

## VIII. Material und Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten von 1431 Patienten analysiert. 528 Datensätze stammen von erwachsenen Patienten (>16 Jahre, sog. Indexpatienten), die sich von Januar 1999 bis April 2001 in der Fettstoffwechselambulanz der Charité, Campus Virchow-Klinikum vorgestellt haben. 903 Datensätze enthalten Angaben und Laboruntersuchungen von deren erwachsenen Angehörigen. Patienten die keine Angehörigen hatten wurden ausgeschlossen. Zusätzlich wurden 193 Datensätze von Angehörigen <16 Jahre analysiert. Da Indexpatienten unter 16 Jahren nicht in unserer Ambulanz betreut werden, standen entsprechend für diese Population keine Daten zur Verfügung.

Weit über 95% der Patienten werden von niedergelassenen Ärzten überwiesen. Die übrigen verteilen sich auf stationäre Konsile und eigenständige Vorstellungen.

### *Indexpatienten*

Die Daten der Patienten der Ambulanz, bei denen sich der Verdacht auf eine familiäre Genese einer Fettstoffwechselstörung ergab, wurden in eine projekteigene Datenbank eingegeben und verwaltet. Diese Patienten werden als *Indexpatienten* bezeichnet. Ausgehend von diesen Indexpatienten wurde mit Hilfe des Computerprogrammes ein Stammbaum der Familie erstellt.

Zu den Anamnesedaten der Indexpatienten gehören neben personenbezogenen Angaben die Krankheitsvorgeschichte, Familien- und Sozialanamnese sowie klinische Laborparameter. Zu den persönlichen Daten der Patienten gehören Alters- und Geschlechtsangaben. Die Eigenanamnese beinhaltet u.a. Fragen nach kardialen, kardiovaskulären und zerebrovaskulären Ereignissen in der Vergangenheit. Bei Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung (KHK) wurde nach Ausprägung und Dauer der Beschwerden sowie Myokardinfarkten und/oder kardiologischen/kardiochirurgischen Interventionen (Koronarangiographie, PTCA, Bypass-Operation) gefragt. Daneben wurde erfragt, wie lange die Fettstoffwechselstörung bekannt ist und wie hoch die gemessenen Lipidwerte in der Vergangenheit waren, ob eine Umstellung der Ernährung erfolgte oder eine medikamentös lipidsenkende Therapie eingeleitet wurde. Auch Rauch- und Trinkgewohnheiten wurden erfragt.

Zur Einschätzung des individuellen kardiovaskulären Risikoprofils wurden Fragen zum Vorliegen einer Hypertonie, eines Diabetes mellitus und eines Nikotinkonsumes gestellt sowie der Body-Mass-Index ermittelt.

Die Erhebung der Familienanamnese beinhaltete zwei Schwerpunkte. Zum einen wurde eruiert, inwieweit andere Familienangehörige ebenfalls erhöhte Lipidparameter aufweisen, zum anderen

wurde dezidiert bei den Verwandten 1. Grades nach kardio- und zerebrovaskulären Erkrankungen gefragt.

Neben der Bestimmung der Lipidparameter wurden bei den Indexpatienten folgende Laborparameter ermittelt:

- Blutbild
- Quick, partielle Thromboplastinzeit, Fibrinogen
- Natrium, Kalium, Chlorid, Calcium, Phosphat, Osmolarität
- Transaminasen,  $\gamma$ GT, alkalische Phosphatase, Gesamtbilirubin
- Lipase, Amylase
- Kreatinin, Harnstoff
- Harnsäure, Kreatinkinase
- Nüchtern-Glucose, HbA1c
- TSH, freies T<sub>3/4</sub>
- Urinstatus

Es erfolgte bei allen Patienten eine internistisch-neurologische Untersuchung. Zudem wurden alle Patienten aufgefordert, ein Ruhe-EKG, eine Ergometrie und eine Duplex-Sonographie der extracraniellen Hirngefäße vorzulegen. Dies dient u.a. auch dazu, Frühformen der Atherosklerose (z.B. verdickter Intima-Media-Komplex) zu detektieren.

Um eine sekundäre Fettstoffwechselstörung zu erkennen, wurde nach Leber-, Nieren- und Schilddrüsenerkrankungen gefragt und bei Frauen nach Regelzyklus, Menopause und der Einnahme von Hormonpräparaten. Darüber hinaus wurde eine detaillierte Medikamentenanamnese erhoben.

#### *Diagnose "Koronare Herzkrankheit"*

Die Diagnose "Koronare Herzkrankheit" wurde bei den Indexpatienten gestellt, wenn anamnestisch eindeutige Vorbefunde erhoben werden konnten (Myokardinfarkt, nitrosensible Angina pectoris, kardiologische oder kardiochirurgische Interventionen in der Anamnese) oder eindeutige EKG-Veränderungen darstellbar waren bzw. eine pathologische Ergometrie/Stress-Echokardiographie, Koronarangiographie oder Myokardszintigraphie vorlag.

