

Aus dem Institut für Endokrinologie und Diabetes  
der Universität zu Lübeck

Direktoren:

Prof. Dr. med. Sebastian M. Schmid, Prof. Dr. rer. nat. Jens Mittag

---

**Familiär oder nicht? Differentialdiagnostik der schweren  
Hypercholesterinämie in der Praxis**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Sektion Medizin –

vorgelegt von

Louisa Lehner

aus Salzburg

Lübeck 2020

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Sebastian M. Schmid

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Harm Wienbergen

Tag der mündlichen Prüfung: 19.08.2020

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 19.08.2020

- Promotionskommission der Sektion Medizin -

# Inhaltsverzeichnis

## Abkürzungsverzeichnis

## Tabellenverzeichnis

## Abbildungsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Definition	1
1.2	Historischer Hintergrund	1
1.3	Epidemiologie	2
1.4	Pathophysiologie und Genetik	2
1.4.1	LDL-Rezeptor-Gen	3
1.4.2	Apolipoprotein B-100-Gen	4
1.4.3	Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9-Gen	5
1.4.4	Andere monogenetische Ursachen für FH	5
1.4.5	Polygene Hypercholesterinämie	6
1.4.6	Lipoprotein (a)	6
1.5	Klinisches Bild	7
1.6	Diagnose	8
1.6.1	Diagnose bei Erwachsenen	8
1.6.2	Diagnose bei Kindern	9
1.7	FH-Screening und Kosteneffektivität	9
1.8	Therapie	11
1.8.1	Aktuelle Empfehlungen und LDL-C-Zielwerte	11
1.8.2	Medikamentöse Therapie	12
1.8.3	Lipidapherese	12
1.8.4	Neue Entwicklungen und weitere Therapieansätze	13
1.8.5	Prognose	13
1.9	Fragestellung	14
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>15</b>
2.1	Gewinnung der Daten	15
2.2	Einschlusskriterien	15
2.3	Ausschlusskriterien	16
2.4	Patientenklientel	16

<b>2.5</b>	<b>Klinische Daten</b>	<b>16</b>
2.5.1	Anamnese	17
2.5.2	Klinische Parameter und Laborparameter	17
2.5.3	Lipidsenkende Medikation	18
<b>2.6</b>	<b>Dutch Lipid Clinic Network-Kriterien</b>	<b>19</b>
<b>2.7</b>	<b>Molekulargenetik</b>	<b>20</b>
2.7.1	Methodik Genanalyse LDLR, APOB, PCSK9, LDLRAP1	20
2.7.2	Methodik APOE-Analyse	21
2.7.3	Methodik Lp(a)-Analyse	22
2.7.4	Variantenbewertung	22
<b>2.8</b>	<b>Statistische Auswertung</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>24</b>
<b>3.1</b>	<b>Beschreibung des Patientenkollektivs der <math>\geq 18</math>-jährigen</b>	<b>24</b>
3.1.1	Verteilung der weiblichen und männlichen Patienten	24
3.1.2	Alter	24
3.1.3	Body-Mass-Index	25
3.1.4	Kardiovaskuläre Risikofaktoren	25
3.1.5	Laborprofile	26
3.1.6	Mutationen	29
3.1.7	Mutationsdetektion und Lipidwerte	32
3.1.8	Lipidsenkende Medikation	35
3.1.9	DLCN-Score	37
3.1.10.	Alter und Mutationsdetektion	40
<b>3.2</b>	<b>Beschreibung des Patientenkollektivs der <math>&lt; 18</math>-jährigen</b>	<b>41</b>
3.2.1	Verteilung der weiblichen und männlichen Patienten	41
3.2.2	Alter	41
3.2.3	Body-Mass-Index	41
3.2.4	Laborprofil	42
3.2.5	Kardiovaskuläre Risikofaktoren	43
3.2.6	Mutationen	43
3.2.7	Mutationsdetektion und Lipidwerte	44
3.2.8	Lipidsenkende Medikation	46
<b>3.3</b>	<b>Mutationsspektrum im Gesamtkollektiv</b>	<b>47</b>
3.3.1	Sequenzvarianten des LDLR-Gens	49
3.3.2	Neue Sequenzvarianten	50
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>52</b>
<b>4.1</b>	<b>Datenerfassung</b>	<b>52</b>

<b>4.2</b>	<b>Mutationen</b>	<b>53</b>
4.2.1	LDLR	54
4.2.2	APOB	55
4.2.3	PCSK9	55
<b>4.3</b>	<b>Mutationsdetektion und Lipidwerte</b>	<b>57</b>
<b>4.4</b>	<b>Lipidsenkende Medikation</b>	<b>58</b>
<b>4.5</b>	<b>DLCN-Score</b>	<b>59</b>
4.5.1	DLCN-Score und Mutationsdetektion	60
4.5.2	DLCN-Score und Lp(a)	61
<b>4.6</b>	<b>Ausblick &amp; Fazit</b>	<b>62</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>63</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>64</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	<b>I</b>
<b>8</b>	<b>Danksagungen</b>	<b>XII</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>XIII</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
ALAT	Alanin-Aminotransferase
AMP	Association for Molecular Pathology
ANOVA	Analysis of Variance
AP	Alkalische Phosphatase
ApoA	Apolipoprotein A
APOB	Apolipoprotein B-100
APOE	Apolipoprotein E
ARH	Autosomal rezessive Hypercholesterinämie
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
AUC	Area under the curve
BMI	Body-Mass-Index
BZ	Blutzucker
CaRe High	Cascade Screening and Registry for High Cholesterol
cAVK	Cerebrale arterielle Verschlusskrankheit
CK	Creatinkinase
DLCN	Dutch Lipid Clinic Network
DM	Diabetes mellitus
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EAS	Europäische Atherosklerose Gesellschaft
EK	Ethik-Kommission
EMA	European Medicines Agency
ESC	Europäische Gesellschaft für Kardiologie
FDB	Familiär defektes Apolipoprotein B-100
FH	Familiäre Hypercholesterinämie
FOURIER	Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk
GC	Gesamtcholesterin
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GOF	Gain-of-function

GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HDL	High-Density-Lipoprotein
HLP	Hyperlipidämie
HMG-CoA-Reduktase	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-density-Lipoprotein
LDL-C	Low-density-Lipoprotein-Cholesterin
LDLR	Low-density-Lipoprotein-Rezeptor
LDLRAP1	Low-density-Lipoprotein-Rezeptor-Adapterprotein 1
LOF	Loss-of-function
LOVD	Leiden Open Variation Database
Lp(a)	Lipoprotein (a)
M-W-U-Test	Mann-Whitney-U-Test
MedPed	Make early diagnosis to prevent early death
MLPA	Multiplex-Ligation-dependent Probe Amplification
mRNA	Messenger RNA
MTP	Mikrosomales Triglyzerid-Transfer-Protein
MutTaster	Mutation Taster
NCEP	National Cholesterol Education Program
NGS	Next Generation Sequencing
ODYSSEY	Evaluation of Cardiovascular Outcomes After an Acute Coronary Syndrome During Treatment With Alirocumab
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCSK9	Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9
PolyPhen-2	Polymorphism Phenotyping v2
ROC	Receiver Operating Characteristics
siRNA	Small-interfering RNA
SNP	Single-Nucleotide Polymorphism
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TG	Triglyzeride
TSH	Thyreotropin

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer FH basierend auf erreichten Punkten .....	9
Tabelle 2: LDL-C Zielwerte kardiovaskulärer Risikokategorien (nach Mach et al. ESC/EAS Guidelines, 2019) .....	18
Tabelle 3: DLCN-Kriterien.....	19
Tabelle 4: Einteilung gemäß anamnestisch verfügbaren Informationen .....	20
Tabelle 5: ACMG Leitlinien zur Klassifikation von Sequenzvarianten (modifiziert nach Richards et al. 2015) .....	22
Tabelle 6: Verteilung der Geschlechter ( $\geq 18$ -Jährige) .....	24
Tabelle 7: Kardiovaskuläre Risikofaktoren.....	25
Tabelle 8: Laborparameter ( $\geq 18$ -Jährige).....	27
Tabelle 9: Häufigkeit der molekulargenetischen Testung .....	29
Tabelle 10: Analysierte Gene: LDLR, APOB, PCSK9 ( $\geq 18$ -Jährige) .....	30
Tabelle 11: Ergebnisse APOE-Genanalyse .....	31
Tabelle 12: Ergebnisse Lp(a)-Genanalyse.....	31
Tabelle 13: LDL-C, mg/dl (ohne Therapie) bei Patienten mit und ohne FH-Variante .....	32
Tabelle 14: LDL-C, mg/dl (ohne Therapie) bei Patienten mit und ohne Nachweis von veränderten Sequenzvarianten (Mutationen und Polymorphismen) .....	32
Tabelle 15: GC, TG und Lp(a) bei Personen mit und ohne FH assoziierter Variante.....	34
Tabelle 16: LDL-C, GC, TG und Lp(a) in Abhängigkeit des Mutationsbefundes.....	34
Tabelle 17: Einnahme einer lipidsenkenden Medikation im Kollektiv und bei Patienten mit nachgewiesener FH-Variante .....	35
Tabelle 18: LDL-C und GC-Senkung im Kollektiv der $\geq 18$ -Jährigen.....	35
Tabelle 19: LDL-C- und GC-Senkung bei Patienten mit nachgewiesener FH-Variante .....	35
Tabelle 20: DLCN-Score - verfügbare Informationen .....	38
Tabelle 21: Lp(a)-Spiegel in Abhängigkeit der FH-Diagnosewahrscheinlichkeit .....	40
Tabelle 22: Laborparameter ( $< 18$ -Jährige).....	42
Tabelle 23: Analysierte Gene: LDLR, APOB, PCSK9 ( $< 18$ -Jährige) .....	44
Tabelle 24: LDL-C, GC, TG und Lp(a) (ohne Therapie) bei $< 18$ -Jährigen mit und ohne FH -Variante.....	44
Tabelle 25: LDL-C, GC, TG und Lp(a) in Abhängigkeit des Mutationsbefundes ( $< 18$ -Jährige).....	46
Tabelle 26: Einnahme einer lipidsenkenden Medikation im Kollektiv und bei nachgewiesener FH-Variante ( $< 18$ -Jährige).....	46
Tabelle 27: LDL-C- und GC-Senkung im Kollektiv ( $< 18$ -Jährige).....	46
Tabelle 28: LDL-C und GC-Senkung bei $< 18$ -Jährigen mit nachgewiesener FH-Variante .....	47
Tabelle 29: Neue Varianten.....	51
Tabelle 30: Perzentilen für Gesamtcholesterin (mg/dl) Jungen .....	I
Tabelle 31: Perzentilen für Gesamtcholesterin (mg/dl) Mädchen.....	II
Tabelle 32: Perzentilen für LDL-C (mg/dl) Jungen .....	III

## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 33: Perzentilen für LDL-C (mg/dl) Mädchen.....	IV
Tabelle 34: Normbereiche Laborparameter Amedes Labor .....	V
Tabelle 35: Kardiovaskuläre Risikokategorien (modifiziert nach Mach et al. 2019).....	VI
Tabelle 36: Übersicht der detektierten Sequenzvarianten im LDLR-, APOB- und PCSK9-Gen .....	VII
Tabelle 37: LDL-C-Konversionstabelle; modifiziert nach Haralambos et al. und Walma et al. ....	X

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Stoffwechselweg der LDL-Partikel, Rolle von PCSK9; aus Hovingh et al. 2013 .....	3
Abbildung 2: Altersverteilung der $\geq 18$ -Jährigen .....	24
Abbildung 3: Verteilung des BMI (kg/m <sup>2</sup> ) der $\geq 18$ -Jährigen .....	25
Abbildung 4: ROC- Kurve für die LDL-C-Werte von Personen mit bzw. ohne Mutation .....	33
Abbildung 5: Boxplot-Verteilung der TG-Werte bei Personen mit und ohne FH-Variante .....	33
Abbildung 6: Boxplot-Verteilung der LDL-C-Werte mit und ohne FH-Mutation.....	34
Abbildung 7: LDL-C im Gesamtkollektiv und bei FH-Patienten unter Einnahme einer lipidsenkenden Medikation.....	36
Abbildung 8: LDL-C im Gesamtkollektiv und bei FH-Patienten unter Einnahme einer lipidsenkenden Medikation (eingeteilt nach Zielwertbereichen).....	36
Abbildung 9: Verteilung der DLCN- Score-Werte .....	37
Abbildung 10: DLCN-Score-Werte ohne Berücksichtigung der Genetik.....	38
Abbildung 11: Verteilung der Gruppen möglicherweise, wahrscheinlich und definitiv FH in Abhängigkeit der zur Score-Berechnung verfügbaren Informationen .....	39
Abbildung 12: Prozentualer Anteil detektierter Mutationen in Bezug auf die FH-Diagnose anhand klinischer Kriterien .....	39
Abbildung 13: LDL-C vor Therapiebeginn in Abhängigkeit des Alters bei Patienten mit und ohne FH- Variante .....	40
Abbildung 14: Altersverteilung (< 18-Jährige) .....	41
Abbildung 15: Boxplot-Verteilung der LDL-C-Werte bei Personen mit und ohne Mutation (< 18-Jährige)..	45
Abbildung 16: ROC-Kurve für die LDL-C Werte von Personen mit bzw. ohne Mutation (< 18-Jährige).....	45
Abbildung 17: Verteilung der Sequenzvarianten des LDLR-Gens im Gesamtkollektiv (%) .....	49
Abbildung 18: Verteilung der Lokalisation der detektierten LDLR-Mutationen.....	49
Abbildung 19: Workflow zur Identifikation von FH-Patienten .....	62

# 1 Einleitung

## 1.1 Definition

Die familiäre Hypercholesterinämie (FH) ist eine autosomal-dominant vererbte monogenetische Lipidstoffwechselerkrankung, die durch stark erhöhte Plasmaspiegel des Low-Density-Lipoprotein-Cholesterins (LDL-C) zu einer frühzeitigen Manifestation kardiovaskulärer Erkrankungen führt. Mutationen in den Genen des LDL-Rezeptors (LDLR), Apolipoprotein B-100 (APOB) und der Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9 (PCSK9) konnten als Ursache für die FH identifiziert werden. Die Gene kodieren für den LDLR, das LDLR Bindungsprotein ApoB und die Serinprotease PCSK9, ein am LDLR-Stoffwechsel beteiligtes Protein. Abzugrenzen hiervon ist die sehr seltene autosomal-rezessive Hypercholesterinämie (ARH), die durch Mutationen im LDLR-Adapterprotein 1 (LDLRAP1) -Gen verursacht wird und klinisch nicht von der FH zu unterscheiden ist (1-3). Gemäß der Frederickson-Klassifikation, eine Einteilung primärer Hyperlipoproteinämien, können FH-Patienten meist dem Typ IIa zugeordnet werden (4).

## 1.2 Historischer Hintergrund

Carl Müller erkannte im Jahr 1938 erstmals den Zusammenhang zwischen erhöhten Cholesterinplasmaspiegeln und atherosklerotischen Läsionen, indem er in betroffenen Familien ein erhöhtes Vorkommen an kardiovaskulären Erkrankungen feststellte (5). Die genetische Basis der FH erkannten Wilkinson et al. im Jahr 1948 (6), 1964 wurde der autosomal dominante Erbgang und das Vorkommen einer homozygoten und heterozygoten Form festgestellt (7). Michael Brown und Joseph Goldstein erhielten 1985 den Nobelpreis für Medizin und Physiologie für ihre Entdeckung des LDLR und ihre bahnbrechenden Erkenntnisse zur Regulation des Cholesterinstoffwechsels. Sie stellten fest, dass die Aufnahme von im Blut zirkulierenden LDL-Partikeln über Rezeptoren an der Zelloberfläche vermittelt wird und der wesentliche molekulare Defekt der FH auf einer verminderten oder fehlenden Funktionalität des LDLR beruht (8, 9). Die FH ist eine seit Jahrhunderten in der Menschheit vorkommende Erkrankung. Erste Hinweise finden sich in Leonardo da Vincis Portrait der Mona Lisa (1503). Dort kann eine Läsion am linken Augenlid als Xanthelasma, eine Lipidablagerung im Gewebe des Ober- und Unterlids, interpretiert werden (10). In

Frans Hals Portrait einer älteren Dame (1633) zeigt sich auf dem linken Handrücken ein tendinöses Xanthom, eine abnorme Lipidakkumulation im Sehnenbereich (11).

### 1.3 Epidemiologie

Die FH ist die häufigste vererbte Form erhöhten Cholesterins. Man geht davon aus, dass es möglicherweise die häufigste genetische Erkrankung weltweit ist (12-14). Bis vor einigen Jahren wurden in der Literatur Prävalenzraten von 1:500 für die heterozygote, 1:1 000 000 für die homozygote Form berichtet. Häufungen wurden unter anderem in kanadischen, libanesischen und südafrikanischen Populationen beobachtet (14-16). Diese Beobachtungen beruhen auf sogenannten Foundereffekten, die eine deutlich geringere geno- und phänotypische Variabilität innerhalb einer Population zur Folge haben. Studien in einzelnen Bevölkerungsgruppen haben jedoch gezeigt, dass die Prävalenz, unabhängig von populationsbasierten Foundereffekten, weitaus höher ist als angenommen. In Dänemark zeigte die Copenhagen General Population Study eine Prävalenz von 1:137 für die heterozygote FH (17). Daten anderer Länder lassen auf Prävalenzraten von 1:200 – 1:300 schließen (4, 13, 18, 19). Heute nimmt man an, dass auch die homozygote FH mit Prävalenzen von 1:300-1:600 weitaus häufiger ist als bisher vermutet (20). Unter Berücksichtigung der genannten Prävalenzraten kann davon ausgegangen werden, dass weltweit 14-34 Millionen Menschen von der FH betroffen sind (13). Mit < 1% ist die FH in den meisten Ländern dramatisch unterdiagnostiziert (13, 21).

### 1.4 Pathophysiologie und Genetik

Als wesentliche molekulare Mechanismen der FH können folgende angesehen werden: eine eingeschränkte Funktionalität oder eine verminderte Anzahl der LDLR, Defekte des ApoB auf LDL-Partikeln mit resultierender fehlender Bindung der Partikel an den Rezeptor und eine Überexpression von PCSK9 und damit verbundenen verstärkten intrazellulärem Abbau von LDLR-Molekülen (22-24). Eine verminderte Aufnahme und gleichzeitige Steigerung der endogenen Cholesterinsynthese, führt zu einem erheblichen Anstieg des LDL-C im Plasma. Schlüsselenzym und geschwindigkeitsbestimmender Faktor der endogenen, hepatischen Cholesterinsynthese ist das Enzym 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (HMG-CoA-Reduktase), dessen Transkription durch intrazellulären

Cholesterinmangel gesteigert wird (9, 25). Hohe LDL-C-Spiegel begünstigen Cholesterinablagerungen und Entzündungsprozesse in arteriellen Gefäßwänden. Die Formierung atherogener Plaques kann über eine Plaqueruptur zur Gerinnungsaktivierung und so zum thrombotischen Verschluss des Gefäßes mit resultierender Gewebischämie führen (26).

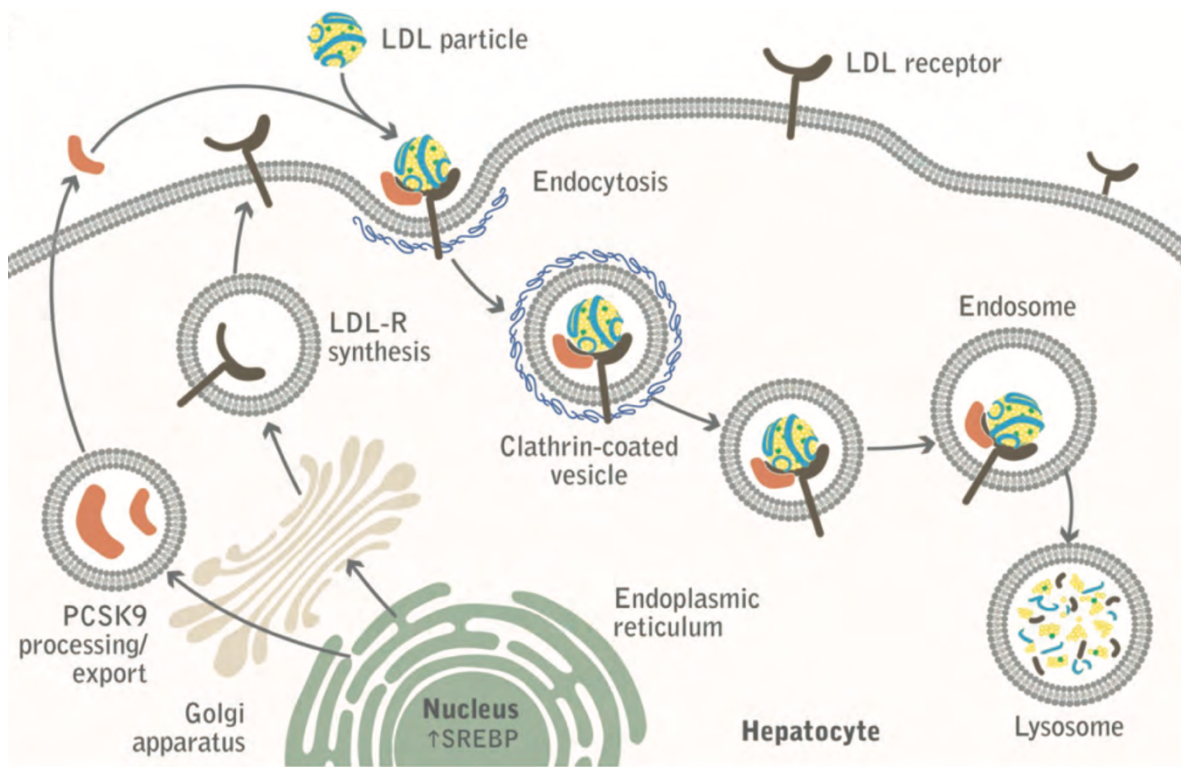


Abbildung 1: Stoffwechselweg der LDL-Partikel, Rolle von PCSK9; aus Hovingh et al. 2013 (1)

### 1.4.1 LDL-Rezeptor-Gen

Das LDLR-Gen war das erste Gen, das als Ursache der FH identifiziert werden konnte. Lokalisiert auf dem kurzen Arm von Chromosom 19, umfasst es 18 Exons und eine Länge von 45kb. Mit 80-90 % zählen Mutationen im LDLR-Gen zu den häufigsten unter heterozygoten FH-Patienten (14, 23). Bisher wurden > 2900 unterschiedliche Varianten im LDLR-Gen detektiert (27). FH verursachende Mutationen können jede Domäne des LDLR betreffen und zu Nukleotidsubstitutionen mit resultierenden Missense- oder Nonsense-Mutationen, Spleißmutationen, kleineren Deletionen und Insertionen sowie größeren strukturellen Veränderungen führen (28). LDLR-Mutationen können gemäß ihrem Effekt auf die Funktionalität des LDLR-Proteins in sechs Klassen eingeteilt werden. Klasse 1

Mutationen führen zu einer fehlenden Synthese des LDLR, während Klasse 2-6 Mutationen zu einem dysfunktionalen LDLR-Protein führen, in dem sie Freisetzung, Internalisierung, Recycling-Prozesse und die Bindungsdomäne für ApoB beeinflussen. Vereinfacht kann eine Einteilung in zwei Gruppen erfolgen: Rezeptor-negative Mutationen, die keine Proteinsynthese oder einen vollständig dysfunktionalen Rezeptor zur Folge haben und Rezeptor-defekte Mutationen, die zu einer Expression eines LDLR mit verminderter LDL-Affinität führen (4, 12). Bei neu aufgetretenen LDLR-Varianten ist die Einordnung ob krankheitsverursachend oder nicht pathogen, nicht immer eindeutig. Um eine einheitliche Charakterisierung der Varianten treffen zu können, publizierte das American College of Medical Genetics and Genomics und die Association for Molecular Pathology (AMP) Leitlinien zur Terminologie von Sequenzvarianten, die eine Einteilung in Klasse 1-5 empfehlen (s. Tab. 5 Abschnitt 2.7.4) (29). LDL-C-Plasmaspiegel können abhängig von der Art des molekularen Defekts stark variieren, wobei homozygote Anlageträger die höchsten Plasmaspiegel aufweisen. Die Diagnose homozygote FH, bei der beide Allele des LDLR-Gens die gleiche Mutation tragen, wird aufgrund eines ähnlich schwer ausgeprägten Phänotyps oft auch bei compound heterozygoten (zwei unterschiedliche Mutationen auf beiden Allelen) oder doppelt heterozygoten (Mutationen in zwei unterschiedlichen Genen, welche die LDLR-Funktion beeinflussen) Anlageträgern gestellt (20).

### 1.4.2 Apolipoprotein B-100-Gen

An die 5-10 % aller FH-Patienten weisen eine Mutation im APOB-Gen auf. Das Gen ist auf Chromosom 2 lokalisiert, umfasst 29 Exons und hat eine Länge von ca. 43kb. Zirkulierende LDL-Partikel enthalten das ApoB, das über eine LDLR-Bindungsstelle verfügt und somit die LDL-Partikel Aufnahme in die Zelle ermöglicht. Veränderungen in der Gensequenz führen zu einem fast vollständigen Verlust der Bindungsaffinität und folglich zu erhöhten LDL-C-Plasmaspiegeln. Diese Kondition ist in der Literatur auch als eigenständige Diagnose (familiär defektes Apolipoprotein B-100 (FDB)) zu finden, unterscheidet sich klinisch jedoch nicht von der FH (30). Defekte im APOB-Gen werden vorwiegend durch die drei folgenden Mutationen verursacht: p.Arg3527Gln (c.10580G>A), p.Arg3527Trp (c.10579C>T) und p.Arg3558Cys (c.10672C>T), nach einer historischen Nomenklatur in der Literatur auch zu finden als R3500Q, R3500W und R3531C (31). Die Sequenzvariante p.Arg3527Gln wurde als erste beschrieben und ist mit 2-5 % die häufigste FH verursachende Mutation im APOB-Gen (23).

