt JAK-Inhibitoren wie Ruxolitinib

in der Therapie von MPN eingesetzt, insbesondere bei symptomatischer PMF oder bei PV mit unzureichender Kontrolle durch konventionelle Therapie (Greenfield et al., 2021). Bei fortgeschrittener PMF stellt die allogene Stammzelltransplantation die einzige kurative Behandlungsoption dar (Teffeni und Pardanani, 2015).

1.1.7 Klinik der SVT

SVT werden häufig als Zufallsbefund diagnostiziert. In einer Studie, die zwischen 2007 und 2018 durchgeführt wurde, wurden etwa 45 % der SVT erst im Rahmen bildgebender Untersuchungen ohne spezifischen klinischen Verdacht entdeckt. Bei symptomatischen Patienten stehen Abdominalschmerzen als häufigstes Leitsymptom im Vordergrund, wobei etwa die Hälfte der Patienten primär aufgrund dieser Beschwerden ärztliche Hilfe sucht (Kawata et al., 2021).

Die klinische Präsentation einer PVT hängt vom Erkrankungsstadium ab. Im akuten Verlauf können Fieber, Abdominalschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Diarrhö auftreten. Chronische Verläufe sind häufig durch eine kavernöse Transformation der Pfortader mit begleitender Obstruktion gekennzeichnet, die eine portale Hypertonie und die Ausbildung periportalärer Kollateralvenen zur Folge haben kann. Das BCS kann sich im akuten Stadium durch Aszites und hepatische Nekrose äußern, während subakute Verläufe durch Zeichen der portalen Hypertension und eine zunehmende Leberzirrhose gekennzeichnet sind. Ein erheblicher Anteil der Patienten, etwa ein Viertel, bleibt jedoch asymptomatisch (Ageno et al., 2014).

Für die Diagnostik einer SVT ist der Ultraschall die Methode der ersten Wahl, insbesondere die farbkodierte Duplexsonographie, mit der sowohl thrombotische Verschlüsse als auch hämodynamische Veränderungen beurteilt werden können. In der Regel wird zur weiteren Abklärung eine Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt, um die genaue Lokalisation der Thrombose sowie mögliche zugrunde liegende Ursachen zu identifizieren (Intagliata et al., 2019).

Die Therapie richtet sich nach der Ätiologie und dem Stadium der Erkrankung. Die American Association of Liver Diseases empfiehlt eine Antikoagulation über mindestens drei Monate für Patienten mit akuter oder chronischer PVT. Bei Patienten mit einem persistierenden Risikofaktor, insbesondere bei begleitender MVT oder bei BCS, wird eine

dauerhafte Antikoagulation empfohlen (Ageno et al., 2014). Bei nachgewiesener MPN oder einer relevanten Thrombophilie ist ebenfalls eine unbefristete Antikoagulation indiziert (Shatzel et al., 2019).

Auch der Baveno-VII-Konsensus spricht sich für eine langfristige Antikoagulation bei Patienten mit dauerhaft erhöhtem Thromboserisiko aus. Dazu zählen unter anderem Patienten mit MPN, paroxysmaler nächtlicher Hämoglobinurie, Antiphospholipidsyndrom, Morbus Behcet oder einer spontanen Thrombose in der Anamnese (Elkrief et al., 2023). Die Wahl des Antikoagulans hängt von individuellen Faktoren ab, darunter Begleiterkrankungen des Patienten, Blutungsrisiko und Lokalisation der Thrombose. Häufig erfolgt zunächst eine Behandlung mit niedermolekularem Heparin, gefolgt von einer Umstellung auf Vitamin-K-Antagonisten (VKA) mit einer angestrebten International Normalized Ratio (INR) zwischen 2,0 und 3,0. Direkte orale Antikoagulantien (DOAK) werden zunehmend zur Therapie der SVT eingesetzt (Elkrief et al., 2023), sind jedoch für diese Indikation noch nicht zugelassen und bei schwerer Leberzirrhose kontraindiziert (Intagliata et al., 2019; Monaco et al., 2023).

Eine Rekanalisierung der betroffenen Venen gelingt in etwa 30 % der Fälle innerhalb von sechs Monaten, während eine spontane Rekanalisierung selten ist (Elkrief et al., 2023). Die wichtigste Komplikation der Antikoagulation ist das Blutungsrisiko (Kawana et al., 2021). Studien zeigen eine erhöhte Inzidenz gastrointestinaler Blutungen bei antikoagulierten Patienten mit SVT (Ageno et al., 2014). Die Herausforderung in der klinischen Praxis besteht in der Balance zwischen der Hyperkoagulabilität bei SVT-Patienten und dem durch die Antikoagulation erhöhten Blutungsrisiko. Invasive Therapieoptionen wie die Thrombolyse oder die Anlage eines TIPS kommen bei bestimmten Patienten in Betracht. TIPS können zur Senkung des portalen Drucks und zur Verbesserung der Durchblutung führen (Intagliata et al., 2019).

Die Prognose der Patienten mit SVT variiert in Abhängigkeit von der Grunderkrankung, dem Ausmaß der Thrombose und dem Vorliegen weiterer Risikofaktoren (Valeriani et al., 2019). Eine PVT ist mit einer einjährigen Gesamtüberlebensrate von etwa 69 % und einer Fünf-Jahres-Überlebensrate von 54 % assoziiert. Patienten ohne zugrunde liegende Malignität oder Leberzirrhose haben jedoch eine deutlich bessere Prognose, mit einer Überlebensrate von 92 % nach einem Jahr und 76 % nach fünf Jahren (Rajani et al., 2010).

1.2 Physiologie der Hämostase

Der Prozess der Hämostase gliedert sich in die primäre und sekundäre Hämostase, die simultan ablaufen. In der primären Hämostase bildet sich zunächst ein Thrombozytenaggregat, der sogenannte weiße Thrombus (Blutstillung). Während der sekundären Hämostase werden plasmatische Gerinnungsfaktoren kaskadenartig aktiviert, sodass ein Fibringerinnsel (roter Thrombus) entsteht, das den primären Thrombus stabilisiert (Blutgerinnung). Dieses Fibringerinnsel ermöglicht die Einleitung von Reparaturprozessen und wird schließlich durch das fibrinolytische System wieder abgebaut (Walzog und Fandrey, 2010).

1.2.1 Primäre Hämostase

Die primäre Hämostase lässt sich in drei aufeinanderfolgende Phasen einteilen: Thrombozytenadhäsion, -aktivierung und -aggregation. Die Thrombozytenzahl im peripheren Blut liegt physiologisch bei etwa 170-400 G/l. Die primäre Hämostase ist normalerweise innerhalb von 2-4 Minuten abgeschlossen (Walzog und Fandrey, 2010).

Nach einer Verletzung des Gefäßendothels werden subendotheliale Kollagenfasern freigelegt. Der von-Willebrand-Faktor (vWF), ein essenzielles Protein für die initiale Thrombozytenadhäsion, stammt vorwiegend aus Endothelzellen. Thrombozyten binden über ihren Oberflächenrezeptorkomplex Glykoprotein (GP) Ib/IX/V zunächst indirekt mittels vWF an die Kollagenfasern des verletzten Gefäßes. Zusätzlich interagieren Thrombozyten auch direkt über GP Ia/IIa und GP VI mit freigelegten Kollagenfasern, wodurch die stabile Adhäsion ermöglicht wird (Hoth und Wischmeyer, 2017; Walzog und Fandrey, 2010).

Der Thrombozytenadhäsion folgt die Thrombozytenaktivierung. Dabei werden zunächst Inhaltsstoffe aus den Granula der Thrombozyten freigesetzt, darunter vasoaktive Substanzen (Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin, Katecholamine), Gerinnungsfaktoren (Faktor (F)V, FVIII und Fibrinogen), Wachstumsfaktoren sowie adhäsive Proteine (vWF und Thrombospondin). Durch die Aktivierung kommt es zur Formveränderung der Thrombozyten mit Ausbildung von Pseudopodien und Expression des GP-IIb/IIIa-Rezeptorkomplexes auf der Thrombozytenoberfläche („visköse Metamorphose“). Über GP IIb/IIIa vermitteln insbesondere Fibrinogen und Thrombospondin innerhalb kurzer Zeit (etwa eine Minute) die Aggregation der

Thrombozyten zum weißen Thrombus. Parallel bewirken ADP, Serotonin und Katecholamine eine Vasokonstriktion, wodurch der Blutfluss reduziert wird (Hoth und Wischmeyer, 2017; Walzog und Fandrey, 2010).

Aktivierete Thrombozyten bilden außerdem Thromboxan A₂ und den Platelet Activating Factor (PAF). Thromboxan A₂ wirkt stark vasokonstriktorisch und fördert die weitere Thrombozytenaktivierung. Insgesamt verstärken und stabilisieren ADP, Thromboxan A₂ und PAF die primäre Hämostase (Walgog und Fandrey, 2010).

1.2.2 Sekundäre Hämostase

Während der sekundären Hämostase entsteht der sogenannte rote Thrombus, bestehend aus Fibrinfäden sowie darin eingelagerten Zellen wie Erythrozyten und Leukozyten. Die sekundäre Hämostase gliedert sich in drei Phasen: Aktivierungsphase, Koagulationsphase und Retraktionsphase. Dabei werden Gerinnungsfaktoren in einer kaskadenartigen Abfolge aktiviert und mit römischen Zahlen bezeichnet, wobei der Suffix „a“ für die aktivierte Form steht (Hoth und Wischmeyer, 2017; Walzog und Fandrey, 2010). In der Aktivierungsphase unterscheidet man einen exogenen („extrinsischen“) von einem endogenen („intrinsischen“) Weg, die simultan ablaufen und auf einer gemeinsam Endstrecke zusammengeführt werden. Der exogene Aktivierungsweg beginnt mit dem Tissue Factor (TF, Gewebefaktor), der subendothelial lokalisiert ist und bei Gefäßverletzungen freigelegt wird. TF bildet zusammen mit FVIIa, Calcium und Phospholipiden einen Komplex, der FX zu FXa aktiviert. Dieser exogene Weg initiiert die Blutgerinnung primär. Der endogene Weg verstärkt diesen Vorgang und beginnt durch Kontaktaktivierung von FXII durch negativ geladene Oberflächen in Anwesenheit von Präkallikrein und Kininogen. FXIIa aktiviert FXI zu FXIa, und FXIa wiederum aktiviert FIX zu FIXa. FIXa bildet gemeinsam mit FVIIIa, Calcium und Phospholipiden einen Komplex, der ebenfalls FX zu FXa aktiviert. Beide Wege münden in der Aktivierung von FX, sodass in der gemeinsamen Endstrecke Prothrombin (FII) durch den Prothrombinase Komplex, bestehend aus FXa, FVa, Phospholipiden und Calcium, zu aktivem Thrombin (FIIa) umgewandelt wird. Calcium bindet den Prothrombinase-Komplex an negativ geladene Phospholipide der Zellmembran und erhöht so dessen Aktivität. Das aktivierte Thrombin verstärkt die Gerinnung zusätzlich über positive Rückkopplungsmechanismen, indem es die Faktoren V, VIII und XI aktiviert. Gleichzeitig limitiert der Tissue Factor Pathway

Inhibitor (TFPI) die Gerinnung und verhindert eine überschießende Aktivierung (Hoth und Wischmeyer, 2017; Walzog und Fandrey, 2010).

In der Koagulationsphase spaltet Thrombin aus löslichem Fibrinogen Peptide ab, wodurch Fibrinmonomere entstehen. Diese lagern sich zunächst durch nicht-kovalente Bindungen zusammen. Der durch Thrombin aktivierte FXIIIa bildet anschließend kovalente Bindungen innerhalb der Fibrinpolymere, wodurch stabile Fibrinfäden entstehen, die den Thrombozytenthrampus umgeben. Thrombozyten und Fibrinfäden sind dabei über GP IIb/IIa verbunden (Walgog und Fandrey, 2010).

In der abschließenden Retraktionsphase erfolgt eine Volumenreduktion und Stabilisierung des Thrombus durch Kontraktion. Diese wird durch einen Anstieg der intrazellulären Calciumkonzentration in den Thrombozyten ausgelöst, welche das Aktin-Myosin-System aktiviert und zur Kontraktion des Gerinnsels führt (Hoth und Wischmeyer, 2017; Walzog und Fandrey, 2010). Abb. 2 stellt extrinsischen und intrinsischen Weg schematisch dar.

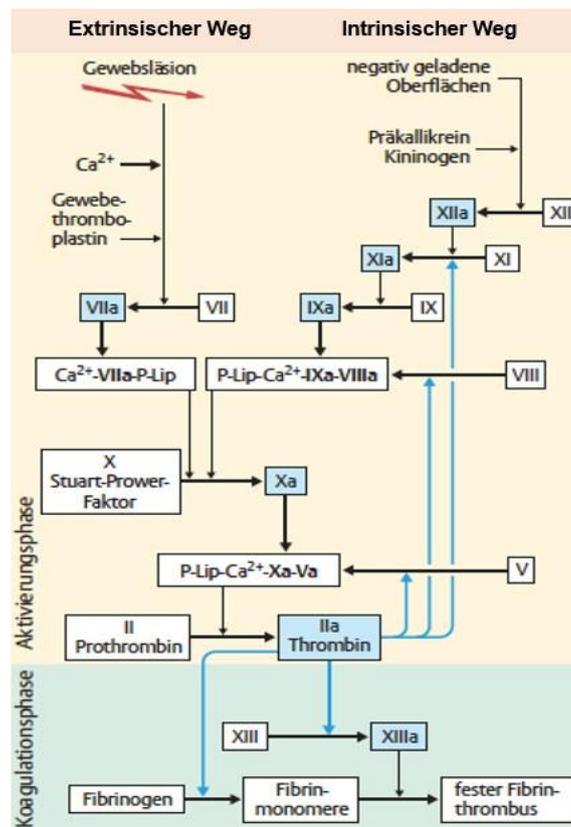


Abb. 2: Sekundäre Hämostase. Die römischen Ziffern bezeichnen die jeweiligen Gerinnungsfaktoren, der Suffix „a“ kennzeichnet jeweils die enzymatisch aktive Form. Abkürzungen: Ca²⁺, Calciumionen; P-Lip, Phospholipide (modifiziert entnommen aus Hoth und Wischmeyer, 2017)

1.2.3 Fibrinolyse

Als Fibrinolyse wird die Wiederauflösung eines Fibringerinnsels bezeichnet. Da auch im intakten Gefäßsystem regelmäßig kleine Mengen Fibrin entstehen, stellt die Fibrinolyse den physiologischen Gegenspieler der Hämostase dar. Das zentrale Enzym der Fibrinolyse ist Plasmin, welches durch proteolytische Spaltung aus seiner inaktiven Vorstufe, dem Plasminogen, entsteht. Verschiedene endogene und exogene Aktivatoren können diese Umwandlung bewirken. Wichtige endogene Aktivatoren sind der vom Endothel gebildete tissue-type Plasminogenaktivator (t-PA) oder die in den ableitenden Harnwegen exprimierte Urokinase (Walzog und Fandrey, 2010). Das gebildete Plasmin spaltet das Fibrinnetz in lösliche Fibrin-spaltprodukte (D-Dimere und andere Fragmente). Darüber hinaus baut Plasmin auch Gerinnungsfaktoren proteolytisch ab. Somit wirkt Plasmin sowohl fibrinolytisch als auch gerinnungshemmend (Hoth und Wischmeyer, 2017).

1.3 Regulationsmechanismen der Gerinnungsaktivierung: Pathophysiologie und SVT

Der menschliche Organismus verfügt über verschiedene Regulationsmechanismen, die das Gleichgewicht der plasmatischen Gerinnung aufrechterhalten. Diese Mechanismen greifen gezielt in den Hämostaseprozess ein, wodurch die aktivierte Gerinnung physiologisch auf den Ort der Gefäßverletzung begrenzt bleibt. Neben dem TFPI-System und dem Antithrombin (AT)-Heparin-System spielt dabei insbesondere das Protein-C (PC)-System eine wichtige Rolle, vor allem im Kontext der Pathogenese der SVT.

1.3.1 AT-Heparin-System

AT wirkt durch die Bildung stabiler Komplexe als physiologischer Inhibitor von Thrombin, FXa sowie weiterer Gerinnungsfaktoren. AT zirkuliert im Blut in einer schwach aktiven Form und erfährt erst durch die Interaktion mit Heparin eine Konformationsänderung, welche seine inhibitorische Wirkung stark erhöht. Heparin wird endogen in Mastzellen gebildet und liegt physiologisch als heparinartiges Molekül auf der Oberfläche von Endothelzellen vor; es kann zudem therapeutisch zur Antikoagulation verabreicht werden. Die gerinnungshemmende Wirkung von Heparin ist jedoch an die Anwesenheit ausreichender Mengen von AT im Blut gebunden. Ein angeborener AT-Mangel erhöht

daher das Risiko für thrombotische Ereignisse (Neumaier und Dorn-Beineke, 2009; Hoth und Wischmeyer, 2017; Walzog und Fandrey, 2010).

1.3.2 PC-System

PC wird Vitamin K-abhängig in der Leber synthetisiert und zirkuliert zunächst als inaktives Zymogen einer Serinprotease im Plasma (Walker, 1981). Thrombomodulin, ein am Endothel membrangebundenes Protein, kann im Blut zirkulierendes Thrombin binden. Dabei verliert Thrombin seine Fähigkeit, die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin zu katalysieren. Stattdessen aktiviert der Thrombin-Thrombomodulin-Komplex proteolytisch PC (Hoth und Wischmeyer, 2017; Walzog und Fandrey, 2010). Diese Aktivierung wird durch Bindung an den endothelialen Protein-C-Rezeptor (EPCR) verstärkt (Taylor et al., 2001).

Das entstandene APC bindet an Protein S (PS), das ebenfalls Vitamin-K-abhängig in der Leber synthetisiert wird und als essenzieller Kofaktor für APC fungiert (Walker, 1981). Der APC-PS-Komplex inaktiviert durch proteolytische Spaltung die Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa, wodurch die Thrombinbildung vermindert und somit die Gerinnung gehemmt wird (Hoth und Wischmeyer, 2017; Walzog und Fandrey, 2010).

Ein PC- oder PS-Mangel verschiebt das Gleichgewicht in Richtung Hyperkoagulabilität. Neben seiner gerinnungshemmenden Wirkung besitzt APC zusätzlich antiinflammatorische und zytoprotektive Eigenschaften. Veränderungen des PC-Spiegels können daher die Pathogenese thrombo-inflammatorischer Erkrankungen wie der Sepsis begünstigen. Gerade bei ungeklärten, rezidivierenden VTE, bei jungen Patienten oder familiärer Belastung ist eine Diagnostik auf angeborenen PC- und PS-Mangel im Rahmen einer Thrombophiliediagnostik sinnvoll. Hereditäre Mängel an PC und PS folgen einem autosomal-dominantem Erbgang (Dörner et al., 2006). Auch Antikoagulantien können das PC-System beeinflussen. Insbesondere VKA reduzieren aufgrund ihrer Wirkungsweise neben Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren auch PC und PS (Metze et al., 2022).

1.3.3 Weitere Thrombophilien

Unter dem Begriff Thrombophilien werden Erkrankungen zusammengefasst, die mit einer pathologischen Verschiebung des Gleichgewichts der plasmatischen Gerinnung in Richtung Hyperkoagulabilität einhergehen. Dabei unterscheidet man hereditäre und erworbene thrombophile Risikofaktoren (Dautaj et al., 2019).

Zu den hereditären Risikofaktoren zählen die bereits erwähnten Inhibitorenmängel AT-, PC- oder PS-Mangel sowie FVL und PTM (Neumaier und Dorn-Beineke, 2009). FVL und PTM sind dabei die beiden häufigsten genetischen Risikofaktoren für Thrombophilien (Emmerich et al., 2001; Qi et al., 2021). Beide beruhen auf einer Punktmutation im jeweiligen Gen: Bei der FVL entsteht ein veränderter FV bzw. FVa, der gegen eine Inaktivierung durch APC resistent ist (Qi et al., 2021). Bei homozygoter FVL ist das Thromboserisiko im Vergleich zur Normalbevölkerung bis zu 90-fach erhöht (Walzog und Fandrey, 2010). Die PTM hingegen verursacht eine erhöhte Prothrombin-Konzentration im Blut. (Qi et al., 2021).

In Metaanalysen wurde gezeigt, dass die FVL sowohl mit einem erhöhten Risiko der Entwicklung einer PVT als auch eines BCSs assoziiert ist. Hingegen wurde die PTM mit einem erhöhten Risiko für die PVT, jedoch nicht nicht oder in geringerem Umfang mit dem BCS assoziiert (Qi et al., 2021; Ageno et al., 2014). Aufgrund dieser Datenlage empfiehlt die American Association for the Study of Liver Diseases ein routinemäßiges Screening auf diese beiden Mutationen bei Patienten mit diagnostizierter PVT oder BCS (Qi et al., 2014).