#### *Angehörige der Indexpatienten*

Nach Aufklärung über die Ziele des Projektes wurden die Indexpatienten instruiert, ihre Angehörigen über die Familienuntersuchung in Kenntnis zu setzen. Interessierte Angehörige

erhielten über den Index-Patienten einen kurzen Anamnesebogen mit der Bitte diesen auszufüllen. Auf diesem Bogen befinden sich personenbezogene Fragen zu:

- Name, Adresse
- Größe, Gewicht
- KHK, Myokardinfarkt, Koronarangioplastien, operativer Koronarrevaskularisation,
- zerebralem Insult
- arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, Rauchgewohnheiten und Medikamenten

Diese Daten dienen als Grundlage zur Erstellung eines individuellen Risikoprofils. Ausserdem erhielten sie über den Index-Patienten Blutröhrchen für eine Blutentnahme über den Hausarzt und Versandmaterial. Die Blutproben, die die Familienangehörigen in unser Zentrallabor schickten, wurden auf folgende Lipidparameter untersucht: Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, Apolipoprotein B, Apolipoprotein E-Genotyp und Lipoprotein(a). Nach Abschluss der Untersuchungen erhielten das jeweilige Familienmitglied und bei Wunsch zusätzlich der Hausarzt einen schriftlichen Befund mit Angabe der erhobenen Laborparameter und Hinweisen darauf, ob es sich um einen pathologischen und/oder potentiell behandlungsbedürftigen Befund handelte und welcher nächste Schritt empfohlen wird. Nach einem sechsmonatigen Intervall wurden die Angehörigen, bei denen eine Fettstoffwechselstörung vorlag, angeschrieben und nachbefragt. Ein Rückumschlag (nicht frankiert, mit der Bezeichnung "Porto zahlt Empfänger") wurde beigelegt.

#### *Datenbank*

In der Datenbank werden folgende Daten erfasst:

- Personenbezogene Daten: Name, Vorname, Geburtsdatum, Alter bei Erstvorstellung, Geschlecht
- Indexpatient/Angehöriger
- Lipidprofil: Lipoprotein(a), Triglyzeride, Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, Apolipoprotein B, Apolipoprotein E (Genotyp)
- Kardiovaskuläre Risikofaktoren: Hypertonus, Diabetes mellitus, Nikotinkonsum, Body-Mass-Index
- Kardiovaskuläre und zerebrovaskuläre Erkrankungen: koronare Herzkrankheit, Herzinfarkt, PTCA, Bypass, TIA/PRIND, Apoplex
- Diagnose: Phänotyp, klinische Diagnose
- Lipidsenkende Medikation

### *Probenmaterial Lipidscreening*

Von allen Patienten wurden je eine Probe EDTA-Blut (2,7 ml) zur Apo E-Genotypisierung der Isoform, Vollblut (5 ml) zur Apolipoprotein B- und Lipoprotein(a)-Bestimmung sowie 2,6 ml Blut in einem mit Lithium-Heparin beschichtetem Röhrchen gewonnen. Aus letzterem wurden folgende Parameter analysiert: Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin und Triglyzeride. LDL-Cholesterin wurde aus diesen drei Größen nach Friedewald berechnet. Das Vollblut wurde bei 3000 U/min zentrifugiert und aus dem Serum wurde Lipoprotein(a) quantitativ bestimmt.

*Gesamtcholesterin:* Die Messung des Gesamtcholesterins aus dem Plasma wurde am klinisch chemischen Selektionsanalysierer, dem Roche Modular der Firma Roche, mit einem enzymatischen Farbttest der Firma Roche durchgeführt.

*LDL-Cholesterin:* Das LDL-Cholesterin wurde nach der Bestimmung von Gesamtcholesterin, Triglyzeriden und HDL-Cholesterin mit der Friedewaldformel berechnet [Friedewald, Levy & Fredrickson, 1972]:  $LDL\text{-Cholesterin} = Gesamtcholesterin - HDL\text{-Cholesterin} - (Triglyzeride : 5)$ . Diese Formel ist jedoch nur anwendbar, wenn die Triglyzeride nicht über 400 mg/dl erhöht sind.

*HDL-Cholesterin:* HDL-Cholesterin wurde ebenfalls am klinisch chemischen Selektivanalysierer Roche Modular, jedoch durch ein homogenes photometrisches Testverfahren, mittels Immuninhibition und Farbttest der Firma Wako (Japan/ Neuss Deutschland) ermittelt.