### **1.4.3 Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9-Gen**

Das PCSK9-Gen kodiert für ein Enzym, das für die Regulation von LDLR, vorwiegend auf der Oberfläche von Hepatozyten, zuständig ist. Es ist lokalisiert auf Chromosom 1, umfasst 12 Exons und hat eine Länge von 39kb. PCSK9 wird als inaktives Protein synthetisiert und über Spaltungsprozesse im endoplasmatischen Retikulum aktiviert. Durch Bindung des Enzyms an den LDLR kommt es zu einem intrazellulären Abbau des LDLR-PCSK9-Komplexes. PCSK9 verhindert dadurch ein Recycling der LDLR und führt zu einer reduzierten Anzahl an der Zelloberfläche (32-34). Die Rolle des PCSK9-Gens im Cholesterinmetabolismus und dessen Assoziation zur FH als drittes involviertes Gen wurde erstmals von Abifadel et al. beschrieben. Im Jahr 2003 entdeckte man in einer Familie französischen Ursprungs zwei pathogene Mutationen im PCSK9-Gen, die später auch als gain-of-function (GOF) Mutationen beschrieben wurden (24). GOF-Mutationen vermindern über eine Steigerung der PCSK9-Aktivität die LDLR-Anzahl, was zu erhöhten LDL-C-Plasmaspiegeln führt. Loss-of-function-Mutationen (LOF) haben über eine PCSK9-Inaktivierung einen verminderten LDLR-Abbau zur Folge. Im Jahr 2005 fanden Cohen et al. heraus, dass LOF-Varianten mit erniedrigten LDL-C-Plasmaspiegeln und einem geringeren Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen assoziiert sind (35). Seit seiner Entdeckung ist das PCSK9-Gen Gegenstand intensiver Forschung, insbesondere dessen Rolle als therapeutisches Ziel. In der LOVD-Datenbank (Leiden Open Variation Database) (36) sind über 200 PCSK9-Varianten beschrieben (37), die sich über die gesamte Domäne des Gens verteilen und deren funktionelle Relevanz in vielen Fällen unklar ist (38).

### **1.4.4 Andere monogenetische Ursachen für FH**

Sehr selten können Mutationen anderer Gene eine FH verursachen. Rezessive Vererbungsmuster (ARH) wurden bei Patienten mit stark ausgeprägtem Phänotyp beobachtet (39). Als kausales Gen wurde das Adapterprotein LDLRAP1 identifiziert, dessen Funktionsverlust zu einer verminderten Rezeptor-vermittelten hepatischen Aufnahme von LDL-C-Partikeln führt (40). Homozygote Mutationsträger des Adapterproteins LDLRAP1 weisen in der Regel stark erhöhte Cholesterinwerte auf und werden meist als homozygote FH-Patienten diagnostiziert (41). Die Tatsache, dass bei Patienten mit der klinischen Diagnose FH oft keine Mutationen in den drei Hauptgenen (LDLR, APOB und PCSK9) gefunden werden konnte, hatte zur Folge, dass mittels Next Generation Sequencing (NGS)

in betroffenen Familien nach anderen kausalen Genen gesucht wurde. Dominante Vererbungsmuster wurden im Apolipoprotein E (APOE) -Gen detektiert und die Mutation p.Leu167del als FH verursachend beschrieben (42, 43). Weitere Studien identifizierten Mutationen im STAP1-Gen (signal-transducing-adaptor-protein 1) (44, 45) und PNPLA5-Gen (46), sowie rezessive Muster im LAL (lysosomale saure Lipase) -Gen (47) und den ABC-Transporter-Genen ABCG5 und ABCG8 (48). Die funktionelle Rolle dieser als monogenetische Ursachen der FH ist nicht bestätigt und wird weiter evaluiert.

### **1.4.5 Polygene Hypercholesterinämie**

Ungefähr 60 % der Individuen, die bei Verdacht auf das Vorliegen einer FH molekulargenetisch getestet werden, sind Mutations-negativ (49). Dies hat nicht nur zur Suche nach neuen FH-Genen geführt, sondern auch zu der Vermutung, dass der Ursprung der Hypercholesterinämie bei einem Großteil klinisch diagnostizierter FH-Patienten polygen bedingt ist. Single-Nucleotide Polymorphisms (SNPs) sind Variationen einzelner Basenpaare und die häufigsten Varianten im menschlichen Genom (50). Zahlreiche SNP's in unterschiedlichen Genen können die LDL-C-Plasmaspiegel modifizieren. Jeder einzelne SNP-Locus trägt dabei einen kleinen Effekt zur Cholesterinerhöhung oder -senkung bei (51, 52). Eine Kumulation dieser LDL-C erhöhenden SNP's führt bei manchen Personen zu LDL-C-Werten > 190 mg/dl. Ab diesem Wert sollte eine FH vermutet werden (27, 53). Vor allem im PCSK9-Gen wurden zahlreiche SNP's identifiziert, die den Cholesterinmetabolismus populationsabhängig unterschiedlich beeinflussen (38). Um polygene FH-Fälle zu identifizieren und deren kardiovaskuläres Risiko einzuschätzen, wurden polygenetische Risiko-Scores entwickelt. Die klinische Anwendbarkeit ist aufgrund fehlender Standardisierung begrenzt (49, 54, 55). Monogenetische und polygenetische Formen können ähnliche Phänotypen zeigen. Daraus resultiert, dass eine FH häufig auf Basis der klinischen Präsentation und unabhängig vom Mutationsergebnis, diagnostiziert wird (3).

### **1.4.6 Lipoprotein (a)**

Lipoprotein (a) (Lp(a)) ist eine Plasmalipoprotein-Variante des LDL und setzt sich aus einem LDL-Partikel und dem Glykoprotein Apo(a) zusammen. Lp(a)-Partikel bestehen zu 20-30 % aus Cholesterin und unterliegen in ihrer Konzentration einem starken genetischen Einfluss (56, 57). Mit konventionellen Labormethoden wird sowohl der Cholesteringehalt

der LDL-Partikel als auch der Lp(a)-Partikel gemessen (58). Lp(a) gilt als kausaler Risikofaktor für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen (59). Personen mit Lp(a)-Werten  $> 430$  nmol/l (180 mg/dl) haben ein ähnliches Lebenszeitrisiko für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen wie heterozygote FH-Patienten (60). Studien zeigten, dass insbesondere bei FH-Patienten stark erhöhte Lp(a)-Spiegel vorliegen und Lp(a) und LDL-C das kardiovaskuläre Risiko bei diesen Personen synergistisch steigern (61, 62). Die Vermutung, dass die Erhöhung in dieser Subgruppe durch fehlende Lp(a)-Metabolisierung über den LDLR bedingt ist, wurde inzwischen weitgehend verworfen da gezeigt wurde, dass Lp(a)-Plasmaspiegel hauptsächlich über ihre Produktion determiniert sind (63). Eher geht man heute davon aus, dass ungefähr 25 % aller phänotypischen FH-Patienten falsch positiv diagnostiziert wurden und die für die Diagnose „FH“ charakteristischen LDL-C-Grenzwerte bei manchen nur aufgrund der erhöhten Lp(a)-Spiegel überschritten wurden (3, 59).

### 1.5 Klinisches Bild

Erhöhte Gesamtcholesterin (GC)-Werte und LDL-C-Plasmaspiegel kennzeichnen die FH. LDL-C-Spiegel können interindividuell stark variieren. Ab einem LDL-C  $> 190$  mg/dl wird eine FH vermutet. Homozygote Anlageträger können LDL-C-Werte von 400 mg/dl bis über 1000 mg/dl erreichen, bei heterozygoten Individuen werden in der Regel niedrigere LDL-C-Plasmaspiegel gefunden (2). Kutane oder tendinöse Xanthome, Xanthelasmen oder das Auftreten eines Arcus cornea lipoides vor dem 45. Lebensjahr sind charakteristische körperliche Befunde einer FH, die als Zeichen einer abnormen Cholesterinakkumulation angesehen werden können. Tendinöse Xanthome und Lipidakkumulationen im Sehnenbereich, treten vor allem an den Strecksehnen der Fingergelenke oder der Achillessehne auf, Patellar- und Trizepssehne sind seltener betroffen (64, 65). Xanthelasmen und ein Arcus cornea, Lipidablagerungen um die Augen bzw. im Hornhautbereich sind weniger spezifisch und können vor allem im Alter auch bei nicht FH-Patienten vorkommen (66). Das Auftreten dieser lipidologischen Stigmata ist jedoch sehr selten und kann in den wenigsten Fällen zur initialen Diagnosestellung herangezogen werden. FH-Patienten haben ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen, insbesondere der koronaren Herzkrankheit (KHK) aber auch der zerebralen arteriellen Verschlusskrankheit (cAVK) und der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK). Kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Alter, Adipositas, Diabetes mellitus Typ 2 (DM 2),

Hypertonie und Nikotinkonsum potenzieren dieses Risiko. Bei Homozygoten können die genannten klinischen Manifestationen oft schon im Kindes- und jungen Erwachsenenalter auftreten. Neben den genannten kardiovaskulären Manifestationen, wurde auch das Auftreten von Aortenstenosen beschrieben (67, 68).

## 1.6 Diagnose

### 1.6.1 Diagnose bei Erwachsenen

Die klinische Diagnose FH umfasst eine Kombination aus erhöhten GC- und LDL-C-Spiegeln, positiver Familienanamnese für Hyperlipidämie (HLP) und kardiovaskuläre Erkrankungen sowie charakteristischen körperlichen Stigmata. Sekundäre Ursachen einer Hypercholesterinämie, wie DM, Hypothyreose, Leber- und Nierenerkrankungen sollten ausgeschlossen werden. Um eine FH klinisch zu diagnostizieren, existieren unterschiedliche Diagnosekriterien. Die drei häufigsten sind die in den Niederlanden entwickelten DLCN (Dutch Lipid Clinic Network) -Kriterien (13), die aus England stammenden Simon-Broome-Kriterien (69) und die MedPed (make early diagnosis to prevent early death) -Kriterien aus den USA (70). Während sich die amerikanischen Kriterien lediglich auf die Lipidwerte stützen, berücksichtigen die DLCN- und Simon-Broome-Kriterien zusätzlich eigenanamnestische und familienanamnestische Informationen sowie das Vorliegen lipidologischer Stigmata. Ein Mutationsnachweis kann die Diagnose bestätigen und wird bei beiden Scores in die Berechnung miteinbezogen. Um familiär kombinierte HLP's auszuschließen, haben die Simon-Broome-Kriterien zusätzlich einen Triglyzerid (TG) -Cut-off-Wert  $> 4,5 \text{ mmol/l}$  ( $395 \text{ mg/dl}$ ) festgelegt (71).

Die Kriterien geben die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer FH an. In den meisten Ländern Europas und auch in Deutschland, werden die DLCN-Kriterien verwendet, die Punkte für das Vorliegen bestimmter Befunde vergeben (Tab. 3, Abschnitt 2.6). Abhängig von dem erreichten Punktwert, gilt eine Diagnose als sicher bei über 8 Punkten, als wahrscheinlich bei 6-8 Punkten, als möglich bei 3-5 Punkten und als unwahrscheinlich bei  $< 3$  Punkten.

Tabelle 1: Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer FH basierend auf erreichten Punkten

Diagnose FH (basierend auf erreichten Punkten)	Punkte
Definitiv FH	> 8
Wahrscheinlich FH	6-8
Möglicherweise FH	3-5
Unwahrscheinlich FH	< 3

### 1.6.2 Diagnose bei Kindern

Die bei den Erwachsenen verwendeten DLCN-Kriterien können bei Kindern nicht angewendet werden. Da GC- und LDL-C-Werte physiologisch erst im Lauf des Lebens ansteigen, gestaltet sich vor allem im Kindes- und Jugendalter die Festlegung einheitlicher diagnostischer Grenzwerte schwierig (72). Laut aktuellen Leitlinien haben Kinder mit einem LDL-C > 190 mg/dl (analog zu den Erwachsenen) oder > 160 mg/dl, bei familiär frühzeitigen kardiovaskulären Ereignissen oder familiärer HLP, eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine genetisch bedingte Hypercholesterinämie (73). Bei Kindern von genetisch bestätigten FH-Patienten, sollte aufgrund des 50%igen Risikos die Mutation geerbt zu haben schon bei einem LDL-C > 130mg/dl an eine FH gedacht werden (60, 73, 74). Die praktische Anwendung dieser Leitlinien wird unterschiedlich gehandhabt. Auch wenn die Familienanamnese einen starken positiven Prädiktor für eine FH darstellt, zeigte eine Studie, dass ein erheblicher Anteil von Kindern mit genetischen Dyslipidämien keine positive Familienanamnese aufweist (75). Alternativ zu den FH-Diagnosekriterien, werden in der Praxis oft Perzentilen herangezogen um die Höhe des GC und LDL-C zu beurteilen (76). Das National Cholesterol Education Program (NCEP) sprach 1991 erstmals die Empfehlung aus, ein LDL-C > 130 mg/dl als diagnostischen Schwellenwert für Dyslipidämien bei Kindern anzusehen. Dieser Wert repräsentiert ungefähr die 95. Perzentile (77).

### 1.7 FH-Screening und Kosteneffektivität

Da die FH zu den häufigsten genetischen Erkrankungen weltweit zählt, wurden Screening-Strategien, mit dem Ziel möglichst viele Betroffene zu identifizieren, entwickelt. Wird bei einer Person die klinische Diagnose FH gestellt und nachfolgend molekulargenetisch bestätigt, stellt diese Person den Indexpatienten dar. Aufgrund des autosomal dominanten

Vererbungsmodus, werden 50 % der Verwandten ersten Grades und 25 % der Verwandten zweiten Grades ebenfalls die nachgewiesene Mutation tragen (13, 78). Indem Verwandte des Indexpatienten dazu angehalten werden ihr Lipidprofil bestimmen zu lassen und sich gegebenenfalls genetisch untersuchen zu lassen, wird eine frühzeitige Identifikation möglich (79). Diese sogenannten Kaskadenscreening-Programme wurden erstmals 1994 in den Niederlanden (80) implementiert und werden heute weltweit (17, 81-85) durchgeführt und durch internationale Leitlinien empfohlen (78, 86, 87). Die hohe Effizienz und Kosteneffektivität zeigte sich unter anderem in den Niederlanden, die im Zeitraum 1994 - 2014 eines der umfassendsten Kaskadenscreening-Programme implementierten und Daten von mehr als 28 000 genetisch determinierten FH-Patienten sammelten (80, 88). Als erste große Initiative in Deutschland startete Ende 2014 das CaRe High (Cascade Screening and Registry for High Cholesterol) -Projekt, ein Patientenregister mit dem Ziel großflächig FH-Patienten zu identifizieren und Kaskadenscreening-Programme zu etablieren. Deutschlandweit unterstützen Kliniken und Arztpraxen den Aufbau des Registers, somit konnten bereits 1760 FH-Patienten identifiziert werden (89).

Wie bereits erwähnt, stellt das Kaskadenscreening aufgrund des autosomal dominanten Erbgangs der FH, eine sehr kosteneffiziente Methode dar. Eine frühzeitige Identifikation und Behandlung von FH-Patienten, kann das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen und die damit assoziierte Mortalität senken und somit Kosten für das Gesundheitssystem verringern (90, 91). Während sich in England genetische Screening-Programme als sehr kosteneffizient erwiesen (92), konnte dies in anderen Ländern nicht repliziert werden (93, 94). Ein wesentlicher limitierender Faktor ist die hohe Rate an Mutations-negativen Patienten, bei denen klinisch das Bild einer FH vorliegt, der Ursprung der Hypercholesterinämie in vielen Fällen aber vermutlich polygen bedingt ist. Der Einschluss dieser Patienten in Kaskadenscreening-Programme verringert die Effizienz, da weitaus weniger als 50 % der Verwandten ersten Grades betroffen sein werden (49, 95, 96).

## 1.8 Therapie

Aktuelle Leitlinien klassifizieren FH-Patienten als Hochrisikopatienten für kardiovaskuläre Erkrankungen (60). Als wesentliches Therapieziel gilt daher die Primär-, und bei bereits stattgefundenem kardiovaskulärem Ereignis, die Sekundärprävention. Lebensstil modifizierende Maßnahmen wie regelmäßige körperliche Aktivität, das Anstreben eines normalen Körpergewichts, Nikotinverzicht und Ernährungsumstellung auf eine cholesterinarme Diät mit wenig gesättigten Fettsäuren, gelten als Basistherapie bei allen kardiovaskulären Risikopatienten und somit auch bei der FH (60, 97). Die Initiierung einer lipidsenkenden medikamentösen Therapie sollte aufgrund der genetischen Disposition unmittelbar nach Diagnosestellung erfolgen (98). Bei Kindern steht primär eine Lebensstilmodifikation im Vordergrund, eine medikamentöse Therapie sollte ab dem 6. - 10. Lebensjahr in Betracht gezogen werden (73).

### 1.8.1 Aktuelle Empfehlungen und LDL-C-Zielwerte

Die europäischen Leitlinien für das Management von Dyslipidämien, herausgegeben von der europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) und der europäischen Gesellschaft für Atherosklerose (EAS), wurden 2019 aktualisiert und neue Empfehlungen für die Therapie von FH-Patienten herausgegeben. Bei der Einteilung in kardiovaskuläre Risikokategorien, zählen FH-Patienten zu der Kategorie hohes Risiko, bei Vorliegen weiterer kardiovaskulärer Hauptrisikofaktoren oder stattgefundenem kardiovaskulärem Ereignis, zu der Gruppe sehr hohes Risiko. Für Hochrisikopatienten wird eine LDL-C-Reduktion  $> 50\%$  vom Ausgangswert und ein LDL-C  $< 70$  mg/dl empfohlen, Patienten mit sehr hohem Risiko sollen ebenfalls eine 50%ige Reduktion vom Ausgangswert und ein LDL-C  $< 55$  mg/dl erreichen. Werden diese Zielwerte unter maximal tolerierter Statindosis in Kombination mit Ezetimib nicht erreicht, wird bei Patienten mit sehr hohem Risiko oder Patienten mit Statinintoleranz der Einsatz eines PCSK9-Inhibitors empfohlen. Für Kinder über 10 Jahre werden LDL-C-Zielwerte  $< 135$  mg/dl empfohlen, Kinder jünger als 10 Jahre sollten eine 50%ige Reduktion des LDL-C erreichen. Statine bei Kindern sollten initial niedrig dosiert werden, mit sukzessiver Erhöhung, um die Zielwerte zu erreichen (60).

### 1.8.2 Medikamentöse Therapie

Um das LDL-C bei FH-Patienten zu senken kommen Statine (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase-Inhibitoren), oft in Kombination mit dem Cholesterin-Resorptions-Hemmer Ezetimib und seltener Anionenaustauscher, Inhibitoren der Gallensäureresorption, zum Einsatz (3, 99). Eine neue Therapieoption wurde mit der Entwicklung und Zulassung der PCSK9-Inhibitoren (Alirocumab und Evolocumab) geschaffen (100, 101). Statine, die LDL-C und das kardiovaskuläre Risiko senken (102-104), gelten als Standardtherapie bei heterozygoten FH-Patienten (105), Homozygote zeigen oft ein abgeschwächtes Ansprechen (20). Die Therapie sollte mit der maximalen Dosis eines potenten Statins gestartet werden (60, 106, 107). Bei unzureichendem Ansprechen kann eine weitere LDL-C-Reduktion durch die Hinzunahme von Ezetimib erreicht werden (108). Erreichen Patienten mit sehr hohem kardiovaskulärem Risiko die Zielwerte trotz dieser Kombinationstherapie nicht oder besteht eine Statinunverträglichkeit, wird der Einsatz von PCSK9-Inhibitoren empfohlen (60). Die zwei bislang größten Studien zum Einsatz von PCSK9-Inhibitoren, FOURIER (Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk) (100) und ODYSSEY Outcomes (Evaluation of Cardiovascular Outcomes After an Acute Coronary Syndrome During Treatment With Alirocumab) (101) zeigten, dass die monoklonalen Antikörper Evolocumab und Alirocumab im Mittel eine LDL-C-Senkung von 60 % erreichen. Als Add-on-Therapie bei Statineinnahme reduzieren PCSK9-Inhibitoren kardiovaskuläre Ereignisse bei Hochrisikopatienten (100).

### 1.8.3 Lipidapherese

Eine therapeutische Alternative bei ausgeprägter Hypercholesterinämie bietet die Lipidapherese, ein extrakorporales Blutreinigungsverfahren das Lipoproteine, insbesondere LDL-C und Lp(a), aus der Zirkulation entfernt (109). Eine Indikation besteht bei homozygoten FH-Patienten, sofern eine medikamentöse Therapie keine ausreichende LDL-C-Senkung erbringt (110, 111). Eine einzige Behandlung kann das LDL-C um 55-70 %, ausgehend vom Ausgangswert, senken. Wöchentliche Apherese-Intervalle können eine LDL-C-Normalisierung ermöglichen, die Häufigkeit der Durchführung sollte individuell angepasst werden (20). Auch schwerwiegende Fälle heterozygoter FH können von einer Apherese-Behandlung profitieren (111-113), seit der Einführung der PCSK9-Inhibitoren ist der Bedarf jedoch zurückgegangen (114). In der ODYSSEY ESCAPE Studie konnte durch

Hinzunahme von Alirocumab bei heterozygoten FH-Patienten, die Apherese-Frequenz um bis zu 50 % gesenkt werden, 63 % konnten die LDL-Apherese komplett beenden (115).

### **1.8.4 Neue Entwicklungen und weitere Therapieansätze**

Zahlreiche weitere LDL-C modifizierende Behandlungsmöglichkeiten befinden sich derzeit in Entwicklung oder werden in klinischen Studien geprüft. Lomitapid, ein Hemmer des mikrosomalen Triglyzerid-Transfer-Proteins (MTP), ist in Deutschland nur bei homozygoten FH-Patienten zugelassen (116, 117). Nicht durch die EMA (European Medicines Agency) zugelassen, ist das Antisense-Oligonukleotid Mipomersen, das mittels Bindung an die mRNA des APOB dessen Abbau einleitet und eine Transkription verhindert (60, 118). Inclisiran, ein small-interfering RNA Molekül (siRNA), das über eine Hemmung der Transkription die PCSK9-Synthese inhibiert, konnte eine LDL-C-Reduktion bis zu 50 % erreichen und befindet sich aktuell in Phase II Studien (119, 120). Der orale Wirkstoff Bempedoinsäure, der über eine Hemmung der ATP-Citrat-Lyase im gleichen Stoffwechselweg wie Statine ansetzt, wird in Phase III Studien untersucht (121, 122).

### **1.8.5 Prognose**

Eine der frühesten Assoziationsstudien zeigte, dass 50 % der Männer und 30 % der Frauen mit heterozygoter FH, ohne Therapie, kardiovaskuläre Erkrankungen vor dem 55. bzw. 60. Lebensjahr entwickelten (123). Das Manifestationsalter kardiovaskulärer Erkrankungen bei heterozygoten FH-Patienten ist abgesehen von der Art der vorliegenden Mutation stark abhängig von kardiovaskulären Risikofaktoren wie fortgeschrittenem Alter, DM 2, Adipositas, Nikotinkonsum und arterieller Hypertonie (124). Weitere Faktoren wie erhöhte Lp(a)-Spiegel, niedrige High-Density-Lipoprotein (HDL)-Spiegel, Lebensstilfaktoren und genetisch determinierte protektive Einflüsse bestimmen das individuelle Risiko und werden unter anderem als Erklärung für die starke interindividuelle Variation kardiovaskulärer Ausprägungen bei heterozygoten FH-Patienten herangezogen (3, 124-126). Im Gegensatz dazu können homozygote FH-Patienten, unabhängig von den genannten Risikofaktoren, bereits in der ersten und zweiten Lebensdekade kardiovaskuläre Manifestationen zeigen, die sich ohne Therapie oft schon im jungen Erwachsenenalter lebenslimitierend auswirken (20, 73, 127). Die Initiierung einer frühzeitigen Therapie kann das kardiovaskuläre Risiko von FH-Patienten signifikant senken (103, 128, 129).

## 1.9 Fragestellung

Die FH ist nicht nur in Deutschland, sondern auch weltweit dramatisch unterdiagnostiziert. Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurde die Häufigkeit einer familiär bedingten Hypercholesterinämie in einem Patientenkollektiv mit ausgeprägter Hypercholesterinämie (LDL-C > 190 mg/dl bzw. > 95. Perzentile) analysiert. Dazu wurden Daten von Patienten, die im Zeitraum Juli 2017 bis September 2019 (27 Monate) das Endokrinologikum Hamburg aufsuchten, retrospektiv und anonymisiert ausgewertet. Ziel war es zu evaluieren, wie viele Patienten mit schwerer Hypercholesterinämie, nach Ausschluss sekundärer Ursachen, genetisch untersucht wurden und eine FH definierende Mutation aufwiesen. Neben der Beschreibung des Mutationsspektrums und der Mutationshäufigkeiten, sollte die Mutationsdetektion in Abhängigkeit der Lipidprofile und klinischen Diagnosekriterien analysiert werden. Das Ausmaß der Erfassung der Eigen- und Familienanamnese und die Anwendbarkeit klinischer Diagnosekriterien (DLCN-Kriterien) sollte evaluiert werden.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Gewinnung der Daten

Die verwendeten Patientendaten stammen aus dem Endokrinologikum Hamburg. Die Daten wurden retrospektiv anhand von elektronischen Patientenakten erhoben und anonymisiert in einer Excel-Tabelle erfasst. Die Suche nach geeigneten Patienten erfolgte mit Hilfe der Funktion „PLIST“, kurz für Patientenliste, des Praxisprogramms Medistar. Als Schlagwörter wurden die Begriffe „Hyperlipidämie“, „Hyperlipoproteinämie“, „Hypercholesterinämie“ und „familiäre Hypercholesterinämie“ verwendet. Zum Schutz sensibler Patientendaten existierten verschlüsselte Zahlenkombinationen, sogenannte Patienten-ID's, die die Patienten durch den gesamten Arbeitsprozess begleiteten. Personenbezogene Daten wie Name, Geburtsdatum oder Initialen wurden nicht erfasst und zu keinem Zeitpunkt der Datenauswertung verwendet oder veröffentlicht. Das Forschungsvorhaben wurde den Ethik-Kommissionen (EK) Hamburg und Lübeck mitgeteilt und ein Bescheid beider EK's erteilt (Aktenzeichen: 19-396).