Zu den erworbenen thrombophilen Risikofaktoren zählen unter anderem das Antiphospholipidsyndrom und die paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie (Hill et al., 2017; Parker et al. 2005).

1.3.4 Rolle des PC-Systems im Pathomechanismus der SVT

Die genaue Pathogenese der SVT ist bisher nicht vollständig geklärt und hängt wesentlich von der zugrunde liegenden Ätiologie ab. Wie bereits erwähnt, stellen MPN, nicht-hämatologische Malignome und Leberzirrhose die drei wesentlichen Risikogruppen für SVT dar. In allen drei Risikogruppen scheint das PC-System als zentraler antikoagulatorischer Regulationsmechanismus eine wichtige Rolle zu spielen.

Bei MPN-Patienten, insbesondere im Zusammenhang mit der JAK2-V617F-Mutation, wurde eine erworbene APC-Resistenz beschrieben, die wesentlich zur Hyperkoagulabilität beiträgt (Barbui et al., 2013; Farina et al., 2021). Diese erworbene APC-Resistenz unterscheidet sich von der bereits beschriebenen hereditären APC-Resistenz bei der FVL (siehe 1.3.3), zeigt jedoch ebenfalls eine verminderte Ansprechbarkeit der aktivierten Gerinnungsfaktoren V und VIII gegenüber APC. Zusätzlich wurde beschrieben, dass die Expression der JAK2-V617F-Mutation in Endothelzellen selbst prothrombotische Veränderungen bewirkt, welche die APC-Resistenz weiter verstärken könnten (Farina et al., 2021). Im Kontext nicht-hämatologischer Malignome spielt eine verstärkte Thrombinbildung eine zentrale Rolle (siehe Abschnitt 1.1.4). Dabei fördern mehrere Mechanismen wie erhöhte Expression von TF und direkte Aktivierung oder Schädigung endothelialer Zellen die Entstehung einer Hyperkoagulabilität (Hisada und Mackman, 2017; Grover et al., 2021). Diese vermehrte Thrombinbildung könnte wiederum durch das PC-System als physiologischen Gegenspieler partiell kompensiert werden. Bei Patienten mit Leberzirrhose ist das PC-System, wie bereits dargestellt (siehe Abschnitt 1.1.5), ebenfalls erheblich beeinträchtigt. Hier besteht ein gestörtes Gleichgewicht zwischen gerinnungsförderndem FVIII einerseits sowie gerinnungshemmenden Proteinen (PC und PS) andererseits, wodurch die Thrombinbildung gesteigert wird (Tripodi et al., 2009; Gatt et al., 2010).

Zusammenfassend legen diese bereits bekannten pathophysiologischen Zusammenhänge nahe, dass Veränderungen des PC-Systems, sei es durch eine erworbene Resistenz, gestörte Balance zwischen Gerinnungsfaktoren oder erhöhte Thrombinbildung, zur erhöhten Thromboseneigung bei SVT-Patienten beitragen könnten. In der Arbeitsgruppe der Verfasserin konnte bereits gezeigt werden, dass die Plasmaspiegel der beiden Schlüsselenzyme des PC-Systems, Thrombin und APC, bei Patienten mit MPN erhöht sind (Berens et al., 2017). Ein ähnliches Bild findet sich bei Patienten mit hereditären thrombophilen Risikofaktoren wie FVL oder PTM (Rühl et al., 2018; Rühl et al., 2019).

1.4 Ziel der Arbeit

Da die Rolle des PC-Systems bei der Entstehung der SVT bislang nicht ausreichend untersucht wurde, war es das Ziel dieser Arbeit, die Hyperkoagulabilität bei Patienten mit SVT genauer zu charakterisieren. Hierzu sollten insbesondere die Plasmaspiegel der Schlüsselenzyme des PC-Systems, Thrombin und APC, sowie weiterer Marker der Gerinnungsaktivierung analysiert werden. Dabei wurde die Hypothese geprüft, ob sich Patienten mit SVT und begleitender MPN hinsichtlich der Aktivierung des PC-Systems von SVT-Patienten ohne MPN unterscheiden.

Zur Untersuchung dieser Hypothese wurden zwei Kohorten von SVT-Patienten gebildet und miteinander verglichen: SVT-Patienten mit nachgewiesener MPN (SVT-MPN⁺) und SVT-Patienten ohne nachweisbare MPN (SVT-MPN⁻). Zusätzlich wurden Plasmaproben gesunder Kontrollpersonen analysiert, um Referenzwerte der untersuchten Aktivierungsmarker zu erhalten.

Im Verlauf der Analysen stellte sich heraus, dass eine bestehende Antikoagulationstherapie einen relevanten Einfluss auf die gemessenen Marker hat. Deshalb erfolgte zusätzlich eine Subgruppenanalyse, in der der Einfluss der Antikoagulation auf die Aktivierungsmarker im Plasma genauer untersucht wurde.

2. Material und Methoden

2.1 Erläuterungen zu ethischen Aspekten

Das Studienvorhaben wurde vor Beginn der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn vorgelegt, die gegen dieses Vorhaben keine Bedenken erhoben hat (Aktenzeichen 191/15). Die Durchführung der Studie erfolgte im Einklang mit den ethischen Grundsätzen der Deklaration von Helsinki in der jeweils gültigen Fassung. Für alle in dieser Dissertation beschriebenen Studienmaßnahmen und ausgewerteten Daten lag eine vorher eingeholte schriftliche Einwilligung der betroffenen Personen vor. Der Schutz der Patientendaten wurde durch strikte Anonymisierung gewährleistet.

2.2 Material

2.2.1 Verwendete Chemikalien

KMF Laborchemie Handels GmbH, Lohmar, Deutschland:

Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4)

Kaliumchlorid (KCl)

Kaliumhydrogenphosphat (KH_2PO_4)

Magnesiumchlorid (MgCl_2)

Natriumchlorid (NaCl)

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deisenhofen, Deutschland:

Natriumcarbonat (Na_2CO_3)

Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3)

Tris-HCl 1mmol/l (pH 8,0)

2.2.2 Verwendete Reagenzien

AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland:

Streptavidin ultrapure

Bachem, Weil am Rhein, Deutschland:

Fluorogenes Thrombin-Peptidsubstrat I-1560 (Boc-Asp(OBzl)-Pro-Arg-AMC)

Baxter, Heidelberg, Deutschland:

Humanes Protein C Konzentrat

CellSystems Biotechnologie Vertrieb GmbH, St. Katharinen, Deutschland:

Humanes α -Thrombin

Eli Lilly, Indianapolis, USA:

Humanes rekombinantes APC

Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland:

Aqua dest. (Ampuwa[®])

Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Deutschland:

Dynabeads M-280 Streptavidin

Microsynth AG, Balgach, Schweiz:

Biotinyliertes Aptamer gegen APC (HSO2-52 G 3'-Bio)

Biotinyliertes Aptamer gegen Thrombin (HD1-22-3'-Bio)

Mitsubishi Tanabe Pharma GmbH, Düsseldorf, Deutschland:

Argatroban (Argatra[®])

PanReac AppliChem ITW Reagents, Darmstadt, Deutschland:

Aprotinin

Pentapharm, Basel, Schweiz

Fluorogenes APC-Peptidsubstrat Pefafluor PCa (Pyroglu-Pro- Arg-AMC)

The Medicines Company, Oxfordshire, Vereinigtes Königreich

Bivalirudin

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland:

Bovines Serumalbumin (BSA)

BSA-Biotin

Tween 20

2.2.3 Verwendete Pufferlösungen

1-fach Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS), pH 7,4:

137 mmol/l NaCl

9,6 mmol/l Na₂HPO₄

2,7 mmol/l KCl

1,5 mmol/l KH₂PO₄

Aptamerpuffer, pH 7,4:

1 mg/ml BSA

3 mmol/l MgCl₂

1-fach PBS

Blockpuffer, pH 7,4:

20 mg/ml BSA

1-fach PBS

0,05 % Tween 20

Coating-Puffer, pH 9,0:

Aqua dest.

200 mmol/l NaHCO₃

30 mmol/l Na₂CO₃

Tris-gepufferte Kochsalzlösung (TBS)-Substratpuffer, pH 8,5:

4 mmol/l CaCl₂

154 mmol/l NaCl

10 mmol/l TrisHCl

(TBS)-Aptamerpuffer, pH 7,6:

1 mg/ml BSA
1 mmol/l CaCl₂
1 mmol/l MgCl₂
154 mmol/l NaCl
10 mmol/l Tris HCl
0,05% Tween 20

TBS-Waschpuffer, pH 7,6:

1 mmol/l CaCl₂
1 mmol/l MgCl₂
154 mmol/l NaCl
10 mmol/l Tris HCl
0,05% Tween 20

Waschpuffer, pH 7,4:

3 mmol/l MgCl₂
1-fach PBS
0,05 % Tween

2.2.4 Verwendete Materialien

Axygen Scientific, Union City, CA, USA:

PlateMax[®] Polyesterklebefolie für 96-Well Mikrotiterplatte

B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland:

Vasofix Safty[®] Venenverweilkanüle, 21G

Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland:

1-Kanal-Pipetten (0,5-10 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl, 0,5-5 ml)
8-Kanal-Pipetten (10-100 µl, 30-300 µl)
epT.I.P.S.[®] Pipettenspitzen
Reagiergefäße (1,5 und 2 ml)

Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich:

Zentrifugierröhrchen (15 ml und 50 ml)

Millipore, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland:

Polyvinylidendifluorid-Membran

Nunc A/S, Roskilde, Dänemark:

Maxisorp Fluoronunc 96-Well Mikrotiterplatte weiß

Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland:

Safety-Multifly[®]-Kanüle, 21G

S-Monovette[®] Gerinnungsanalytik Citrat 9NC 3ml

S-Monovette[®] Gerinnungsanalytik EDTA

21G- und 23G-Butterfly-Nadel

2.2.5 Verwendete Geräte

Bio-Rad Laboratories GmbH, Feldkirchen, Deutschland:

Chemilumineszenzdetektor ChemiDoc MP Imaging System

BioTek Instruments GmbH, Bad Friedrichshall, Deutschland:

ELx50 Microplate-Washer

Synergy 2 Plate Fluorescence Reader

Cenco Instrumenten B.V., Breda, Niederlande:

Vortex-Gerät

Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland:

Kühlzentrifuge 5810 R

Thermomixer comfort 5355

Tischzentrifuge 5804

Gesellschaft für Labortechnik GmbH, Burgweder, Deutschland:

Digitalwaage, Modell PL 1200

Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland:

Atellica® Coag 360 System

Sysmex, Kobe, Japan

XN-1000-Hematology Analyzer

Thermo Fischer Scientific GmbH, Dreieich, Deutschland:

Fluoroskan Ascent FL

2.2.6 Verwendete kommerziell erhältliche Assays

Tab. 2 listet die kommerziell erhältlichen Assays auf, die im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden.

Tab. 2: Verwendete kommerziell erhältliche Assays.

Parameter	Artikel	Hersteller
Anti-β2 Glykoprotein I IgG	REAADS Anti-Beta2 Glycoprotein I IgG	Diapharma Group, West Chester, USA
Anti-β2 glycoprotein I IgM	REAADS Anti-Beta2 Glycoprotein I IgM	Diapharma Group, West Chester, USA
Anti-Cardiolipin IgG and IgM	Aeskulisa Phospholipid Screen GM	Aesku diagnostics, Wendelsheim, Deutschland
Antithrombin	Berichrom Antithrombin III	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
Aktivierte partielle Thromboplastinzeit	Actin FS	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
Dilute Russell Viper Venom Time	LA1, LA2	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
D-Dimer	INNOVANCE D-Dimer	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland

Parameter	Artikel	Hersteller
Faktor-V-Leiden- und Prothrombin-G20210A-Mutation	FV-PTH mpx RealFast	ViennaLab Diagnostics, Wien, Österreich
Fibrinogen (nach Clauss)	Multifibren U	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
Freies Protein S	INNOVANCE Free PS Ag	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
International normalized ratio	Dade Innovin	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
Lupusantikoagulanz	Actin FS, Actin FSL	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
Plasmin- α 2-Antiplasmin-Komplex	TECHNOZYM PAP complex ELISA	Technoclone, Wien, Österreich
Prothrombinfragment 1+2	Enzygnost F1+2 (monoclonal)	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
Protein C	Berichrom Protein C	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
Thrombin-Antithrombin-Komplex	TAT micro	Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland
tissue-type Plasminogenaktivator (Antigen)	t-PA ELISA	Technoclone, Wien, Österreich

2.3 Patienten und Methoden

2.3.1 Probandenrekrutierung

Die Probanden für diese prospektive Studie wurden zwischen Januar 2022 bis Dezember 2023 am Universitätsklinikum Bonn eingeschlossen. Die Rekrutierung der Patienten mit SVT erfolgte durch konsiliarische Überweisung an die hämostaseologische Ambulanz des Instituts für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin. Als gesunde Kontrollpersonen dienten freiwillige Blutspender, die über den Blutspendedienst des Instituts rekrutiert wurden.

2.3.2 Zulassungskriterien der Studienteilnehmer

Die Studienteilnahme erforderte ein Mindestalter von 18 Jahren. Nach Erteilung der Einwilligung erfolgte eine Prüfung der Eignung sowohl für die Patienten mit SVT als auch für die gesunden Kontrollpersonen. Alle Studienteilnehmer durchliefen ein Thrombophilie-

Screening, das die Bestimmung von AT, PC, freiem PS, Dilute Russell Viper Venom Time, Lupus-sensitiver und Lupus-unsensitiver aktivierter partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) sowie Anti-Cardiolipin- und Anti- β 2-Glykoprotein-I-Antikörpern beinhaltet, ergänzt um Untersuchungen auf FVL und PTM. Auffällige Befunde im Thrombophilie-Screening führten bei den gesunden Kontrollpersonen zum Studienausschluss. Aufgrund des Nachweises einer FVL wurden zwei Probanden von der Studie ausgeschlossen.

Die detaillierte Übersicht zu Einschluss- und Ausschlusskriterien ist als Flussdiagramm in Abb. 3 dargestellt.

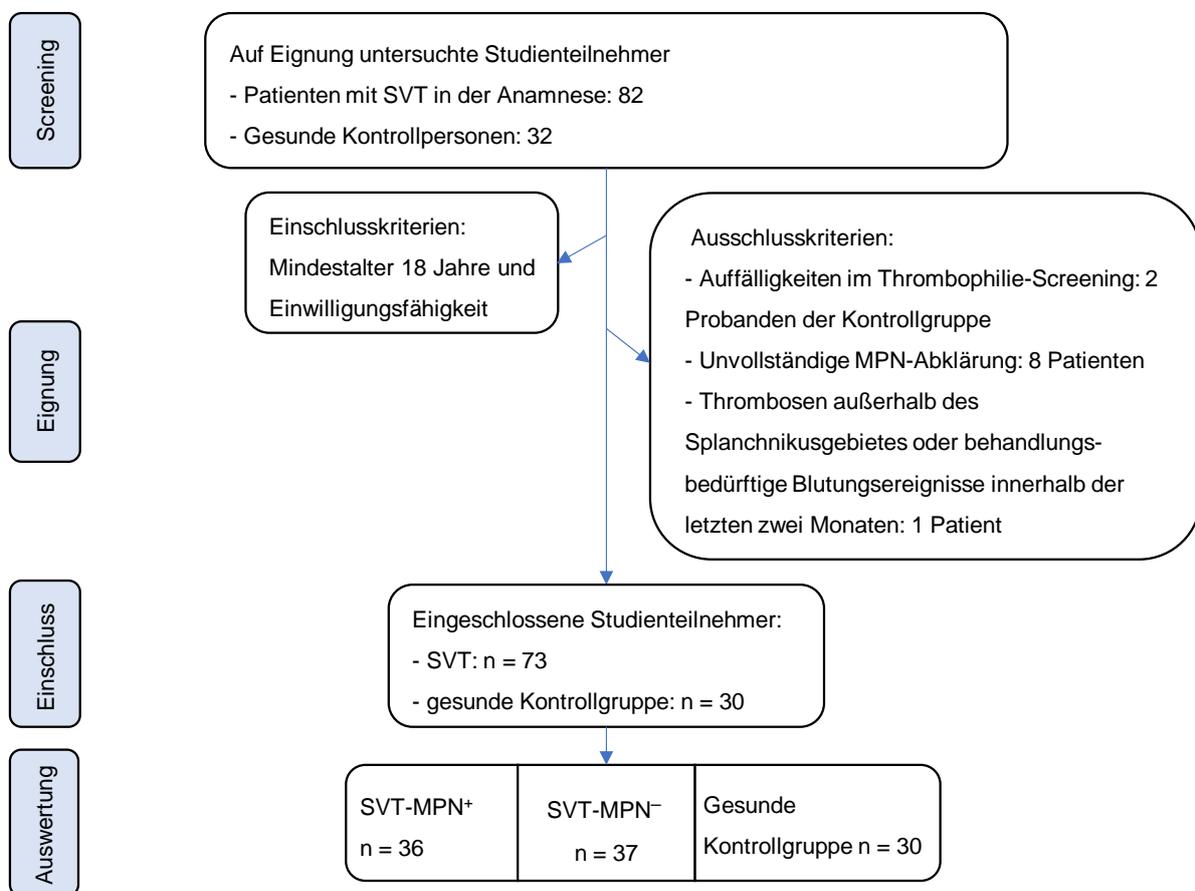


Abb. 3: Flussdiagramm. Dargestellt sind die Einschluss- und Ausschlusskriterien für Patienten mit splanchnischer Venenthrombose (SVT) sowie für gesunde Kontrollpersonen. Patienten wurden retrospektive auf Basis vorliegender Krankenakten hinsichtlich des Vorliegens einer myeloproliferativen Neoplasie (MPN) überprüft. Unvollständige diagnostische Abklärung, thrombophile Risikofaktoren bei gesunden Kontrollpersonen, Thrombosen außerhalb des Splanchnikusgebietes sowie Blutungskomplikationen innerhalb der letzten zwei Monate vor Studieneinschluss führten zum Ausschluss (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

Patienten mit bekannter SVT, einschließlich PVT, MVT, Milzvenenthrombose oder BCS, wurden bezüglich des Vorliegens einer MPN überprüft. Dabei erfolgte eine retrospektive Auswertung der vorliegenden Befunde aus der Krankenakte. Berücksichtigt wurden dabei insbesondere ein vollständiges Blutbild, die mikroskopische Beurteilung des peripheren Blutaussstrichs sowie Ergebnisse molekulargenetischer Analysen auf MPN-assoziierte klonale Mutationen. Bei auffälligen Befunden wurde geprüft, ob zur Diagnosesicherung bereits eine Knochenmarkbiopsie durchgeführt worden war. In allen Fällen mit dokumentierter MPN (SVT-MPN⁺) war die Diagnose durch eine Knochenmarksbiopsie gesichert. Acht Patienten wurden aufgrund einer unvollständigen diagnostischen Abklärung hinsichtlich einer MPN von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Weitere Ausschlusskriterien waren arterielle oder venöse Thrombosen außerhalb des Splanchnikusgebietes sowie Blutungsereignisse, sofern diese innerhalb der letzten zwei Monate vor Studieneinschluss aufgetreten waren und medizinisch behandelt werden mussten. Aus diesem Grund wurde ein Patient ausgeschlossen, bei dem kürzlich eine gastrointestinale Blutung aufgetreten war, welche eine Bluttransfusion erforderte.

2.3.3 Präanalytik und Probenentnahme

Die Blutentnahme erfolgte mittels einer 21G- oder 23G-Butterfly-Kanüle aus einer geeigneten peripheren Vene in Citratmonovetten mit einer Endkonzentration von 10,5 mmol/l Natriumcitrat. Für die Bestimmung von Thrombin wurde diesen Abnahmeröhrchen Argatroban (Endkonzentration 100 µmol/l) zugegeben. Für die Bestimmung von APC wurde ihnen Bivalirudin (Endkonzentration 250 µg/ml) und Aprotinin (Endkonzentration 10 µmol/l) zugegeben. Die Patienten setzten während der Vorstellung zur Blutentnahme ihre reguläre Antikoagulantientherapie fort, um realitätsnahe Bedingungen sicherzustellen und repräsentative Biomarkerwerte unter bestehender Antikoagulation zu erhalten. Initial wurden jeweils die ersten 2 ml Blut verworfen bzw. für die molekulargenetische Thrombophiliediagnostik verwendet. Nach der Blutentnahme wurden die Röhrchen bis zur Zentrifugation maximal 30 Minuten bei Raumtemperatur gelagert. Die Zentrifugation erfolgte bei 2600 × g für 10 Minuten, anschließend wurde das Plasma separiert und bis zur Analyse bei ≤ -70°C gelagert (Reda et al., 2025).