*Triglyzeride:* Die Triglyzeride wurden mit einem enzymatischen Farbttest am klinisch chemischen Selektivanalysierer Roche Modular bestimmt.

*Lipoprotein(a):* Lp(a) wurde mit einem latexverstärkten, immunturbidimetrischen Test (Hersteller: Immuno) am klinisch-chemischen Selektivanalysierer Cobas-Mira der Fa. Hoffmann La Roche analysiert.

*Apolipoprotein E-Genotypisierung:* Der Apolipoprotein-Genotyp wurde mittels Polymerasekettenreaktion und Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus bestimmt.

### *Stammbäume*

Für jede Familie wurde eine Stammbaumanalyse durchgeführt. Hierzu wurden anonymisiert die Erkrankungen und bekannten Fettstoffwechselstörungen der Familienmitglieder I.<sup>o</sup> in ein vorgegebenes Stammbaumschema über möglichst viele Generationen aufgezeichnet (s. Anhang).

### *Interpretation von Laborergebnissen*

Für die Diagnosestellung wurden die im internationalen Konsens der an MedPed beteiligten Zentren festgelegten Kriterien verwendet. Diese sind weitgehend identisch mit den NCEP- und EAS Guidelines [National Cholesterol Education Program, 1994; European Atherosclerosis Society, 1992]. Bei einem nüchternen LDL-Serumspiegel von >155 mg und Triglyzeriden <180 mg/dl wurde formal die Diagnose einer Hypercholesterinämie gestellt. Die Diagnose kombinierte Hyperlipoproteinämie hatte erhöhte LDL-Serumspiegel und erhöhte Triglyzeride im

Serum (>180 mg/dl) zur Voraussetzung. Hypertriglyzeridämie als Diagnose bedurfte eines normalen LDL und erhöhter Triglyzeride. Diese Ergebnisse durften zudem nicht unter medikamentöser lipidsenkender Therapie ermittelt worden sein. Bei Patienten mit lipidsenkender Vorbehandlung wurde entweder eine 6-wöchige Pause der Medikation mit anschließendem Lipidscreening oder bereits vorliegende Lipidwerte vor Einleitung einer medikamentösen Therapie zur Diagnosestellung herangezogen. War auch dies nicht möglich, (z.B. wurde von uns bei Patienten mit KHK keine Pausierung der Medikation vorgenommen) wurde anhand der vorliegenden Daten die wahrscheinlichste Diagnose gestellt. Eine bereits eingeleitete Ernährungsumstellung wurde als Entscheidungskriterium zur Diagnosestellung nur berücksichtigt, wenn im Vorfeld bereits ein vollständiges Lipidscreening erhoben wurde. Eine Hyperlipoproteinämie(a) wurde bei einem Serumspiegel des Lipoprotein(a) > 30 mg/dl diagnostiziert (siehe auch: Methodenkritische Auseinandersetzung; Kapitel IX.1).

Übergewicht wurde bei einem BMI > 25 angenommen, die Diagnose Art. Hypertonus wurde bei Blutdruckwerten >140/80 mmHg vergeben.

Für jeden Angehörigen wurde ein individueller Zielwert für das LDL-Cholesterin bestimmt, der sich nach den Vorgaben der NCEP-Guidelines [National Cholesterol Education Program, 1994] richtete. Für Patienten mit KHK wurde ein Zielwert <100 mg/dl definiert. Bei Vorliegen von mehr als einem Risikofaktor (Diabetes, Hypertonus oder Rauchen) war der Zielwert in der Primärprävention <130 mg/dl, bei maximal einem Risikofaktor <160 mg/dl. Bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie(a) ohne KHK wurde ein Zielwert von <130 mg/dl angelegt. Dies wird in den aktuellen Richtlinien zwar nicht zwingend empfohlen, spiegelt jedoch die internationale Datenlage wieder, die Lp(a) als eigenständigen Risikofaktor anerkennt.

### *Statistik*

Die Analyse der verarbeiteten Daten wurde mittels beschreibender und schließender Statistik durchgeführt. Zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben wurde bei metrischen Daten der t-Test angewendet, wenn von einer Normalverteilung der Daten (Shapiro-Wilks-Test; Kolmogorov-Smirnov-Test) ausgegangen werden konnte. Nichtparametrische Daten zweier unabhängiger Stichproben wurden mit dem U-Test nach Mann und Whitney analysiert. Bei Subgruppenanalysen wurde beim Vorliegen von mehr als zwei unabhängigen Stichproben der H-Test nach Kruskal und Wallis verwendet. Die Daten in den Tabellen wurden als Absolutwerte mit Prozentangaben oder als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben. Ein p-Wert  $\leq 0,05$  wurde als statistisch signifikant angesehen. Die statistische Analyse erfolgte mit SPSS.