### 2.2 Einschlusskriterien

In dieser Arbeit wurden die Daten von Patienten mit ausgeprägter Hypercholesterinämie, die in der Zeit von Juli 2017 bis September 2019 im Endokrinologikum Hamburg vorstellig wurden, analysiert. Ausgeprägte Hypercholesterinämie wurde in dieser Arbeit definiert als LDL-C-Werte  $> 190$  mg/dl bzw. LDL-C-Werte über der 95. Perzentile (geschlechts- und altersabhängige Perzentilen für Patienten unter 18 Jahren befinden sich im Anhang). Dies entspricht den aktuellen Leitlinien zur Diagnose und Therapie von Dyslipidämien (60), gemäß denen bei LDL-C-Werten  $> 190$  mg/dl an eine FH gedacht werden sollte. Bei Kindern ist gemäß den Empfehlungen des NCEP ein LDL-C  $> 130$  mg/dl als hoch einzustufen (77), dies entspricht ungefähr der 95. Perzentile. Bei Patienten die zum Zeitpunkt der Vorstellung bereits eine lipidsenkende Medikation einnahmen und bei denen keine Werte vor Therapiebeginn dokumentiert waren, wurden mit Hilfe von in der Literatur beschriebenen Konversionsfaktoren, unter Einbezug der aktuell eingenommenen Medikation, LDL-C-Werte vor Therapiebeginn berechnet (die Konversionstabelle befindet sich im Anhang) (130, 131).

### **2.3 Ausschlusskriterien**

Patienten mit sekundären HLP's wie Hypothyreose (TSH > 4,2  $\mu$ IU/ml), entgleistem DM (HbA1c > 8 %), Lebererkrankungen (ALAT/GPT oder ASAT/GOT > 50 U/l bei Männern, ALAT/GPT oder ASAT/GOT > 35 U/l bei Frauen) und Niereninsuffizienz (GFR < 30 ml/min) wurden ausgeschlossen. Die gewählten oberen Grenzwerte entsprechen den durch das Amedes Labor angegebenen Referenzwerten (die Referenzwerttabelle befindet sich im Anhang). Patienten mit ausgeprägter Hypertriglyzeridämie (> 395 mg/dl) wurden ebenfalls ausgeschlossen. Die gewählte obere Grenze von 395 mg/dl bezieht sich auf die in England verwendeten Simon-Broome-Diagnosekriterien zur FH, um kombinierte HLP's auszuschließen (71).

### **2.4 Patienten Klientel**

Da im Endokrinologikum Hamburg nicht nur erwachsene Patienten, sondern auch < 18-jährige Patienten endokrinologisch betreut werden, wurden auch Daten von Patienten < 18-Jahren mit ausgeprägter Hypercholesterinämie (> 95. Perzentile) erfasst. Aufgrund fehlender Vergleichbarkeit dieser zwei Patientengruppen in Bezug auf Anamnese, klinischer Manifestationen, Familienanamnese, Referenzbereiche der Laborwerte und Berechnung klinischer Scores, wie der DLCN-Score der nur für Personen  $\geq$  18 Jahre verwendet werden kann (73), wurden die Patienten bei der Auswertung in zwei Gruppen aufgeteilt. Die erste Gruppe umfasste alle Personen  $\geq$  18 Jahre (n=315), die zweite Gruppe die < 18-Jährigen (n=37). Ein- und Ausschlusskriterien wurden auf beide Gruppen angewandt. Referenzbereiche der Laborparameter wurden für < 18-jährige alters- und geschlechtsabhängig angepasst (die Perzentilen befinden im Anhang). Die im Patientenkollektiv detektierten Mutationen wurden unabhängig vom Alter in Tab. 36 (s. Anhang) zusammengefasst. Verwandtschaftsverhältnisse wurden entsprechend gekennzeichnet.

### **2.5 Klinische Daten**

Daten zur Anamnese und Familienanamnese sowie klinische Parameter, Laborparameter, und Medikation wurden, soweit vorhanden, in einer Excel-Tabelle erfasst bzw. als fehlend dokumentiert.

### 2.5.1 Anamnese

Neben dem Geschlecht und dem Alter wurden Größe und Gewicht der Patienten dokumentiert und der Body-Mass-Index (BMI) gemäß der Formel  $\text{Gewicht} / (\text{Körpergröße in m})^2$  berechnet. Das Alter der Patienten bezieht sich auf das Alter zum Zeitpunkt der Vorstellung. Kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Nikotinkonsum, arterielle Hypertonie und DM wurden dokumentiert. Es wurde lediglich der zum Zeitpunkt der Vorstellung bestehende Tabakkonsum berücksichtigt, Nikotinabusus in der Vergangenheit wurde nicht gesondert erfasst. Kardiovaskuläre Erkrankungen wie KHK, pAVK und cAVK in der Eigenanamnese wurden, wenn dokumentiert, mit Alter zum Zeitpunkt des Ereignisses erfasst. Daten zu kardiovaskulären Ereignissen (KHK, pAVK, cAVK) von Verwandten ersten und zweiten Grades sowie eine familiär bestehende Hypercholesterinämie wurden ebenfalls erfasst.

### 2.5.2 Klinische Parameter und Laborparameter

Körperliche Manifestationen einer Fettstoffwechselstörung wie Xanthome, Xanthelasmen und Arcus lipoides cornea wurden dokumentiert. Aufgrund der retrospektiven Datenerfassung fand sich bei vielen Patienten hierzu keine Angabe, da in den Akten vor allem ein Vorliegen und nicht ein fehlendes Vorhandensein eines körperlichen Befundes dokumentiert war. Die Laborwerte wurden jeweils am Tag der Patientenvorstellung erfasst. Bei mehr als einem Termin im analysierten Zeitraum (Juli 2017 – September 2019), wurden die aktuellsten Laborparameter in die Auswertung miteinbezogen. Neben den Lipidparametern (GC, LDL-C, HDL-C, TG, Lp(a), ApoA und ApoB) wurden folgende Werte erfasst: Blutglucose, HbA1c, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, GFR, GOT, GPT, GGT, AP, Bilirubin, CK, und TSH. Sofern möglich, wurden Lipidprofile (GC, LDL-C, HDL-C und TG) vor und nach Therapiebeginn erstellt. Um Lipidprofile vor Therapiebeginn zu erstellen, wurde bei Bedarf auf Lipidwerte, die vor dem genannten Zeitraum ohne eingenommene Medikation erfasst wurden, zurückgegriffen. LDL-C Werte vor Therapiebeginn wurden anhand der eingenommenen Medikation und der unter Therapie bestehenden LDL-C-Werte berechnet, wenn kein LDL-C vor Einnahme einer lipidsenkenden Medikation dokumentiert war (s. Tab. 37 im Anhang).

### 2.5.3 Lipidsenkende Medikation

Die Einnahme einer lipidsenkenden Medikation wurde zum Zeitpunkt der Vorstellung erfasst. Der Behandlungsstatus „keine lipidsenkende Medikation“ bezieht sich auf den Tag der Vorstellung bzw. auf den Zeitraum der Datenerhebung und schließt nicht aus, dass der Patient zu einem früheren Zeitpunkt therapiert wurde. In den aktuellen Leitlinien zur Diagnostik und Therapie von Dyslipidämien werden Patienten hinsichtlich ihres kardiovaskulären Risikos in low-risk (niedriges Risiko), moderate-risk (moderates Risiko), high-risk (hohes Risiko) und very-high-risk (sehr hohes Risiko) Kategorien eingeteilt, eine Übersicht der kardiovaskulären Risikokategorien befindet sich im Anhang. Abhängig von der Kategorie sind die in Tab. 2 vorliegenden LDL-C-Zielwerte zur kardiovaskulären Risikoprävention empfohlen. Patienten mit einem LDL-C > 190 mg/dl und damit alle  $\geq 18$ -jährigen Patienten in dieser Arbeit oder FH-Patienten ohne weitere Risikofaktoren, zählen zur Gruppe „high-risk“ und sollten somit LDL-C-Werte < 70 mg/dl und eine 50%ige Reduktion vom Ausgangswert erreichen. FH-Patienten mit bereits manifester kardiovaskulärer Erkrankung oder Vorliegen eines kardiovaskulären Hauptrisikofaktors zählen in die Gruppe mit sehr hohem Risiko und sollten LDL-C-Spiegel < 55 mg/dl und eine 50%ige Reduktion erreichen (60). Um darzustellen in welchem Bereich sich das LDL-C der > 18-Jährigen nach Einnahme einer lipidsenkenden Medikation befand, erfolgte in Anlehnung an die von den Leitlinien vorgegebenen Zielwerte, eine Einteilung in fünf LDL-C-Zielwertbereiche (s. Tab. 2). Bei Patienten mit vor und nach Therapiebeginn verfügbaren LDL-C- und GC-Werten wurde die mittlere prozentuale Reduktion berechnet.

Tabelle 2: LDL-C Zielwerte kardiovaskulärer Risikokategorien (nach Mach et al. ESC/EAS Guidelines, 2019)

<b>Kardiovaskuläre Risikokategorien</b>	<b>LDL-C (mg/dl) Zielwerte</b>	<b>LDL-C (mg/dl) Zielwertbereiche modifiziert nach Mach et al. 2019</b>	
Low-risk	< 116 mg/dl	1.	> 116 mg/dl
Moderate-risk	< 100 mg/dl	2.	100-116 mg/dl
High-risk	< 70 mg/dl	3.	70-99 mg/dl
Very-high-risk	< 55mg/dl	4.	55-69 mg/dl
		5.	< 55 mg/dl

## 2.6 Dutch Lipid Clinic Network-Kriterien

Der DLCN-Score bestimmt die Wahrscheinlichkeit mit der eine FH vorliegt, basierend auf anamnestischen und klinischen Parametern. Ein DLCN-Score  $> 8$  Punkte spricht für das Vorliegen einer definitiven, 6-8 Punkte einer wahrscheinlichen, 3-5 Punkte einer möglichen und  $< 3$  Punkte einer unwahrscheinlichen FH-Diagnose. Der DLCN-Score wurde mit Hilfe der DLCN-Kriterien, auf der Basis von 10 Fragen, errechnet (s. Tab. 3). Der DLCN-Score ist nur für Personen  $\geq 18$  Jahren anwendbar und wurde dementsprechend in dieser Arbeit nur für Personen  $\geq 18$  Jahre berechnet. Bei Patienten mit unvollständig dokumentierter Familienanamnese und/oder fehlenden klinischen Parametern, wurde der Score nur anhand der LDL-C-Werte berechnet, deren Vorhandensein als Mindestvoraussetzung für eine Berechnung festgelegt wurde. Um zu veranschaulichen unter Einbezug welcher Informationen die Punktwerte erreicht wurden, erfolgte eine Einteilung der Patienten, abhängig von den dokumentierten Informationen, in drei Gruppen (s. Tab. 4).

Tabelle 3: DLCN-Kriterien

Kriterium	Punkte
<b>1. Familienanamnese</b>	
Verwandte ersten Grades mit frühzeitiger <sup>1</sup> kardiovaskulärer Erkrankung oder LDL-C $> 95.$ Perzentile	1
Verwandte ersten Grades mit Xanthomen oder Arcus lipoides cornea oder Kinder unter 18 Jahren mit LDL-C $> 95.$ Perzentile	2
<b>2. Anamnese</b>	
Frühzeitige <sup>1</sup> KHK	2
Frühzeitige <sup>1</sup> cAVK oder pAVK	1
<b>3. Untersuchung</b>	
Sehnenxanthome	6
Arcus lipoides cornea ( $< 45$ Jahre)	4
<b>4. LDL-C</b>	
$> 325$ mg/dl ( $> 8,5$ mmol/l)	8
251-325 mg/dl (6.5-8.4 mmol/l)	5
191-250 mg/dl (5.0-6.4 mmol/l)	3
155-190 mg/dl (4.0-4.9 mmol/l)	1
$< 155$ mg/dl ( $< 4.0$ mmol/l)	0
<b>5. Genetik</b>	
Mutationsnachweis	8

<sup>1</sup>Frühzeitig =  $< 55$  Jahren bei Männern,  $< 60$  Jahren bei Frauen

Tabelle 4: Einteilung gemäß anamnestisch verfügbaren Informationen

	<b>Verfügbare Informationen</b>	<b>Beschreibung</b>
1	Eigenanamnese	LDL-C-Wert (vor Therapie), kardiovaskuläre Ereignisse
2	Unvollständige Familienanamnese	Fehlende Altersangaben bei familiären kardiovaskulären Ereignissen, fehlende LDL-C-Werte bei familiärer HLP
3	Vollständige Informationen	Eigenanamnese und Familienanamnese vollständig (Alter bei Erkrankungsmanifestation oder LDL-C- Werte der Verwandten) dokumentiert

## 2.7 Molekulargenetik

Sofern verfügbar, wurde bei den Patienten die molekulargenetisch getestet wurden, das Ergebnis dokumentiert. Die Ergebnisse wurden unabhängig vom Zeitpunkt der Durchführung der molekulargenetischen Testung in den Datensatz miteinbezogen. Die molekulargenetische Analyse erfolgte im Amedes MVZ Wagnerstibbe für Laboratoriumsmedizin, Hämostaseologie, Humangenetik und Mikrobiologie Hannover. Die Patienten wurden gemäß dem deutschen Gendiagnostikgesetz aufgeklärt. Jeder Patient gab vor der molekulargenetischen Untersuchung seine schriftliche Einwilligung. Die Befundung der Ergebnisse erfolgte nach den Leitlinien zur Durchführung zytogenetischer bzw. molekulargenetischer Diagnostik (132). Die zur Genanalyse verwendete Methodik wird im Befund angegeben und wird entsprechend im Abschnitt 2.7.1 beschrieben. Analytierte Gene (LDLR, APOB, PCSK9, Lp(a), LDLRAP1, APOE), Mutationsstatus, Lokalisation im Gen, Zygotität, Transkriptvariante, Proteinvariante und vorhergesagter Effekt der Mutation wurden erfasst.

### 2.7.1 Methodik Genanalyse LDLR, APOB, PCSK9, LDLRAP1

Die DNS (Desoxyribonukleinsäure)-Isolierung erfolgte aus eingesandtem Probenmaterial. NGS erfolgte mittels Illumina NextSeq. Das Exon 26 des APOB-Gens wurde auf das Vorliegen der Mutationen p.Arg3527Gln (c.10580G>A), p.Arg3527Trp (c.10579C>T) und p.Arg3558Cys (c.10672C>T) analysiert. Die codierenden Bereiche der Gene LDLR, PCSK9 und LDLRAP1 wurden inklusive der angrenzenden Intron-Sequenzen (+/-20 bp), sowie des Promotorbereichs des LDLR (bis c.-300 ab Start-Codon nach Referenzsequenz), mittels

Illumina Nextera Rapid Capture Enrichment-Verfahren, analysiert. Die Auswertung von Sequenzvarianten (SNV's; kodierende Bereiche sowie angrenzende Spleißstellen (+/-20bp)) erfolgte mittels zertifizierter Pipeline Technologie (JSI SeqNext Software; Varvis, Limbus Medical Technologies GmbH). Die Analyse auf Deletionen und Duplikationen erfolgte mittels MLPA (Multiplex-ligation dependent Probe) (Coffalyser, MRC Holland) oder quantitativer NGS-Datenanalyse (Varvis, Limbus Medical Technologies GmbH; derzeit nicht akkreditierte Methode). Die Klassifizierung und Interpretation von Sequenzvarianten erfolgte durch QIAGEN Clinical Insight – Interpret Software (QCI) basierend auf einer Kombination anerkannter Analysetools und Datenbanken (u.a CADD; RefSeq; PolyPhen-2; 1000 Genom Frequency, dbSNP, ClinVar, HGMD, SIFT, MutationTaster). Pathogene bzw. wahrscheinlich pathogene Mutationen wurden mittels Sanger Sequenzierung bzw. MLPA Analyse verifiziert. Bei den durchgeführten Analysen wurde eine Sequenzabdeckung von mind. 30fach/Base aller untersuchten Regionen erreicht (Typ-A Diagnostik nach S1-Leitlinie NGS-Diagnostik (133)). Alle Bereiche mit einer niedrigeren Coverage (< 30) bzw. im NGS nicht eindeutig beurteilbaren Positionen, wurden mittels Sanger Sequenzierung verifiziert. Varianten in den regulatorischen und nicht codierenden Regionen der untersuchten Gene außerhalb der angegebenen Bereiche wurden von der eingesetzten Analytik nicht erfasst. Referenzsequenzen: LDLR (OMIM \*606945): NM\_000527, APOB (OMIM\*107730): NM\_000384, PCSK9 (OMIM \*607786): NM\_174936, LDLRAP1 (OMIM\*605747): NM\_015627.

### **2.7.2 Methodik APOE-Analyse**

Die DNS-Isolierung erfolgte aus eingesandtem Probenmaterial. Die Analyse von Codon 130 bis 176 des APOE-Gens erfolgte mittels Illumina Nextera Rapid Capture Enrichment-Verfahren. Die Auswertung von Sequenzvarianten (SNV's; kodierende Bereiche sowie angrenzende Spleißstellen (+/-20bp) erfolgte mittels zertifizierter Pipeline Technologie (JSI SeqNext Software; Varvis, Limbus Medical Technologie GmbH). Bei der durchgeführten Analyse wurde eine Sequenzabdeckung von mind. 30fach/Base aller untersuchten Regionen erreicht (Typ-A Diagnostik nach S1-Leitlinie NGS-Disgnostik (133)). Alle Bereiche mit einer niedrigeren Coverage (< 30) bzw. im NGS nicht eindeutig beurteilbaren Positionen, wurden mittels Sanger Sequenzierung verifiziert. Größere Deletionen und Duplikationen sowie Veränderungen in den regulatorischen und nicht codierenden Regionen der

untersuchten Gene, außerhalb der angegebenen Bereiche, wurden von der eingesetzten Analytik nicht erfasst. Referenzsequenz APOE (OMIM\*107741): NM\_000041.

### 2.7.3 Methodik Lp(a)-Analyse

Die DNS-Isolierung erfolgte aus eingesandtem Probenmaterial. Die Sequenzierung erfolgte mittels Sanger-Verfahren. Die DNS wurde amplifiziert und anschließend die, die beiden Varianten rs10455872 und rs3798220 umgebenden Bereiche, sequenziert. Referenzsequenz Lp(a): NM\_005577.2.

### 2.7.4 Variantenbewertung

Alle detektierten Sequenzvarianten wurden mit dem aktuellen Stand (03/2020) der LOVD-Datenbank (36) verglichen. Die Bewertung der Varianten erfolgte mit Hilfe der Programme Mutation Taster (MutTaster) (134) und Polymorphism Phenotyping v2 (PolyPhen-2) (135), welche die Varianten als pathogen oder als Polymorphismus klassifizieren. Die Bewertung der klinischen Signifikanz wurde von ClinVar, ein öffentlich zugängliches Archiv das Zusammenhänge zwischen Genvarianten und Phänotypen bereitstellt, übernommen (136). Die zur Bewertung der klinischen Signifikanz der Sequenzvarianten verwendete Terminologie, entspricht den Empfehlungen des ACMG und der AMP zur Interpretation von Sequenzvarianten (29). Laut diesen Empfehlungen sollten die Begriffe „Mutation“ und „Polymorphismus“ mit der Bezeichnung Variante ersetzt werden, um fälschlichen Interpretationen in Bezug auf die Pathogenität, vorzubeugen. Die Varianten sollten je nach Effekt, eine der in Tab. 5 gelisteten Zusatzbezeichnungen erhalten und können so in Klasse 1-5 Varianten eingeteilt werden.

*Tabelle 5: ACMG Leitlinien zur Klassifikation von Sequenzvarianten (modifiziert nach Richards et al. 2015)*

---

(5)	Pathogenic (pathogen)
(4)	Likely pathogenic (wahrscheinlich pathogen)
(3)	Uncertain significance (unklare Signifikanz)
(2)	Likely benign (wahrscheinlich gutartig)
(1)	Benign (gutartig)

---

## 2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung und graphische Darstellung erfolgte mit Hilfe von SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 21 und Microsoft Word Excel Version 16.29.1. Statistische Beratung für den Umgang mit SPSS und Erläuterungen, welche Testverfahren sich für bestimmte Fragestellungen eignen, erfolgte durch Dipl. Stat. Frederic Klein via Skype. Häufigkeiten der Laborparameter im untersuchten Kollektiv wurden unter Angabe des Mittelwerts, der Standardabweichung, des Medians sowie des Minimums und Maximums tabellarisch dargestellt. Aussagekraft und Diskriminationsfähigkeit des LDL-C in Bezug auf den Mutationsstatus, wurde mit der Receiver Operating Characteristics (ROC)-Kurve überprüft. Zur Darstellung der Lipidwerte der Mutationsträger und Nicht-Mutationsträger wurden Boxplot-Darstellungen verwendet. Die Mutationsdetektionsrate in den Gruppen  $\geq 18$ -Jährige und  $< 18$ -Jährige wurde mittels Chi-Quadrat-Test untersucht. Bei den  $\geq 18$ -Jährigen wurde die Schiefe herangezogen, um auf eine Normalverteilung zu prüfen. Wenn die Schiefe zwischen -1 und +1 war, wurde von einer Normalverteilung ausgegangen, war die Schiefe  $< -1$  oder  $> +1$  wurde von einer schiefen Verteilung ausgegangen und entsprechend nicht parametrisch getestet. Aufgrund der kleinen Fallzahl bei dem Kollektiv der  $< 18$ -jährigen wurde zur Testung auf das Vorliegen einer Normalverteilung nicht die Schiefe, sondern der Shapiro-Wilk-Test herangezogen. Es ergab sich, dass die Lipidparameter (GC, LDL-C, TG und Lp(a)) nicht normalverteilt waren. Daher wurde im Weiteren nicht parametrisch gerechnet. Um zwei unabhängige Stichproben bei Normalverteilung zu vergleichen, wurde der t-Test verwendet. Dem vorangeschaltet wurde ein Levene-Test auf Varianzgleichheit durchgeführt. Bei fehlender Normalverteilung wurde nicht parametrisch unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests (M-W-U-Test) getestet. Bei Durchführung eines t-Tests wurden Mittelwert und Standardabweichung, beim M-W-U-Test Median, Minimum und Maximum, der zu untersuchenden Parameter angegeben. Eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) wurde verwendet, um zu prüfen ob sich die Mittelwerte mehrerer unabhängiger Stichproben unterscheiden. Statistische Signifikanz wurde als ein p-Wert  $< 0,05$  definiert.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Beschreibung des Patientenkollektivs der $\geq 18$ -jährigen

##### 3.1.1 Verteilung der weiblichen und männlichen Patienten

Es wurden insgesamt 315 Patienten in die Auswertung eingeschlossen, davon waren 64 (20,3 %) männlich und 251 (79,7 %) weiblich.

Tabelle 6: Verteilung der Geschlechter ( $\geq 18$ -Jährige)

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
männlich	64	20,3	20,3	20,3
weiblich	251	79,7	79,7	100,0
Gesamt	315	100,0	100,0	

##### 3.1.2 Alter

Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 56 Jahre. Die älteste Patientin war weiblich mit 88 Jahren, die jüngste Patientin ebenfalls weiblich mit 21 Jahren.

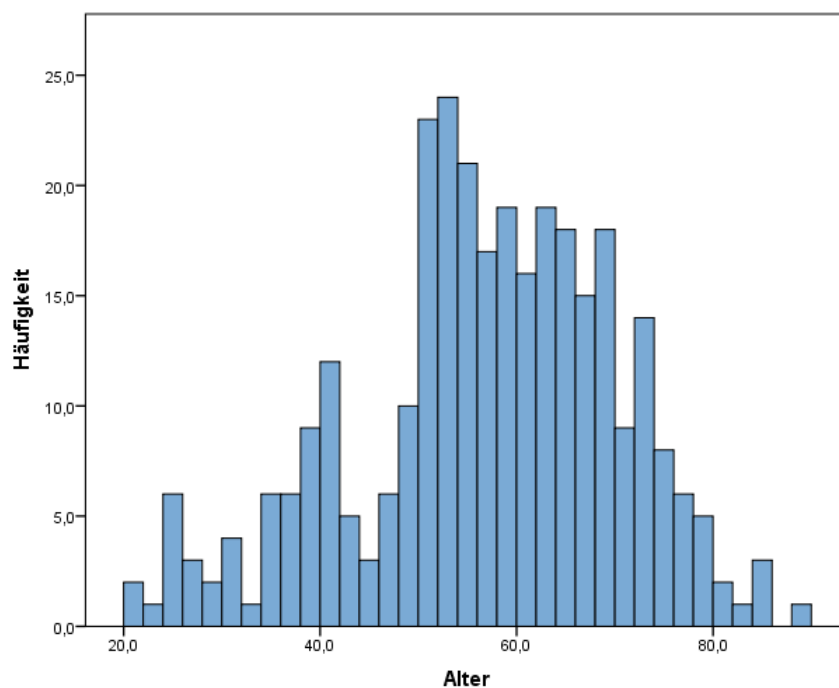


Abbildung 2: Altersverteilung der  $\geq 18$ -Jährigen ( $n=315$ )

### 3.1.3 Body-Mass-Index

In 92,4 % der Fälle (n=291) konnte anhand der verfügbaren Daten der BMI berechnet werden. Im Mittel lag dieser bei 27 kg/m<sup>2</sup>. Laut Definition der Deutschen Gesellschaft für Adipositas entspricht dies einer Präadipositas. Der niedrigste BMI mit 17,2 kg/m<sup>2</sup> und der höchste BMI mit 56,1 kg/m<sup>2</sup> wurden bei weiblichen Patientinnen festgestellt.