2.3.4 Laboranalytik

2.3.4.1 Bestimmung von Thrombin und APC mittels OECA

Die Methode des Oligonucleotide-based enzyme capture assay (OECA) zur Bestimmung von Thrombin bzw. APC wurde erstmals von Müller beschrieben (Müller et al., 2011; Müller et al., 2012) und fand bereits in früheren Studien Anwendung (Rühl et al., 2018; Rühl et al., 2019). Bei dieser Methode wird Thrombin oder APC durch spezifische Bindung an ein Aptamer immobilisiert und über die Hydrolyserate eines fluorogenen Peptidsubstrates quantitativ gemessen. (Müller et al., 2012).

2.3.4.1.1 OECA zur Thrombinbestimmung

Die Blutentnahme erfolgte wie in Abschnitt 2.3.3 beschrieben in Natriumcitrat-Monovetten (Endkonzentration 10,5 mmol/l), denen zusätzlich Argatroban (Endkonzentration 100 µmol/l) zugesetzt war. Argatroban bindet reversibel an das aktive Zentrum sowohl von freiem als auch fibrin gebundenem Thrombin und besitzt eine Eliminationshalbwertszeit von ca. 39-51 Minuten (McKeage und Plosker, 2001). Der Zusatz von Argatroban im Abnehmeröhrchen (s. Abschnitt 2.3.3) verhindert die Komplexbildung zwischen Thrombin und seinen physiologischen Inhibitoren wie Antithrombin (Müller et al., 2011).

Zur Durchführung des OECA wurde eine 96-Well-Mikrotiterplatte verwendet. Die Wells wurden zunächst über Nacht bei 4°C mit jeweils 100 µl einer Lösung aus 10 µg/ml BSA-Biotin in Coating-Puffer beschichtet. Danach erfolgte eine dreimalige automatische Waschung der Wells mit jeweils 300 µl Waschlösung.

Im nächsten Schritt wurden 100 µl einer Streptavidinlösung (10 µg/ml in Aptamerpuffer) in jedes Well gegeben und für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Die Streptavidin-Beschichtung diente der Immobilisierung der anschließend eingesetzten biotinylierten Aptamere. Es folgten erneut drei automatische Waschschrte mit jeweils 300 µl Waschlösung.

Nachfolgend wurden die Wells durch Zugabe von jeweils 200 µl Blockpuffer für zwei Stunden bei Raumtemperatur blockiert. Anschließend wurde der Blockpuffer abgesaugt und die Mikrotiterplatten bis zur späteren Verwendung bei -20°C eingefroren.

Zur Durchführung des eigentlichen Tests wurden die Wells mit dem 3'-biotinylierten Anti-Thrombin-Aptamer HD1-22 beschichtet. Dazu wurde das Aptamer auf eine Konzentration von 10 nmol/l im Aptamerpuffer verdünnt und je 100 µl pro Well aufgetragen. Nach einer

Inkubation von einer Stunde bei Raumtemperatur wurden die Wells wiederum dreimal mit Waschpuffer gewaschen.

Zur Kalibrierung wurde gepooltes Citratplasma (mit Argatroban in einer Endkonzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ und Thrombin) in einer halblogarithmischen Verdünnungsreihe von 10 ng/ml bis 0 ng/ml Thrombin (entspricht 272 pmol/l bis 0 pmol/l Thrombin) verwendet. Als interne Qualitätskontrollen dienten Proben aus gepooltem Normalplasma, denen definierte Mengen Thrombin (13,6 und 136 pmol/L) zugesetzt war. Anschließend wurden Kalibratoren, Kontroll- sowie Patientenproben zu je 100 μl pro Well pipettiert und für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Danach erfolgte zunächst ein manueller Waschschrift mittels 8-Kanal-Pipette zur Vermeidung einer Kontamination der Wells, gefolgt von drei automatisierten Waschschriften mit jeweils 250 μl Waschpuffer (Müller et al., 2011).

Abschließend wurde das fluorogene Thrombin-Peptidsubstrat Pefafluor I-1560 in einer Konzentration von 100 $\mu\text{mol/l}$ in TBS-Substratpuffer zu je 100 μl auf jedes Well gegeben. Unmittelbar nach Zugabe des Substrats erfolgte eine initiale Messung der Fluoreszenzintensität (Leerwert), nach 2 Stunden Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Endmessung durchgeführt. Die Thrombinkonzentrationen in den Proben konnten anschließend anhand der Standardkurve berechnet werden (Müller et al., 2011). In allen Messläufen wurden Aliquots derselben Kontrollproben verwendet. Bei einer Abweichung der gemessenen Kontrollwerte von den Sollwerten um mehr als 10% wurde der gesamte Testlauf wiederholt.

2.3.4.1.2 OECA zur APC-Bestimmung

Die Blutentnahme erfolgte wie in Abschnitt 2.3.3 beschrieben in Natriumcitrat-Monovetten (Endkonzentration 10,5 mmol/l), denen zusätzlich Aprotinin (Endkonzentration 10 $\mu\text{mol/l}$) und Bivalirudin (Endkonzentration 250 $\mu\text{g/ml}$) zugesetzt war. Bivalirudin verhindert hierbei sowohl die Gerinnung des rekalkifizierten Plasmas (s.u.) als auch die PC-Aktivierung durch generiertes Thrombin.

Die Vorbereitung der Mikrotiterplatten (Beschichtung mit BSA-Biotin, Immobilisierung von Streptavidin sowie die Wasch- und Blockierschritte) erfolgte analog zur oben beschriebenen Thrombinbestimmung (Abschnitt 2.3.4.1.1). Danach wurden die Wells mit dem APC-spezifischen 3'-biotinylierten ssDNA-Aptamer HSO2-52G (Konzentration 1

nmol/l im TBS-Aptamerpuffer) beladen, indem die Aptamerlösung zu je 100 µl pro Well aufgetragen und für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert wurde. Danach wurden die Wells erneut dreimal mit TBS-Waschpuffer gewaschen (Müller et al., 2012). Vor der eigentlichen Messung konnten die vorbereiteten Mikrotiterplatten bis zu acht Wochen bei -20°C gelagert werden.

Zur Kalibrierung wurde analog zum Thrombin-OECA eine halblogarithmische Standardkurve mit Poolplasma erstellt, welches rekombinantes APC enthielt. Die Konzentration betrug dabei 0 bis 10,0 ng/ml APC, entsprechend 0 bis 182 pmol/l. Als interne Qualitätskontrollen wurden Aliquots von gepooltem Normalplasma verwendet, die mit definierten APC-Konzentrationen (9,1 und 91 pmol/l) versetzt waren.

Vor der Messung wurden die Patientenproben, Kontrollproben und Kalibratoren durch Zugabe von CaCl₂ (Endkonzentration 7,5 mmol/l) rekalzifiziert und anschließend in jeweils 100 µl pro Well pipettiert. Die Inkubation erfolgte für zwei Stunden bei Raumtemperatur. Danach wurden die Wells zunächst manuell mit einer 8-Kanal-Pipette geleert, um Kontaminationen zu vermeiden, gefolgt von drei automatischen Waschschritten mit je 250 µl TBS-Waschpuffer.

Für die fluorometrische Messung wurde anschließend das APC-spezifische fluorogene Peptidsubstrat Pefafluor PCa in einer Konzentration von 300 µmol/l in TBS-Substratpuffer zu je 100 µl in die Wells gegeben. Unmittelbar nach Substratzugabe erfolgte die Leerwertmessung, nach zwei Stunden Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Endmessung durchgeführt. Die APC-Konzentration der Proben wurde anschließend anhand der Standardkurve ermittelt (Müller et al., 2012). Bei einer Abweichung der Kontrollproben von mehr als 10 % wurde der jeweilige Messlauf vollständig wiederholt.

2.3.4.2 Laboranalytik mit kommerziell erhältlichen Assays

Zur weiteren Laboranalytik wurden kommerziell erhältliche Tests verwendet, die in Tabelle 2 aufgelistet sind. Gerinnungszeiten, auf Gerinnungszeit basierende Tests sowie die Parameter AT, PC, freies PS und D-Dimer wurden mit dem Atellica® COAG 360 System (Siemens Healthineers, Erlangen, Deutschland) und den zugehörigen Reagenzien bestimmt. Das Atellica® COAG 360 System ist ein automatisiertes Hämostase-Analysegerät, welches simultan verschiedene, standardisierte Gerinnungstests durchführen kann (Hörber et al., 2019).

Die Parameter Prothrombinfragment 1+2 (F1+2), Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT), Plasmin- α 2-Antiplasmin-Komplex (PAP) und tissue-type Plasminogenaktivator (t-PA) wurden mittels kommerziell erhältlicher Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) quantifiziert. Das Blutbild wurde mit dem automatisierten hämatologischen Analysesystem Sysmex XN-1000 (Sysmex, Kobe, Japan) bestimmt.

2.3.4.2.1 Bestimmung der Gerinnungszeiten

Die Messung der Gerinnungszeiten dient zur Diagnose von Gerinnungsstörungen sowie zur Überwachung einer antikoagulatorischen Therapie. Hierbei wird unterschieden zwischen der Thromboplastinzeit (TPZ) bzw. deren standardisierter Form, der INR, zur Untersuchung des extrinsischen Gerinnungssystems und der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT), die das extrinsische System sowie die gemeinsame Endstrecke der Gerinnung erfasst. Mit Hilfe von TPZ bzw. INR wird vor allem die Therapie mit VKA kontrolliert, während die aPTT insbesondere zur Verlaufskontrolle einer Heparintherapie eingesetzt wird.

Zur Ermittlung der TPZ wurde Citratplasma verwendet. Die Messung erfolgte durch Zugabe von konzentriertem TF, wodurch das intrinsische System aktiviert wurde. Die Zeit bis zur Bildung von Fibrin wurde anschließend photometrisch erfasst. Der INR-Wert wurde durch Normierung der TPZ des Patientenplasmas auf die TPZ eines Normalplasma-Pools berechnet. Das verwendete TF-Reagenz (Innovin®, Siemens Healthineers) ist international standardisiert, wodurch der INR-Wert laborübergreifend vergleichbar ist (Dörner et al., 2006; Hoth und Wischmeyer, 2017).

Für die Bestimmung der aPTT wurde Citratplasma verwendet, das zunächst durch Zugabe eines Oberflächenaktivators sowie eines Phospholipidreagenzes aktiviert wurde. Anschließend erfolgte durch Zugabe von Calciumionen die Auslösung der intrinsischen Gerinnungskaskade und die Zeit bis zur Fibrinbildung wurde photometrisch gemessen. In der vorliegenden Studie wurde hierfür das Actin®-System (Siemens Healthineers) eingesetzt (Siemens, 2013).

2.3.4.2.2 Bestimmung von Aktivierungsmarkern der Gerinnung und Fibrinolyse

Zur Erfassung der Gerinnungs- und Fibrinolyseaktivierung wurden die Plasmakonzentrationen von F1+2, TAT, PAP, t-PA und D-Dimere quantifiziert. Die verwendeten Assays und Hersteller sind in Tabelle 2 dargestellt.

F1+2 ist ein sensitiver Indikator der intravasalen Thrombinbildung, da es bei der proteolytischen Spaltung von Prothrombin zu Thrombin entsteht (Dörner et al., 2006). Die F1+2-Konzentration wurde mittels eines Sandwich-ELISA bestimmt. Dabei binden zunächst immobilisierte Antikörper das F1+2-Antigen aus der Plasmaprobe. Anschließend erfolgt die Detektion mithilfe eines zweiten enzymmarkierten Antikörpers, dessen Aktivität nach Zugabe eines chromogenen Substrats (Tetramethylbenzidin) photometrisch bei 492nm bestimmt wird. Die Konzentration ergibt sich aus einer zugehörigen Kalibrierkurve (Siemens, 2013).

Mit den Markern TAT und PAP lässt sich die Menge an Thrombin bzw. Plasmin bestimmen, die im Plasma an ihre spezifischen endogenen Inhibitoren gebunden sind (Rühl et al., 2015). TAT entsteht, wenn Thrombin mit AT Komplexe bildet, was durch Heparin und andere Glykosaminoglykane begünstigt wird (Dörner et al., 2006). PAP-Komplexe bilden sich analog durch die Bindung von Plasmin an α 2-Antiplasmin und zeigen somit eine gesteigerte fibrinolytische Aktivität an (Dörner et al., 2006). Die quantitative Bestimmung beider Marker erfolgte ebenfalls mit Sandwich-ELISA-Verfahren nach dem oben beschriebenen Prinzip, wobei enzymmarkierte Zweitantikörper jeweils spezifisch gegen AT (bei TAT) oder gegen α 2-Antiplasmin eingesetzt wurden (Collen, 1979; Heimburger und Pelzer, 1988).

D-Dimere entstehen bei der sekundären fibrinolytischen Spaltung von vernetztem Fibrin durch Plasmin. Aufgrund ihrer kurzen Halbwertszeit von etwa 9-10 Stunden eignen sie sich klinisch insbesondere zum Ausschluss von VTE, da eine niedrige Konzentration einen hohen negativen prädiktiven Wert aufweist (Dörner et al., 2006; Rühl et al., 2015). Die quantitative Bestimmung der D-Dimere erfolgte mittels Latex-Enzym-Immunoassay, bei dem die durch D-Dimer-Antikörper induzierte Trübung photometrisch erfasst und quantifiziert wurde (Madlener und Pöttsch, 2010; Siemens, 2013).

Der gewebespezifische Plasminogenaktivator t-PA katalysiert die Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin und reguliert dadurch physiologisch die fibrinolytische Aktivität. Therapeutisch wird t-PA zur Auflösung thrombotischer Gefäßverschlüsse genutzt

(Melchor und Strickland, 2005). Die t-PA-Konzentration wurde ebenfalls mittels Sandwich-ELISA bestimmt, wobei immobilisierte Antikörper zunächst t-PA aus dem Plasma binden und ein enzymmarkierter zweiter Antikörper die photometrische Messung nach Zugabe eines chromogenen Substrats bei 450 nm ermöglicht (Plas et al., 1998; Korninger et al., 1986).

2.3.4.2.3 Bestimmung der Gerinnungsinhibitoren AT, PC und PS

Die Plasmaspiegel von Protein C (PC), Protein S (PS) und Antithrombin (AT) wurden vollautomatisiert mittels des Atellica® Coag 360 Systems bestimmt. Die verwendeten Reagenzien sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die Bestimmung der AT-Aktivität erfolgte chromogen durch Zugabe von Faktor Xa und Heparin zum Citratplasma. Der im Plasma enthaltene AT bindet dabei an Faktor Xa, wodurch weniger freier Faktor Xa zur Verfügung steht. Die verbleibende Faktor-Xa-Aktivität wurde anhand der Geschwindigkeit der chromogenen Substratspaltung photometrisch bei 405 nm gemessen. Eine höhere Substratumsatzrate entspricht einer niedrigeren AT-Aktivität (Siemens, 2013). Die PC-Aktivität wurde ebenfalls chromogen bestimmt. Hierfür wurde Protein C zunächst durch das Schlangengift Protac® (Agkistrodon contortrix) aktiviert und anschließend die Aktivität des entstandenen aktivierten Protein C (APC) anhand der Spaltung eines chromogenen Substrats bei 405 nm quantifiziert. Das freie PS-Antigen wurde turbidimetrisch gemessen, indem Antikörper-beladene Polystyrolpartikel mit freiem Protein S aus der Plasmaprobe Komplexe bildeten. Die daraus resultierende Trübung, die proportional zur freien PS-Konzentration ist, wurde photometrisch erfasst (Dörner et al., 2006; Siemens, 2013).

2.3.5 Statistische Auswertung

Die Messergebnisse der Studienkohorten und der Kontrollgruppe werden im Folgenden als Median mit zugehörigem Interquartilbereich (IQR) angegeben. Zunächst erfolgte eine Prüfung auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Test. Kontinuierliche Variablen wurden bei Normalverteilung mit dem Student-t-Test, andernfalls mit dem Mann-Whitney-Test verglichen. Beim Vergleich von mehr als zwei Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test mit anschließender paarweiser Korrektur nach Dunn verwendet.

Häufigkeitsverteilungen wurden mittels Chi-Quadrat-Test verglichen. Bei erwarteten Zellbesetzungen <5 in den Kreuztabellen wurde alternativ der exakte Fisher-Test

angewendet. Alle Hypothesentests erfolgten zweiseitig, und p-Werte $\leq 0,05$ wurden als statistisch signifikant betrachtet. Bei multiplen Vergleichen erfolgte eine Bonferroni-Korrektur der Signifikanzschwelle. Im Falle des Vergleichs zwischen den drei Gruppen SVT MPN+, SVT MPN- und gesunde Kontrollpersonen wurden nach Bonferroni-Korrektur p-Werte $\leq 0,0167$ als statistisch signifikant betrachtet. Lineare Zusammenhänge zwischen zwei Variablen wurden mittels Korrelationskoeffizienten nach Bravais-Pearson bestimmt, wobei Werte von p-Werte $\leq 0,0024$ nach Bonferroni-Korrektur für 21 Vergleiche als signifikant galten.

Alle statistischen Analysen wurden mit der XLSTAT-Analysesoftware (Addinsoft, Boston, USA) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Klinische Merkmale der Studienpopulation

Die Studienpopulation umfasste 73 Patienten mit SVT, davon 36 mit nachgewiesener MPN (SVT-MPN⁺), 37 ohne entsprechenden Nachweis (SVT-MPN⁻) sowie eine Kontrollgruppe mit 30 gesunden Personen.

Innerhalb der SVT-MPN⁺-Kohorte fanden sich 14 Patienten mit PV, neun Patienten mit ET, sieben Patienten mit PMF und zwei Patienten mit Post-PV-Myelofibrose. Bei vier weiteren Patienten konnte die Art der MPN nicht genauer klassifiziert werden. Von den 36 Patienten mit SVT-MPN⁺ wurde bei 34 eine JAK2-V617F-Mutation und bei einem eine CALR-Mutation nachgewiesen. Bei einem Patienten wurde keine MPN-assoziierte Mutation festgestellt. In der SVT-MPN⁻-Kohorte zeigte ein Patient wiederholt unklare Ergebnisse hinsichtlich der JAK2-V617F-Mutation, erfüllte jedoch nicht die diagnostischen Kriterien einer MPN. Drei Patienten wiesen ein BCS auf (SVT-MPN⁺ n=1, SVT-MPN⁻ n=2).

Eine hereditäre oder erworbene Thrombophilie lag bei sieben Patienten der SVT-MPN⁺-Kohorte vor (heterozygote FVL n=5, PTM n=1, Antiphospholipidsyndrom n=1), in der SVT-MPN⁻-Kohorte bei fünf Patienten (heterozygote FVL n=3, homozygote PTM n=1, kombinierte heterozygote FVL und PTM n=1).

Mit einem Durchschnittsalter von jeweils 56 Jahren unterschieden sich die SVT-MPN⁺- und SVT-MPN⁻-Kohorten nicht voneinander. Die Kontrollgruppe war mit durchschnittlich 48 Jahren jünger ($p=0,0082$ im Vergleich zur SVT MPN⁺-Kohorte, $p=0,0064$ im Vergleich zur SVT-MPN⁻-Kohorte). Dies erklärt sich durch die obere Altersgrenze für Blutspender. Hinsichtlich Geschlecht (50-57% männlich) und Body-Mass-Index (Median 21,3-23,6 kg/m²) bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Auch in Bezug auf die Lokalisation der SVT und die Häufigkeit zusätzlicher arterieller oder venöser Thrombosen, einschließlich oberflächlicher Venenthrombosen, unterschieden sich SVT-MPN⁺ und SVT-MPN⁻ nicht signifikant voneinander. Wie zuvor epidemiologisch beschrieben, war auch in der vorliegenden Studie die PVT mit 97 % in der SVT MPN⁺- und 81 % in der SVT MPN⁻-Kohorte die häufigste Lokalisation.

Bezüglich der Zeitspanne zwischen SVT-Diagnose und Blutentnahme sowie der Prävalenz früherer VTE, koronarer Herzkrankheit, anderer maligner Erkrankungen außer

MPN, Thrombophilien, arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, anderer Autoimmunerkrankungen (mit Ausnahme entzündlicher Darmerkrankungen) und kürzlich erfolgter abdominaler Operationen unterschieden sich die beiden Kohorten nicht signifikant. Dagegen zeigte sich in der SVT-MPN⁻-Kohorte eine signifikant höhere Anzahl an Lebererkrankungen (32 % vs. 3 %, $p=9,3 \cdot 10^{-4}$), entzündlichen Darmerkrankungen (16 % vs. 0 %, $p=0,0251$) sowie anderen Infektionen und Entzündungen (32 % vs. 11 %, $p=0,0276$).