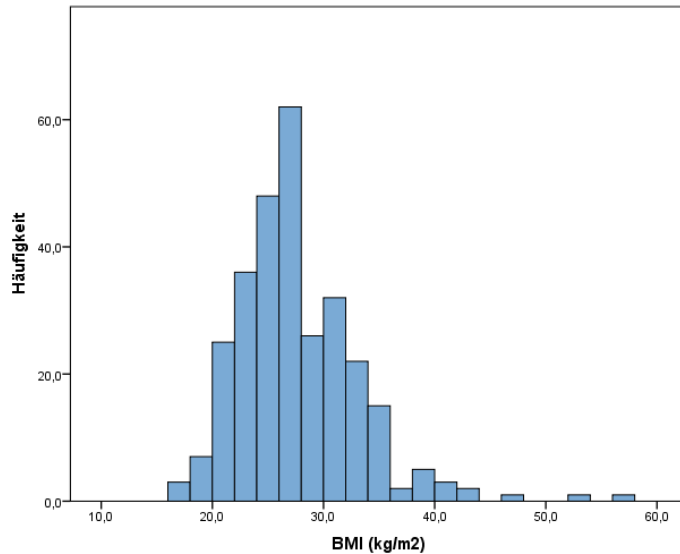


Abbildung 3: Verteilung des BMI (kg/m<sup>2</sup>) der ≥ 18-Jährigen (n=291)

### 3.1.4 Kardiovaskuläre Risikofaktoren

Kardiovaskuläre Risikofaktoren können gemäß der International Atherosclerosis Society in Hauptrisikofaktoren (major risk factors) und andere Risikofaktoren (minor risk factors) eingeteilt werden. In der folgenden Tabelle wird die Verteilung der Hauptrisikofaktoren Tabakkonsum, Arterielle Hypertonie und DM entlang des Patientenkollektivs dargestellt.

Tabelle 7: Kardiovaskuläre Risikofaktoren

		Anzahl	Anzahl (%)
Nikotin	Raucher	47	20,6
	Nichtraucher	181	79,4
Arterielle Hypertonie	ja	97	31,4
	nein	212	68,6
DM	ja	20	6,5
	nein	289	93,5

#### **3.1.4.1 Hyperlipidämie**

Auf die tabellarische Darstellung der HLP als kardiovaskulärer Risikofaktor wurde verzichtet, da entlang des Kollektivs der  $\geq 18$ -jährigen in 100 % der Fälle (n=315) eine HLP mit einem LDL-C  $> 190$  mg/dl vorlag. In 5,4 % der Fälle (n=17) handelt es sich um errechnete LDL-C-Werte, die anhand der therapierten LDL-C-Werte und der eingenommenen Medikation berechnet wurden.

#### **3.1.4.2 Arterielle Hypertonie**

Daten zum Vorliegen einer arteriellen Hypertonie waren bei 98,1 % (n=309) der Patienten verfügbar. Dabei lag in 31,4 % (n=97) der Fälle eine arterielle Hypertonie vor. 34,4 % (n=22) der Männer und 29,9 % (n=75) der Frauen waren betroffen.

#### **3.1.4.3 Diabetes mellitus**

Angaben zum Vorliegen eines DM konnten bei 98,1 % (n=309) gefunden werden. Eine Unterteilung erfolgte in Typ I und Typ II Diabetes. Bei allen Patienten fand sich hierzu eine Angabe. In 6,5 % der Fälle lag ein DM vor, unter den Männern in 9,4 % der Fälle, unter den Frauen in 5,6 % der Fälle. Bei 17 Personen handelte es sich um einen DM II, bei 3 Personen um einen DM I.

#### **3.1.4.4 Nikotin**

Zur Nikotinanamnese konnte bei 72,4 % (n=228) eine Angabe gefunden werden. Im untersuchten Kollektiv waren 20,6 % (n=47) Raucher, 79,4 % (n=181) Nichtraucher.

#### **3.1.5 Laborprofile**

Tab. 8 zeigt die entlang des untersuchten Kollektivs erfassten Laborparameter (Mittelwert, Standardabweichung, Median, Minimum und Maximum). Die Referenzbereiche sind im Anhang gelistet.

Tabelle 8: Laborparameter ( $\geq 18$ -Jährige)

	N		Mittelwert	Median	SD	Min	Max
	Gültig	Fehlend					
GC (ohne Therapie), mg/dl	277	38	293,2	288,0	36,66	239	546
GC (mit Therapie), mg/dl	81	234	211,4	198,0	58,91	99	382
LDL-C (ohne Therapie), mg/dl	312	3	228,7	216,0	47,77	191	496
LDL-C (mit Therapie), mg/dl	80	235	142,0	125,0	56,66	43	293
HDL-C (ohne Therapie), mg/dl	277	38	64,43	62,00	20,68	34	219
HDL-C (mit Therapie), mg/dl	80	235	59,30	57,00	18,73	30	150
TG (ohne Therapie), mg/dl	274	41	164,9	152,0	72,39	39	395
TG (mit Therapie), mg/dl	81	234	140,6	125,0	68,90	38	370
Lp(a), nmol/l	163	152	91,37	37,20	112,3	6,9	593
ApoA, mg/dl	29	286	150,3	152,0	32,80	96	260
ApoB, mg/dl	39	276	139,0	142,0	38,57	78	240
BZ, mg/dl	177	138	89,11	85,00	14,55	58	139
HbA1c %	297	18	5,657	5,600	0,404	4,4	7,9
TSH, $\mu$ IU/ml	298	17	1,445	1,320	0,800	0,010	4,16
ALAT/GPT, U/l	305	10	21,88	20,00	8,690	5	50
ASAT/GOT, U/l	305	10	22,41	22,00	4,900	11	49
Gamma GT, U/l	304	11	24,57	20,00	16,12	8	118
Bilirubin, mg/dl	10	305	0,680	0,450	0,629	.2	2,0
AP, U/l	295	20	73,83	72,00	18,66	18	126
Harnsäure, mg/dl	294	21	5,313	4,950	4,130	2,2	72,0
Harnstoff, mg/dl	287	28	30,96	30,20	9,150	3,7	81,6
GFR, ml/min	240	75	82,94	82,00	19,93	7,7	157,0
Kreatinin, mg/dl	303	12	0,778	0,800	0,174	0,400	1,60
CK, U/l	36	279	97,89	88,50	37,26	43	187

### 3.1.5.1 Lipidprofil

Im Gesamtkollektiv lag der GC-Wert vor Therapiebeginn im Mittel bei 293,2 mg/dl ( $\pm 36,7$ ), der LDL-C-Wert bei 228,7 mg/dl ( $\pm 47,8$ ). Bei 295 Personen waren LDL-C-Werte vor Beginn einer Therapie verfügbar, bei 17 Personen wurde der LDL-C-Wert berechnet. In Tab. 8 ist ersichtlich, dass bei drei Personen keine Angabe zum LDL-C ohne Therapie gemacht wurde (n=312). Dies erklärt sich dadurch, dass bei diesen Patienten nur ein LDL-C-Wert von „>200 mg/dl“ dokumentiert war und somit kein eindeutiger Wert verfügbar war. Der niedrigste LDL-C-Wert lag bei 191 mg/dl, der höchste bei 481 mg/dl. Der höchste berechnete LDL-C-Wert lag bei 496 mg/dl. Die TG ohne Therapie lagen im Mittel bei 164,9 mg/dl ( $\pm 72,4$ ), mit Therapie bei 140,6 mg/dl ( $\pm 68,9$ ). Gemäß den Ausschlusskriterien wies keiner der Patienten eine signifikante Hypertriglyzeridämie ( $> 395$  mg/dl) auf.

Bei 163 Patienten wurde in der klinischen Chemie Lp(a) untersucht. Bei Patienten mit kaum nachweisbaren Lp(a)-Konzentrationen, wird der Lp(a)-Wert im Amedes Laborbefund als  $< 7$  nmol/l angegeben. Bei 18 Patienten wurde ein Lp(a) Wert  $< 7$  nmol/l gemessen. Um den Wert in die Auswertung miteinzubeziehen, wurde  $< 7$  nmol/l als 6,9 nmol/l definiert. Der Lp(a)-Wert lag im Mittel bei 91,4 nmol/l ( $\pm 112,3$ ) und war im untersuchten Kollektiv somit erhöht.

Bei wenigen Patienten wurden ApoA und ApoB untersucht. Die ApoA Werte lagen im Mittel bei 150 mg/dl ( $\pm 32,8$ ) und somit im Referenzbereich. Die ApoB Werte lagen im Mittel bei 139 mg/dl ( $\pm 38,6$ ) und waren somit erhöht.

### 3.1.5.2 BZ und HbA1c

Der mittlere HbA1c lag bei 5,65 % ( $\pm 0,4$ ), der höchste HbA1c bei 7,9 %. 7 Patienten wiesen einen HbA1c  $> 6,5$  % auf, unter diesen hatten 5 Patienten einen DM II und 2 Patienten einen DMI.

### 3.1.6 Mutationen

Innerhalb der Gruppe der  $\geq 18$ -jährigen (n=315) wurde bei 33,3 % (n=105) eine Molekulargenetik veranlasst. Im untersuchten Kollektiv fanden sich bei 46,7 % (n=49) veränderte Sequenzvarianten im LDLR-, APOB- oder PCSK9-Gen. Eine FH verursachende Variante wurde bei 31 Individuen gefunden (29,5 %), als Polymorphismus klassifizierte Varianten bei 21 Individuen (20 %). Bei drei Personen (2,8 %) konnte beides nachgewiesen werden. Bei 31,7 % (n=100) waren Angaben zu den einzelnen analysierten Genen vermerkt, bei vier Personen war lediglich dokumentiert, dass eine FH verursachende Mutation gefunden wurde ohne weitere Angaben zum betroffenen Gen.

Der Großteil der FH verursachenden Varianten wurde im LDLR-Gen detektiert. Es wurden 22 unterschiedliche Varianten im LDLR bei 22 Patienten identifiziert. Bei Einteilung der Varianten gemäß der ACMG Nomenklatur (s. Tab. 5) wurden 3 Varianten als pathogen, 8 Varianten als wahrscheinlich pathogen, 1 Variante als Variante unklarer Signifikanz, 2 Varianten als wahrscheinlich gutartig und 3 Varianten als gutartig klassifiziert. 4 Varianten sind bisher noch nicht beschrieben und dementsprechend nicht bewertet. Die 5 Varianten die als gutartig oder wahrscheinlich gutartig gelten, wurden in dieser Arbeit unter die FH verursachenden Varianten gezählt. Auch wenn aufgrund des molekularen Effekts eine Pathogenität eher unwahrscheinlich ist, kann eine Relevanz nicht ausgeschlossen werden, da alle Variantenträger ein LDL-C  $> 190$  mg/dl aufwiesen. Die APOB-Mutation c.10580G>A wurde bei zwei Patienten, die Mutation c.10579C>T bei einem Patienten gefunden. Beide gelten als gesichert pathogen. Zwei nicht verwandte Personen wiesen jeweils eine Variante unklarer Signifikanz im PCSK9-Gen auf. Bei 9 Patienten wurden zwei Sequenzvarianten, bei zwei Patienten drei Sequenzvarianten nachgewiesen. Eine Person war compound heterozygot für zwei LDLR-Mutationen. Die anderen Varianten lagen in heterozygoter Konstellation vor.

*Tabelle 9: Häufigkeit der molekulargenetischen Testung*

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Genanalyse	105	33,3	33,3	33,3
Keine Genanalyse	210	66,7	66,7	100,0
Gesamt	315	100,0	100,0	

### 3.1.6.1 LDLR

100 Individuen wurden auf das Vorliegen einer Mutation im LDLR getestet. Bei 22 % (n=22) der Getesteten konnte eine Mutation nachgewiesen werden, 78 % (n=78) wiesen ein negatives Testergebnis auf.

### 3.1.6.2 APOB

Daten zur APOB-Genanalyse waren bei 99 Personen verfügbar. 93 Individuen wurden auf das Vorliegen einer LDLR- und APOB-Mutation getestet, 6 Individuen lediglich auf eine LDLR-Mutation. Die molekulargenetische Testung ergab bei 3 Personen (3,2 %) ein positives Ergebnis.

### 3.1.6.3 PCSK9

Daten zur PCSK9-Genanalyse waren bei 99 Personen verfügbar. 79 Patienten wurden auf eine Mutation im LDLR-, APOB- und PCSK9-Gen untersucht. Veränderte Sequenzvarianten fanden sich bei 21 Personen (26,6 %). Bei 8 Patienten wurden zwei veränderte Sequenzvarianten im PCSK9-Gen detektiert, bei 2 Patienten drei veränderte Sequenzvarianten. Unter den detektierten Sequenzvarianten fand sich eine Variante unklarer Signifikanz mit möglicher Pathogenität, die restlichen Varianten wurden als nicht FH verursachende Varianten klassifiziert.

Tabelle 10: Analytierte Gene: LDLR, APOB, PCSK9 ( $\geq 18$ -Jährige)

Gene	LDLR	APOB	PCSK9
<b>Molekulargenetische Analyse (n)</b>	100	93	79
<b>Ergebnis positiv (n)</b>	22	3	21
<b>Ergebnis positiv (Gültige Prozente<sup>1</sup>)</b>	22 %	3,2 %	26,6 %
<b>Ergebnis positiv (Prozent<sup>2</sup>)</b>	7,0 %	1,0 %	6,7 %
<b>Ergebnis negativ (n)</b>	78	90	58
<b>Ergebnis negativ (Gültige Prozente<sup>1</sup>)</b>	78 %	96,8 %	73,4 %
<b>Ergebnis negativ (Prozent<sup>2</sup>)</b>	24,8 %	28,6 %	18,4 %
<b>Nicht analysiert (n)</b>	0	6	20

<sup>1</sup>Gültige Prozente: Anteil der positiven/negativen Ergebnisse bezogen auf molekulargenetisch getestete Individuen

<sup>2</sup>Prozent: Anteil der positiven/negativen Ergebnisse bezogen auf das Gesamtkollektiv (n=315)

### 3.1.6.4 APOE

Bei 42,9 % (n=45) der molekulargenetisch getesteten Personen wurde zusätzlich das APOE-Gen analysiert. Der häufigste Genotyp E3/E3, der nicht mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert ist, wurde bei 30 Personen (66,7 %) nachgewiesen. Der Genotyp E2/E3 wurde bei 2 Personen (4,4 %), der Genotyp E3/E4 bei 13 Personen (28,9 %) nachgewiesen. Beide Varianten gehen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einher.

Tabelle 11: Ergebnisse APOE-Genanalyse

	Häufigkeit	Gültige Prozente <sup>1</sup>	Prozent <sup>2</sup>
Molekulargenetische Analyse	45	100,0	14,3
APOE2/E3	2	4,4	0,6
APOE3/E3	30	66,7	9,5
APOE3/E4	13	28,9	4,1

<sup>1</sup>Gültige Prozente: Anteil der positiven/negativen Ergebnisse bezogen auf molekulargenetisch getestete Individuen

<sup>2</sup>Prozent: Anteil der positiven/negativen Ergebnisse bezogen auf das Gesamtkollektiv (n=315)

### 3.1.6.5 Lp(a)

17 Personen (16 %) wurden auf das Vorliegen der mit einer koronaren Herzerkrankung assoziierten Varianten rs10455872 und rs3798220 untersucht. Bei 3 Personen lag die Variante rs10455872, bei einer Person die Variante rs3798220 in heterozygoter Konstellation vor. Ein Patient war compound heterozygot für beide Sequenzvarianten.

Tabelle 12: Ergebnisse Lp(a)-Genanalyse

	Häufigkeit	Gültige Prozente <sup>1</sup>	Prozent <sup>2</sup>
Molekulargenetische Analyse	17	100,0	5,4
Ergebnis positiv	5	29,4	1,6
Variante rs10455872	3	17,6	1,0
Variante rs3798220	1	5,9	0,3
Varianten rs10455872/ rs3798220	1	5,9	0,3
Ergebnis negativ	12	70,6	3,8

<sup>1</sup>Gültige Prozente: Anteil der positiven/negativen Ergebnisse bezogen auf molekulargenetisch getestete Individuen

<sup>2</sup>Prozent: Anteil der positiven/negativen Ergebnisse bezogen auf das Gesamtkollektiv (n=315)

### 3.1.7 Mutationsdetektion und Lipidwerte

Der LDL-C-Plasmaspiegel der Patienten mit FH-Mutation war signifikant höher im Vergleich zu Personen ohne FH-Mutation (244,5 mg/dl (194-430) vs. 219 mg/dl (191-479),  $p < 0,05$ ) (Tab. 13). Beim Vergleich aller Individuen mit veränderten Sequenzvarianten, unabhängig davon ob FH verursachend oder als Polymorphismus klassifiziert, war das LDL-C ebenfalls signifikant höher (243 mg/dl (192-479) vs. 213 mg/dl (191-297),  $p < 0,01$ ) (Tab. 14). Um die Diskriminationsfähigkeit des LDL-C zwischen dem Vorliegen einer Mutation und einem negativen Testergebnis zu bestimmen, wurde eine ROC-Kurve erstellt. Das Ergebnis der ROC-Statistik indiziert, dass die Höhe der LDL-C-Spiegel vor Therapiebeginn eine gute Diskriminationsfähigkeit hinsichtlich Mutationsträgern und Nicht-Mutationsträgern aufweist: AUC (Area under the Curve) = 0,658 (Abb. 4).

Die höchsten LDL-C-Werte lagen bei Patienten mit LDLR-Mutation vor ( $261,3 \text{ mg/dl} \pm 64,6$ ). Patienten mit veränderten PCSK9-Sequenzvarianten (inklusive Polymorphismen) wiesen im Mittel höhere LDL-C-Werte als Patienten mit APOB-Mutation auf ( $256,7 \text{ mg/dl} \pm 75$  vs.  $243 \text{ mg/dl} \pm 40$ ). Das LDL-C der Personen mit LDLR-Variante unterschied sich nicht signifikant vom LDL-C der Personen mit PCSK9-Variante. Aufgrund der geringen Anzahl an Personen mit APOB-Mutation ( $n=3$ ), wurden nur die Lipidparameter der Personen mit LDLR- und PCSK9-Sequenzvarianten auf Unterschiede überprüft (Tab. 16).

*Tabelle 13: LDL-C, mg/dl (ohne Therapie) bei Patienten mit und ohne FH-Variante*

	N	Median	Minimum	Maximum	p
FH Variante	30	244,5	194,0	430,0	0,012
Keine FH Variante	73	219,0	191,0	479,0	
Insgesamt	103	223,0	191,0	479,0	

*Testung auf signifikante Unterschiede erfolgte mittels dem M-W-U Test*

*Tabelle 14: LDL-C, mg/dl (ohne Therapie) bei Patienten mit und ohne Nachweis von veränderten Sequenzvarianten (Mutationen und Polymorphismen)*

	N	Median	Minimum	Maximum	p
Alle nachgewiesenen Sequenzvarianten	47	243,0	192,0	479,0	0,002
Wildtyp	55	213,0	191,0	297,0	
Insgesamt	103	223,0	191,0	479,0	

*Testung auf signifikante Unterschiede erfolgte mittels dem M-W-U Test*

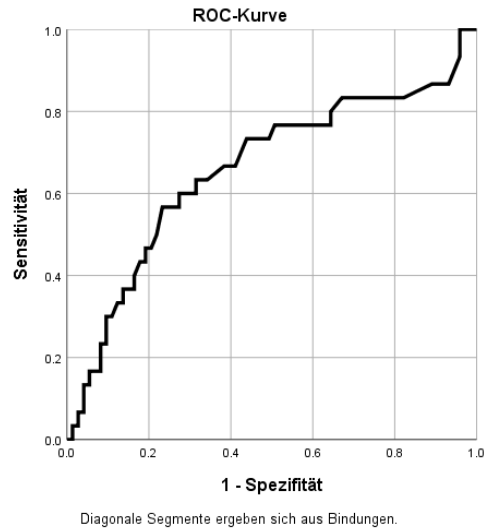


Abbildung 4: ROC- Kurve für die LDL-C-Werte von Personen mit bzw. ohne Mutation;  $AUC = 0,658$

Die GC-Spiegel der Personen mit FH-Mutation unterschieden sich nicht signifikant zu den Personen ohne FH assoziierte Variante (318 mg/dl (241-356) vs. 295 mg/dl (247-544),  $p = n.s.$ ). Personen mit PCSK9-Sequenzvarianten wiesen höhere GC-Werte als Personen mit nachgewiesener LDLR-Mutation auf (311 mg/dl (248-544) vs. 301 mg/dl (241-356),  $p = n.s.$ ). Der Unterschied der TG-Spiegel Mutations-positiver und Mutations-negativer Patienten war hoch signifikant, wobei Personen mit nachgewiesener Mutation deutlich niedrigere Werte aufwiesen (109 mg/dl (42-251) vs. 173 mg/dl (39-359),  $p < 0,01$ ).

Bei den Lp(a)-Werten zeigte sich zwischen den Mutationsträgern und Nicht-Mutationsträgern kein signifikanter Unterschied (Tab. 15). Jedoch waren die Lp(a)-Spiegel der Patienten mit nachgewiesener LDLR-Mutation signifikant höher als die der PCSK9 Gruppe (Tab. 16).

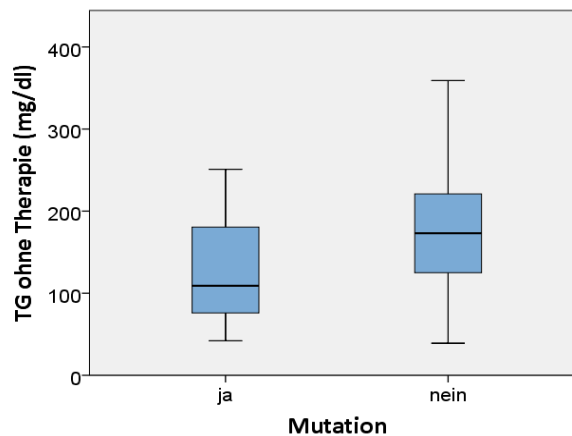


Abbildung 5: Boxplot-Verteilung der TG-Werte bei Personen mit und ohne FH-Variante

Box=Bereich in dem 50% der Fälle liegen; Linie = Median; T-Balken = Fälle außerhalb der Box

Tabelle 15: GC, TG und Lp(a) bei Personen mit und ohne FH assoziierter Variante

		N	Median	Minimum	Maximum	p
GC, mg/dl (o.T)	FH assoziierte Variante	19	318,0	241,0	356,0	0,413
	Keine FH assoziierte Variante	62	295,0	247,0	544,0	
	Insgesamt	81	300,0	241,0	544,0	
TG, mg/dl (o.T)	FH assoziierte Variante	20	109,0	42,0	251,0	0,005
	Keine FH assoziierte Variante	62	173,0	39,0	359,0	
	Insgesamt	82	159,5	39,0	359,0	
Lp(a), nmol/l (o.T)	FH assoziierte Variante	22	55,55	6,9	379,3	0,432
	Keine FH assoziierte Variante	54	40,65	6,9	502,3	
	Insgesamt	76	42,95	6,9	502,3	

Testung auf signifikante Unterschiede erfolgte mittels dem M-W-U Test; o.T = ohne Therapie

Tabelle 16: LDL-C, GC, TG und Lp(a) in Abhängigkeit des Mutationsbefundes

		N	Median	Minimum	Maximum	p
LDL-C, mg/dl (o.T)	LDLR	20	246	194	430	0,531
	PCSK9	19	230	192	479	
GC, mg/dl (o.T)	LDLR	13	301	241	356	0,981
	PCSK9	15	311	248	544	
TG, mg/dl (o.T)	LDLR	14	79	42	251	0,586
	PCSK9	15	172	78	281	
Lp(a), nmol/l	LDLR	15	67	9,3	304,1	0,01
	PCSK9	12	47,9	6,9	271,3	

Testung auf signifikante Unterschiede erfolgte mittels dem M-W-U Test; o.T = ohne Therapie

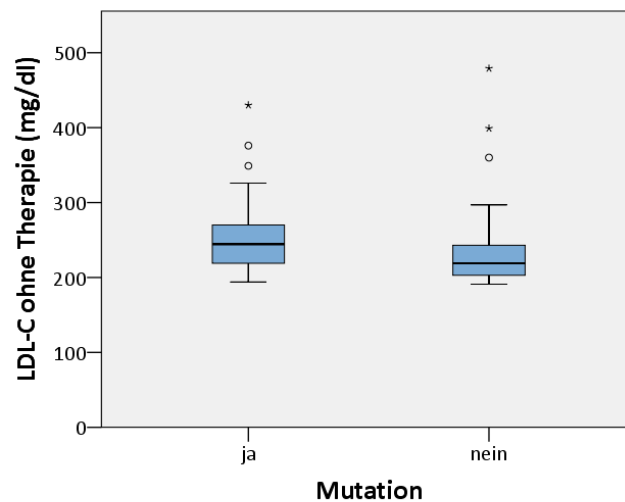


Abbildung 6: Boxplot-Verteilung der LDL-C-Werte mit und ohne FH-Mutation

°Ausreißer, \*extreme Ausreißer (Werte dreimal so groß wie die Höhe des Boxplot); Erläuterung Boxplot s. Abb. 5)

### 3.1.8 Lipidsenkende Medikation

Entlang des untersuchten Kollektivs (n=315) nahmen 40 % (n=126) lipidsenkende Medikamente ein, 60 % (n=189) hatten zum Zeitpunkt der Datenerfassung keine dokumentierte Medikation. Bei 24,4 % (n=77) waren LDL-C-Werte, bei 15,2 % (n=48) GC-Werte vor und nach Therapiebeginn dokumentiert. Durch eine lipidsenkende Medikation konnte das LDL-C im Mittel um 43,8 % ( $\pm 17,9$ ), das GC um 31,4 % ( $\pm 15,1$ ) gesenkt werden.

*Tabelle 17: Einnahme einer lipidsenkenden Medikation im Kollektiv und bei Patienten mit nachgewiesener FH-Variante*

	Gesamtkollektiv (n=315)		FH-Sequenzvariante (n=31)	
	N	Prozent (%)	N	Prozent (%)
Lipidsenkende Medikation	126	40,0	23	74,2
Keine lipidsenkende Medikation	189	60,0	8	25,8

*Tabelle 18: LDL-C und GC-Senkung im Kollektiv der  $\geq 18$ -Jährigen*

	LDL-C-Differenz	GC-Differenz
N	77	48
Mittelwert	-43,84	-31,40
Std.-Abweichung	17,91	15,08
Median	-46,23	-34,74

*Tabelle 19: LDL-C- und GC-Senkung bei Patienten mit nachgewiesener FH-Variante*

	LDL-C-Differenz	GC-Differenz
N	16	7
Mittelwert	-46,64	-32,18
Std.-Abweichung	15,43	12,69
Median	-48,27	-31,27

Bei 80 Personen waren LDL-C-Werte nach Therapiebeginn verfügbar. Abb. 7 zeigt die durch Einnahme einer lipidsenkenden Medikation erreichten LDL-C-Werte im Gesamtkollektiv der über 18-jährigen und in der Gruppe der FH-Mutationsträger. Bei Einteilung der Patienten in die unter 2.5.3 erwähnten Zielwertgruppen (s. Tab. 2 bzw. Abb. 8) erreichten 95 % (n=76) nicht ihren Zielbereich. Lediglich 22,5 % (n=18) erreichten mit der eingenommenen Medikation ein LDL-C < 100 mg/dl, 5,1 % (n=4) ein LDL-C < 70

mg/dl. Unter den Patienten mit FH definierender Mutation (n=31) nahmen 74,2 % (n=23) lipidsenkende Medikamente ein, 25,8 % (n=8) waren zum Zeitpunkt der Datenerfassung ohne Therapie. LDL-C-Werte vor und nach Therapiebeginn waren bei 51,6 % (n=16), GC-Werte bei 22,6 % (n=7) verfügbar. Bei Patienten mit molekulargenetisch gesicherter FH konnte das LDL-C im Mittel um 46,6 % ( $\pm 15,4$ ), das GC um 32,2 % ( $\pm 12,7$ ) reduziert werden. Nur 11,8 % (n=2) der FH-Patienten erreichten ein LDL-C < 100 mg/dl, 5,9 % (n=1) ein LDL-C < 70 mg/dl und keine Person ein LDL-C < 55 mg/dl.

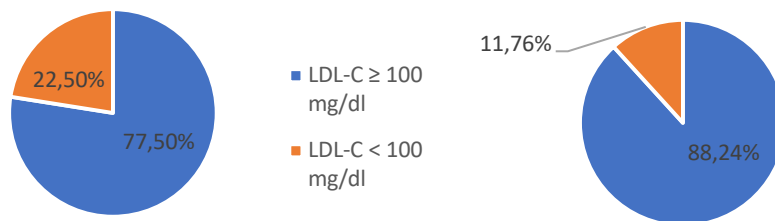


Abbildung 7: LDL-C im Gesamtkollektiv und bei FH-Patienten unter Einnahme einer lipidsenkenden Medikation

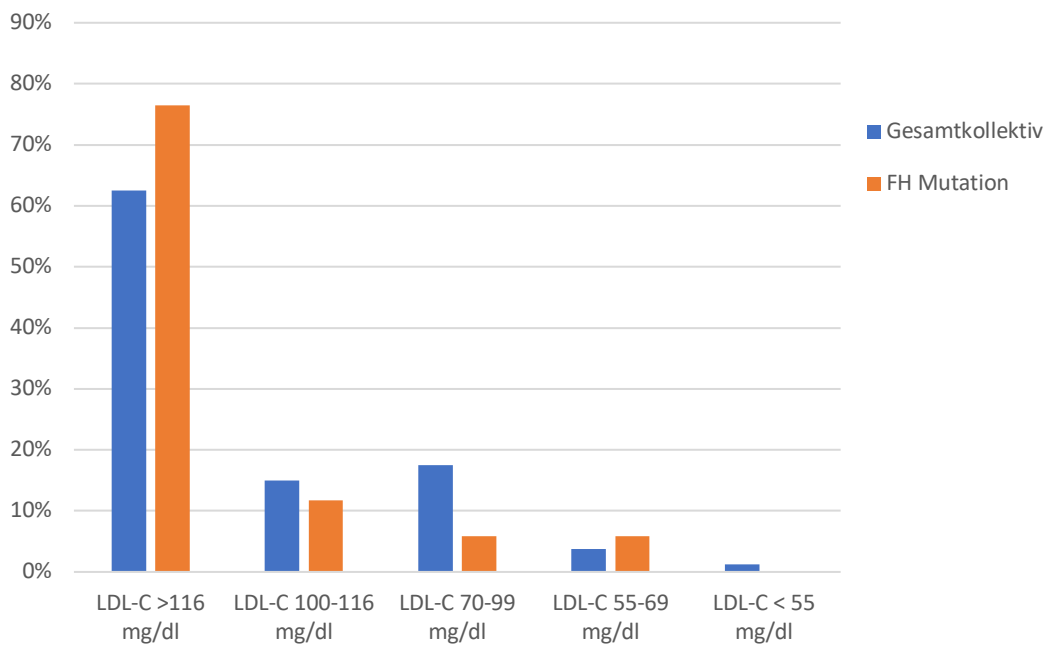


Abbildung 8: LDL-C im Gesamtkollektiv und bei FH-Patienten unter Einnahme einer lipidsenkenden Medikation (eingeteilt nach Zielwertbereichen)

### 3.1.9 DLCN-Score

Der DLCN-Score wurde für 99 % (n=312) der Patienten berechnet. Mindestvoraussetzung für die Berechnung war das Vorhandensein eines LDL-C vor Therapiebeginn. Bei drei Individuen war lediglich ein LDL-C > 200 mg/dl vor Therapiebeginn dokumentiert, für diese Personen wurde kein DLCN-Score berechnet. Abb. 9 zeigt die Verteilung der erreichten Punktwerte. Mit 84,9 % (n=265) fällt der überwiegende Anteil der Patienten in die Gruppe „möglicherweise FH“ (3-5 Punkte). Bei 4,2 % (n=13) lag wahrscheinlich (6-8 Punkte), bei 10,9 % (n=34) definitiv (>8 Punkte) eine FH vor ( $4,38 \pm 3,03$ ).

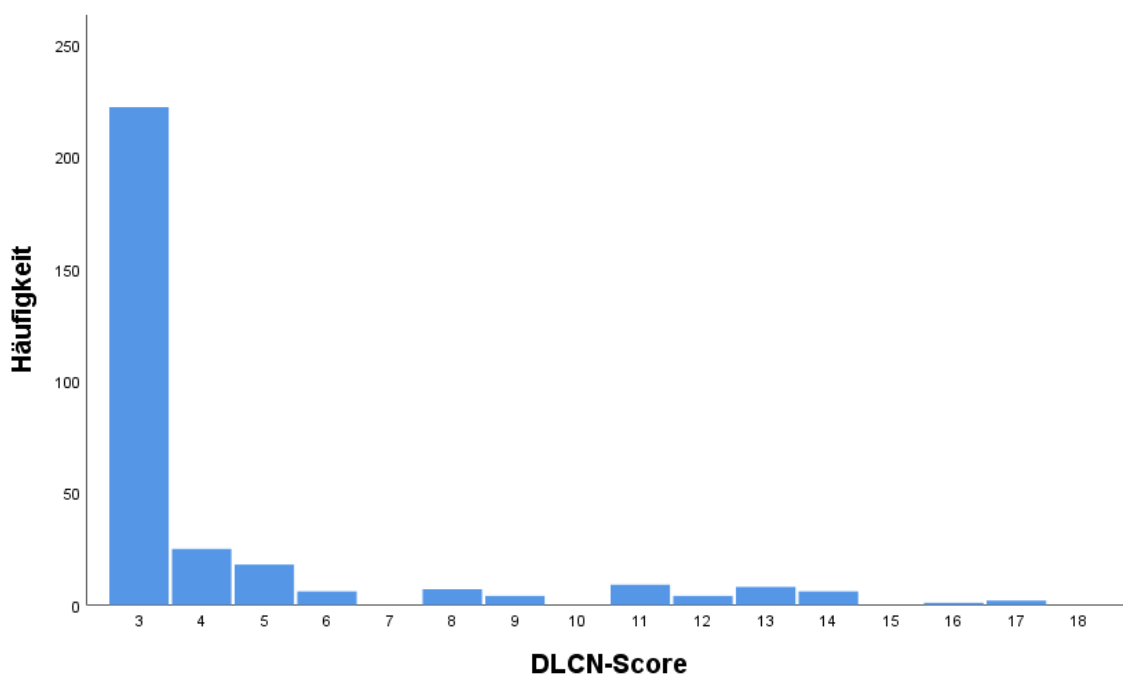


Abbildung 9: Verteilung der DLCN- Score-Werte

Innerhalb der Gruppe „definitiv FH“ erreichten 88,2 % (n=30) einen Punktwert > 8 da ein positives molekulargenetisches Ergebnis vorlag und in die Berechnung miteinbezogen wurde. Lediglich 4 Personen (11,8 %) wurden rein auf klinischen Kriterien basierend als definitive FH-Patienten klassifiziert. Wie in Abb. 10 ersichtlich, wären von den Personen, bei denen die Genetik in die Berechnung miteinbezogen wurde (n=30) anhand klinischer Kriterien 70 % (n=21) als mögliche und 23 % (n=7) als wahrscheinliche FH-Patienten klassifiziert worden, deren Genetik-Befund im Endergebnis jedoch positiv war.

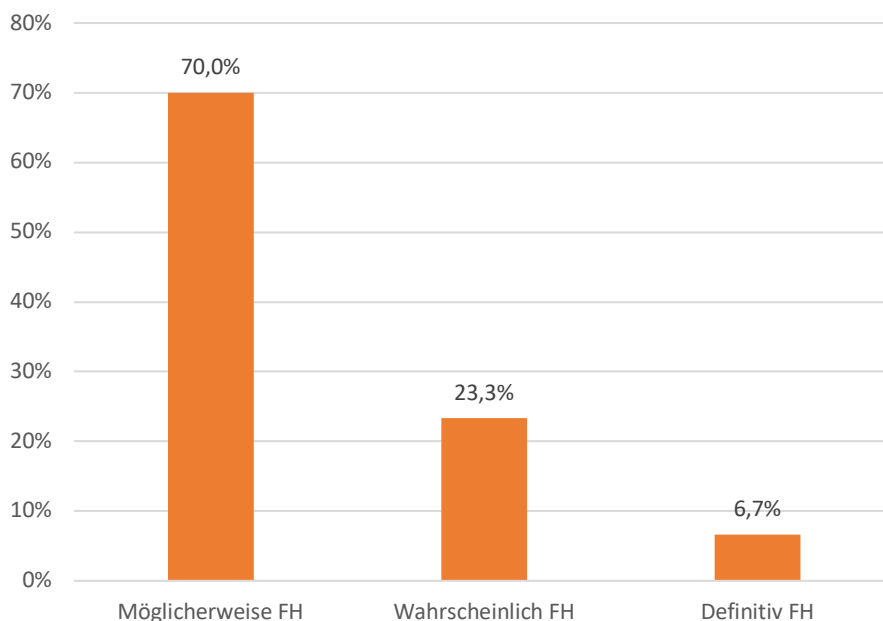


Abbildung 10: DLCN-Score-Werte ohne Berücksichtigung der Genetik

Um den DLCN-Score zu berechnen, wurden Informationen zur kardiovaskulären Eigenanamnese, lipidologischen Stigmata, LDL-C-Werten vor Therapiebeginn und der Familienanamnese benötigt (Tab. 3). Tab. 20 zeigt die anamnestisch dokumentierten Informationen im untersuchten Kollektiv. Bei 49,8 % (n=157) war lediglich die Eigenanamnese für die Berechnung des DLCN-Scores verfügbar. In 28,6 % (n=90) der Fälle war eine Familienanamnese dokumentiert jedoch ohne Altersangaben kardiovaskulärer Ereignisse von Verwandten ersten Grades oder ohne Verfügbarkeit derer LDL-C-Werte. Bei 21,6 % (n=68) der Personen war die Familienanamnese vollständig (Erkrankungsalter oder LDL-C-Werte) dokumentiert. Abb. 11 zeigt die Einteilung der Patienten in die Gruppen definitiv, wahrscheinlich, und möglicherweise FH, in Abhängigkeit von den anamnestisch verfügbaren Informationen. In der Patientengruppe, in der vollständige Informationen vorlagen, wurde der überwiegende Anteil mit 55,9 % (n=19) als definitiv klassifiziert.

Tabelle 20: DLCN-Score - verfügbare Informationen

	Häufigkeit	Prozent (%)
Nur Eigenanamnese	157	49,8
Familienanamnese unvollständig	90	28,6
Vollständige Informationen	68	21,6
Gesamt	315	100,0

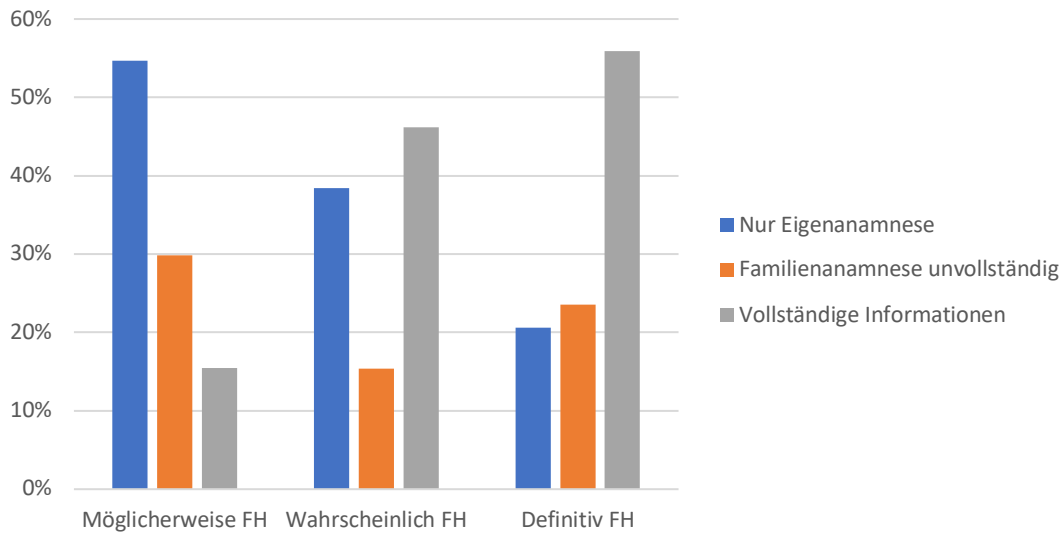


Abbildung 11: Verteilung der Gruppen möglicherweise, wahrscheinlich und definitiv FH in Abhängigkeit der zur Score-Berechnung verfügbaren Informationen

### 3.1.9.1 DLCN-Score und Mutationsdetektion

33,3 % (n=105) wurden molekulargenetisch getestet, bei 32,6 % (n=103) wurde der DLCN-Score berechnet. Um die Mutationsdetektionsrate in Abhängigkeit der klinischen Kriterien darzustellen, erfolgte die Score-Berechnung ohne Einbezug des molekulargenetischen Ergebnisses. Bei 24,1 % (n=21) der Gruppe möglicherweise FH, 53,8 % (n=7) der Gruppe wahrscheinlich FH und 66,7 % (n=2) der Gruppe definitiv FH konnte bei Durchführung der molekulargenetischen Analyse eine Mutation detektiert werden.

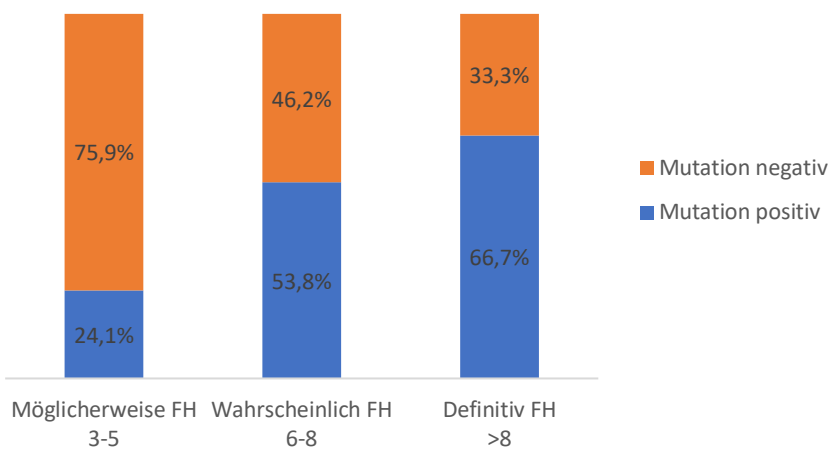


Abbildung 12: Prozentualer Anteil detektierter Mutationen in Bezug auf die FH-Diagnose anhand klinischer Kriterien

### 3.1.9.2 DLCN-Score und Lp(a)

Um zu überprüfen ob sich die Lp(a)-Spiegel in den Gruppen definitiv, wahrscheinlich und möglicherweise FH unterschieden, wurde eine ANOVA durchgeführt. Die mittleren Lp(a)-Spiegel waren in den Gruppen definitiv und wahrscheinlich FH höher als in der Gruppe der möglicherweise als FH klassifizierten Personen, der Unterschied war nicht signifikant.

Tabelle 21: Lp(a)-Spiegel in Abhängigkeit der FH-Diagnosewahrscheinlichkeit

	N	Mittelwert	Std.- Abweichung	Std.- Fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum
					Untergrenze	Obergrenze		
Definitiv FH	23	105,2	114,1	23,79	55,83	154,5	6,9	379,3
Wahrscheinlich FH	12	123,0	118,8	34,31	47,48	198,5	11,9	340,2
Möglicherweise FH	126	84,23	111,6	9,943	64,55	103,9	6,9	593,0
Gesamt	161	90,11	112,4	8,858	72,62	107,6	6,9	593,0

Bei Testung auf statistisch signifikante Unterschiede mittels dem t-Test für unabhängige Stichproben ergaben sich keine Signifikanzen

### 3.1.10 Alter und Mutationsdetektion

Unter den Personen die genetisch untersucht wurden, waren die Personen mit einem positiven Mutationsnachweis im Mittel jünger als Personen ohne Mutationsnachweis. Der Unterschied war nicht signifikant ( $42,0 \pm 14,6$  vs.  $54,8 \pm 12,2$ ,  $p = 0,224$ ). Abb. 13 zeigt die LDL-C-Werte in Abhängigkeit des Alters bei FH- und Nicht-FH-Patienten.

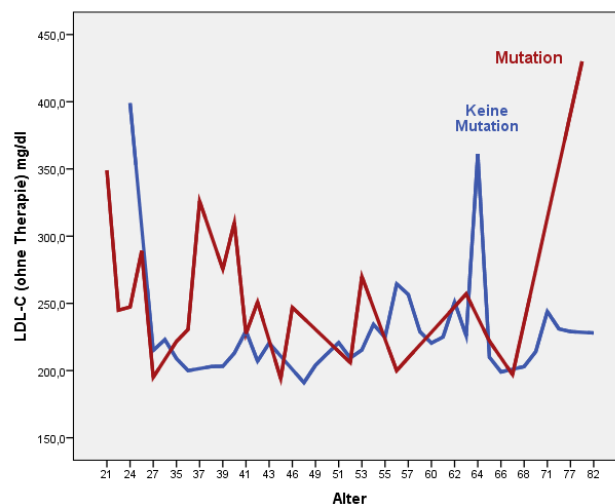


Abbildung 13: LDL-C vor Therapiebeginn in Abhängigkeit des Alters bei Patienten mit und ohne FH-Variante

## 3.2 Beschreibung des Patientenkollektivs der < 18-jährigen

### 3.2.1 Verteilung der weiblichen und männlichen Patienten

Im untersuchten Zeitraum stellten sich 37 Patienten < 18 Jahren mit einem LDL-C > 95. Perzentile im Endokrinologikum vor. Davon waren 56,8 % (n=21) weiblich und 43,2 % (n=16) männlich.

### 3.2.2 Alter

Das Alter betrug im Durchschnitt 13,11 Jahre ( $\pm 3,26$ ), die zwei jüngsten Patienten mit 6 Jahren waren männlich, 8 Patienten waren 17 Jahre und zählten somit zu den ältesten (w=6, m=2).

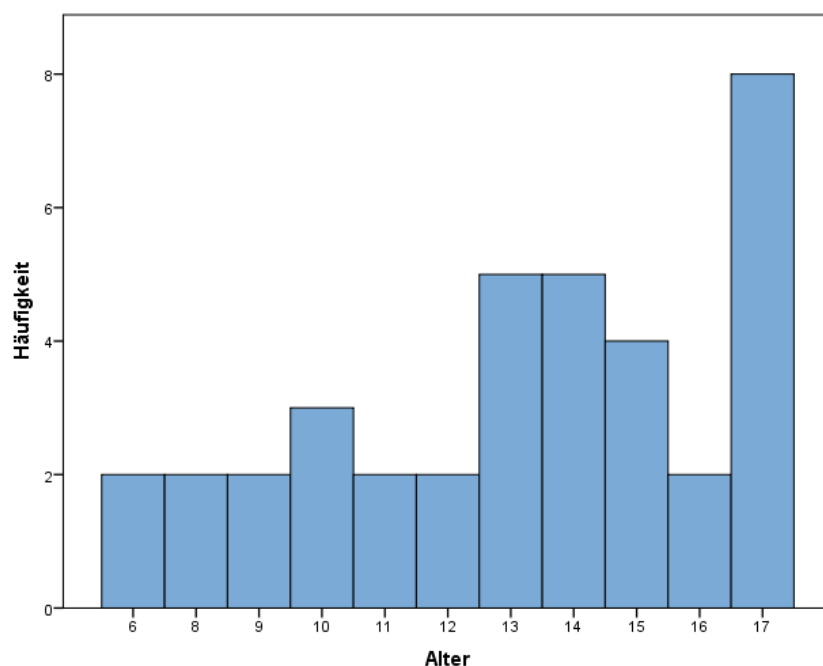


Abbildung 14: Altersverteilung (< 18-Jährige)

### 3.2.3 Body-Mass-Index

Der BMI lag im Mittel bei 22,02 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 4,98$ ), laut Definition entspricht dies dem Normalgewicht. Der höchste BMI mit 35,6 kg/m<sup>2</sup> wurde bei einer weiblichen Patientin festgestellt, der niedrigste BMI mit 13,2 kg/m<sup>2</sup> bei einem männlichen Patienten.

### 3.2.4 Laborprofil

Tab. 22 zeigt die entlang des untersuchten Kollektivs erfassten Laborparameter (Mittelwert, Standardabweichung, Median, Minimum, Maximum).

Tabelle 22: Laborparameter (< 18-Jährige)

	N		Mittelwert	Median	Std.-		
	Gültig	Fehlend			Abweichung	Minimum	Maximum
GC (ohne Therapie), mg/dl	36	1	272,6	252,5	89,70	185	674
GC (mit Therapie), mg/dl	11	26	239,8	191,0	124,53	164	595
LDL-C (ohne Therapie), mg/dl	36	1	212,2	197,0	89,71	137	653
LDL-C (mit Therapie), mg/dl	11	26	181,0	134,0	126,3	98	541
HDL-C (ohne Therapie), mg/dl	35	2	60,86	56,00	29,98	30	214
HDL-C (mit Therapie), mg/dl	11	26	55,73	54,00	15,38	37	90
TG (ohne Therapie), mg/dl	34	3	104,9	95,50	55,78	37	245
TG (mit Therapie), mg/dl	11	26	86,36	69,00	48,15	40	207
Lp(a), nmol/l	31	6	72,80	24,50	98,83	6,9	378,4
ApoA, mg/dl	0	37					
ApoB, mg/dl	2	35	137,5	137,5	16,26	126	149
BZ, mg/dl	2	35	90,50	90,50	14,84	80	101
HbA1c %	30	7	5,310	5,300	0,322	4,7	6,0
TSH, µIU/ml	35	2	2,223	1,980	0,955	0,32	4,02
ALAT/GPT, U/l	36	1	21,39	16,50	18,02	9	118
ASAT/GOT, U/l	36	1	26,11	25,50	8,352	11	56
Gamma GT, U/l	34	3	28,71	14,50	38,74	7	189
Bilirubin, mg/dl	0	37					
AP, U/l	35	2	194,8	180,0	110,8	49	462
Harnsäure, mg/dl	33	4	4,252	4,300	1,115	2,0	6,7
Harnstoff, mg/dl	34	3	24,77	24,85	5,489	15,7	38,4
GFR, ml/min	21	16	170,7	156,0	49,61	113	281
Kreatinin, mg/dl	34	3	0,571	0,600	0,138	0,3	0,9
CK, U/l	7	30	109,0	117,0	36,25	61	168

### **3.2.4.1 Lipidprofil**

Der GC-Wert ohne Therapie lag im Mittel bei 272,6 mg/dl ( $\pm$  89,7), der LDL-C-Wert bei 212,2 mg/dl ( $\pm$  89,7). Lipidprofile vor Beginn einer Therapie wurden bei 36 Kindern dokumentiert, bei einem Kind waren nur therapierte Werte verfügbar. Das niedrigste LDL-C lag bei 137 mg/dl, das höchste bei 653 mg/dl. Die TG-Werte ohne Therapie lagen im Mittel bei 104,9 mg/dl ( $\pm$  55,7), mit Therapie bei 86,36 mg/dl ( $\pm$  48,1). Bei 31 Patienten wurde Lp(a) untersucht, im Mittel lag der Wert bei 72,8 nmol/l ( $\pm$  98,8) und war somit erhöht. Bei Patienten mit einem dokumentierten Lp(a)  $<$  7 nmol/l wurde dieses als 6,9 definiert.

### **3.2.5 Kardiovaskuläre Risikofaktoren**

In der Gruppe der  $<$  18-jährigen hatte niemand einen arteriellen Hypertonus, DM oder positiven Nikotinkonsum.

### **3.2.6 Mutationen**

Von 37 Kindern wurden 64,9 % (n=24) molekulargenetisch getestet. 58,3 % (n=14) wiesen eine FH-Mutation auf, 16,7 % (n=4) eine als Polymorphismus definierte Sequenzvariante, eine Person eine PCSK9-Variante, die sowohl als wahrscheinlich gutartig als auch als Variante unklarer Signifikanz bewertet wurde. Der überwiegende Anteil FH definierender Mutationen fand sich im LDLR-Gen. Es wurden 14 unterschiedliche Varianten bei 13  $<$  18-Jährigen identifiziert. Gemäß der ACMG Klassifikation (s. Tab. 5) wurden 2 Varianten als pathogen, 9 Varianten als wahrscheinlich pathogen, und eine Variante als wahrscheinlich gutartig klassifiziert. Im APOB-Gen wurde die Mutation c.10580G>A bei einer Person gefunden. Ein Kind war compound heterozygot und zeigte mit einem initialen LDL-C von 653 mg/dl den höchsten Wert. Die übrigen Varianten lagen in heterozygoter Konstellation vor.