Es bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden SVT-Kohorten hinsichtlich der Häufigkeit einer therapeutischen Antikoagulation und der Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern. Eine zytoreduktive Therapie erhielten 67 % der SVT-MPN⁺- während diese in der SVT-MPN⁻-Kohorte bei keinem Patienten der Fall war ($p=1,1 \cdot 10^{-10}$).

Eine Übersicht der klinischen Merkmale der Studienpopulation ist in Tab. 3 dargestellt.

Tab. 3: Klinische Merkmale der Studienkohorte. Alter und Monate seit SVT-Diagnose dargestellt als Mittelwert (Spannweite), kontinuierliche Daten als Median (Interquartilbereich) und dichotome Daten als Anzahl (%). Signifikante Unterschied nach Bonferroni-Korrektur ($p \leq 0,0167$) sind fett hervorgehoben. Definition der statistischen Methoden siehe Abschnitt 2.3.5. Therapeutische Antikoagulation: Vitamin-K-Antagonisten, Enoxaparin 1 mg/kg 2x tgl., Rivaroxaban 20 mg 1x tgl., Dabigatran 150 mg 2x tgl., 5 mg Apixaban 2x tgl., Edoxaban 60 mg 1x tgl. Reduzierte Antikoagulation: geringere Dosen.

Abkürzungen: SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺/⁻MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie; VTE, Venöse Thromboembolie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

	SVT-MPN ⁺ (n = 36)	SVT-MPN ⁻ (n = 37)	Kontrollgruppe (n = 30)	MPN ⁺ vs. MPN ⁻ , p
Alter in Jahren	56 (29-80)	56 (32-72)	48 (29-67)	0,8335
vs. Kontrollgruppe, p	0,0082	0,0064	-	-
Männlichen Geschlechts	18 (50 %)	21 (57 %)	17 (57 %)	0,5657
vs. Kontrollgruppe, p	0,5902	1,0000	-	-
Body-Mass-Index, kg/m ²	21,3 (19,7;28,3)	23,6 (21,1;26,5)	23,3 (22,0;24,6)	0,2302
vs. Kontrollgruppe, p	0,4819	0,6630	-	-
Pfortaderthrombose	35 (97 %)	30 (81 %)	-	0,0556

	SVT-MPN⁺ (n = 36)	SVT-MPN⁻ (n = 37)	Kontrollgruppe (n = 30)	MPN⁺ vs. MPN⁻, p
Milzvenenthrombose	19 (53 %)	14 (38 %)	-	0,2003
Mesenterialvenen- thrombose	13 (36 %)	13 (35 %)	-	0,9203
Monate seit SVT- Diagnose	33 (19-90)	21 (7-42)	-	0.0969
Weitere arterielle oder venöse Thrombosen	17 (47 %)	12 (32 %)	-	0,1963
Vorherige VTE	8 (22 %)	7 (19 %)	-	0,7290
Koronare Herzkrankheit	1 (3 %)	5 (14 %)	-	0,1992
MPN-assoziierte Mutationen	35 (97 %)	1 (3 %)	-	1,6·10⁻¹⁸
Malignome ausgenommen MPN	6 (17 %)	6 (16 %)	-	>0,999
Thrombophilien	7 (19 %)	5 (14 %)	-	0,4930
Arterielle Hypertonie	12 (33 %)	9 (24 %)	-	0,3961
Diabetes mellitus	6 (17 %)	10 (27 %)	-	0,2857
Lebererkrankungen	1 (3 %)	12 (32 %)	-	9,3·10⁻⁴
Entzündliche Darmerkrankung	0	6 (16 %)	-	0,0251
Weitere Autoimmun- erkrankungen	4 (11 %)	5 (14 %)	-	>0,999
Weitere Infektionen/ Entzündungen	4 (11 %)	12 (32 %)	-	0,0276
Kürzlich erfolgte abdominale Operationen	0	3 (8 %)	-	0,2397
Volle Antikoagulation	21 (58 %)	22 (59 %)	-	0,9203
Reduzierte Antikoagulation	9 (25 %)	10 (27 %)	-	0,8415
Thrombozyten- aggregationshemmer	9 (25 %)	3 (8 %)	-	0,0640
Zytoreduktive Therapie	24 (67 %)	-	-	1,1·10⁻¹⁰

3.2 Blutbildparameter

Die mittlere Thrombozytenzahl war in der SVT-MPN⁺-Kohorte signifikant höher als in der SVT-MPN⁻-Kohorte (308 vs. 201·10⁹/l; p=1,8·10⁻⁴). Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (255·10⁹/l) bestanden hingegen keine signifikanten Unterschiede, weder

zur SVT-MPN⁺-Kohorte ($p=0,1670$) noch zur SVT-MPN⁻-Kohorte ($p=0,0292$). Die mittlere Leukozytenzahl war in der SVT-MPN⁺-Kohorte ($7,9 \cdot 10^9/l$) signifikant höher verglichen sowohl mit der SVT-MPN⁻-Kohorte ($5,8 \cdot 10^9/l$, $p=0,0042$) als auch mit der Kontrollgruppe ($5,7 \cdot 10^9/l$, $p=0,0014$). Zwischen der SVT-MPN⁻-Kohorte und der Kontrollgruppe bestand kein signifikanter Unterschied ($p=0,6218$). Der mittlere Hämoglobinwert war in der SVT-MPN⁺-Kohorte mit 132 g/l niedriger als in der SVT-MPN⁻-Kohorte (134 g/l, $p=0,3478$) und signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (139 g/l, $p=0,0101$). Zwischen der SVT-MPN⁻-Kohorte und der Kontrollgruppe gab es keinen signifikanten Unterschied ($p=0,0904$). Der Hämatokrit war mit mittleren Werten zwischen 39,4 und 40,9 % vergleichbar zwischen allen drei Kohorten ($p > 0,5964$). Die in der Studienpopulation erhobenen Blutbildparameter sind in Tab. 4 dargestellt.

Tab. 4 Blutbildparameter. Kontinuierliche Daten dargestellt als Median (Interquartilbereich). Statistische Tests: Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn. Signifikante Unterschiede nach Bonferroni-Korrektur ($p \leq 0,0167$) sind fett hervorgehoben.

Abkürzungen: SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺/⁻MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

	SVT-MPN⁺ (n = 36)	SVT-MPN⁻ (n = 37)	Kontrollgruppe (n = 30)	MPN⁺ vs. MPN⁻, p
Thrombozyten, $10^9/l$	308 (226;365)	201 (313;290)	255 (217;301)	$1,8 \cdot 10^{-4}$
vs. Kontrollgruppe, p	0,1670	0,0292	-	-
Leukozyten, $10^9/l$	7,9 (5,4;11,0)	5,8 (4,6;7,5)	5,7 (4,9;6,1)	0,0042
vs. Kontrollgruppe, p	0,0014	0,6218	-	-
Hämoglobin, g/l	132 (114;140)	134 (116;147)	139 (135;148)	0,3478
vs. Kontrollgruppe	0,0101	0,0904	-	-
Hämatokrit, %	40,9 (35,7;44,3)	39,4 (36,9;44,4)	40,6 (39,0;42,6)	0,7236
vs. Kontrollgruppe	0,5964	0,8447	-	-

3.3 Hämostaseologische Basisdiagnostik

Der INR (Median 1,2) und die aPTT (Median 34,6 s) waren in der SVT-MPN⁺-Kohorte signifikant höher bzw. länger als in der SVT-MPN⁻-Kohorte (INR 1,0; $p=0,0064$ bzw. aPTT 29,9 s; $p=0,0066$). Sowohl die SVT-MPN⁺-Kohorte (INR: $p=1,8 \cdot 10^{-7}$; aPTT: $p=2,8 \cdot 10^{-9}$) als auch die SVT-MPN⁻-Kohorte (INR: $p=0,0078$; aPTT: $p=0,0027$) unterschieden sich signifikant von der Kontrollgruppe (INR 1,0; aPTT 26,4 s). Die höhere INR und die längere aPTT in den beiden SVT-Kohorten erklären sich durch die antikoagulatorische Therapie

der Patienten. In der gesunden Kontrollgruppe erhielt hingegen niemand eine Antikoagulation.

Die Ergebnisse der hämostaseologischen Basisdiagnostik sind in Tab. 5 dargestellt.

Tab. 5: Hämostaseologische Basisdiagnostik. Daten dargestellt als Median (Interquartilbereich). Statistische Tests: Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn. Signifikante Unterschiede nach Bonferroni-Korrektur ($p \leq 0,0167$) sind fett hervorgehoben.

Abkürzungen: APC, aktiviertes Protein C; aPTT, aktivierte partielle Thromboplastinzeit; INR, International Normalized Ratio; SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺/MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

	SVT-MPN⁺ (n = 36)	SVT-MPN⁻ (n = 37)	Kontrollgruppe (n = 30)	MPN⁺ vs. MPN⁻, p
INR	1,2 (1,1;1,5)	1,0 (1,0;1,3)	1,0 (1,0;1,1)	0,0064
vs. Kontrollgruppe, p	1,8·10⁻⁷	0,0078	-	-
aPTT, s	34,6 (30,0;38,1)	29,9 (26,4;32,0)	26,4 (25,7;27,4)	0,0066
vs. Kontrollgruppe, p	2,8·10⁻⁹	0,0027	-	-
Fibrinogen, g/l	2,65 (2,06;3,05)	3,09 (2,42;3,85)	2,57 (2,27;2,88)	0,0169
vs. Kontrollgruppe, p	0,8063	0,0117	-	-
Antithrombin, %	99 (89;108)	99 (79;105)	106 (97;111)	0,5084
vs. Kontrollgruppe, p	0,0189	0,0028	-	-

Der Fibrinogenspiegel war in der SVT-MPN⁻-Kohorte (Median 3,09 g/l) höher als die der SVT-MPN⁺-Kohorte (2,65 g/l, $p=0,0169$) und signifikant höher als in der Kontrollgruppe (2,57 g/l, $p=0,0117$). Zwischen SVT-MPN⁺ und Kontrollgruppe bestand kein signifikanter Unterschied ($p=0,8063$). Alle drei Gruppen lagen mit ihren Medianwerten im Referenzbereich für Fibrinogen.

Die AT-Aktivität war sowohl in der SVT-MPN⁻-Kohorte als auch in der SVT-MPN⁺-Kohorte mit im Median jeweils 99 % niedriger als in der Kontrollgruppe (Median 106 %). Während sich die SVT-MPN⁺-Kohorte und die Kontrollgruppe nicht signifikant unterschieden ($p=0,0189$), zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der SVT-MPN⁻-Kohorte und der Kontrollgruppe ($p=0,0028$). Zwischen den beiden SVT-Kohorten bestand hingegen kein Unterschied ($p=0,0584$). Auch hier lag das AT in allen drei Kohorten im Referenzbereich.

3.4 Aktivierungsmarker der Gerinnung und Fibrinolyse

Die Ergebnisse der Messungen von Aktivierungsmarker der Gerinnung und Fibrinolyse in der Studienpopulation sind in Tabelle Tab. 6 zusammengefasst und werden in den nachfolgenden Unterabschnitten 3.4.1 Aktivierungsmarker der Thrombinbildung und APC, 3.4.2 Aktivierungsmarker der Fibrinolyse und 3.4.3 D-Dimere detailliert dargestellt.

Tab. 6 Gerinnungsaktivierungs- und Fibrinolysemarker. Daten dargestellt als Median (Interquartilbereich). Statistische Tests: Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn. Signifikante Unterschiede nach Bonferroni-Korrektur ($p \leq 0,0167$) sind fett hervorgehoben.

Abkürzungen: APC, aktiviertes Protein C; F1+2, Prothrombinfragment 1+2; PAP, Plasmin- α 2-Antiplasmin-Komplex; TAT, Thrombin-Antithrombin-Komplex; t-PA, tissue-type Plasminogenaktivator; SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺/-MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

	SVT MPN ⁺ (n = 36)	SVT MPN ⁻ (n = 37)	Kontrollgruppe (n = 30)	MPN ⁺ vs. MPN ⁻ , p
Thrombin, pmol/l vs. Kontrollgruppe, p	0,49 (<0,46;1,19) 0,0012	<0,46 (<0,46;0,54) 0,5373	<0,46 (<0,46;<0,46) -	0,0057 -
APC, pmol/l vs. Kontrollgruppe, p	1,23 (0,43;2,22) 0,0035	0,58 (<0,39;1,02) 0,5863	0,54 (<0,39;0,89) -	0,0122 -
F1+2, nmol/l vs. Kontrollgruppe, p	0,21 (0,09;0,59) 0,4414	0,17 (0,13;0,28) 0,9383	0,19 (0,14;0,25) -	0,3712 -
TAT, pmol/l vs. Kontrollgruppe, p	23,7 (<21,3;37,7) 0,0265	<21,3 (<21,3;26,0) 0,9764	<21,3 (<21,3;23,7) -	0,0208 -
t-PA, ng/ml vs. Kontrollgruppe, p	2,77 (1,92;3,80) 7,3·10⁻⁴	2,59 (2,21;3,20) 2,5·10⁻⁴	<1,71 (<1,71;2,38) -	0,7820 -
PAP, ng/ml vs. Kontrollgruppe, p	234 (117;444) 0,0163	230 (141;351) 0,0236	156 (94;249) -	0,8724 -
D-dimer, mg/l vs. Kontrollgruppe, p	0,42 (0,24;0,67) 0,0259	0,34 (0,24;0,81) 0,0372	0,29 (0,19;0,39) -	0,8687 -

3.4.1 Aktivierungsmarker der Thrombinbildung und APC

Die Thrombinspiegel waren bei Patienten der SVT-MPN⁺-Kohorte mit einem Median von 0,49 pmol/l im Vergleich zur SVT-MPN⁻-Kohorte (Median <0,46pmol/l; p=0,0057) und zur Kontrollgruppe (Median <0,46; p=0,0012) signifikant erhöht. Zwischen der SVT-MPN⁻-Kohorte und der Kontrollgruppe bestand kein signifikanter Unterschied (p=0,5373) (Abb. 4A).

Die APC-Spiegel verhielten sich analog zu den Thrombinwerten. Sie waren bei der SVT-MPN⁺-Kohorte mit einem Median von 1,23 pmol/l signifikant höher als in der SVT-MPN⁻-Kohorte (Median 0,58 pmol/l; p=0,0122) sowie in der Kontrollgruppe (Median 0,54 pmol/l; p=0,0035). Zwischen den beiden letztgenannten Gruppen gab es ebenfalls keinen signifikanten Unterschied (P=0,5863) (Abb. 4B).

Zusammenfassend zeigte sich, dass sowohl Thrombin und APC, die Schlüsselenzyme des PC-Signalweges, bei SVT-MPN⁺-Patienten im Vergleich zur SVT-MPN⁻-Kohorte sowie zur gesunden Kontrollgruppe signifikant erhöht waren.

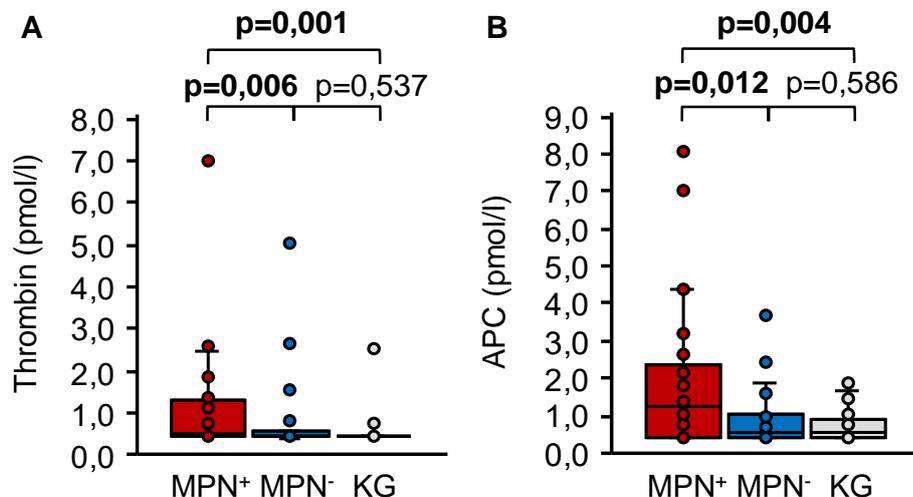


Abb. 4: Thrombin- und APC-Plasmaspiegel. Dargestellt sind die Plasmakonzentrationen von (A) Thrombin und (B) APC der Patienten der SVT-MPN⁺-Kohorte (rot, n=36), der SVT-MPN⁻-Kohorte (blau, n=37) und der gesunden Kontrollgruppe (grau, n=30) als Boxplots (Median und Quartile, Whisker: 1,5-facher Interquartilbereich, Ausreißerwerte: Kreise). Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,0167$ nach Bonferroni-Korrektur) sind fett hervorgehoben. Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn. Abkürzungen: APC, aktiviertes Protein C; KG, Kontrollgruppe; SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺-MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

Im Gegensatz dazu unterschieden sich die Gruppen hinsichtlich der indirekten Thrombinmarker F1+2 (Median 0,17-0,21 nmol/l) und TAT (Median <21,3-23,7 pmol/l) nicht wesentlich voneinander. Weder die SVT-MPN⁺- noch die SVT-MPN⁻-Kohorte zeigten signifikante Unterschiede untereinander (F1+2: $p=0,371$; TAT: $p=0,021$) oder gegenüber der Kontrollgruppe (F1+2: $p=0,441$ bzw. $p=0,938$; TAT: $p=0,027$ bzw. $p=0,976$) (Abb. 5).

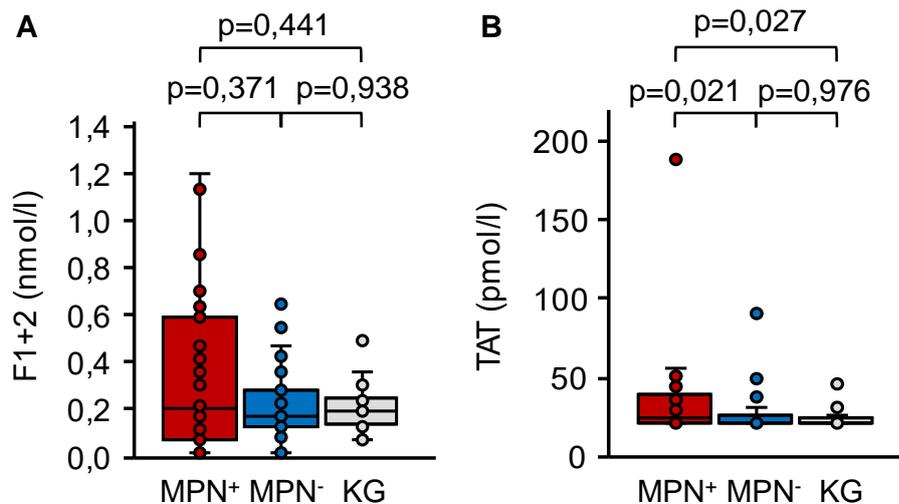


Abb. 5: F1+2- und TAT-Plasmaspiegel. Dargestellt sind die Plasmakonzentrationen von (A) F1+2 und (B) TAT der Patienten der SVT-MPN⁺-Kohorte (rot, $n=36$), der SVT-MPN⁻-Kohorte (blau, $n=37$) und der gesunden Kontrollgruppe (grau, $n=30$) als Boxplots (Median und Quartile, Whisker: 1,5-facher Interquartilbereich, Ausreißerwerte: Kreise). Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,0167$ nach Bonferroni-Korrektur) sind fett hervorgehoben. Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn. Abkürzungen: F1+2, Prothrombinfragment 1+2; KG, Kontrollgruppe; TAT, Thrombin-Antithrombin-Komplex; SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺/⁻MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

3.4.2 Aktivierungsmarker der Fibrinolyse

Die t-PA Plasmakonzentration war sowohl bei der SVT-MPN⁺-Kohorte (Median 2,77 ng/ml) als auch in der die SVT-MPN⁻-Kohorte (Median 2,59 ng/ml) im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (Median <1,71 ng/ml) signifikant erhöht ($p=7,3 \cdot 10^{-4}$ für SVT-MPN⁺ vs. Kontrollgruppe; $p=2,5 \cdot 10^{-4}$ für SVT-MPN⁻ vs. Kontrollgruppe). Zwischen der SVT-MPN⁺- und SVT-MPN⁻-Kohorte bestand hingegen kein signifikanter Unterschied ($p=0,7820$) (Abb. 6A).