Tabelle 23: Analyierte Gene: LDLR, APOB, PCSK9 (&lt; 18-Jährige)

Gene	LDLR	APOB	PCSK9
Molekulargenetische Analyse (n)	24	19	10
Ergebnis positiv (n)	13	1	5
Ergebnis positiv (Gültige Prozente <sup>1</sup> )	54,2 %	5,3 %	50,0 %
Ergebnis positiv (Prozent <sup>2</sup> )	35,1 %	2,7 %	13,5 %
Ergebnis negativ (n)	11	18	5
Ergebnis negativ (Gültige Prozente <sup>1</sup> )	45,8 %	94,7 %	50,0 %
Ergebnis negativ (Prozent <sup>2</sup> )	29,7 %	48,6 %	13,5 %
Nicht analysiert (n)	0	5	14

<sup>1</sup>Gültige Prozente: Anteil der positiven/negativen Ergebnisse bezogen auf molekulargenetisch getestete Individuen

<sup>2</sup>Prozent: Anteil der positiven/negativen Ergebnisse bezogen auf das Gesamtkollektiv (n=37)

### 3.2.7 Mutationsdetektion und Lipidwerte

Die LDL-C-Werte der Kinder mit FH-Variante unterschieden sich signifikant von den Kindern ohne nachgewiesene FH-Variante (210,5 mg/dl (137-653) vs. 161 mg/dl (139-229),  $p < 0,05$ ). 4 Patienten wiesen veränderte Sequenzvarianten im PCSK9-Gen auf, die als Polymorphismus klassifiziert wurden. Unter diesen befand sich der mittlere LDL-C-Wert bei 171 mg/dl ( $\pm 17,9$ ). Beim Vergleich der LDL-C-Werte in Abhängigkeit des Mutationsbefundes, wiesen Kinder mit LDLR-Mutation deutlich höhere Werte als Kinder mit PCSK9-Sequenzvariante auf ( $p < 0,05$ ). Da nur bei einem Kind eine APOB-Mutation nachgewiesen wurde, wurde nicht auf Signifikanz getestet. Die ROC-Statistik der LDL-C-Werte indiziert, dass die LDL-C-Werte gut zwischen Mutationsträgern und Nicht-Mutationsträgern diskriminieren konnten, AUC: 0,711 (Abb. 16).

Tabelle 24: LDL-C, GC, TG, und Lp(a) (ohne Therapie) bei &lt; 18-Jährigen mit und ohne FH -Variante

		N	Median	Minimum	Maximum	p
LDL-C, mg/dl	FH assoziierte Variante	14	210,5	137	653	0,033
	Keine FH assoziierte Variante	9	161	139	229	
GC, mg/dl	FH assoziierte Variante	14	270,5	187	674	0,096
	Keine FH assoziierte Variante	9	225	185	291	
TG, mg/dl	FH assoziierte Variante	12	91,5	37	245	0,651
	Keine FH assoziierte Variante	9	80	38	172	
Lp(a), nmol/l	FH assoziierte Variante	12	19,8	6,9	137	0,710
	Keine FH assoziierte Variante	9	41,5	6,9	350	

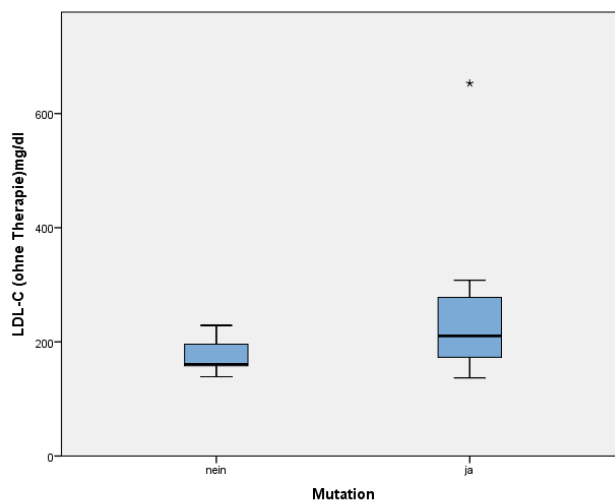


Abbildung 15: Boxplot-Verteilung der LDL-C-Werte bei Personen mit und ohne Mutation (< 18-Jährige)

Erläuterung Boxplot s. Abb. 5 und 6

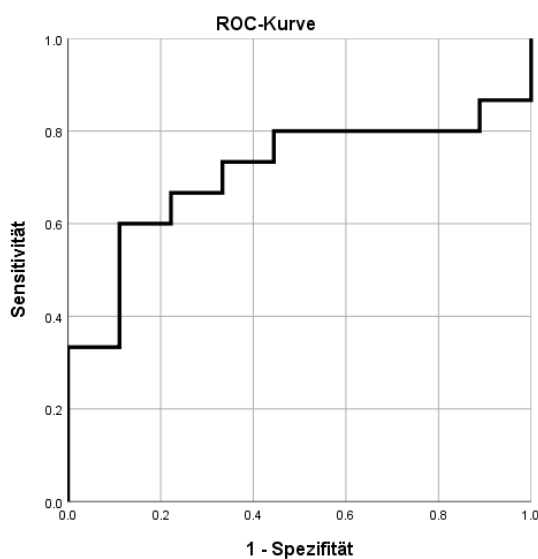


Abbildung 16: ROC-Kurve für die LDL-C Werte von Personen mit bzw. ohne Mutation (< 18-Jährige)

$AUC = 0,711$

Ein Vergleich der GC-, TG- und Lp(a)-Spiegel zwischen den Kindern mit und ohne FH assoziierter Variante zeigte keine signifikanten Unterschiede (Tab. 24). Kinder mit nachgewiesener LDLR-Mutation wiesen höhere GC-Spiegel im Vergleich zu Kindern mit nachgewiesener PCSK9-Sequenzvariante auf ( $p = n.s$ ) (Tab. 25).

Tabelle 25: LDL-C, GC, TG und Lp(a) in Abhängigkeit des Mutationsbefundes (&lt; 18-Jährige)

		N	Median	Minimum	Maximum	p
LDL-C, mg/dl (o.T)	LDLR	13	210,0	137,0	653,0	0,046
	PCSK9	5	158,0	139,0	196,0	
GC, mg/dl (o.T)	LDLR	13	263,0	187,0	674,0	0,208
	PCSK9	5	225,0	204,0	281,0	
TG, mg/dl (o.T)	LDLR	10	86,0	37,0	245,0	0,913
	PCSK9	5	93,0	51,0	172,0	
Lp(a), nmol/l	LDLR	11	16,3	6,9	137,0	0,859
	PCSK9	5	41,5	6,9	226,8	

Testung auf signifikante Unterschiede erfolgte mittels dem M-W-U Test; o.T = ohne Therapie

### 3.2.8 Lipidsenkende Medikation

13 Kinder nahmen zum Zeitpunkt der Datenerhebung bereits eine lipidsenkende Medikation ein. Bei 10 waren Lipidwerte vor und nach Therapiebeginn verfügbar. Die mittlere LDL-C-Reduktion betrug 37,8 % ( $\pm 12,0$ ), das GC konnte im Mittel um 32,5 % ( $\pm 11,4$ ) reduziert werden. Unter den Kindern mit FH assoziierter Variante, nahmen 53,3 % (n=7) eine lipidsenkende Medikation ein, davon waren bei 7 Kindern Werte vor und nach Therapiebeginn verfügbar. Die LDL-C-Reduktion betrug im Mittel 33,8 % ( $\pm 12,2$ ) die GC-Reduktion 30,2 % ( $\pm 12,9$ ).

Tabelle 26: Einnahme einer lipidsenkenden Medikation im Kollektiv und bei nachgewiesener FH-Variante (&lt; 18-Jährige)

	Gesamtkollektiv (n=37)		FH-Sequenzvariante (n=14)	
	N	Prozent (%)	N	Prozent (%)
Lipidsenkende Medikation	13	35,1	7	53,3
Keine lipidsenkende Medikation	24	64,9	7	46,7

Tabelle 27: LDL-C- und GC-Senkung im Kollektiv (&lt; 18-Jährige)

	LDL-C-Differenz	GC-Differenz
N	10	10
Mittelwert	-37,84	-32,58
Std.-Abweichung	12,02	11,44
Median	-41,87	-33,04

Tabelle 28: LDL-C und GC-Senkung bei &lt; 18-Jährigen mit nachgewiesener FH-Variante

	LDL-C-Differenz	GC-Differenz
N	7	7
Mittelwert	-33,82	-30,24
Std.-Abweichung	12,25	12,94
Median	-35,26	-29,90

### 3.3 Mutationsspektrum im Gesamtkollektiv

Betrachtet man die zwei Gruppen < 18-jährige und  $\geq$  18-jährige zusammen, so stellten sich im Zeitraum Juli 2017 – September 2019 352 Patienten mit einem LDL-C > 190 mg/dl bzw. > 95. Perzentile vor. Bei 36,6 % (n=129) wurde eine Molekulargenetik veranlasst. 52,7 % (n=68) der untersuchten Patienten wiesen veränderte Sequenzvarianten im LDLR-, APOB- und PCSK9-Gen auf. Alle detektierten Sequenzvarianten sind in Tab. 36 im Anhang gelistet. Bei 34,9 % (n=45) fanden sich Sequenzvarianten, die in der Literatur oder durch Vorhersagetools als FH verursachend beschrieben wurden oder deren Signifikanz noch unklar ist. 6 dieser Varianten wurden gemäß der ACMG Klassifikation als Klasse 1 und 2 Varianten eingestuft. Sie wurden in dieser Arbeit zu den FH-Varianten gezählt, da alle Träger ein LDL-C > 190 mg/dl aufwiesen und abhängig von der Variante, Vorhersageprogramme und ClinVar Beiträge, die Varianten als möglich pathogen einstufen (s. Tab. 36 im Anhang). Es wurden 29 unterschiedliche Varianten im LDLR bei 36 Patienten identifiziert. Zwei Personen waren compound heterozygot. Die zwei Mutationen c.10580G>A (n=3) und c.10579C>T (n=1) im APOB-Gen lagen bei 4 Patienten vor.

Bei 19,4 % wurden Sequenzvarianten im PCSK9-Gen detektiert, die durch internetbasierte Vorhersageprogramme als benigne und nicht FH verursachend eingestuft werden. Dabei handelte es sich um die drei Varianten c.2009A>G (p.Glu670Gly), c.63\_65dupGCT und c.158C>T. Das G-Allel der Variante c.2009A>G ist mit 3-4 % in der europäischen Bevölkerung häufig beobachtet. Im untersuchten Kollektiv konnte es bei 8,5 % (n=11) der Patienten nachgewiesen werden. In einigen Studien wird ein Zusammenhang mit einer Modifikation des LDL-C beschrieben (137-139). Eine Studie zeigte einen Einfluss der Variante im Sinne eines erhöhten LDL-C, so dass die Variante als GOF-Variante beschrieben wurde (140), eine andere Studie sieht hier keinen Zusammenhang (141). Bei den  $\geq$  18-jährigen Patienten, die Träger des G-Allels waren, lag der mittlere LDL-C-Spiegel

ohne Therapie bei 268,7 mg/dl ( $\pm$  73,7) und zeigte sich somit deutlich erhöht. Bei den Kindern lag das LDL-C im Mittel bei 162,7 mg/dl ( $\pm$  6,6).

Die Variante c.63\_65dupGCT (p.Leu23dup), führt zu einer in-frame Insertion einer Aminosäure (Leucin) und somit nicht zu einer Leserastverschiebung. Studien beschreiben einen Einfluss im Sinne eines erniedrigten LDL-C und geringeren kardiovaskulären Risikos (142-144). Die Sequenzvarianten c.63\_65dupGCT und c.158C>T befinden sich im Exon 1, sind häufig auf dem gleichen Allel lokalisiert und werden öfters gekoppelt vererbt. Sie kommen mit einer Häufigkeit von 11 % - 15 % vor (142, 143). Im untersuchten Kollektiv wurden 10,1 % (n=13) positiv auf die Variante c63\_65dupGCT getestet, 7,7 % (n=10) wiesen zusätzlich die Variante c.158C>T auf, 1,5 % (n=2) eine dritte Variante, c.1487G>A. Das LDL-C zeigte sich mit einem Mittelwert von 249,7 mg/dl ( $\pm$  71,6) unter den Variantenträgern deutlich erhöht. Die Variante c.63\_65dupGCT wurde bei einem Kind nachgewiesen, das LDL-C lag bei 196 mg/dl.

Die bei zwei Personen gefundene Sequenzvariante c.1487G>A, p.Arg496Gln, wurde in der Literatur bereits beschrieben, die klinische Signifikanz ist allerdings noch unklar (145). Sie wurde bei zwei nicht verwandten Personen im Exon 9 des PCSK9 Gens detektiert, wo sie gemeinsam mit den Varianten c63\_65dupGCT und c.158C>T vorlag. Das gemessene LDL-C lag bei beiden Personen bei 244 mg/dl und war somit deutlich erhöht. Das Vorhersageprogramm MutTaster stuft die Variante als Polymorphismus ein. In der LOVD-Datenbank ist sie als Variante unklarer Signifikanz vermerkt, auf ClinVar finden sich widersprüchliche Interpretationen zur Pathogenität. Aufgrund der widersprüchlichen Datenlage ist die Variante in Tab. 29 zusammen mit den neuen Sequenzvarianten gelistet und die klinischen Charakteristika der Anlageträger beschrieben.

Die Intron-Variante c.1681+17G>A im PCSK9-Gen lag bei einer Person in Kombination mit der Intron-Variante c.1706-10G>A im LDLR-Gen vor. Während die PCSK9- und LDLR-Varianten in ClinVar als gutartig eingestuft werden (146, 147), beschrieben andere Publikationen die LDLR-Intron-Variante als FH verursachend (148, 149), zu der PCSK9-Variante finden sich keine Publikationen. Das LDL-C lag bei der betroffenen Person bei 222 mg/dl. Die Variante c.720C>T ist eine synonyme Variante, die keinen Aminosäuren-Austausch zur Folge hat. Sie wurde bei einem Kind nachgewiesen, das LDL-C war mit 139

mg/dl nur leicht erhöht. In ClinVar wird die Variante als gutartig und Variante unklarer Signifikanz eingestuft (150).

### 3.3.1 Sequenzvarianten des LDLR-Gens

Abb. 17 zeigt die Verteilung der LDLR-Sequenzvarianten im untersuchten Kollektiv. Das Vorliegen einer Missense-Mutation, die zu einem Basenaustausch und somit veränderter Proteinsequenz und Funktionalität führt, war mit 47,2 % am häufigsten vertreten. Mit 16,7 % und somit am zweithäufigsten wurden Deletionen, die zu einer Leserasterverschiebung und damit ebenfalls veränderter Funktionalität führen, detektiert. LDLR-Mutationen waren am häufigsten im Exon 4 lokalisiert (Abb. 18).

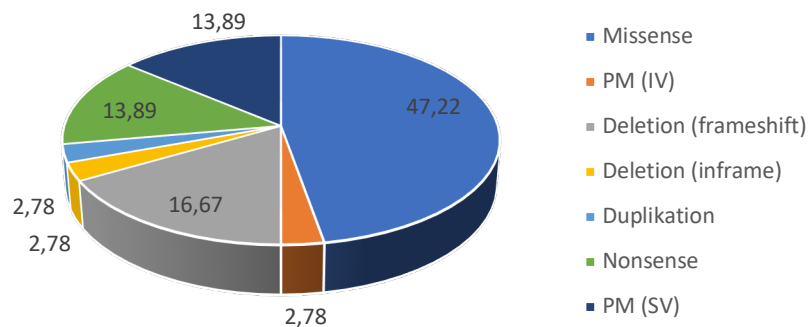


Abbildung 17: Verteilung der Sequenzvarianten des LDLR-Gens im Gesamtkollektiv (%)

IV = Intron Variante, SV = Synonyme Variante

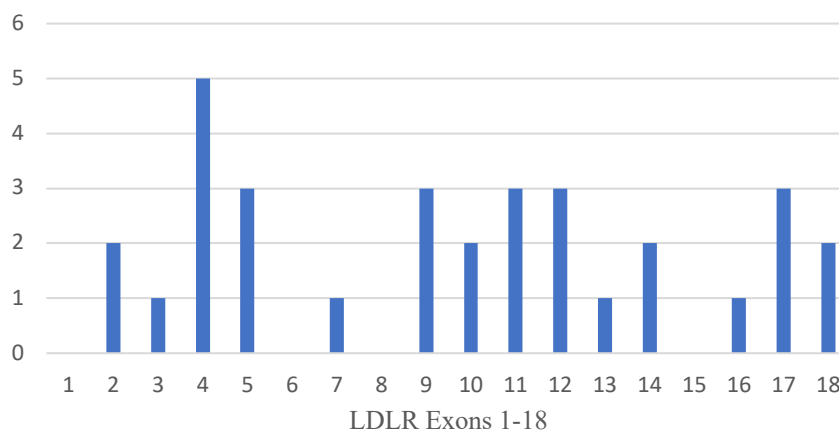


Abbildung 18: Verteilung der Lokalisation der detektierten LDLR-Mutationen

### 3.3.2 Neue Sequenzvarianten

Im Rahmen der molekulargenetischen Analyse wurden vier neue, bisher in der Literatur nicht beschriebene, Varianten detektiert. Alle vier waren im LDLR-Gen lokalisiert.

Die Variante c.1692delT, p.Asn564Lysfs\*5 im LDLR-Gen kam bei zwei Patienten mit bestehendem Verwandtschaftsverhältnis in jeweils heterozygoter Konstellation vor. Durch eine Deletion einer Base im Exon 11 kommt es zu einer Leserastverschiebung und einem vorzeitigen Stopp-Codon wodurch ein stark verkürztes, nicht funktionsfähiges Protein entsteht. MutTaster stuft die Variante als krankheitsverursachend ein.

Die ebenfalls im LDLR-Gen detektierte Mutation c.1125C>G, p.Y375\* wurde bei zwei Patienten mit einem Verwandtschaftsverhältnis ersten Grades in heterozygoter Konstellation nachgewiesen. Durch den Basenaustausch kommt es zu einem vorzeitigen Stopp-Codon mit resultierendem Stopp der Proteinsynthese. MutTaster stuft die Variante ebenfalls als pathogen ein.

Die Variante c.2328T>C, p.Ala776= im LDLR-Gen wurde bei einer Person nachgewiesen. Es handelt sich hierbei um eine synonyme Variante im Exon 16, die keinen Austausch der Aminosäure Alanin an der entsprechenden Position zur Folge hat. Während die Variante von MutTaster als Polymorphismus eingestuft wird, zeigt das Programm Human Splice Finder einen möglichen Einfluss auf die Spleiß-Funktion und damit die Proteinfunktionalität. Eine klinische Relevanz ist aufgrund des synonymen Basenaustausch eher unwahrscheinlich, kann aber nicht vollständig ausgeschlossen werden. In ClinVar findet sich kein Eintrag, in der LOVD-Datenbank wurde die Variante kürzlich hinzugefügt und vom Einsender als wahrscheinlich gutartig beschrieben jedoch ohne genauere Angaben.

Die Variante c.(2311+1\_2312-1)\_(c.2583+1\_?)del wurde bei zwei Personen mit Verwandtschaftsverhältnis detektiert. Die Deletion von Exon 16, 17 und 18 wurde bei FH-Patienten mehrfach beschrieben und wird als pathogen klassifiziert. In der LOVD-Datenbank findet sich keine Variante mit den exakt gleichen Bruchstellen allerdings sind Deletionen der Exons 16, 17 und 18 dort vielfach beschrieben und werden als gesichert pathogen gewertet. Die Variante ist deshalb nur zur Vollständigkeit hier erwähnt und nicht in Tab. 29 gelistet.

Tabelle 29: Neue Varianten

	<b>LDLR</b>	<b>LDLR</b>	<b>LDLR</b>	<b>PCSK9<sup>1</sup></b>
<b>Transkriptvariante</b>	c.1692delT	c.1125C>G	c.2328T>C	c.1487G>A
<b>Proteinvariante</b>	p.Asn564Lysfs*5	p.Y375*	p.Ala776=	p.Arg496Gln
<b>Exon</b>	11	x	16	9
<b>Art der Sequenzvariante</b>	Deletion (frameshift)	PM (nonsense)	PM (SV)	PM (missense) Probably damaging/ Disease causing
<b>PolyPhen2/MutTaster</b>	x/Disease causing	x/Disease causing	x/Polymorphism	
<b>Träger</b>	2	2	1	2
<b>Xanthome/Arcus cornea/ Xanthelasma</b>	n/n/n	n/n/n	n/n/j	x/x/x
<b>CVE</b>	n n	j n	n	n n
<b>CVE Familie</b>	j j	j j	j	n j
<b>LDL-C, mg/dl</b>	349 240	x 245	194	244 244
<b>DLCN - Score</b>	13 x	x 12	12	11 11
<b>DLCN - Score (ohne Genetik)</b>	5 x	x 4	4	3 3

<sup>1</sup>Bereits beschrieben jedoch unklare Signifikanz (Abschnitt 3.3); j = ja; n= nein; x= Information nicht verfügbar; SV = synonyme Variante; CVE = kardiovaskuläre Erkrankungen

## 4 Diskussion

Die FH ist eine erblich bedingte Fettstoffwechselstörung, die mit einer ausgeprägten Erhöhung der LDL-C-Werte einhergeht. Bei LDL-C-Werten  $> 190$  mg/dl bzw. im Fall von Kindern bei LDL-C-Werten über der 95. Perzentile, sollte an die Möglichkeit einer FH gedacht werden. Sekundäre Fettstoffwechselstörungen sollten vor Diagnosestellung ausgeschlossen werden. Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurden die Daten von 352 Patienten (315  $\geq$  18-Jährige und 37  $<$  18-Jährige) mit schwerer Hypercholesterinämie, definiert als LDL-C-Werte  $> 190$  mg/dl bei  $\geq$  18-Jährigen und LDL-C über der 95. Perzentile bei  $<$  18-Jährigen, in die Auswertung miteinbezogen. Dabei handelte es sich um eine retrospektive und anonymisierte Datenerfassung von Personen, die von Juli 2017 – September 2019 im Endokrinologikum Hamburg vorstellig wurden. Sekundäre Hypercholesterinämien bedingt durch eine Hypothyreose (TSH  $> 4,2$   $\mu$ IU/ml), entgleisten DM (HbA1c  $> 8$  %), Lebererkrankungen (ALAT/GPT oder ASAT/GOT  $> 50$  U/l bei Männern, ALAT/GPT oder ASAT/GOT  $> 35$  U/l bei Frauen) oder eine Niereninsuffizienz (GFR  $< 30$  ml/min) wurden ausgeschlossen.

Ziel der Arbeit war es, die Effizienz eines genetischen Screenings zu evaluieren und das Mutationsspektrum im untersuchten Kollektiv zu erfassen. Dabei wurde untersucht bei wie vielen Patienten eine molekulargenetische Untersuchung aufgrund der LDL-C-Werte initiiert wurde und wie viele der Getesteten ein positives Ergebnis aufwiesen. Da  $\geq$  18-Jährige und  $<$  18-Jährige hinsichtlich Referenzwertbereichen und der Möglichkeit der Berechnung klinischer Scores nicht homogen sind, wurde das Kollektiv in zwei Gruppen eingeteilt. Die Mutationshäufigkeiten der beiden Gruppen wurden separat beschrieben. Bei der Beschreibung der detektierten Mutationen wurde auf das Gesamtkollektiv (n=352) Bezug genommen (s. Tab. 36).

### 4.1 Datenerfassung

Die Daten der Patienten (n=352) wurden retrospektiv und anonymisiert unter Berücksichtigung der in 2.2 und 2.3 gelisteten Ein- und Ausschlusskriterien erfasst. Eine methodische Limitierung ist durch den retrospektiven Ansatz gegeben. Eine detaillierte Familienanamnese und ein umfassendes Laborprofil konnten somit an manchen Stellen nicht erhoben werden. Die Einnahme einer lipidsenkenden Medikation wurde zum

Zeitpunkt der Vorstellung erfasst. Eine gegebenenfalls bestehende Medikation vor oder nach der Vorstellung wurde dementsprechend nicht berücksichtigt. Unter den 105 molekulargenetisch getesteten Patienten, waren bei 5 Personen keine genaueren Angaben zu den untersuchten Genen verfügbar und lediglich die genetisch bestätigte Diagnose vermerkt.

## 4.2 Mutationen

Unter den  $\geq 18$ -Jährigen ( $n=315$ ) wurden 105 Personen (33,3 %) molekulargenetisch getestet. 49 Personen (46,7 %) wiesen veränderte Sequenzvarianten im LDLR-, APOB- oder PCSK9-Gen auf. Neben gesicherten FH definierenden Mutationen handelte es sich hierbei auch um Varianten unklarer Signifikanz und Varianten, die zwar mit einer Modifikation des LDL-C-Spiegels in Verbindung gebracht werden, jedoch nicht als ursächlich für eine FH klassifiziert werden. Betrachtet man lediglich die detektierten FH-Varianten, betrifft dies im Kollektiv der  $\geq 18$ -jährigen 31 Personen (29,5 %). Zu den FH-Varianten wurden auch Klasse 1 und 2 Varianten gezählt ( $n=5$ ). Auch wenn diese Varianten gemäß ACMG Klassifikation als gutartig bzw. wahrscheinlich gutartig klassifiziert werden, ist eine mögliche Relevanz nicht auszuschließen, da alle Variantenträger ein LDL-C  $> 190$  mg/dl aufwiesen und mit bestehendem Verdacht auf FH genetisch untersucht wurden. Würde man lediglich ACMG Klasse 3, 4 und 5 Varianten (pathogen, wahrscheinlich pathogen und unklare Signifikanz) als FH-Varianten werten, würde die Mutationsdetektionsrate bei 25 % liegen.