Die PAP-Werte waren in der Kontrollgruppe (Median 156 ng/ml) niedriger als in der SVT-MPN⁺-Kohorte (Median 234 ng/ml) und in der SVT-MPN⁻-Kohorte (Median 230 ng/ml). Ein signifikanter Unterschied wurde nur zwischen der der SVT-MPN⁺-Kohorte und der Kontrollgruppe ($p=0,0163$) festgestellt. Zwischen der SVT-MPN⁻-Kohorte und der Kontrollgruppe ($P=0,0236$) sowie zwischen den beiden SVT-Kohorten ($p=0,8724$) bestanden keine signifikanten Unterschiede (Abb. 6B).

Zusammenfassend zeigten Patienten mit SVT, unabhängig vom Vorliegen einer MPN, im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen signifikant erhöhte Werte des Fibrinolysemarkers t-PA. Hingegen war PAP nur bei SVT-Patienten mit nachgewiesener MPN im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht.

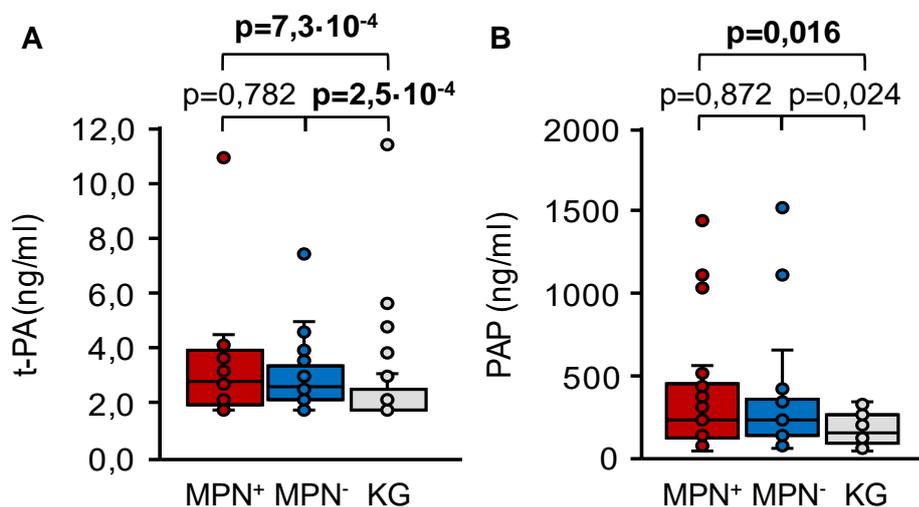


Abb. 6: Plasmaspiegel von t-PA und PAP. Dargestellt sind die Plasmakonzentrationen von (A) t-PA und (B) PAP der Patienten der SVT-MPN⁺-Kohorte (rot, n=36), der SVT-MPN⁻-Kohorte (blau, n=37) und der gesunden Kontrollgruppe (grau, n=30) als Boxplots (Median und Quartile, Whisker: 1,5-facher Interquartilbereich, Ausreißerwerte: Kreise). Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,0167$ nach Bonferroni-Korrektur) sind fett hervorgehoben. Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn. Abkürzungen: KG, Kontrollgruppe; PAP, Plasmin- $\alpha 2$ -Antiplasmin-Komplex; t-PA, tissue-type Plasminogenaktivator; SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺/⁻-MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

3.4.3 D-Dimere

Die Konzentrationen der D-Dimere waren in allen drei Gruppen vergleichbar und lagen im Median zwischen 0,29 und 0,42 mg/l. Zwischen der SVT-MPN⁺- und der SVT-MPN⁻-Kohorte bestand kein signifikanter Unterschied ($p=0,869$). Auch im Vergleich zur

Kontrollgruppe zeigten weder die SVT-MPN⁺-Kohorte ($p=0,026$) noch die SVT-MPN⁻-Kohorte ($p=0,037$) signifikante Unterschiede. Somit ließ sich anhand der D-Dimer-Werte kein Zusammenhang mit dem Vorliegen einer SVT oder MPN feststellen (Abb. 7).

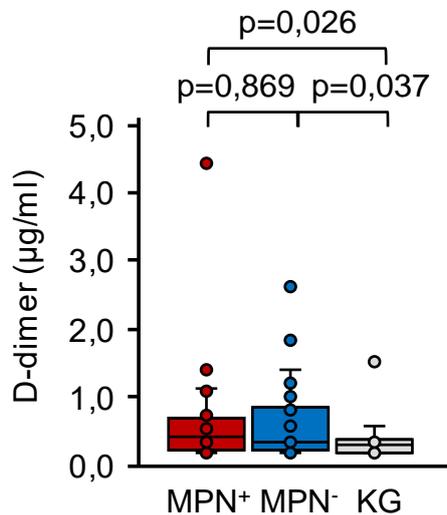


Abb. 7: D-Dimer-Plasmaspiegel. Dargestellt sind die D-Dimere der Patienten der SVT-MPN⁺-Kohorte (rot, $n=36$), der SVT-MPN⁻-Kohorte (blau, $n=37$) und der gesunden Kontrollgruppe (grau, $n=30$) als Boxplots (Median und Quartile, Whisker: 1,5-facher Interquartilbereich, Ausreißerwerte: Kreise). Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,0167$ nach Bonferroni-Korrektur) sind fett hervorgehoben. Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn.

Abkürzungen: KG, Kontrollgruppe; SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺/
-MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

3.5 Receiver-Operating-Characteristic-Analyse

Zur Bewertung der diagnostischen Aussagekraft der untersuchten Biomarker hinsichtlich der Unterscheidung von SVT-Patienten mit und ohne MPN wurde eine Receiver-Operating-Characteristic-(ROC-)Analyse durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 8 dargestellt. Die Fläche unter der ROC-Kurve (Area under the Curve, AUC) war für Thrombin und die indirekten Thrombinmarker TAT und F1+2 vergleichbar. APC zeigte dagegen eine etwas höhere AUC im Vergleich zu den indirekten Thrombinmarkern.

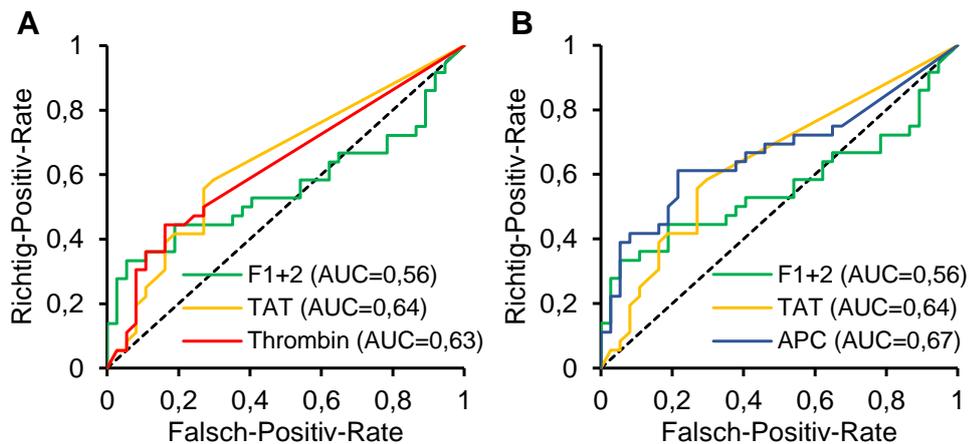


Abb. 8: Receiver-Operating-Characteristic-Analyse. Die Fläche unter der Kurve (AUC) für (A) Thrombin (rot) und (B) APC (blau) im Vergleich zu TAT (gelb), F1+2 (grün). Abkürzungen: APC, aktiviertes Protein C; TAT, Thrombin-Antithrombin-Komplex; F1+2, Prothrombinfragment 1+2 (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

3.6 Korrelationen zwischen Markern der Gerinnungsaktivierung und Fibrinolyse

Die untersuchten Aktivierungsmarker Thrombin, APC, F1+2, TAT, t-PA, PAP und D-Dimer wurden paarweise miteinander korreliert. Von den insgesamt 21 getesteten Kombinationen wurden nach Bonferroni-Korrektur sechs statistisch signifikante Korrelationen identifiziert: zwischen Thrombin und TAT ($r=0,0424$), F1+2 und APC ($r=0,601$), APC und D-Dimer ($r=0,418$), F1+2 und D-Dimer ($r=0,325$), t-PA und PAP ($r=0,368$) sowie PAP und D-Dimer ($r=0,448$; alle $p<0,0024$). Diese signifikanten Korrelationen sind in Abb. 9 dargestellt. Die Korrelation zwischen APC und F1+2 war stark ausgeprägt. Alle übrigen signifikanten Korrelationen waren als mittelstark einzustufen.

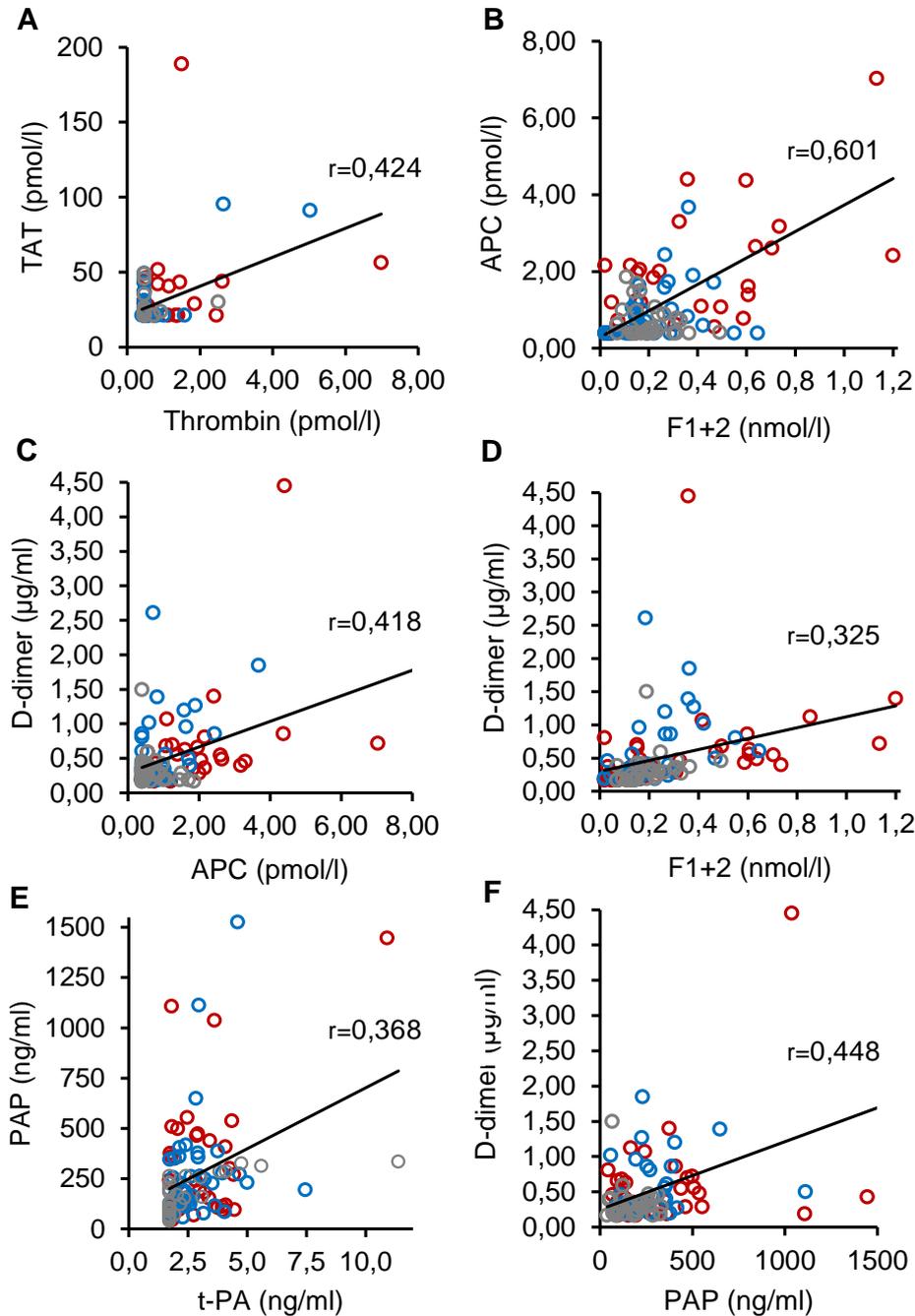


Abb. 9: Signifikante Korrelationen zwischen Aktivierungsmarkern. Signifikante Korrelationen zwischen den Aktivierungsmarkern (A) Thrombin und TAT, (B) F1+2 und APC, (C) APC und D-Dimer, (D) F1+2 und D-Dimer, (E) t-PA und PAP sowie (F) PAP und D-Dimer. Die schwarze Linie zeigt jeweils die Pearson-Korrelation für alle Patienten (rot: SVT-MPN⁺, blau: SVT-MPN⁻, grau: Kontrollgruppe). Signifikanzniveau: $p < 0,0024$ nach Bonferroni-Korrektur.

Abkürzungen: APC, aktiviertes Protein C; F1+2, Prothrombinfragment 1+2; PAP, Plasmin- α 2-Antiplasmin-Komplex; TAT, Thrombin-Antithrombin-Komplex; t-PA, tissue-type Plasminogenaktivator; SVT, Splanchnische Venenthrombose; -MPN⁺/⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

3.7 Einfluss der Antikoagulation auf Gerinnungs- und Fibrinolysemarker bei Patienten mit SVT

Patienten mit SVT erhalten häufig eine Antikoagulation, was auch in der untersuchten Studienpopulation der Fall war (83 % der SVT-MPN⁺- und 73 % der SVT-MPN⁻-Kohorte). Um den Einfluss der vorbestehenden Antikoagulation auf die untersuchten Aktivierungsmarker der Gerinnung und Fibrinolyse zu analysieren, wurden die Patienten anhand der Antikoagulationsintensität retrospektiv in drei Gruppen eingeteilt.

Zur Gruppe mit therapeutischer Antikoagulation gehörten Patienten, die mit VKA (n=13), Enoxaparin 1 mg/kg zweimal täglich (n=3), Apixaban 5 mg zweimal täglich (n=16), Rivaroxaban 20 mg einmal täglich (n=10), Dabigatran 150 mg (n=2) oder Edoxaban 60 mg einmal täglich (n=1) behandelt wurden. Die Gruppe mit reduzierter Antikoagulation umfasste Patienten, die Enoxaparin 1 mg/kg einmal täglich (n=3), Apixaban 2,5 mg zweimal täglich (n=8), Rivaroxaban 10 mg einmal täglich (n=7) oder Edoxaban 30 mg einmal täglich (n=1) erhielten. Die dritte Gruppe bestand aus Patienten, die keine Antikoagulation erhielten.

Im Folgenden werden zunächst die Marker dargestellt, die sich signifikant in Abhängigkeit von der Antikoagulationsintensität unterschieden (F1+2 und D-Dimer, Abschnitt 3.7.1), Anschließend folgen die Thrombin- und APC-Werte (Abschnitt 3.7.2), die zuvor die beste Diskrimination zwischen den beiden SVT-Gruppen gezeigt hatten und nun hinsichtlich des Einflusses der Antikoagulation erneut betrachtet werden. Abschließend werden die übrigen Marker ohne signifikante Unterschiede (Abschnitt 3.7.3) im Zusammenhang mit der Antikoagulationsintensität dargestellt und verglichen.

3.7.1 Einfluss der Antikoagulationsintensität auf F1+2 und D-Dimere

Abb. 6 zeigt die Plasmaspiegel der Aktivierungsmarker F1+2 und D-Dimer bei Patienten mit SVT (mit und ohne MPN) in Abhängigkeit von der Antikoagulationsintensität. Die F1+2-Konzentration war in der Gruppe mit therapeutischer Antikoagulation (Median 0,15 nmol/l) signifikant niedriger als in der Gruppe ohne Antikoagulation (Median 0,47 nmol/l; $p=3,6 \cdot 10^{-5}$). Die Gruppe mit reduzierter Antikoagulation (Median 0,24 nmol/l) unterschied sich dagegen weder signifikant von der therapeutisch antikoagulierten Gruppe ($p=0,022$) noch von der nicht antikoagulierten Gruppe ($p=0,043$) (Abb. 10A).

Ähnlich verhielt sich die D-Dimer-Konzentration. Sie war bei therapeutisch antikoagulierten Patienten (Median 0,31 $\mu\text{g/ml}$) signifikant geringer als in der Gruppe ohne Antikoagulation (Median 0,59 $\mu\text{g/ml}$; $p=0,008$). Patienten mit reduzierter Antikoagulation zeigten einen medianen D-Dimer-Wert von 0,48 $\mu\text{g/ml}$ und unterschieden sich weder signifikant von der therapeutisch antikoagulierten Gruppe ($p=0,178$) noch von der Gruppe ohne Antikoagulation ($p=0,171$) (Abb. 10B).

Zusammenfassend zeigte sich somit, dass eine therapeutische Antikoagulation mit einer signifikanten Reduktion der F1+2- und D-Dimer-Konzentrationen assoziiert war.

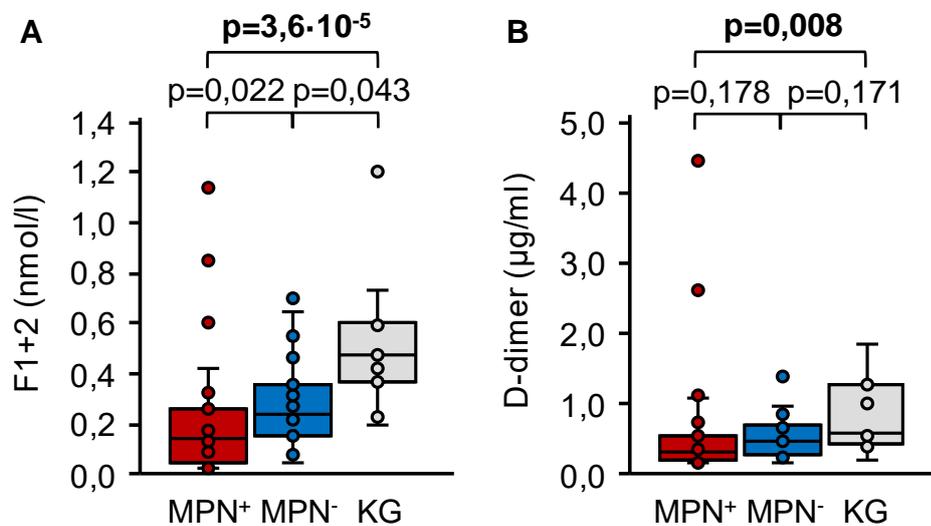


Abb. 10: Plasmakonzentrationen von F1+2 und D-Dimer nach Antikoagulationsintensität. F1+2 (A) und D-Dimer (B) bei Patienten mit SVT (MPN⁺ und MPN⁻) in Abhängigkeit von der Antikoagulationsintensität: therapeutische (rot, $n=43$), reduzierte (blau, $n=19$) und keine Antikoagulation (grau, $n=11$). Boxplots mit Median, Interquartilbereich und Whiskern (1,5-facher Interquartilbereich). Kreise zeigen Ausreißerwerte. Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,0167$ nach Bonferroni-Korrektur) sind fett hervorgehoben. Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn.

Abkürzungen: F1+2, Prothrombinfragment 1+2; KG, Kontrollgruppe; SVT, Splanchnische Venenthrombose; MPN⁺/MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

3.7.2 Einfluss der Antikoagulationsintensität auf Thrombin und APC

Die Konzentrationen von Thrombin und APC waren in allen drei Patientengruppen vergleichbar. Patienten mit therapeutischer Antikoagulation unterschieden sich hinsichtlich der Thrombin- und APC-Konzentrationen weder signifikant von Patienten mit reduzierter Antikoagulation ($p=0,405$ bzw. $p=0,223$) noch von Patienten ohne

Antikoagulation ($p=0,829$ bzw. $p=0,220$). Auch zwischen Patienten mit reduzierter Antikoagulation und solchen ohne Antikoagulation bestanden keine signifikanten Unterschiede (Thrombin: $p=0,680$; APC: $p=0,835$). Insgesamt zeigte sich in der vorliegenden Studie somit kein Einfluss der Antikoagulation auf die Thrombin- und APC-Plasmaspiegel. Abb. 11 zeigt die Konzentrationen von Thrombin und APC bei SVT-Patienten (mit und ohne MPN) in Abhängigkeit von der Antikoagulationsintensität.

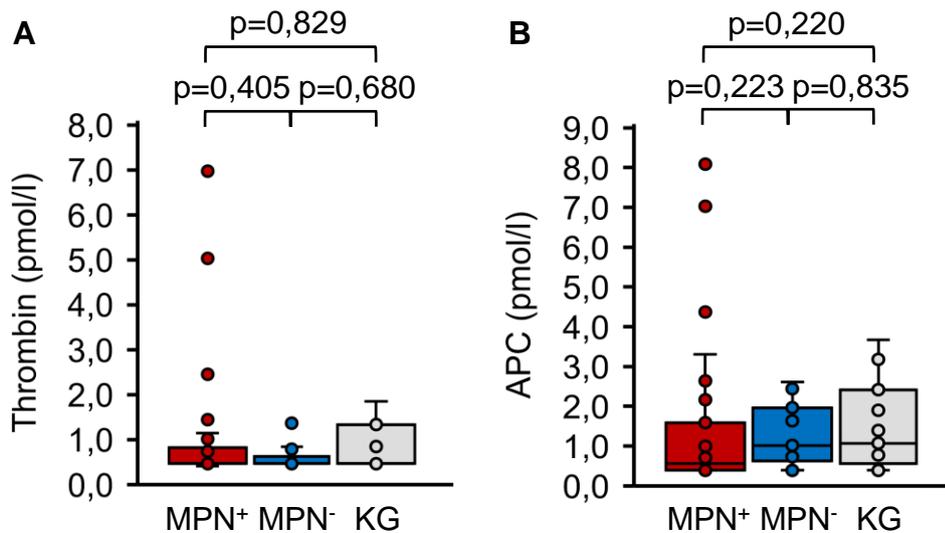


Abb. 11: Plasmakonzentrationen von Thrombin und APC nach Antikoagulationsintensität. Thrombin (A) und APC (B) bei Patienten mit SVT (MPN⁺ und MPN⁻) in Abhängigkeit von der Antikoagulationsintensität: therapeutische (rot, n=43), reduzierte (blau, n=19) und keine Antikoagulation (grau, n=11). Boxplots mit Median, Interquartilbereich und Whiskern (1,5-facher Interquartilbereich). Kreise zeigen Ausreißerwerte. Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,0167$ nach Bonferroni-Korrektur) sind fett hervorgehoben. Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn. Abkürzungen: APC, aktiviertes Protein C; KG, Kontrollgruppe; SVT, Splanchnische Venenthrombose; MPN⁺/MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

3.7.3 Einfluss der Antikoagulationsintensität auf TAT, t-PA und PAP

Die mittleren Konzentrationen von TAT, t-PA und PAP waren in allen drei nach Antikoagulationsintensität differenzierten Gruppen vergleichbar. Hinsichtlich der TAT-Konzentration fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit therapeutischer und reduzierter Antikoagulation ($p=0,371$) oder zwischen Patienten mit therapeutischer und ohne Antikoagulation ($p=0,191$). Ebenso unterschieden sich die

Gruppen mit reduzierter und ohne Antikoagulation nicht signifikant voneinander ($p=0,069$) (Abb. 12A).

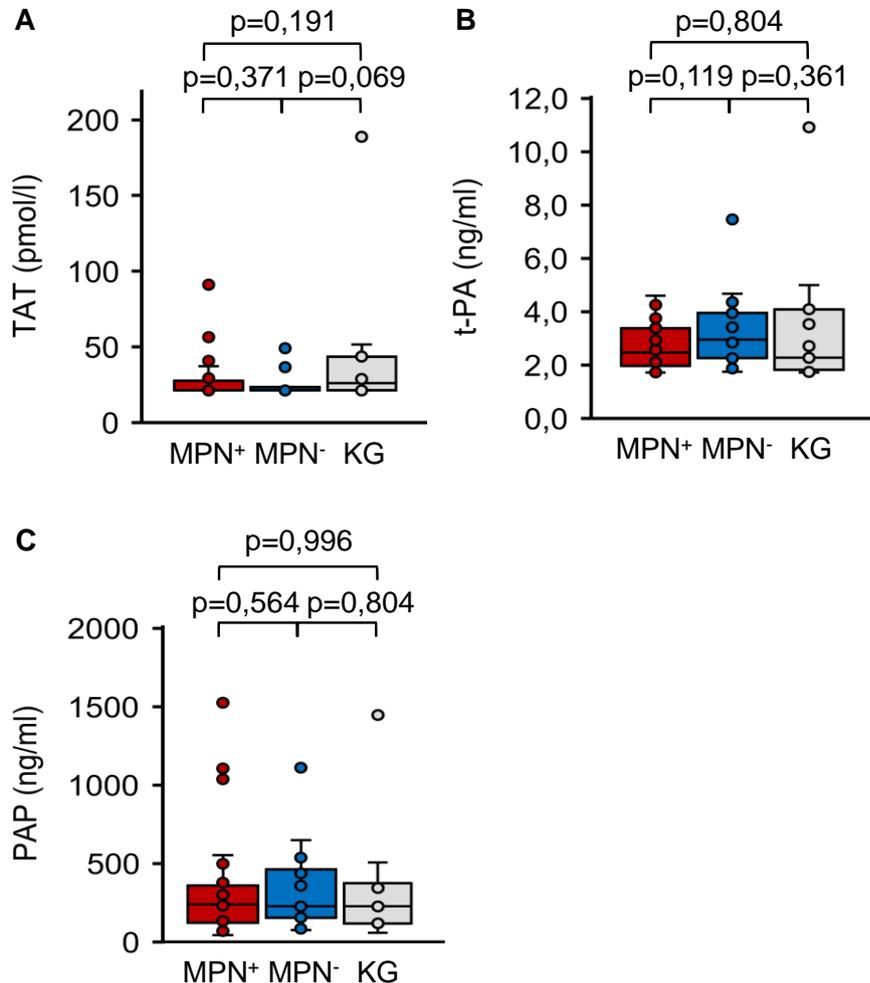


Abb. 12: Plasmakonzentrationen von TAT, t-PA und PAP nach Antikoagulationsintensität. TAT (A), t-PA (B) und PAP (C) bei Patienten mit SVT (MPN⁺ und MPN⁻) in Abhängigkeit von der Antikoagulationsintensität: therapeutische (rot, n=43), reduzierte (blau, n=19) und keine Antikoagulation (grau, n=11). Boxplots mit Median, Interquartilbereich und Whiskern (1,5-facher Interquartilbereich). Kreise zeigen Ausreißerwerte. Signifikante Unterschiede ($p \leq 0,0167$ nach Bonferroni-Korrektur) sind fett hervorgehoben. Kruskal-Wallis-Test mit nachfolgendem paarweisen Vergleich nach Dunn. Abkürzungen: KG, Kontrollgruppe; PAP, Plasmin- α 2-Antiplasmin-Komplex; TAT, Thrombin-Antithrombin-Komplex; t-PA, tissue-type Plasminogenaktivator; SVT, Splanchnische Venenthrombose; MPN⁺/MPN⁻, mit bzw. ohne Myeloproliferative Neoplasie (modifiziert übernommen aus Reda et al., 2024).

Auch die mittleren Konzentrationen von t-PA (2,29-2,95 ng/ml) und PAP (227-241 ng/ml) zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb. 12B und 12C). Die

t-PA- und PAP-Werte von Patienten mit therapeutischer Antikoagulation unterschieden sich weder von Patienten ohne Antikoagulation ($p=0,804$ bzw. $p=0,0996$) noch von Patienten mit reduzierter Antikoagulation ($p=0,119$ bzw. $p=0,564$): Ebenfalls zeigten sich keine Unterschiede zwischen der Gruppe mit reduzierter Antikoagulation und der Gruppe ohne Antikoagulation ($p=0,361$ bzw. $p=0,804$).

Zusammenfassend zeigten sich in dieser Studie somit keine reduzierten mittleren TAT-, t-PA- und PAP-Plasmaspiegel unter therapeutischer Antikoagulation.

4. Diskussion

4.1 Erhöhte Thrombin- und APC-Spiegel bei MPN-assoziiertes SVT im Kontext bisheriger Studien

Die Pathogenese der SVT ist heterogen. Aus klinischen Beobachtungen ist bekannt, dass Patienten mit Risikofaktoren wie Leberzirrhose, MPN oder nicht-hämatologischen Malignomen veränderte Aktivitäten im PC-System aufweisen. Bei Patienten mit Leberzirrhose führt eine Reduktion des PC-Spiegels und das daraus resultierende Ungleichgewicht zwischen PC und FVIII zu Hyperkoagulabilität (Intagliata et al., 2019; Senzolo et al., 2021). Bei MPN, insbesondere im Kontext der JAK2-V617F-Mutation, wurde eine erworbene APC-Resistenz beobachtet, die maßgeblich zu thrombotischen Komplikationen beiträgt (Barbui et al., 2013; Farina et al., 2021). Bei nicht-hämatologischen Malignomen ist eine verstärkte Thrombinbildung bekannt, vermittelt durch erhöhte TF-Expression und Endothelschädigung (Hisada und Mackman, 2017; Grover et al., 2021).

In der vorliegenden Studie wurden erstmals die zentralen Schlüsselenzyme des PC-Signalwegs, freies Thrombin und APC, direkt bei Patienten mit SVT gemessen. Dabei wiesen Patienten mit MPN-assoziiertes SVT im Vergleich zu MPN-negativen Patienten und Gesunden signifikant erhöhte APC- und Thrombin-Plasmaspiegel auf, was eine ausgeprägte Hyperkoagulabilität suggeriert. Die erhöhte APC-Bildung könnte hierbei als kompensatorische Reaktion auf prothrombotische Bedingungen interpretiert werden. Vergleichbare erhöhte APC-Spiegel wurden auch bei Patienten mit genetischen Thrombophilien, wie der FVL und der PTM, beschrieben (Rühl et al., 2018; Rühl et al., 2019). In diesen Fällen korrelierte ein erhöhter APC-Spiegel mit einer kompensatorischen Aktivierung des PC-Systems, die möglicherweise das Thromboserisiko reduziert (Rühl et al., 2019).

Erhöhte Konzentrationen freien Thrombins konnten in früheren Studien hingegen nur nach ausgeprägten Ereignissen wie chirurgischen Eingriffen oder septischem Schock nachgewiesen werden (Becher et al., 2020; Rühl et al., 2022). Die Beobachtung erhöhter Thrombin-Spiegel bei stabiler klinischer Situation in der aktuellen Studie weist daher auf eine chronische und möglicherweise anhaltend gesteigerte Gerinnungsaktivität bei MPN-assoziiertes SVT hin. Diese Befunde stimmen mit klinischen Beobachtungen eines

erhöhten Rezidivrisikos thrombotischer Ereignisse trotz therapeutischer Antikoagulation bei Patienten mit MPN überein (Berens et al., 2017; Marchetti et al., 2008).

Die SVT-Kohorten mit und ohne MPN unterschieden sich nur geringfügig in klinischen Merkmalen, sodass eine ausreichende Vergleichbarkeit gewährleistet war. Unterschiede, wie das Vorhandensein somatischer Mutationen oder die Anwendung zytoreduktiver Therapien in der MPN-positiven Gruppe sowie eine höhere Prävalenz von Lebererkrankungen und entzündlichen Erkrankungen in der MPN-negativen Gruppe, spiegelten erwartbare klinische Charakteristika wider.

In den folgenden Abschnitten wird näher auf die zugrundeliegenden Pathomechanismen und den Stellenwert weiterer Biomarker eingegangen.

4.2 Frühere Untersuchungen zum PC-System bei Patienten mit MPN

Der im vorangegangenen Abschnitt dargestellte Befund erhöhter APC-Spiegel bei Patienten mit MPN steht in Einklang mit früheren Beobachtungen, in denen ebenfalls erhöhte APC-Konzentrationen bei Patienten mit MPN beschrieben wurden, und zwar unabhängig vom Vorliegen einer SVT (Berens et al., 2017). Darüber hinaus wurde, wie bereits oben beschrieben (siehe Abschnitt 4.1), in Studien ein erworbener APC-Resistenzphänotyp bei Patienten mit ET oder PV beobachtet, der mit einer gesteigerten Thrombinbildung und einem erhöhten Thromboserisiko einherging (Marchetti et al., 2008). Die genauen Ursachen dieser erworbenen APC-Resistenz sind bislang nicht vollständig geklärt. Vermutet wird eine Korrelation zwischen APC-Resistenz und niedrigeren freien PS-Werten, die in mehreren Untersuchungen bei Patienten mit MPN gefunden wurden (Arellano-Rodrigo et al., 2009; Barbui et al., 2013; Marchetti et al., 2008). Die Ursache der verringerten freien PS-Spiegel bei MPN-Patienten ist weiterhin unbekannt. Es wird angenommen, dass der verringerte PS-Spiegel aus einer vermehrten proteolytischen Spaltung durch neutrophile Granulozyten und Thrombozyten oder deren freigesetzte Proteasen resultiert (Marchetti et al., 2008; Barbui et al., 2013).

PS ist ein wichtiger Kofaktor von APC und verstärkt dessen gerinnungshemmende Wirkung auf die Gerinnungsfaktoren Va und VIIIa (Walker, 1981). Ein niedriger PS-Spiegel könnte somit die gerinnungshemmende Aktivität von APC reduzieren und dadurch eine erworbene APC-Resistenz hervorrufen. In der Folge würde die reduzierte Wirksamkeit von APC zu einer verlängerten Aktivierung der Gerinnungskaskade führen,

wodurch wiederum mehr Thrombin gebildet wird. Als Reaktion auf diese vermehrte Thrombinbildung könnte die beobachtete gesteigerte APC-Produktion erfolgen, welche als kompensatorischer Mechanismus gegen die prothrombotischen Kräfte interpretiert wird. Diese Zusammenhänge könnten somit die in Abschnitt 4.1 dargestellten erhöhten Plasmaspiegel von APC und Thrombin bei Patienten mit MPN erklären.

Weiterhin wurde eine positive Korrelation zwischen APC-Resistenz und der JAK2-V617F-Mutationslast beschrieben (Arellano-Rodrigo et al., 2009; Cervantes et al., 2009; Marchetti et al., 2008b). Arellano-Rodrigo et al. (2009) berichteten zudem von einer Korrelation zwischen der JAK2-V617F-Allellast und niedrigeren freien PS-Werten bei ET-Patienten. Bei Patienten mit JAK2-V617F-Mutation wurden außerdem prothrombotische Veränderungen an Endothelzellen festgestellt, welche in einer endothelialen Dysfunktion resultieren (Guy et al., 2019; Hekimoglu et al., 2022). JAK2-V617F-mutierte Endothelzellen exprimieren vermehrt P-Selektin auf ihrer Oberfläche, wodurch proadhäsive Wechselwirkungen zwischen Endothel, Thrombozyten und Leukozyten gefördert und die Thrombinbildung zusätzlich erhöht werden könnten (Guy et al., 2019). Verstärkte Aktivierung von Leukozyten und Thrombozyten sowie deren prokoagulierende Mikropartikel könnten diesen Effekt noch weiter verstärken (Duchemin et al., 2010; Falanga et al., 2005).

Unterschiedliche Pathomechanismen könnten somit die beobachteten signifikanten Unterschiede der Thrombin- und APC-Werte zwischen Patienten mit und ohne MPN im Rahmen der SVT erklären.

4.3 Einfluss von Antikoagulation und analytischen Nachweisgrenzen auf weitere Gerinnungsparameter

Im Gegensatz zu den Thrombin- und APC-Spiegeln zeigten die Patienten mit MPN-assoziiertes SVT, Patienten mit SVT ohne nachgewiesene MPN und die gesunde Kontrollgruppe hinsichtlich der indirekten Gerinnungsmarker (Fibrinogen, D-Dimer, F1+2 und TAT) ähnliche Ergebnisse. Zwar zeigte die TAT-Plasmakonzentration zunächst ähnliche Trends wie die Thrombin-Werte, nach Bonferroni-Korrektur waren diese Unterschiede jedoch nicht mehr signifikant. Diese Beobachtungen weichen teilweise von früheren Ergebnissen ab, in denen Patienten mit MPN erhöhte Plasmaspiegel von TAT und F1+2 aufwiesen (Marchetti und Falanga, 2008). Auch Berens et al. (2017) berichteten

über erhöhte F1+2- und D-Dimer-Plasmaspiegel bei Patienten mit MPN. Andere Studien beschrieben zudem eine Korrelation zwischen Thrombin und indirekten Thrombinmarkern während chirurgischer Eingriffe oder bei Sepsis (Becher et al., 2020; Rühl et al., 2022).

Die Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen der genannten Vorarbeiten zur aktuellen Studie könnten teilweise durch die unterschiedlichen analytischen Nachweisgrenzen der eingesetzten Biomarker erklärt werden. In der vorliegenden Studie lagen zahlreiche Proben bezüglich Thrombin und TAT unterhalb der jeweiligen Nachweisgrenze. Da in diesem Fall alle Werte unterhalb der Nachweisgrenze identisch behandelt werden, gehen sie mit demselben numerischen Rang in den nicht-parametrischen Kruskal-Wallis-Test ein. Dadurch verringert sich effektiv die Varianz der Daten, was statistisch dem Effekt einer geringeren Stichprobengröße ähnelt und es schwieriger macht, tatsächlich vorhandene Gruppenunterschiede als signifikant nachzuweisen.

Weiterhin könnte die Antikoagulantientherapie, die von etwa 85 % der Patienten mit SVT in dieser Studie eingenommen wurde, erheblichen Einfluss auf die Plasmakonzentration der indirekten Thrombinmarker haben. So zeigten Patienten mit therapeutischer Antikoagulation signifikant niedrigere Plasmaspiegel von F1+2 und D-Dimer im Vergleich zu nicht antikoagulierten Patienten. Da die Kontrollgruppe keine Antikoagulationstherapie erhielt, könnte die vergleichbar niedrige Konzentration von F1+2 und D-Dimer in der SVT-Gruppe auf die Wirkung der Antikoagulationstherapie zurückzuführen sein.

F1+2 entsteht bei der Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin durch die Prothrombinase, während D-Dimere beim Abbau von Fibrin durch Plasmin entstehen (Dörner et al., 2006). Antikoagulantien verhindern entweder direkt oder indirekt die Bildung von Thrombin oder reduzieren die Aktivität weiterer Gerinnungsfaktoren. Beispielsweise verstärkt Heparin die inhibitorische Wirkung von AT gegenüber FXa und Thrombin. VKA hemmen die Vitamin-K-abhängigen Faktoren II, VII, IX und X (Walzog und Fandrey, 2010). DOAKs wie Dabigatran hemmen direkt Thrombin, während Apixaban, Rivaroxaban und Edoxaban FXa hemmen, der für die Bildung von Thrombin entscheidend ist (Hankey und Eikelboom, 2011). Folglich werden unter Antikoagulation weniger Thrombin, Fibrin, F1+2 und D-Dimere gebildet.

Jedoch bleibt fraglich, warum sich die F1+2-Werte im Gegensatz zu Thrombin zwischen Patienten mit MPN-assoziiertes SVT und Patienten mit SVT ohne MPN nicht signifikant unterscheiden, obwohl die Verteilung und Intensität der Antikoagulation in beiden

Gruppen vergleichbar war. Dies deutet darauf hin, dass die Antikoagulation nicht allein ursächlich für die fehlenden signifikanten Unterschiede sein kann. Als mögliche Erklärung ist zu diskutieren, dass F1+2 und Thrombin unterschiedliche Aspekte der Thrombingeneration widerspiegeln: F1+2 könnte eher langsame, chronische Hyperkoagulabilität abbilden, die durch Antikoagulation beeinflusst wird, während Thrombin eher akute, lokale Gerinnungsaktivität widerspiegelt. Darüber hinaus ist zu beachten, dass nur ein Teil des gebildeten Thrombins frei im Blut zirkuliert, da ein beträchtlicher Anteil unmittelbar in die Fibrinbildung an der Gefäßwand eingeht. Die gemessenen freien Thrombinwerte könnten daher nicht die gesamte Thrombinbildung in vivo repräsentieren. Weitere Studien sind notwendig, um diese Diskrepanz zwischen freiem Thrombin, TAT und F1+2 detaillierter zu untersuchen.

Dass bei Patienten unter voller oder reduzierter Antikoagulation keine signifikanten Unterschiede der Thrombin- und TAT-Konzentrationen zu beobachten waren, könnte ebenfalls auf die analytischen Nachweisgrenzen dieser Parameter zurückzuführen sein. Es ist davon auszugehen, dass Antikoagulantien prinzipiell einen senkenden Effekt auf diese Marker haben. Da die Werte jedoch bereits an der unteren Nachweisgrenze lagen, war der Einfluss der Antikoagulantientherapie möglicherweise nicht mehr klar nachweisbar. Auch Berens et al. (2017) beschrieben bei MPN-Patienten reduzierte F1+2-Spiegel unter Antikoagulationstherapie. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass die Antikoagulation keinen signifikanten Einfluss auf die Plasmaspiegel von APC und PAP hatte, was mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie im Einklang steht.