Eine Mutationsdetektionsrate von ungefähr 30 % deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien (71, 148, 151-154). Allerdings handelt es sich bei diesen Studien überwiegend um Daten spezialisierter Lipidambulanzen, in denen die Vorstellung der Patienten aufgrund des bereits bestehenden Verdachts auf FH erfolgte. Da die in dieser Arbeit verwendeten Daten aus dem Endokrinologikum Hamburg stammen, ein Zentrum, welches nicht ausschließlich auf Fettstoffwechselstörungen spezialisiert ist, ist eine Detektionsrate von 30 % vergleichsweise als hoch anzusehen. Bei 70,5 % ( $n=74$ ) wurde keine FH definierende Mutation nachgewiesen. Jedoch konnten bei 21 dieser Personen (entspricht 28,4 % der negativ Getesteten) veränderte Sequenzvarianten detektiert werden, die in Bezug auf die FH zwar als nicht krankheitsverursachend eingestuft werden, denen jedoch ein LDL-C modifizierender Einfluss zugeschrieben wird. Talmud et al. beschrieben ebenfalls, dass bei Patienten mit vermuteter FH das molekulargenetische Ergebnis in ungefähr 60 % der Fälle

negativ ausfällt (49). Neben der Vermutung, dass diese Fälle durch bisher noch nicht identifizierte FH verursachende Gene bedingt sind, geht man davon aus, dass es sich im Fall eines negativen Testergebnis hauptsächlich um eine polygen bedingte Hypercholesterinämie handelt (49, 155, 156).

Innerhalb der Gruppe, der < 18-Jährigen (n=37) wurden 24 (64,9 %) genetisch untersucht. Bei 58,3 % (n=14) konnte eine FH verursachende Mutation nachgewiesen werden. 16,6 % (n=4) wiesen LDL-C modifizierende Sequenzvarianten auf, die als nicht kausal für eine FH angesehen werden. Die Mutationsdetektionsrate unter den < 18-Jährigen, die genetisch untersucht wurden, war signifikant höher im Vergleich zu den  $\geq$  18-Jährigen ( $p < 0,01$ ). Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass eine schwerwiegende Hypercholesterinämie bei Kindern eher monogen bedingt ist, im Vergleich zu Erwachsenen, bei denen umweltbedingte Einflüsse und polygene Ursachen eine größere Rolle spielen können (157). Die abweichenden Detektionsraten spiegeln die Tatsache wider, dass im Kindesalter aufgrund geringerer hormoneller und diätetischer Einflüsse, der optimale Zeitpunkt ist um das Vorliegen einer FH basierend auf den LDL-C-Werten festzustellen (73). Nur 37,5 % (n=9) der genetisch untersuchten Kinder zeigten ein negatives Ergebnis. Vier Kinder davon (44,4 %) waren Träger veränderter, LDL-C modifizierender, Sequenzvarianten.

### 4.2.1 LDLR

Der überwiegende Anteil von FH-Mutationen wurde wie erwartet und in anderen Studien bereits beschrieben im LDLR-Gen detektiert (148, 158, 159). Bei 22  $\geq$  18-Jährigen (22 %) und 13 < 18-Jährigen (54,2 %) zeigte die genetische Untersuchung des LDLR-Gens ein positives Ergebnis. Insgesamt konnten bei 30 Personen 34 unterschiedliche Sequenzvarianten nachgewiesen werden. Verwandtschaftsverhältnisse bestanden bei 10 Personen und sind in der Mutationsübersicht in Tab. 36 im Anhang entsprechend gekennzeichnet. Nahezu die Hälfte der identifizierten Sequenzvarianten (47,2 %) waren Missense-Mutationen, die zu einem Basenaustausch führen. Dies ist vergleichbar zu den Ergebnissen anderer Studien, die zur FH in Deutschland durchgeführt wurden (158, 160-162). Die LDLR-Mutationen waren am häufigsten im Exon 4 lokalisiert. Alle dort detektierten Varianten wurden als gesichert pathogen eingestuft. Das Exon 4 des LDLR ist in der Literatur als Mutations-Hotspot beschrieben (14, 158, 163).

Alle neuen, bisher in der Literatur nicht beschriebenen Varianten, wurden im LDLR-Gen detektiert. Dabei handelte es sich um zwei Deletionen, eine Nonsense-Mutation und eine synonyme Variante. Die Deletion c.1692delT kam bei zwei verwandten Personen vor.

Aufgrund der Leserasterverschiebung, die zu einem frühzeitigen Stopp der Proteinsynthese und somit zu einem stark veränderten Protein führt, wird diese Mutation als pathogen eingestuft. Die LDL-C-Werte beider Träger waren mit 349 mg/dl und 240 mg/dl vor Therapiebeginn deutlich erhöht. Die Nonsense-Mutation c.1125C>G, die über einen Nukleotidaustausch zu einem vorzeitigen Stopp-Codon und Abbruch der Proteinsynthese führt, ist ebenfalls als pathogen zu bewerten. Sie kam bei zwei Personen mit bestehendem Verwandtschaftsverhältnis vor. Der LDL-C-Spiegel vor Therapiebeginn war nur bei einer Person verfügbar und lag bei 245 mg/dl. Beim zweiten Träger der Mutation kam es bereits frühzeitig zu kardiovaskulären Ereignissen. Die bei einer Person detektierte Variante c.2328T>C führt zu einem synonymen Basenaustausch, weshalb eine Pathogenität unwahrscheinlich, aber nicht ausgeschlossen ist. Das LDL-C war mit 194 mg/dl zwar deutlich niedriger im Vergleich zu anderen Mutationsträgern, jedoch kam es familiär zu kardiovaskulären Ereignissen.

### 4.2.2 APOB

Mutationen des APOB-Gens wurden bei drei  $\geq$  18-Jährigen und einer < 18-jährigen Person nachgewiesen. Dabei handelte es sich um die Mutationen c.10580G>A (n=3) und c.10579 C>T (n=1). Diese beiden Varianten zählen zu den häufigsten Veränderungen des APOB-Gens und gelten als gesichert pathogen. Die Variante c.10580G>A wurde als erste Ursache einer FDB beschrieben (31, 164). In den letzten Jahren wurden zahlreiche APOB-Varianten entdeckt. Bei den zwei genannten handelt es sich jedoch immer noch weitaus um die häufigsten (31), was sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit deckt. Standardmäßig wird nur das Exon 26 des APOB-Gens analysiert. Dadurch besteht die Möglichkeit, dass ggf. andere pathogene Varianten des APOB-Gens, die außerhalb der LDLR-Bindungsdomäne liegen, nicht erfasst wurden (165).

### 4.2.3 PCSK9

Bei 19 % wurden benigne Varianten des PCSK9-Gens nachgewiesen, die nicht als kausal für eine FH gelten, LDL-C-Spiegel jedoch interindividuell modifizieren können. Im untersuchten Kollektiv handelte es sich dabei um die Varianten c.2009A>G (p.Glu670Gly), c.63\_65dupGCT und c.158C>T. Die als Polymorphismus deklarierte Variante c.2009A>G ist in der europäischen Bevölkerung häufig. Auch wenn heute die Ansicht vertreten wird, dass es sich hierbei um einen SNP und keine FH-Mutation handelt (137, 141), wurde die Variante in einer Studie als GOF-Variante beschrieben (140). Der mittlere LDL-C-Spiegel

der  $\geq 18$ -Jährigen, bei denen die Variante nachgewiesen wurde ( $n=8$ ), lag deutlich höher als bei den  $< 18$ -Jährigen ( $n=3$ ) ( $268,7 \text{ mg/dl} \pm 73,7$  vs.  $162,7 \text{ mg/dl} \pm 6,6$ ). Auf eine Prüfung der Signifikanz wurde aufgrund der zu geringen Fallzahlen verzichtet. Dieser Unterschied ist eventuell darauf zurückzuführen, dass im Erwachsenenalter die Ernährung und hormonelle Faktoren die LDL-C-Spiegel stärker beeinflussen als im Kindesalter (73, 152). Die ausgeprägt erhöhten LDL-C-Werte könnten somit als Folge eines Zusammenwirkens von SNP's und umweltbedingten Faktoren entstanden sein. Die Varianten c.63\_65dupGCT und c.158C>T, die meist gekoppelt vererbt werden und mit 11-15 % sehr häufig sind (142, 143), kamen bei 10,1 % bzw. kombiniert bei 7,7 % im untersuchten Kollektiv vor. Diese Zahlen stimmen somit nahezu mit den in der Literatur beschriebenen Häufigkeiten überein. Auch wenn der Variante c.63\_65dupGCT weitgehend eine LDL-C senkende Wirkung zugeschrieben wird (142, 143), fand sich das LDL-C unter den  $\geq 18$ -jährigen ( $n=12$ ) Variantenträgern im Mittel bei  $249,7 \text{ mg/dl} (\pm 71,6)$  bei einer  $< 18$ -jährigen Person bei  $196 \text{ mg/dl}$  und war somit in beiden Gruppen deutlich erhöht.

Die bei zwei Personen detektierte Variante c.1487G>A (p.Arg496Gln) lag bei beiden Personen in Kombination mit der Variante c.63\_65dupGCT vor. Das LDL-C lag jeweils bei  $244 \text{ mg/dl}$ . Die Variante wurde in der Literatur bereits beschrieben, die klinische Signifikanz ist jedoch weitgehend ungeklärt. Eine funktionelle Studie zur Expression der LDLR an der Zelloberfläche zeigte keinen Einfluss der Variante auf die PCSK9-Aktivität sondern eine ähnliche LDL-Expression, wie bei Patienten mit Wildtyp-Sequenz des PCSK9-Gens (166). Eine Arbeitsgruppe aus Amerika fand eine Häufigkeit von 0,0002833 in ihrem Datenset, was ungefähr 14 Mal der Allelfrequenz pathogener PCSK9-Varianten entspricht, weshalb sie die Variante als gutartigen Polymorphismus klassifizierten (145). In der LOVD-Datenbank ist sie als Klasse 3 (Variante unklarer Signifikanz) gewertet, ClinVar Beiträge bewerten sie teilweise als pathogen. Veränderungen an gleicher Position 496, bei denen die Aminosäure Arginin jedoch gegen Tryptophan und nicht Glutamin ausgetauscht wurde, wurden bereits in der Literatur beschrieben. Eine in vitro Studie zeigte, dass der Austausch der Aminosäure Arginin gegen Tryptophan eine reduzierte Menge an LDLR an der Zelloberfläche zur Folge hat und die Variante somit als GOF-Variante einzustufen ist (167). In Publikationen ist der Austausch der Aminosäure Arginin 496 gegen Tryptophan mit FH in Zusammenhang gebracht worden (168, 169). Aufgrund dieser ambivalenten Datenlage kann eine Pathogenität und eine mögliche Rolle als GOF-Variante weder bestätigt noch ausgeschlossen werden.

### 4.3 Mutationsdetektion und Lipidwerte

Bei den  $\geq 18$ -jährigen wiesen Mutationsträger, aber auch Träger von als Polymorphismus deklarierten Sequenzvarianten, signifikant höhere LDL-C-Spiegel vor Therapiebeginn als Personen mit Wildtypsequenz auf ( $p < 0,05$ ). Die höchsten LDL-C-Werte wurden bei LDLR-Mutationsträgern detektiert. Die ROC-Statistik zeigte, dass die Höhe der LDL-C-Spiegel eine gute Diskriminationsfähigkeit in Bezug auf die Mutationsdetektion aufwies (AUC= 0,658). Übereinstimmende Ergebnisse zeigten die Studien von Futema et al. und Grenkowitz et al. (71, 158).

Während sich die GC-Spiegel von Mutationsträgern nicht signifikant von Nicht-Mutationsträgern unterschieden, waren die TG-Spiegel der Mutationsträger signifikant niedriger ( $p < 0,01$ ). In dieser Arbeit wurde gemäß den Simon-Broome-Kriterien ein TG-Grenzwert von  $> 395$  mg/dl als Ausschlusskriterium festgelegt, um kombinierte HLP's auszuschließen. Die Ergebnisse dieser und auch anderer Arbeiten zeigen, dass trotz des TG-Cut-off, insbesondere Patienten mit erhöhten TG ein negatives molekulargenetisches Ergebnis aufweisen (71, 130). Die weitgehend in Europa und auch in Deutschland verwendeten DLCN-Kriterien beinhalten keinen TG-Grenzwert als Ausschlusskriterium, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass die klinische Diagnose FH anhand dieser Kriterien oft fälschlicherweise durch Einschluss gemischter HLP's gestellt wird. Eine Berücksichtigung erhöhter TG-Spiegel erscheint bei der Identifikation von FH-Patienten sinnvoll. Auch wenn die TG-Spiegel der Mutationsträger signifikant niedriger als die der Wildtyp-Patienten waren, war es angemessen nicht generell alle Patienten mit erhöhten TG auszuschließen, da von vier getesteten Patienten mit  $TG > 170$  mg/dl, drei eine Mutation aufwiesen. Diese Erkenntnis ist vereinbar mit den Ergebnissen von Civiera et al. die beschrieben, dass 19,6 % der Patienten die aufgrund der erhöhten TG als kombinierte HLP's klassifiziert wurden, Träger einer FH definierenden Mutation waren (170).

Die Lp(a)-Werte der Personen mit und ohne Mutationsnachweis unterschieden sich nicht signifikant. Dies steht im Gegensatz zu der Annahme, dass FH Patienten mit erhöhten Lp(a)-Spiegeln und folglich erhöhten LDL-C-Spiegeln oft fehlerhaft als FH-Patienten klassifiziert werden (3, 59). In der Gruppe der  $< 18$ -Jährigen waren die LDL-C-Werte der Mutationsträger ebenfalls signifikant höher als die der Nicht-Mutationsträger ( $p < 0,05$ ). Nicht signifikant war der Unterschied der GC-, TG- und Lp(a)-Spiegel. Übereinstimmend zu den  $\geq 18$ -Jährigen zeigten auch  $< 18$ -Jährige mit LDLR-Mutation die höchsten LDL-C-Spiegel. Die ROC-Statistik indizierte ebenfalls eine gute Diskriminationsfähigkeit

des LDL-C hinsichtlich der Mutationsdetektion, die Sensitivität und Spezifität lag höher als bei den  $\geq 18$ -Jährigen (AUC= 0,711). Dies unterstreicht die Bedeutung der LDL-C-Werte in der Kindheit als Prädiktor für eine Mutation, da vor allem in dieser Lebensphase andere LDL-C modifizierende Faktoren einen geringeren Einfluss ausüben (73).

### 4.4 Lipidsenkende Medikation

Unter den  $\geq 18$ -Jährigen nahmen lediglich 40 % eine lipidsenkende Medikation ein. Dies erscheint sehr wenig, allerdings muss beachtet werden, dass die Medikation zum Zeitpunkt der Vorstellung erfasst wurde und eine ggf. frühere oder spätere Einnahme lipidsenkender Medikamente somit nicht ausgeschlossen werden kann. Aktuelle Leitlinien zufolge zählen FH-Patienten ohne weitere kardiovaskuläre Risikofaktoren zur Hochrisikogruppe und sollten eine LDL-C-Reduktion von 50 % vom Ausgangswert und ein LDL-C  $< 70$  mg/dl erreichen. Personen mit ausgeprägter Hypercholesterinämie (LDL-C  $> 190$ mg/dl) und somit alle  $\geq 18$ -jährigen Patienten in dieser Arbeit, zählen ebenso zur Hochrisikogruppe und sollten die oben genannten LDL-C-Zielwerte erreichen. Auch wenn die LDL-C-Reduktion sowohl im Gesamtkollektiv als auch bei den FH-Patienten nahezu 50 % vom Ausgangswert betrug, konnten lediglich 22,5 % aller und 11,8 % der gesicherten FH-Patienten ein LDL-C  $< 100$  mg/dl erreichen. 5,1 % (n=4) aller und 5,9 % (n=1) gesicherter FH-Patienten erreichten ein LDL-C  $< 70$ mg/dl. Die neuen Leitlinien, die im August 2019 veröffentlicht wurden, verfolgen einen sehr aggressiven Ansatz und empfehlen das LDL-C rigoros zu senken (60).

Die Daten dieser Arbeit zeigen, dass lediglich ein verschwindend geringer Anteil ein LDL-C  $< 70$  mg/dl erreichte. Für FH-Patienten mit zusätzlichen kardiovaskulären Risikofaktoren soll ein LDL-C  $< 55$  mg/dl angestrebt werden. In dieser Arbeit erreichte keine Person mit nachgewiesener FH-Mutation diesen empfohlenen Wert. Der kardiovaskuläre Benefit dieser neu festgelegten Grenzwerte und die wissenschaftliche Unanfechtbarkeit soll damit in keinem Fall in Frage gestellt, sondern lediglich deren Realisierbarkeit überdacht werden. Weitere Studien werden benötigt, um zu evaluieren ob die neu festgesetzten Zielwerte in der klinischen Praxis mittels hochdosierter Statintherapie in Kombination mit Ezetimib erreicht werden können, oder ob diese Ziele lediglich durch Hinzunahme eines PCSK9-Inhibitors realisierbar sind.

## 4.5 DLCN-Score

Der DLCN-Score, basierend auf den DLCN-Kriterien, gibt abhängig von der erreichten Punktzahl, die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer FH als „unwahrscheinlich“, „möglich“, „wahrscheinlich“ oder „definitiv“ an. Die DLCN-Kriterien können nur für Personen  $\geq 18$  Jahren angewendet werden, weshalb eine Berechnung nur für die Gruppe  $\geq 18$  Jahre vorgenommen wurde. In dieser Arbeit festgesetzte Mindestanforderung für die DLCN-Score-Berechnung, war das Vorhandensein eines LDL-C-Wertes vor Therapiebeginn. Bei 99 % (n=312) war dieser verfügbar. Bei 17 Personen wurde das LDL-C vor Therapiebeginn unter Verwendung der unter 2.2 beschriebenen Konversionsfaktoren berechnet (130, 131). Bei zwei Personen, bei denen lediglich therapierte Werte verfügbar waren, konnte eine Berechnung aufgrund der Injektion eines PCSK9-Inhibitors nicht durchgeführt werden, da hierfür noch keine allgemeingültigen Konversionsfaktoren bestehen. Da die Berechnung nur eine Annäherung und nicht den tatsächlichen Wert wiedergeben kann, besteht die Möglichkeit, dass das LDL-C vor Therapiebeginn bei diesen Personen eventuell zu niedrig eingeschätzt wurde.

Bei 49,8 % der Patienten konnte nur auf eigenanamnestische Daten zurückgegriffen werden. Bei 50,2 % fand sich eine dokumentierte Familienanamnese, jedoch war eine exakte Familienanamnese (Altersangaben zu kardiovaskulären Ereignissen von Verwandten ersten Grades oder verfügbare LDL-C-Werte bzw. ein dokumentiertes LDL-C > der 95. Perzentile bei diesen) nur in 21,6 % der Fälle verfügbar.

Anhand des DLCN-Score wurden 84,9 % (n=265) als „möglicherweise FH“, 4,2 % (n=13) als „wahrscheinlich FH“ und 10,9 % (n=34) als „definitiv FH“ klassifiziert. Kein Patient wurde als „unwahrscheinlich“ für das Vorliegen einer FH klassifiziert. Allerdings wurde bei 88,2 % der als definitiv klassifizierten Personen ein Punktwert  $> 8$  (und somit die Diagnose definitiv FH) erreicht, da ein positives molekulargenetisches Ergebnis vorlag und in die Berechnung miteinbezogen wurde. Da im klinischen Alltag eine Diagnose in der Regel anhand der klinischen Präsentation und nicht anhand des genetischen Ergebnisses festgemacht wird, wurde für diese Personen eine zusätzliche Berechnung ohne Einbezug der Mutation vorgenommen. Nur 7 % hätten die Diagnose „definitiv FH“ behalten, 23 % wären als wahrscheinlich und 70 % als möglich klassifiziert worden obwohl am Ende ein positives genetisches Ergebnis vorlag (s. Abb. 10).

Die Kriterien, um eine FH klinisch zu diagnostizieren, existieren seit Jahren in unveränderter Weise. Die fehlende Anwendbarkeit der Kriterien im klinischen Alltag spiegelt sich nicht nur in den Daten dieser Arbeit, sondern auch in den geringen Detektionsraten, die bei der FH aktuell bei 10 % liegen, wider (171). Dass die Kriterien bei Verfügbarkeit einer detaillierten Familienanamnese eine gute FH-Detektionsrate haben, wurde in dieser und in zahlreichen anderen Arbeiten gezeigt und soll nicht in Frage gestellt werden. Dass jedoch das Erheben einer exakten Familienanamnese nicht immer realisierbar ist, zeigt sich auch in den Ergebnissen dieser Arbeit. Nur selten wurden Angaben zum Alter bei Erkrankungsmanifestation oder zu LDL-C-Werten von Verwandten gemacht (21,6 %). Auch Daten anderer Arbeiten zeigten, dass die Erhebung einer umfassenden Familienanamnese (vor allem das Alter bei Erkrankungsmanifestation) und Initiierung einer genetischen Untersuchung oder deren Dokumentation, in der ärztlichen Primärversorgung nicht routinemäßig durchgeführt wird (172). Außerdem werden insbesondere körperliche Symptome wie Xanthome, Xanthelasmen, ein Arcus cornea aber auch das Vorhandensein einer pAVK oft nicht diagnostiziert oder erfasst, welche bei Verwendung der DLCN-Kriterien eine zentrale Rolle bei der Diagnosestellung einnehmen (173-175). Daraus kann geschlossen werden, dass die Anwendbarkeit der Kriterien in nicht spezialisierten Lipidzentren, insbesondere der hausärztlichen Primärversorgung, hinterfragt werden sollte, um mehr FH-Patienten zu diagnostizieren. Unterschiedliche alternative Modelle, um eine FH-Diagnose klinisch zu stellen, wurden entwickelt (78, 176). Bisher hat sich in Deutschland keines gegenüber den DLCN-Kriterien durchgesetzt.

### **4.5.1 DLCN-Score und Mutationsdetektion**

Um die Aussagekraft des DLCN-Score hinsichtlich einer Mutation zu evaluieren wurde die Mutationsdetektionsrate in den Gruppen „möglicherweise“, „wahrscheinlich“ und „definitiv“ FH analysiert (die Punktwerte wurden ohne Einbezug des Mutationsbefundes berechnet). Bei 66,7 % der als definitiv, 53,8 % der als wahrscheinlich und 24,1 % der als möglicherweise klassifizierten Personen, konnte eine Mutation gefunden werden (Abb. 12). In der Gruppe „definitiv“ FH, wurde bei 66,7 % eine Mutation nachgewiesen, 33,3 % trugen keine Mutation. Dies zeigt, dass ein Zusammenhang zwischen dem FH-Phänotyp und dem FH-Genotyp nicht immer gegeben sein muss. In der Literatur variieren die Mutationsdetektionsraten bei definitiver FH ebenfalls zwischen 60-80 % (154, 158, 177, 178). Dies mag unterschiedliche Ursachen haben. Während heutzutage Fehler im

molekulargenetischen Screening eher als unwahrscheinlich angesehen werden, geht man weitgehend davon aus, dass die Hypercholesterinämie bei einem Teil dieser Patienten polygenen Ursprungs ist (49). Die Möglichkeit, dass bisher noch nicht identifizierte FH-Gene verantwortlich sein könnten, wird ebenfalls diskutiert (3, 23). Trotz der Tatsache, dass ungefähr ein Drittel der Personen mit definitivem FH-Phänotyp keine Mutation trugen, stellt die Diagnose „definitiv FH“ immer noch den besten phänotypischen Prädiktor für eine FH-Mutation dar (179). Diese Diskriminationsfähigkeit beruht jedoch im Wesentlichen auf einer sehr umfassenden Anamnese mit vollständigen Informationen zu den in Tab. 3 genannten Punkten.

Interessant ist, dass knapp 25 % der Patienten mit nur „möglicher FH“ eine Mutation trugen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Damgaard et al. und unterstützt den dort vertretenen Standpunkt, dass auch bei Patienten mit klinisch nicht eindeutiger Präsentation oder nicht vollständiger Information, bei entsprechendem Verdacht ein genetischer Test initiiert werden sollte, um FH-Patienten zu identifizieren (154). Eine Identifikation ist vor allem wichtig, um eine frühzeitige Therapie zu initiieren und kardiovaskulären Ereignissen vorzubeugen, da bei fehlender Therapie von FH-Patienten, 50 % der Männer vor dem 50. Lebensjahr und 30 % der Frauen vor dem 60. Lebensjahr, einen Myokardinfarkt erleiden (123).

### **4.5.2 DLCN-Score und Lp(a)**

Lp(a) gilt bei der Diagnosestellung FH als Störfaktor. Bei der Messung des LDL-C mittels konventioneller Labormethoden wird auch das in den Lp(a)-Partikeln enthaltene LDL-C mitgemessen, weshalb hohe Lp(a)-Spiegel zu hohen LDL-C-Spiegeln und konsekutiv bei manchen Personen zu der fälschlichen Annahme einer FH führen können. Man geht davon aus, dass 25 % der klinisch definierten FH-Fälle auf erhöhten Lp(a)-Spiegeln beruhen (59). Im untersuchten Kollektiv konnte dies nicht repliziert werden, die Lp(a)-Spiegel unterschieden sich in den Gruppen „definitiv FH“, „wahrscheinlich FH“ und „möglicherweise FH“ nicht signifikant.

## 4.6 Ausblick & Fazit

Die FH zählt zu den häufigsten genetischen Erkrankungen weltweit. Man geht davon aus, dass neun von zehn FH-Patienten nicht diagnostiziert sind (171). Dies zeigt, dass die Erkrankung bisher massiv unterschätzt wurde. Die WHO hat Kriterien für Krankheiten festgelegt, bei denen ein Screening berechtigt ist. Die FH erfüllt alle diese Kriterien (180). Um den geringen Detektionsraten, die aktuell auf 10 % geschätzt werden, entgegenzuwirken sollte das primäre Ziel darin liegen, das Bewusstsein für die FH, insbesondere in der Primärversorgung, zu steigern. Initiativen wie das CaRe High-Projekt, das bereits in 14 Bundesländern Kliniken und Arztpraxen akquiriert hat, tragen wesentlich dazu bei. Als ergänzender Ansatz wäre die Angabe eines Workflows in Laborbefunden denkbar, um somit die Aufmerksamkeit auf das Vorliegen einer möglichen FH zu lenken (Abb. 19).