4.4 Erhöhte Aktivierungsmarker der Fibrinolyse bei Patienten mit SVT

Die Konzentrationen der Fibrinolysemarker t-PA und PAP waren bei Patienten mit SVT im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe erhöht. Dieser Unterschied war bei Patienten mit einer MPN in der Anamnese auch nach Bonferroni-Korrektur signifikant, während Patienten ohne MPN nur vor der Korrektur eine signifikante Erhöhung zeigten. Zwischen den SVT-Patienten mit und ohne MPN fanden sich keine signifikanten Unterschiede, was dafür spricht, dass die Erhöhung der Fibrinolysemarker eher mit der SVT selbst und weniger mit dem spezifischen hyperkoagulablen Zustand bei MPN zusammenhängt.

T-PA aktiviert die Fibrinolyse, indem es Plasminogen zu Plasmin spaltet (Walzog und Fandrey, 2010). Erhöhte t-PA-Werte sind typischerweise mit einer verstärkten

fibrinolytischen Aktivität assoziiert und wurden auch bei tiefen Beinvenenthrombosen beobachtet, wobei die Konzentrationen innerhalb von 24 Monaten nach Thrombose auf Normwerte zurückkehrten (Killewich et al., 1997). Dies unterscheidet sich von den hier erhobenen Befunden, bei denen die erhöhte t-PA-Konzentration auch bei Patienten beobachtet wurde, deren SVT-Diagnose in den meisten Fällen über 24 Monate zurücklag. Unterschiede könnten somit auf spezifische Lokalisation und Pathogenese der SVT im Vergleich zur tiefen Beinvenenthrombose zurückzuführen sein.

Auch Patienten mit BCS zeigten erhöhte t-PA-Konzentrationen (Hoekstra et al., 2010). In dieser Untersuchung wurde zugleich eine vermehrte Expression von Plasminogenaktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) festgestellt, einem Inhibitor der Fibrinolyse. Die Autoren vermuteten, dass die erhöhte Konzentration von t-PA eine Kompensation der gesteigerten PAI-1-Aktivität darstellen könnte und diskutierten einen Zusammenhang mit schweren Lebererkrankungen, einschließlich der Leberzirrhose, welche ebenfalls als Risikofaktor für SVT bekannt ist (Hoekstra et al., 2010). Die Rolle von PAI-1 in der Pathogenese der VTE ist bislang nicht eindeutig geklärt (Smalberg et al., 2011). Aktuelle Studien diskutieren eine Verbindung zwischen erhöhter PAI-1-Expression und einem erhöhten Risiko für venöse Thrombosen einschließlich SVT (Hoekstra et al., 2010; Smalberg et al., 2011). Dennoch fehlt es bisher an spezifischen Studien, welche die Korrelation zwischen Störungen der Fibrinolyse und dem Auftreten von SVT umfassend untersucht haben.

4.5 Interpretation der D-Dimere bei Patienten mit SVT

Im Gegensatz zu APC und Thrombin unterschieden sich die Plasmaspiegel der D-Dimere bei Patienten mit SVT und nachgewiesener MPN nicht signifikant von denen ohne MPN und der gesunden Kontrollgruppe. Die Ergebnisse zu den Fibrinolysemarkern (siehe Abschnitt 4.4) liefern hierbei relevante Informationen für die Interpretation der D-Dimer-Werte, da erhöhte Fibrinolyseaktivität ebenfalls zu einer Erhöhung der D-Dimere führen könnte.

Die Messung von D-Dimeren ist etabliert, um die Aktivierung der Gerinnung und Fibrinolyse klinisch einzuschätzen. So wird die Bestimmung regelmäßig zur Diagnose der VTE, zur Beurteilung disseminierter intravasaler Gerinnung und zur Überwachung von Antikoagulantientherapien eingesetzt. Auch für die Bewertung des Rezidivrisikos einer

VTE nach Therapieende ist die D-Dimer-Bestimmung etabliert (Palareti et al., 2014; Weitz et al., 2017). Für die Diagnose einer SVT ist der Stellenwert der D-Dimere jedoch umstritten, da deren Spezifität bei Begleiterkrankungen wie Leberzirrhose, hepatozellulären Karzinomen oder chronisch entzündlichen Darmerkrankungen deutlich reduziert ist und somit falsch-positive Ergebnisse resultieren können (Camerlo et al., 2023; Valeriani et al., 2019). Die Sensitivität der D-Dimer-Bestimmung für eine VTE ist dagegen hoch, sodass negative Werte bei geringer klinischer Wahrscheinlichkeit eine VTE nahezu ausschließen (Favresse et al., 2018). Zhang et al. (2013) fanden eine hohe diagnostische Spezifität der D-Dimere für die Diagnose einer PVT bei Patienten mit Leberzirrhose der Child-Pugh-Klassen A und B sowie eine hohe Sensitivität bei Child-Pugh-Klasse C. Ähnliche Ergebnisse zeigten Riva et al. (2021) für SVT-Patienten mit einem erhöhten klinischen Risiko für SVT.

Die in der aktuellen Studie beobachtete geringe Variation der D-Dimer-Werte zwischen den Kohorten könnte primär durch die breit eingesetzte Antikoagulationstherapie bedingt sein. Dieser Einfluss wurde auch in früheren Arbeiten beschrieben, welche den Stellenwert der D-Dimere bei der Behandlungsentscheidung kritisch hinterfragten (Palareti et al., 2022; Tripodi et al., 2014). Patienten unter DOAK zeigten hierbei tendenziell höhere D-Dimer-Werte als Patienten unter VKA (Reda et al., 2022; Tripodi et al., 2014). Zusätzlich beeinflussen patientenspezifische Faktoren wie Alter und Geschlecht die Konzentrationen der D-Dimere (Favresse et al., 2018; Palareti et al., 2022; Schouten et al., 2013).

Die Ergebnisse verdeutlichen somit, dass D-Dimere bei antikoagulierten SVT-Patienten nur eingeschränkt zur Beurteilung einer erhöhten Gerinnungsaktivität geeignet sind. Dies unterstreicht die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen, um zu klären, ob die Bestimmung zusätzlicher Biomarker wie APC und Thrombin zur D-Dimer-Messung beitragen könnte, das klinische Bild bei Patienten mit SVT genauer abzubilden.

4.6 Signifikante Korrelationen zwischen Aktivierungsmarkern

Die statistische Analyse zeigte signifikante Korrelationen zwischen verschiedenen Gerinnungs- und Fibrinolysemarkern, darunter zwischen Thrombin und TAT, F1+2 und APC, APC und D-Dimer, F1+2 und D-Dimer sowie zwischen den Fibrinolysemarkern t-PA und PAP sowie PAP und D-Dimer.

Die beobachteten Korrelationen lassen vermuten, dass zwischen diesen Markern eine wechselseitige Beziehung besteht, die auf eine komplexe, simultane Aktivierung der Gerinnung und der sekundären Fibrinolyse hindeutet. So korrelieren beispielsweise TAT und F1+2 typischerweise miteinander, da beide Marker die Thrombinbildung widerspiegeln. Die Korrelationen zwischen APC, F1+2 und D-Dimer könnten Ausdruck einer kompensatorischen Aktivierung des PC-Systems bei vermehrter Gerinnungsaktivierung (F1+2) sein, die parallel zu einer sekundären Aktivierung der Fibrinolyse (D-Dimer) stattfindet.

Auch die Korrelationen zwischen t-PA, PAP und D-Dimer können durch die biologischen Zusammenhänge erklärt werden: Eine erhöhte Freisetzung von t-PA führt zu einer verstärkten Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin, wodurch wiederum PAP-Komplexe gebildet und Fibrinolyseprodukte freigesetzt werden.

Dass nicht alle Marker signifikant miteinander korrelierten, könnte darauf zurückzuführen sein, dass ein Teil der Werte unter der jeweiligen Nachweisgrenze lag. Zudem bilden die untersuchten Marker unterschiedliche dynamische Prozesse ab, die teilweise durch Antikoagulantien und andere kompensatorische Mechanismen unterschiedlich stark beeinflusst wurden. Dies könnte die Korrelationen zwischen einzelnen Parametern abgeschwächt haben.

4.7 Potenzielle klinische Bedeutung von Thrombin und APC als Biomarker bei SVT

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie deuten darauf hin, dass Biomarker des PC-Systems, insbesondere freies Thrombin und APC, möglicherweise hilfreiche ergänzende Informationen bei der Beurteilung einer Hyperkoagulabilität bei Patienten mit SVT liefern können. Die bisherige klinische Praxis konzentriert sich zur Einschätzung thrombotischer Zustände hauptsächlich auf etablierte Marker wie D-Dimere. Allerdings unterscheiden sich die in dieser Arbeit gemessenen Thrombin- und APC-Plasmaspiegel zwischen Patienten mit und ohne MPN in der Vorgeschichte deutlicher als die Konzentrationen der D-Dimere. Zudem unterliegt die Interpretation des D-Dimer-Spiegels verschiedenen Einflussfaktoren, wie Art und Intensität einer Antikoagulation, Begleiterkrankungen und patientenspezifischen Merkmalen (siehe Abschnitt 4.5).

In früheren Studien wurden indirekte Marker der Thrombinbildung wie TAT und F1+2 bereits zur Abschätzung des Rezidivrisikos venöser Thromboembolien untersucht,

insbesondere nach dem Absetzen einer Antikoagulation (Vrotniakaite-Bajerciene et al., 2023; Hron et al., 2006). Ob hingegen direkte Messungen von freiem Thrombin und APC zur Risikobeurteilung bei Patienten mit SVT geeignet sind, wurde bislang nicht untersucht und sollte Gegenstand zukünftiger Studien sein. Die hier gezeigten Ergebnisse der ROC-Analyse legen nahe, dass insbesondere APC das Potenzial haben könnte, zwischen Patienten mit SVT mit und ohne zugrundeliegender MPN zu differenzieren.

Darüber hinaus sollten weitere Studien untersuchen, ob diese Biomarker klinisch relevante Informationen für die Steuerung und Überwachung der Antikoagulationstherapie bei Patienten mit SVT liefern können.

4.8 Limitationen der Studie

Die vorliegende Studie hat mehrere Limitationen, welche bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen sind. Erstens handelt es sich um eine monozentrische Studie mit einer vergleichsweise kleinen Patientenzahl, was die Generalisierbarkeit der Ergebnisse einschränkt. Zudem wurde die Aussagekraft der Resultate durch die Heterogenität der Studienkohorte bezüglich der Lokalisation der SVT, der Art der MPN sowie der Art und Intensität der Antikoagulationstherapie begrenzt, da hierdurch die Vergleichbarkeit der Patienten eingeschränkt ist. Eine weitere wichtige Einschränkung ergibt sich durch die fehlende Korrelation der gemessenen Werte der Biomarker mit klinischen Endpunkten wie dem Auftreten weiterer thrombotischer Ereignisse oder Therapieergebnissen. Darüber hinaus erschwerte die störende Wirkung der Antikoagulantien auf die gemessenen Werte der Biomarker deren eindeutige Interpretation zusätzlich. Obwohl auf Ebene der Kohorten teils signifikante Unterschiede nachweisbar waren, beeinträchtigt die beträchtliche Überlappung der Messwerte zwischen den Patientengruppen die Aussagekraft für eine individuelle Diagnostik. Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse sind daher primär hypothesengenerierend und sollten in weiteren Studien mit größeren Patientenkollektiven und prospektiver Erfassung klinischer Endpunkte validiert werden.

5. Zusammenfassung

Die Ätiologie der SVT ist heterogen, wobei MPN einen wichtigen Risikofaktor darstellen. Frühere Studien deuten darauf hin, dass Veränderungen im antikoagulatorischen PC-System am Pathomechanismus der SVT beteiligt sind. Da die Rolle des PC-Systems im Kontext der SVT jedoch bislang nicht ausreichend untersucht wurde, war es das Ziel dieser Arbeit, die Aktivierung der Hämostase bei SVT-Patienten, insbesondere hinsichtlich der Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne begleitende MPN, zu charakterisieren. Konkret wurde die Hypothese geprüft, ob sich SVT-Patienten mit MPN bezüglich der Aktivierung des PC-Systems von Patienten ohne MPN unterscheiden.

Dazu wurden die Plasmaspiegel der Schlüsselenzyme des PC-Systems, Thrombin und aktiviertes Protein C (APC), sowie weitere Marker der Gerinnungs- und Fibrinolyseaktivierung in einer Kohorte von 73 SVT-Patienten prospektiv untersucht, darunter 36 Patienten mit und 37 Patienten ohne nachgewiesener MPN. Zusätzlich wurden 30 gesunde Kontrollpersonen analysiert, um Referenzwerte zu erhalten. Da sich im Verlauf der Analysen zeigte, dass eine bestehende Antikoagulation die Messwerte beeinflusste, erfolgte eine Subgruppenanalyse, um den Einfluss der Antikoagulationsintensität (therapeutische, reduzierte oder keine Antikoagulation) näher zu untersuchen.

SVT-Patienten mit begleitender MPN wiesen im Vergleich zu Patienten ohne MPN signifikant erhöhte Plasmaspiegel von APC (Median: 1,23 vs. 0,58 pmol/l) und Thrombin (Median: 0,49 vs. <0,46 pmol/l) auf. Auch im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe (APC: 0,54 pmol/l; Thrombin: <0,46 pmol/l) zeigten SVT-Patienten mit MPN signifikant erhöhte Werte, wohingegen sich bei SVT-Patienten ohne MPN hinsichtlich der APC- und Thrombinwerte kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe feststellen ließ. In Bezug auf weitere Aktivierungsmarker der Gerinnung und Fibrinolyse wie D-Dimer, TAT und F1+2 zeigten die Kohorten keine signifikanten Unterschiede. Patienten mit therapeutischer Antikoagulation wiesen signifikant niedrigere Plasmaspiegel von F1+2 und D-Dimer auf, während APC und Thrombin weitgehend unbeeinflusst von der Antikoagulationsintensität blieben.

Um die diagnostische Aussagekraft der untersuchten Marker zu beurteilen, erfolgte zusätzlich eine ROC-Analyse. Dabei zeigte APC im Vergleich zu indirekten

Thrombinmarkern wie TAT und F1+2 diskret bessere Werte bei der Differenzierung zwischen SVT-Patienten mit und ohne MPN. Ein klarer diagnostischer Vorteil ließ sich daraus entsprechend nicht ableiten.

Die initiale Hypothese, dass sich SVT-Patienten mit begleitender MPN hinsichtlich der Aktivierung des PC-Systems von Patienten ohne MPN unterscheiden, konnte anhand der erhöhten APC- und Thrombinwerte bestätigt werden. Gleichzeitig weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die klinisch häufig verwendeten D-Dimere möglicherweise nicht ausreichend sind, um die bestehende Gerinnungsaktivierung bei SVT-Patienten mit MPN zuverlässig zu erfassen. Die erhöhten Werte von APC und Thrombin trotz Antikoagulation könnten auf eine anhaltende Hyperkoagulabilität bei diesen Patienten hindeuten. Zukünftige Studien sollten daher untersuchen, ob APC und Thrombin ergänzend zur D-Dimer-Messung eine klinisch relevante Rolle in der Diagnostik und Therapieplanung bei Patienten mit SVT einnehmen könnten.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vena (V.) portae hepatis und ihre Zuflüsse	12
Abbildung 2: Sekundäre Hämostase	22
Abbildung 3: Flussdiagramm	35
Abbildung 4: Thrombin- und APC-Plasmaspiegel	50
Abbildung 5: F1+2- und TAT-Plasmaspiegel	51
Abbildung 6: Plasmaspiegel von t-PA und PAP	52
Abbildung 7: D-Dimer-Plasmaspiegel	53
Abbildung 8: Receiver-Operating-Characteristic-Analyse	54
Abbildung 9: Signifikante Korrelationen zwischen Aktivierungsmarkern	55
Abbildung 10: Plasmakonzentrationen von F1+2 und D-Dimer nach Antikoagulationsintensität	57
Abbildung 11: Plasmakonzentrationen von Thrombin und APC nach Antikoagulationsintensität	58
Abbildung 12: Plasmakonzentrationen von TAT, t-PA und PAP nach Antikoagulationsintensität	59

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Risikofaktoren der nicht-zirrhatischen SVT	14
Tabelle 2: Verwendete kommerziell erhältliche Assays	33
Tabelle 3: Klinische Merkmale der Studienkohorte	45
Tabelle 4: Blutbildparameter	47
Tabelle 5: Hämostaseologische Basisdiagnostik	48
Tabelle 6: Gerinnungsaktivierungs- und Fibrinolysemarker	49

8. Literaturverzeichnis

Agno W, Dentali F, Squizzato A. How I treat splanchnic vein thrombosis. *Blood* 2014; 124: 3685-3691

Agno W, Dentali F, Pomero F, Fenoglio L, Squizzato A, Pagani G, Re R, Bonzini M. Incidence rates and case fatality rates of portal vein thrombosis and Budd-Chiari Syndrome. *Thromb Haemost* 2017; 117: 794-800

Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A, Reverter JC, Colomer D, Villamor N, Bellosillo B, Cervantes F. Platelet turnover, coagulation factors, and soluble markers of platelet and endothelial activation in essential thrombocythemia: relationship with thrombosis occurrence and JAK2 V617F allele burden. *Am J Hematol* 2009; 84: 102-108

Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood* 2013; 122: 2176-2184

Becher T, Müller J, Akin I, Baumann S, Stach K, Borggrefe M, Pöttsch B, Loßnitzer D. Characterization of circulating thrombin in patients with septic shock: a prospective observational study. *J Thromb Thrombolysis* 2020; 50: 90-97

Berens C, Rühl H, Vonnahme M, Müller J, Oldenburg J, Brossart P, Wolf D, Pöttsch B. Pattern of Coagulation Activation in Patients with Myeloproliferative Neoplasms. *Blood* 2017; 130: 3707

Boccatonda A, Gentilini S, Zanata E, Simion C, Serra C, Simioni P, Piscaglia F, Campello E, Agno W. Portal Vein Thrombosis: State-of-the-Art Review. *J Clin Med* 2024; 13: 1517

Camerlo S, Ligato J, Rosati G, Carrà G, Russo I, De Gobbi M, Morotti A. Shedding Light on the Pathogenesis of Splanchnic Vein Thrombosis. *Int J Mol Sci* 2023; 24: 2262

Cervantes F, Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A. Blood cell activation in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 2009; 94: 1484-1488

Collen D, Wiman B. Turnover of antiplasmin, the fast-acting plasmin inhibitor of plasma. *Blood* 1979; 53: 313-324

Dautaj A, Krasi G, Bushati V, Precone V, Gheza M, Fioretti F, Sartori M, Costantini A, Benedetti S, Bertelli M. Hereditary thrombophilia. *Acta Biomed* 2019; 90: 44-46

Derman BA, Kwaan HC. Risk Factors, Diagnosis, Management, and Outcome of Splanchnic Vein Thrombosis: A Retrospective Analysis. *Semin Thromb Hemost* 2015; 41: 503-513

Dörner K, Madlener K, Pötzsch B, Witt I. Hämostaseologie. In: Dörner K, Battista HJ, Deufel T, Dörner R, Gibitz HJ, Klingmüller D, Löffler H, Lütjohann D, Madlener K, Pötzsch B, Sommer R, Witt I, Hrsg. Taschenlehrbuch Klinische Chemie und Hämatologie. Stuttgart - New York: Thieme, 2006: 296-314

Duchemin J, Ugo V, Ianotto JC, Lecucq L, Mercier B, Abgrall JF. Increased circulating procoagulant activity and thrombin generation in patients with myeloproliferative neoplasms. *Thromb Res* 2010; 126: 238-342

Elkrief L, Payancé A, Plessier A, d'Alteroche L, Ronot M, Paradis V, Valla D, Rautou PE. Management of splanchnic vein thrombosis. *JHEP Rep* 2023; 5: 100667

El-Sharkawy F, Margolskee E. Pediatric Myeloproliferative Neoplasms. *Clin Lab Med* 2021; 41: 529-540

Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, Margaglione M, De Stefano V, Cumming T, Arruda V, Hillarp A, Reny JL. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism--pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost.* 2001; 86: 809-816. Erratum in: *Thromb Haemost* 2001; 86:1598

Emanuele V, Nicoletta R, Marcello DN, Walter A. Splanchnic Vein Thrombosis: Current Perspectives. *Vasc Health Risk Manag* 2019; 15: 449-461

Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, Balducci D, Barbui T. Leukocyte-platelet interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* 2005; 33: 523-530

Farina M, Russo D, Hoffman R. The possible role of mutated endothelial cells in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 2021; 106: 2813-2823

Favresse J, Lippi G, Roy PM, Chatelain B, Jacqmin H, Ten Cate H, Mullier F. D-dimer: Preanalytical, analytical, postanalytical variables, and clinical applications. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018; 55: 548-577

Gatt A, Riddell A, Calvaruso V, Tuddenham EG, Makris M, Burroughs AK. Enhanced thrombin generation in patients with cirrhosis-induced coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 1994-2000

Grover SP, Hisada YM, Kasthuri RS, Reeves BN, Mackman N. Cancer Therapy-Associated Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2021; 41: 1291-1305

Guy A, Gourdou-Latyszenok V, Le Lay N, Peghaire C, Kilani B, Dias JV, Duplaa C, Renault MA, Denis C, Villeval JL, Boulaftali Y, Jandrot-Perrus M, Couffinhal T, James C. Vascular endothelial cell expression of JAK2V617F is sufficient to promote a pro-thrombotic state due to increased P-selectin expression. *Haematologica* 2019; 104: 70-81

Hankey GJ, Eikelboom JW. Dabigatran etexilate: a new oral thrombin inhibitor. *Circulation* 2011; 123: 1436-1450

Hefaiiedh R, Cheikh M, Marsaoui L, Ennaifer R, Romdhane H, Ben Nejma H, Bel Hadj N, Arfa N, Khalfallah MT. The Budd-Chiari syndrome. *Tunis Med* 2013; 91: 376-381

Heimburger N, Pelzer H. Determination of human thrombin-antithrombin III complex by enzyme immunoassay. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 1988; 115: 269-273

Hekimoğlu H, Toprak SF, Sözer S. JAK2V617F-Positive Endothelial Cells Induce Apoptosis and Release JAK2V617F-Positive Microparticles. *Turk J Haematol* 2022; 39: 13-21

Hill A, DeZern AE, Kinoshita T, Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Nat Rev Dis Primers* 2017; 3: 17028

Hisada Y, Mackman N. Cancer-associated pathways and biomarkers of venous thrombosis. *Blood* 2017; 130: 1499-1506

Hoekstra J, Guimarães AH, Leebeek FW, Darwish Murad S, Malfliet JJ, Plessier A, Hernandez-Guerra M, Langlet P, Elias E, Trebicka J, Primignani M, Garcia-Pagan JC, Valla DC, Rijken DC, Janssen HL; European Network for Vascular Disorders of the Liver (EN-Vie). Impaired fibrinolysis as a risk factor for Budd-Chiari syndrome. *Blood* 2010; 115: 388-395

Hörber S, Lehmann R, Peter A. Evaluation of the Atellica COAG 360 coagulation analyzer in a central laboratory of a maximum care hospital. *Int J Lab Hematol* 2020; 42: 28-36

Hoth M, Wischmeyer E. Blut. In: Behrends C, Bischofberger J, Deutzmann R, Ehmke H, Frings S, Grissmer S, Hoth M, Kurtz A, Leipziger J, Müller F, Pedain C, Rettig J, Wagner C, Wischmeyer E, Hrsg. *Duale Reihe Physiologie*. Stuttgart. Thieme, 2017: 189-198

Hron G, Kollars M, Binder BR, Eichinger S, Kyrle PA. Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. *JAMA* 2006; 296: 397-402

Iliescu L, Toma L, Mercan-STanciu A, Grumeza M, Dodot, Isac T, Ioanimescu S. Budd-Chiari syndrome – various etiologies and imagistic findings. A pictorial review. *Med Ultrason* 2019; 21: 344-348

Intagliata NM, Caldwell SH, Tripodi A. Diagnosis, Development, and Treatment of Portal Vein Thrombosis in Patients With and Without Cirrhosis. *Gastroenterology* 2019; 156: 1582-1599

Kawata E, Siew DA, Payne JG, Louzada M, Kovacs MJ, Lazo-Langner A. Splanchnic vein thrombosis: Clinical manifestations, risk factors, management, and outcomes. *Thromb Res* 2021; 202: 90-95

Ki M, Choi HY, Kim KA, Kim BH, Jang ES, Jeong SH. Incidence, prevalence and complications of Budd-Chiari syndrome in South Korea: a nationwide, population-based study. *Liver Int* 2016; 36: 1067-1073

Killewich LA, Macko RF, Cox K, Franklin DR, Benjamin ME, Lilly MP, Flinn WR. Regression of proximal deep venous thrombosis is associated with fibrinolytic enhancement. *J Vasc Surg* 1997; 26: 861-868

Korninger C, Speiser W, Wojta J, Binder BR. Sandwich ELISA for t-PA antigen employing a monoclonal antibody. *Thromb Res.* 1986; 41: 527-535

Kvasnicka HM. The differential diagnosis of classical myeloproliferative neoplasms (MPN): the updated WHO criteria. *Rinsho Ketsueki* 2019; 60: 1166-1175

Line BR. Pathophysiology and diagnosis of deep venous thrombosis. *Semin Nucl Med* 2001; 31: 90-101

Madlener K, Pötzsch B. D-Dimer-Bestimmung. In Pötzsch B, Madlener K, Hrsg. *Hämostaseologie – Grundlagen, Diagnostik, Therapie*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2010: 897-900

Marchetti M, Falanga A. Leukocytosis, JAK2V617F mutation, and hemostasis in myeloproliferative disorders. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2008; 36: 148-159

Marchetti M, Castoldi E, Spronk HM, van Oerle R, Balducci D, Barbui T, Rosing J, Ten Cate H, Falanga A. Thrombin generation and activated protein C resistance in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* 2008; 112: 4061-4068

McKeage K, Plosker GL. Argatroban. *Drugs* 2001; 61: 515-522

Melchor JP, Strickland S. Tissue plasminogen activator in central nervous system physiology and pathology. *Thromb Haemost* 2005; 93: 655-660

Metze M, Platz M, Pfrepper C, Petros S. Gerinnungsdiagnostik im klinischen Alltag-Teil 2: Überwachung von Antikoagulanzen-therapien, neu aufgetretene Thrombozytopenie und Thrombophilie. *Inn Med (Heidelb)* 2022; 63: 736-750

Moliterno AR, Ginzburg YZ, Hoffman R. Clinical insights into the origins of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2021; 137: 1145-1153

Müller J, Becher T, Braunstein J, Berdel P, Gravius S, Rohrbach F, Oldenburg J, Mayer G, Pötzsch B. Profiling of active thrombin in human blood by supramolecular complexes. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011; 50: 6075–6078

Müller J, Friedrich M, Becher T, Braunstein J, Kupper T, Berdel P, Gravius S, Rohrbach F, Oldenburg J, Mayer G, et al. Monitoring of plasma levels of activated protein C using a clinically applicable oligonucleotide-based enzyme capture assay. *J Thromb Haemost* 2012; 10: 390–398

Nangalia J, Green AR. Myeloproliferative neoplasms: from origins to outcomes. *Blood* 2017; 130: 2475-2483

Neumaier M, Dorn-Beineke A. Blut. In: Scharl M, Gessler M, von Eckardstein A, Hrsg. *Biochemie und Molekularbiologie des Menschen*. München. Urban und Fischer, 2009: 749-793

Ogren M, Bergqvist D, Björck M, Acosta S, Eriksson H, Sternby NH. Portal vein thrombosis: prevalence, patient characteristics and lifetime risk: a population study based on 23,796 consecutive autopsies. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2115-2119

Ollivier-Hourmand I, Allaire M, Goutte N, Morello R, Chagneau-Derrode C, Gorla O, Dumortier J, Cervoni JP, Dharancy S, Ganne-Carrié N, Bureau C, Carbonell N, Abergel A, Noursbaum JB, Anty R, Barraud H, Ripault MP, De Ledinghen V, Minello A, Oberti F, Radenne S, Bendersky N, Farges O, Archambeaud I, Guillygomarc'h A, Ecochard M, Ozenne V, Hilleret MN, Nguyen-Khac E, Dauvois B, Perarnau JM, Lefilliatre P, Raabe JJ, Doffoel M, Becquart JP, Saillard E, Valla D, Dao T, Plessier A; French Network for Vascular Disorders of the Liver. The epidemiology of Budd-Chiari syndrome in France. *Dig Liver Dis* 2018; 50: 931-937

Palareti G, Cosmi B, Legnani C, Antonucci E, De Micheli V, Ghirarduzzi A, Poli D, Testa S, Tosetto A, Pengo V, Prandoni P; DULCIS (D-dimer and ULtrasonography in Combination Italian Study) Investigators. D-dimer to guide the duration of anticoagulation in patients with venous thromboembolism: a management study. *Blood* 2014; 124: 196-203

Palareti G, Poli D, Ageno W, Legnani C, Antonucci E, Bucherini E, Testa S, Paoletti O, Chistolini A, Serrao A, Martinelli I, Bucciarelli P, Falanga A, Tosetto A, Sarti L, Mastroiacovo D, Cosmi B, Visonà A, Santoro RC, Zanatta N, Grandone E, Bertù L, Pengo V, Caiano L, Prandoni P. D-dimer and reduced-dose apixaban for extended treatment after unprovoked venous thromboembolism: the Apidulcis study. *Blood Adv* 2022; 6: 6005-6015

Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, Hillmen P, Luzzatto L, Young N, Kinoshita T, Rosse W, Socié G; International PNH Interest Group. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005; 106: 3699-3709

Plas E, Carroll VA, Jilch R, Mihaly J, Vesely M, Ulrich W, Pflüger H, Binder BR. Analysis of fibrinolytic proteins in relation to DNA ploidy in prostate cancer. *Int J Cancer* 1998; 78: 320-325

Plessier A, Valla DC. Budd-Chiari syndrome. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 259-69

Price GC, Thompson SA, Kam PC. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor. *Anaesthesia* 2004; 59: 483-492

Qi X, Ren W, De Stefano V, Fan D. Associations of coagulation factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations with Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 1801-1812

Rajani R, Björnsson E, Bergquist A, Danielsson A, Gustavsson A, Grip O, Melin T, Sangfelt P, Wallerstedt S, Almer S. The epidemiology and clinical features of portal vein thrombosis: a multicentre study. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 1154-1162

Rajani R, Melin T, Björnsson E, Broomé U, Sangfelt P, Danielsson A, Gustavsson A, Grip O, Svensson H, Lööf L, Wallerstedt S, Almer SH. Budd-Chiari syndrome in Sweden: epidemiology, clinical characteristics and survival - an 18-year experience. *Liver Int* 2009; 29: 253-259

Reda S, Chang J, Busse J, Schwarz N, McRae HL, Müller J, Strassburg CP, Oldenburg J, Pötzsch B, Jansen C, Rühl H. Assessment of Hypercoagulability in Splanchnic Vein Thrombosis by Measurement of the Hemostasis Enzymes Thrombin and Activated Protein C. *Int J Mol Sci* 2024; 26: 292

Reda S, Thiele Serra E, Müller J, Hamedani NS, Oldenburg J, Pötzsch B, Rühl H. Increased Prevalence of Elevated D-Dimer Levels in Patients on Direct Oral Anticoagulants: Results of a Large Retrospective Study. *Front Cardiovasc Med* 2022; 9: 830010

Riva N, Attard LM, Vella K, Squizzato A, Gatt A, Calleja-Agius J. Diagnostic accuracy of D-dimer in patients at high-risk for splanchnic vein thrombosis: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Res* 2021; 207: 102-112

Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *Lancet* 2010; 376: 1498-1509

Rühl H, Berens C, Winterhagen A, Müller J, Oldenburg J, Pötzsch B. Label-Free Kinetic Studies of Hemostasis-Related Biomarkers Including D-Dimer Using Autologous Serum Transfusion. *PLoS One* 2015; 10: e0145012.

Rühl H, Winterhagen FI, Berens C, Müller J, Oldenburg J, Pötzsch B. In vivo thrombin generation and subsequent APC formation are increased in factor V Leiden carriers. *Blood* 2018; 131: 1489-1492

Rühl H, Berens C, Winterhagen FI, Reda S, Müller J, Oldenburg J, et al. Increased Activated Protein C Response Rates Reduce the Thrombotic Risk of Factor V Leiden Carriers But Not of Prothrombin 20210G>A Carriers. *Circ Res* 2019; 125: 523-534

Rühl H, Friemann AM, Reda S, Schwarz N, Winterhagen FI, Berens C, Müller J, Oldenburg J, Pötzsch B. Activated Factor XI is Increased in Plasma in Response to Surgical Trauma but not to Recombinant Activated FVII-Induced Thrombin Formation. *J Atheroscler Thromb* 2022; 29: 82-98

Sammaritano LR. Antiphospholipid syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2020; 34: 101463

Schouten HJ, Geersing GJ, Koek HL, Zuithoff NP, Janssen KJ, Douma RA, van Delden JJ, Moons KG, Reitsma JB. Diagnostic accuracy of conventional or age adjusted D-dimer cut-off values in older patients with suspected venous thromboembolism: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2013; 346: 2492

Schulte E. Leitungsbahnen im Bauch- und Beckenraum. In: Aumüller G, Aust G, Engele J, Kirsch J, Giovanni M, Mayerhofer A, Siegfried M, Reißig D, Salvetter J, Schmidt W, Schmitz F, Schulte E, Spanel-Borowski K, Wennemuth G, Wolff W, Wurzinger LJ, Zilch HG, Hrsg. *Duale Reihe Anatomie*. Stuttgart. Thieme, 2017: 868-871

Senzolo M, Garcia-Tsao G, García-Pagán JC. Current knowledge and management of portal vein thrombosis in cirrhosis. *J Hepatol* 2021; 75: 442-453

Shahin OA, Chifotides HT, Bose P, Masarova L, Verstovsek S. Accelerated Phase of Myeloproliferative Neoplasms. *Acta Haematol* 2021; 144: 484-499

Shatzel JJ, O'Donnell M, Olson SR, Kearney MR, Daughety MM, Hum J, Nguyen KP, DeLoughery TG. Venous thrombosis in unusual sites: A practical review for the hematologist. *Eur J Haematol* 2019; 102: 53-62

Siemens, 2013: Hämostase-Dignostik von Siemens Healthcare Diagnostics. <https://www.henryschein.com/assets/Medical/1143494.pdf> (Zugriffsdatum 29.03.2025)

Smalberg JH, Kruip MJ, Janssen HL, Rijken DC, Leebeek FW, de Maat MP. Hypercoagulability and hypofibrinolysis and risk of deep vein thrombosis and splanchnic vein thrombosis: similarities and differences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 485-493

Smalberg JH, Arends LR, Valla DC, Kiladjian JJ, Janssen HL, Leebeek FW. Myeloproliferative neoplasms in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a meta-analysis. *Blood* 2012; 120: -4928

Stine JG, Wang J, Shah PM, Argo CK, Intagliata N, Uflacker A, Caldwell SH, Northup PG. Decreased portal vein velocity is predictive of the development of portal vein thrombosis: A matched case-control study. *Liver Int* 2018; 38: 94-101

Taylor FB Jr, Peer GT, Lockhart MS, Ferrell G, Esmon CT. Endothelial cell protein C receptor plays an important role in protein C activation in vivo. *Blood* 2001; 97: 1685-1688

Tefferi A, Pardanani A. Myeloproliferative Neoplasms: A Contemporary Review. *JAMA Oncol* 2015; 1: 97-105

Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, Dell'Era A, Clerici M, de Franchis R, Colombo M und Mannucci PM. An imbalance of pro vs anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2009; 137: 2105-2111

Tripodi A, Capecchi M, Scalabrino E, Clerici M, Scimeca B, Agosti P, Bucciarelli P, Peyvandi F. D-dimer for patients on VKA vs DOAC: impact on the validity of D-dimer to make decision for extended anticoagulation. *Blood Adv* 2024; 8: 3612-3614

Valeriani E, Riva N, Di Nisio M, Ageno W. Splanchnic Vein Thrombosis: Current Perspectives. *Vasc Health Risk Manag* 2019; 15: 449-461

Vrotniakaite-Bajerciene K, Rüttsche S, Calzavarini S, Quarroz C, Stalder O, Mean M, Righini M, Staub D, Beer JH, Frauchiger B, Osterwalder J, Kucher N, Matter CM, Husmann M, Banyai M, Aschwanden M, Mazzolai L, Hugli O, Rodondi N, Aujesky D, Angelillo-Scherrer A. Thrombin Generation Is Associated with Venous Thromboembolism Recurrence, but Not with Major Bleeding and Death in the Elderly: A Prospective Multicenter Cohort Study. *J Clin Med* 2023; 12: 6050

Walker FJ. Regulation of activated protein C by protein S. The role of phospholipid in factor Va inactivation. *J Biol Chem* 1981; 256: 11128-11131

Walzog B, Fandrey J. Blut: ein flüssiges Organsystem. In: Klinke R, Pape H, Kurtz A, Silbernagel S, Hrsg. Physiologie. Stuttgart. Thieme, 2010: 247-255

Weitz JI, Fredenburgh JC, Eikelboom JW. A Test in Context: D-Dimer. J Am Coll Cardiol 2017; 70: 2411-2420

Zhang DL, Hao JY, Yang N. Value of D-dimer and protein S for diagnosis of portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis. J Int Med Res 2013; 41: 664-67

9. Erklärung zum Eigenanteil

Das Thema dieser Dissertation wurde der Verfasserin durch ihren Erstbetreuer, Prof. Dr. Heiko Rühl, vorgegeben. An der Ausarbeitung des Studienkonzepts waren neben ihm PD Dr. Johannes Chang und PD Dr. Sara Reda beteiligt. Die Erfassung und Auswertung sämtlicher in dieser Dissertation behandelten Daten, die in den Abschnitten des Methodenteils detailliert beschrieben wurden, wurde von der Verfasserin dieser Dissertation selbstständig und eigenverantwortlich durchgeführt. An der Erhebung klinischer Daten war PD Dr. Johannes Chang beteiligt. Blutentnahmen und Präanalytik sowie die Messungen von Thrombin und APC erfolgten durch die Verfasserin dieser Dissertation unter Verwendung von Testmethoden, die von Prof. Dr. Jens Müller und Prof. Dr. Bernd Pötzsch entwickelt worden waren. Hierbei wurde sie im Labor der Arbeitsgruppe durch Dr. Nadine Schwarz und Simone Gasper unterstützt. Die Datenerhebung unter Verwendung kommerziell erhältlicher Assays erfolgte im Labor des Instituts für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin. Bei Fragen zur Interpretation während der Datenerfassung sowie zur Anwendung statistischer Verfahren wurde sie von ihrem Erstbetreuer und ihrer Zweitbetreuerin unterstützt. Die Software und die methodischen Grundlagen für die statistische Analyse wurden vom Erstbetreuer bereitgestellt und vermittelt. Die Studienergebnisse wurden in einer wissenschaftlichen Fachzeitschrift veröffentlicht. Die Verfasserin der Dissertation ist Mitautorin dieser Publikation (Reda et al., 2024). Neben den bereits genannten Personen sind die PhD-Kandidatin Hannah McRae, Prof. Dr. Christian P. Strassburg und Prof. Dr. Johannes Oldenburg Mitautoren der Publikation von Reda et al. (2024) und haben durch Begutachtung und Redaktion des Manuskripts daran mitgewirkt. Es bestehen keine Überschneidungen dieser Dissertation mit anderen abgeschlossenen oder laufenden Promotionsverfahren anderer Personen.

Bei der Erstellung dieser Arbeit verwendete ich ChatGPT, um die Lesbarkeit und Sprache des Manuskripts zu verbessern. Nach der Verwendung dieses Tools habe ich die entsprechenden Passagen überprüft und bei Bedarf bearbeitet und übernehme die volle Verantwortung für den Inhalt der veröffentlichten Dissertationsschrift.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

10. Veröffentlichungen

Teile der Inhalte der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikation veröffentlicht:

Reda S, Chang J, Busse J, Schwarz N, McRae HL, Müller J, Strassburg CP, Oldenburg J, Pötzsch B, Jansen C, Rühl H. Assessment of Hypercoagulability in Splanchnic Vein Thrombosis by Measurement of the Hemostasis Enzymes Thrombin and Activated Protein C. *Int J Mol Sci* 2024; 26: 292

<https://doi.org/10.3390/ijms26010292>

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen meinen großen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. med. Heiko Rühl für die hervorragende Betreuung. Sein Engagement und seine umfassende Unterstützung waren maßgeblich für den Fortschritt der Arbeit.

Außerdem möchte ich mich bei Simone Gasper und der gesamten Arbeitsgruppe, die mich bei allen Laborversuchen mit großer Sorgfalt unterstützt haben, bedanken. Sie haben wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Dr. Nadine Schwarz danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und ihr offenes Ohr. Ihre motivierenden Ratschläge habe ich stets sehr geschätzt.

Mein Dank gilt auch allen anderen Mitarbeitenden des Instituts für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin und der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Bonn, die mich bei dieser Arbeit unterstützt haben.

Abschließend danke ich meiner Familie, die mir in dieser Zeit wesentlich zur Seite stand und mir den Rückhalt gegeben hat, meine Ziele zu verfolgen. Euch ist diese Arbeit gewidmet.