- Die Anwendbarkeit der DLCN-Kriterien im ambulanten Bereich ist begrenzt.
- Die Erhebung einer detaillierten Familienanamnese erhöht den positiven prädiktiven Wert einer genetischen Untersuchung, jedoch konnten allein auf Basis der LDL-C-Werte 35 % genetisch Positive identifiziert werden.
- Eine LDL-C getriggerte genetische Untersuchung ist somit Methode der Wahl zur Identifikation von FH-Patienten, die Indikation sollte jedoch bei erhöhten TG kritisch gestellt werden.
- Insbesondere im Kindes- und Jugendalter weist das LDL-C eine gute Vorhersagekraft für das Vorliegen einer Mutation auf.
- Um Varianten hinsichtlich ihrer Pathogenität eindeutig klassifizieren zu können, sollte bei Anforderung einer genetischen Untersuchung, das Einreichen patientenbezogener klinischer Informationen obligatorisch sein.

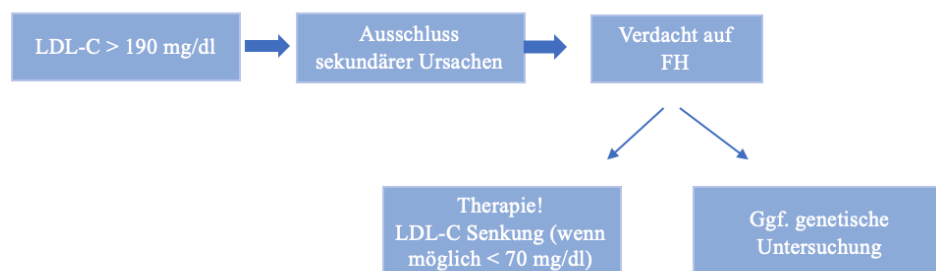


Abbildung 19: Workflow zur Identifikation von FH-Patienten

## 5 Zusammenfassung

Die FH ist eine monogenetische Lipidstoffwechselerkrankung, die nicht nur in Deutschland, sondern auch weltweit dramatisch unterdiagnostiziert ist. Mutationen im LDLR-Gen, APOB-Gen und PCSK9-Gen werden gegenwärtig als Hauptursache für die FH angesehen. Mutationen in den genannten Genen führen zu lebenslang erhöhten LDL-C-Plasmaspiegeln, die das Risiko für eine Manifestation kardiovaskulärer Erkrankungen massiv erhöhen. Daten von 352 Patienten, die das Endokrinologikum Hamburg in einem Zeitraum von 27 Monaten aufsuchten, wurden anonymisiert und retrospektiv analysiert. Ziel war es, die Häufigkeit einer FH in einem Patientenkollektiv mit schwerwiegender Hypercholesterinämie zu untersuchen. Einschlusskriterium war ein LDL-C > 190 mg/dl bzw. über der 95. Perzentile bei < 18-Jährigen. Patienten mit sekundärer Hypercholesterinämie wurden ausgeschlossen. Bei 33,3 % der Erwachsenen (n=105) und 64,8 % der Kinder (n=24), wurde eine molekulargenetische Untersuchung veranlasst. Eine FH definierende Mutation konnte bei 29,5 % der Erwachsenen und 58,3 % der Kinder nachgewiesen werden. Bei 16,6 % der Kinder und 20 % der Erwachsenen wurden veränderte Sequenzvarianten detektiert, denen ein LDL-C modifizierender Einfluss zugeschrieben wird. Es wurden 29 unterschiedliche Mutationen im LDLR-Gen, zwei Mutationen, c.10580G>A und c.10579C>T, im APOB-Gen und 6 Sequenzvarianten im PCSK9-Gen, von denen 5 nur ein LDL-C modifizierender und kein FH verursachender Effekt zugeschrieben wird, detektiert. Im LDLR-Gen konnten vier neue Sequenzvarianten gefunden werden, drei mit gesicherter Pathogenität aufgrund ihres molekularen Effekts. Im PCSK9-Gen wurde eine Variante unklarer Signifikanz nachgewiesen, die möglicherweise eine GOF-Variante ist und noch weiterer Evaluierung bedarf. Das vor Therapiebeginn gemessene LDL-C war bei Patienten mit nachgewiesener Mutation signifikant höher, die Triglyzeride signifikant niedriger. Auch die ROC-Statistik indizierte eine gute Diskriminationsfähigkeit des LDL-C zwischen Mutationsträgern und Nicht-Mutationsträgern. Die Daten dieser Arbeit repräsentieren ein Real-Life-Update aus einer Praxis mit einem breiten Spektrum an endokrinologischen Erkrankungen. Eine genetische Untersuchung bei schwerwiegender Hypercholesterinämie ist effizient und zielführend, um FH-Patienten sicher zu identifizieren. Ein Mutationsnachweis bei einem Drittel der genetisch untersuchten Patienten ist mit den Mutationsdetektionsraten spezialisierter Lipidambulanzen vergleichbar und verdeutlicht wie weit verbreitet die FH in der ambulanten Versorgung ist.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Hovingh GK, Davidson MH, Kastelein JJ, O'Connor AM. Diagnosis and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J.* 2013;34(13):962-71.
2. Klose G LU, März W, Windler E. Familial hypercholesterolemia: developments in diagnosis and treatment. *Deutsches Ärzteblatt.* 2014;111(31-32).
3. Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, Hegele RA, Santos RD, Wierzbicki AS. Familial hypercholesterolaemia. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17093.
4. Hopkins PN, Toth PP, Ballantyne CM, Rader DJ, National Lipid Association Expert Panel on Familial H. Familial hypercholesterolemias: prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2011;5(3 Suppl):S9-17.
5. Müller C. Xanthoma, hypercholesterolemia, angina pectoris. . *Acta Med Scand.* 1938;89:75-84.
6. Wilkinson CF, Hand EA, Fliegelman, MT. Essential familial hypercholesterolemia. *Ann Intern Med.* 1948;29:671-86.
7. Khachadurian A. The inheritance of essential familial hypercholesterolemia. *American Journal of Medicine.* 1964;37:402-7.
8. Goldstein JL BM. Expression of the familial hypercholesterolemia gene in heterozygotes: mechanism for a dominant disorder in man. *Science.* 1974;185(4145):61-3.
9. Goldstein JL BM. Familial Hypercholesterolemia: Identification of a Defect in the Regulation of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Activity Associated with Overproduction of Cholesterol. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1973;70(10):2804-8.
10. Dequeker J. ME, Leenders K. . Xanthelasma and lipoma in Leonardo da Vinci's Mona Lisa. *Isr Med Assoc J.* 2004;6:505-6.
11. Ose L. The Real Code of Leonardo da Vinci. *Curr Cardiol Rev.* 2008;4(1):60-2.
12. Gidding SS, Champagne MA, de Ferranti SD, Defesche J, Ito MK, Knowles JW, et al. The Agenda for Familial Hypercholesterolemia: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2015;132(22):2167-92.
13. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the

- general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2013;34(45):3478-90a.
14. Austin M, Hutter C, Zimmern R, Humphries S. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. *American Journal of Epidemiology.* 2004;160(5):407-20.
  15. Moorjani S RM, Gagné C, Davignon J, Brun D, Toussaint M, Lambert M, Campeau L, Blauchman S, Lupien P. Homozygous familial hypercholesterolemia among French Canadians in Québec Province. *Arteriosclerosis* 1989;9:211-6.
  16. Fahed AC, Safa RM, Haddad FF, Bitar FF, Andary RR, Arabi MT, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia in Lebanon: a genotype/phenotype correlation. *Mol Genet Metab.* 2011;102(2):181-8.
  17. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Familial hypercholesterolemia in the danish general population: prevalence, coronary artery disease, and cholesterol-lowering medication. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(11):3956-64.
  18. Shi Z, Yuan B, Zhao D, Taylor AW, Lin J, Watts GF. Familial hypercholesterolemia in China: prevalence and evidence of underdetection and undertreatment in a community population. *Int J Cardiol.* 2014;174(3):834-6.
  19. de Ferranti SD, Rodday AM, Mendelson MM, Wong JB, Leslie LK, Sheldrick RC. Prevalence of Familial Hypercholesterolemia in the 1999 to 2012 United States National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES). *Circulation.* 2016;133(11):1067-72.
  20. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, et al. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2014;35(32):2146-57.
  21. Nordestgaard BG, Benn M. Genetic testing for familial hypercholesterolaemia is essential in individuals with high LDL cholesterol: who does it in the world? *Eur Heart J.* 2017;38(20):1580-3.
  22. Goldstein J, Brown M. The LDL receptor. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.* 2009;29(4):431-8.

23. Fahed AC, Nemer GM. Familial hypercholesterolemia: the lipids or the genes? *Nutr Metab (Lond)*. 2011;8(1):23.
24. Abifadel M, Varret M, Rabès J-P, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nature Genetics* 2003;34(2).
25. DeBose-Boyd RA. Feedback regulation of cholesterol synthesis: sterol-accelerated ubiquitination and degradation of HMG CoA reductase. *Cell Res*. 2008;18(6):609-21.
26. Stary HC CA, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995;92(5):1355-74.
27. Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Genetic Architecture of Familial Hypercholesterolaemia. *Curr Cardiol Rep*. 2017;19(5):44.
28. Bourbon M, Alves AC, Sijbrands EJ. Low-density lipoprotein receptor mutational analysis in diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Curr Opin Lipidol*. 2017;28(2):120-9.
29. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*. 2015;17(5):405-24.
30. Faiz F, Nguyen LT, van Bockxmeer FM, Hooper AJ. Genetic screening to improve the diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Clinical Lipidology*. 2014;9(5):523-32.
31. Andersen LH, Miserez AR, Ahmad Z, Andersen RL. Familial defective apolipoprotein B-100: A review. *Journal of clinical Lipidology*. 2016;10(6):1297-302.
32. Kwon H, Lagace T, McNutt M, Horton J, Deisenhofer J. Molecular basis for LDL receptor recognition by PCSK9. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(6):1820-5.
33. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R, Zhao Z, McDonald M, Horton JD, et al. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like

- repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem.* 2007;282(25):18602-12.
34. Piper DE, Jackson S, Liu Q, Romanow WG, Shetterly S, Thibault ST, et al. The crystal structure of PCSK9: a regulator of plasma LDL-cholesterol. *Structure.* 2007;15(5):545-52.
35. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *The New England Journal of Medicine.* 2006;354(12):1264-72.
36. Fokkema IF, Taschner PE, Schaafsma GC, Celli J, Laros JF, den Dunnen JT. LOVD v.2.0: the next generation in gene variant databases. *Hum Mutat.* 2011;32(5):557-63.
37. Leigh SE, Leren TP, Humphries SE. Commentary PCSK9 variants: A new database. *Atherosclerosis.* 2009;203(1):32-3.
38. Abifadel M, Rabes JP, Devillers M, Munnich A, Erlich D, Junien C, et al. Mutations and polymorphisms in the proprotein convertase subtilisin kexin 9 (PCSK9) gene in cholesterol metabolism and disease. *Hum Mutat.* 2009;30(4):520-9.
39. AK. K. The inheritance of essential hypercholesterolemia. *Am J Med.* 1964;37:402-7.
40. Michaely P, Li WP, Anderson RG, Cohen JC, Hobbs HH. The modular adaptor protein ARH is required for low density lipoprotein (LDL) binding and internalization but not for LDL receptor clustering in coated pits. *J Biol Chem.* 2004;279(32):34023-31.
41. Fellin R, Arca M, Zuliani G, Calandra S, Bertolini S. The history of Autosomal Recessive Hypercholesterolemia (ARH). From clinical observations to gene identification. *Gene.* 2015;555(1):23-32.
42. Awan Z, Choi HY, Stitzel N, Ruel I, Bamimore MA, Husa R, et al. APOE p.Leu167del mutation in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2013;231(2):218-22.
43. Marduel M, Ouguerram K, Serre V, Bonnefont-Rousselot D, Marques-Pinheiro A, Erik Berge K, et al. Description of a large family with autosomal dominant hypercholesterolemia associated with the APOE p.Leu167del mutation. *Hum Mutat.* 2013;34(1):83-7.
44. Fouchier SW, Dallinga-Thie GM, Meijers JC, Zelcer N, Kastelein JJ, Defesche JC, et al. Mutations in STAP1 are associated with autosomal dominant hypercholesterolemia. *Circ Res.* 2014;115(6):552-5.

45. Danyel M, Ott CE, Grenkowitz T, Salewsky B, Hicks AA, Fuchsberger C, et al. Evaluation of the role of STAP1 in Familial Hypercholesterolemia. *Sci Rep.* 2019;9(1):11995.
46. Lange LA, Hu Y, Zhang H, Xue C, Schmidt EM, Tang ZZ, et al. Whole-exome sequencing identifies rare and low-frequency coding variants associated with LDL cholesterol. *Am J Hum Genet.* 2014;94(2):233-45.
47. Stitzel NO, Fouchier SW, Sjouke B, Peloso GM, Moscoso AM, Auer PL, et al. Exome sequencing and directed clinical phenotyping diagnose cholesterol ester storage disease presenting as autosomal recessive hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(12):2909-14.
48. Rios J, Stein E, Shendure J, Hobbs HH, Cohen JC. Identification by whole-genome resequencing of gene defect responsible for severe hypercholesterolemia. *Hum Mol Genet.* 2010;19(22):4313-8.
49. Talmud PJ, Shah S, Whittall R, Futema M, Howard P, Cooper JA, et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolaemia: a case-control study. *The Lancet.* 2013;381(9874):1293-301.
50. AC. S. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nat rev Genet* 2001;2(12):930-42.
51. Willer CJ, Schmidt EM, Sengupta S, Peloso GM, Gustafsson S, Kanoni S, et al. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat Genet.* 2013;45(11):1274-83.
52. Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature.* 2010;466(7307):707-13.
53. Talmud PJ, Drenos F, Shah S, Shah T, Palmen J, Verzilli C, et al. Gene-centric association signals for lipids and apolipoproteins identified via the HumanCVD BeadChip. *Am J Hum Genet.* 2009;85(5):628-42.
54. Sarraju A, Knowles JW. Genetic Testing and Risk Scores: Impact on Familial Hypercholesterolemia. *Front Cardiovasc Med.* 2019;6:5.
55. Wang J, Dron JS, Ban MR, Robinson JF, McIntyre AD, Alazzam M, et al. Polygenic Versus Monogenic Causes of Hypercholesterolemia Ascertained Clinically. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016;36(12):2439-45.

56. Schmidt K, Noureen A, Kronenberg F, Utermann G. Structure, function, and genetics of lipoprotein (a). *J Lipid Res.* 2016;57(8):1339-59.
57. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods.* 2010;7(4):248-9.
58. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clinical Chemistry.* 1972;18(6):499-502.
59. Nordestgaard BG, Langsted A. Lipoprotein (a) as a cause of cardiovascular disease: insights from epidemiology, genetics, and biology. *Journal of Lipid Research.* 2016;57(11):1953-75.
60. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2019.
61. Li S, Wu NQ, Zhu CG, Zhang Y, Guo YL, Gao Y, et al. Significance of lipoprotein(a) levels in familial hypercholesterolemia and coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2017;260:67-74.
62. Langsted AK, PR.; Benn, M.; Tybjaerg-Hansen A.; Nordestgaard, BG. High lipoprotein(a) as a possible cause of clinical familial hypercholesterolaemia: a prospective cohort study *Lancet Diabetes Endocrinol* 2016;4(7):577-87.
63. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Ray K, Boren J, Andreotti F, Watts GF, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status. *Eur Heart J.* 2010;31(23):2844-53.
64. Poonia A, Giridhara P. Xanthomas in Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 2017;377(5):e7.
65. Nemati MH, Astaneh B. Optimal management of familial hypercholesterolemia: treatment and management strategies. *Vasc Health Risk Manag.* 2010;6:1079-88.
66. Christoffersen M, Frikke-Schmidt R, Schnohr P, Jensen GB, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Xanthelasmata, arcus corneae, and ischaemic vascular disease and death in general population: prospective cohort study. *BMJ.* 2011;343:d5497.
67. Rallidis L, Naoumova R, Thompson G, Nihoyannopoulos P. Extent and severity of atherosclerotic involvement of the aortic valve and root in familial hypercholesterolaemia. *Heart.* 1998;80(6):583-90.

68. Kolansky DM, Cuchel M, Clark BJ, Paridon S, McCrindle BW, Wiegers SE, et al. Longitudinal evaluation and assessment of cardiovascular disease in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 2008;102(11):1438-43.
69. Simon Broome Register Group. Risk Of Fatal Coronary Heart Disease In Familial Hypercholesterolaemia. . *BMJ.* 1991;303(6807):893-6.
70. Williams R, Hunt S, Schumacher M, Hegele R, Leppert M, Ludwig E, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *The American journal of Cardiology* 1993;72(2):171-6.
71. Futema M, Whittall RA, Kiley A, Steel LK, Cooper JA, Badmus E, et al. Analysis of the frequency and spectrum of mutations recognised to cause familial hypercholesterolaemia in routine clinical practice in a UK specialist hospital lipid clinic. *Atherosclerosis.* 2013;229(1):161-8.
72. Upmeier E, Lavonius S, Heinonen P, Viitanen M, Isoaho H, Arve S, et al. Longitudinal changes in serum lipids in older people the Turku elderly study 1991-2006. *Age Ageing.* 2011;40(2):280-3.
73. Wiegman A, Gidding SS, Watts GF, Chapman MJ, Ginsberg HN, Cuchel M, et al. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur Heart J.* 2015;36(36):2425-37.
74. Wiegman A, Rodenburg J, de Jongh S, Defesche JC, Bakker HD, Kastelein JJP, et al. Family History and Cardiovascular Risk in Familial Hypercholesterolemia. *Circulation.* 2003;107(11):1473-8.
75. Ritchie SK, Murphy EC, Ice C, Cottrell LA, Minor V, Elliott E, et al. Universal versus targeted blood cholesterol screening among youth: The CARDIAC project. *Pediatrics.* 2010;126(2):260-5.
76. Kinder: Prävention und lipidsenkende Therapie bei pädiatrischen Risikopatienten [Available from: [https://lipidambulanz.charite.de/fuer\\_aerzte/theoretische\\_grundlagen/kinder/](https://lipidambulanz.charite.de/fuer_aerzte/theoretische_grundlagen/kinder/). 15.03.2020
77. National Cholesterol Education Program (NCEP): highlights of the report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics.* 1992;89(3):495.

78. Primary P, Genest J, Hegele RA, Bergeron J, Brophy J, Carpentier A, et al. Canadian Cardiovascular Society position statement on familial hypercholesterolemia. *Can J Cardiol.* 2014;30(12):1471-81.
79. Newson AJ, Humphries SE. Cascade testing in familial hypercholesterolaemia: how should family members be contacted? *Eur J Hum Genet.* 2005;13(4):401-8.
80. Besseling J, Sjouke B, Kastelein JJ. Screening and treatment of familial hypercholesterolemia - Lessons from the past and opportunities for the future (based on the Anitschkow Lecture 2014). *Atherosclerosis.* 2015;241(2):597-606.
81. Bell DA, Pang J, Burrows S, Bates TR, van Bockxmeer FM, Hooper AJ, et al. Effectiveness of genetic cascade screening for familial hypercholesterolaemia using a centrally co-ordinated clinical service: an Australian experience. *Atherosclerosis.* 2015;239(1):93-100.
82. Jannes CE, Santos RD, de Souza Silva PR, Turolla L, Gagliardi AC, Marsiglia JD, et al. Familial hypercholesterolemia in Brazil: cascade screening program, clinical and genetic aspects. *Atherosclerosis.* 2015;238(1):101-7.
83. Bamimore MA, Zaid A, Banerjee Y, Al-Sarraf A, Abifadel M, Seidah NG, et al. Familial hypercholesterolemia mutations in the Middle Eastern and North African region: a need for a national registry. *J Clin Lipidol.* 2015;9(2):187-94.
84. Setia N, Verma IC, Khan B, Arora A. Premature coronary artery disease and familial hypercholesterolemia: need for early diagnosis and cascade screening in the Indian population. *Cardiol Res Pract.* 2012;2012:658526.
85. Medeiros AM, Alves AC, Francisco V, Bourbon M, investigators of the Portuguese FHS. Update of the Portuguese Familial Hypercholesterolaemia Study. *Atherosclerosis.* 2010;212(2):553-8.
86. Watts GF, Gidding S, Wierzbicki AS, Toth PP, Alonso R, Brown WV, et al. Integrated guidance on the care of familial hypercholesterolaemia from the International FH Foundation. *Int J Cardiol.* 2014;171(3):309-25.
87. Minhas R, Humphries SE, Qureshi N, Neil HA, Group NGD. Controversies in familial hypercholesterolaemia: recommendations of the NICE Guideline Development Group for the identification and management of familial hypercholesterolaemia. *Heart.* 2009;95(7):584-7; discussion 7-91.
88. Louter L, Defesche J, Roeters van Lennep J. Cascade screening for familial hypercholesterolemia: Practical consequences. *Atheroscler Suppl.* 2017;30:77-85.

89. Schmidt N, Grammer T, Gouni-Berthold I, Julius U, Kassner U, Klose G, et al. CaRe high - Cascade screening and registry for high cholesterol in Germany. *Atheroscler Suppl.* 2017;30:72-6.
90. Marks D, Wonderling D, Thorogood M, Lambert H, Humphries S, Neil H. Cost effectiveness analysis of different approaches of screening for familial hypercholesterolaemia. *BMJ (clinical research ed).* 2002;324(7349):1303.
91. Brice P, Burton H, Edwards CW, Humphries SE, Aitman TJ. Familial hypercholesterolaemia: a pressing issue for European health care. *Atherosclerosis.* 2013;231(2):223-6.
92. Kerr M, Pears R, Miedzybrodzka Z, Haralambos K, Cather M, Watson M, et al. Cost effectiveness of cascade testing for familial hypercholesterolaemia, based on data from familial hypercholesterolaemia services in the UK. *Eur Heart J.* 2017;38(23):1832-9.
93. Chen CX, Hay JW. Cost-effectiveness analysis of alternative screening and treatment strategies for heterozygous familial hypercholesterolemia in the United States. *Int J Cardiol.* 2015;181:417-24.
94. Ademi Z, Watts GF, Juniper A, Liew D. A systematic review of economic evaluations of the detection and treatment of familial hypercholesterolemia. *Int J Cardiol.* 2013;167(6):2391-6.
95. Pears R, Griffin M, Futema M, Humphries SE. Improving the cost-effectiveness equation of cascade testing for familial hypercholesterolaemia. *Current Opinion in Lipidology.* 2015;26(3):162-8.
96. Futema M, Shah S, Cooper JA, Li K, Whittall RA, Sharifi M, et al. Refinement of variant selection for the LDL cholesterol genetic risk score in the diagnosis of the polygenic form of clinical familial hypercholesterolemia and replication in samples from 6 countries. *Clin Chem.* 2015;61(1):231-8.
97. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, et al. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2019;140(11):e596-e646.
98. Santos RD, Gidding SS, Hegele RA, Cuchel MA, Barter PJ, Watts GF, et al. Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial

- Hypercholesterolemia Panel. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2016;4(10):850-61.
99. Mazidi M, Rezaie P, Karimi E, Kengne AP. The effects of bile acid sequestrants on lipid profile and blood glucose concentrations: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cardiol*. 2017;227:850-7.
100. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *New England Journal of Medicine*. 2017;376(18):1713-22.
101. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, Bhatt DL, Bittner VA, Diaz R, et al. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2018;379(22):2097-107.
102. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebocontrolled trial. *The Lancet*. 2002;360(9326):7-22.
103. Baigent C, Keech A, Kearney P, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90 056 participants in 14 randomised trials of statins. *The Lancet*. 2005;366(9493):1267-78.
104. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials. *The Lancet*. 2010;376(9753):1670-81.
105. Besseling J, Hovingh GK, Huijgen R, Kastelein JJP, Hutten BA. Statins in Familial Hypercholesterolemia: Consequences for Coronary Artery Disease and All-Cause Mortality. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(3):252-60.
106. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al. Intensive versus Moderate Lipid Lowering with Statins after Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(15):1495-504.
107. Cannon CP, Steinberg BA, Murphy SA, Mega JL, Braunwald E. Meta-analysis of cardiovascular outcomes trials comparing intensive versus moderate statin therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(3):438-45.
108. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(25):2387-97.

109. Vogt A. The genetics of familial hypercholesterolemia and emerging therapies. *Appl Clin Genet*. 2015;8:27-36.
110. Wang A, Richhariya A, Gandra SR, Calimlim B, Kim L, Quek RG, et al. Systematic Review of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Apheresis for the Treatment of Familial Hypercholesterolemia. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(7).
111. Thompson G, Parhofer KG. Current Role of Lipoprotein Apheresis. *Curr Atheroscler Rep*. 2019;21(7):26.
112. Stefanutti C. Treatment of severe genetic dyslipidemia: where are we going? *Ther Apher Dial*. 2013;17(2):122-3.
113. Thompson GR, Group H-ULAW. Recommendations for the use of LDL apheresis. *Atherosclerosis*. 2008;198(2):247-55.
114. Makino H, Koezuka R, Tamanaha T, Ogura M, Matsuki K, Hosoda K, et al. Familial Hypercholesterolemia and Lipoprotein Apheresis. *J Atheroscler Thromb*. 2019;26(8):679-87.
115. Moriarty PM, Parhofer KG, Babirak SP, Cornier MA, Duell PB, Hohenstein B, et al. Alirocumab in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia undergoing lipoprotein apheresis: the ODYSSEY ESCAPE trial. *Eur Heart J*. 2016;37(48):3588-95.
116. Vuorio A, Tikkanen MJ, Kovanen PT. Inhibition of hepatic microsomal triglyceride transfer protein - a novel therapeutic option for treatment of homozygous familial hypercholesterolemia. *Vasc Health Risk Manag*. 2014;10:263-70.
117. Cuchel M, Blom DJ, Averna MR. Clinical experience of lomitapide therapy in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia. *Atheroscler Suppl*. 2014;15(2):33-45.
118. Norata GD, Ballantyne CM, Catapano AL. New therapeutic principles in dyslipidaemia: focus on LDL and Lp(a) lowering drugs. *Eur Heart J*. 2013;34(24):1783-9.
119. Ray KK, Landmesser U, Leiter LA, Kallend D, Dufour R, Karakas M, et al. Inclisiran in Patients at High Cardiovascular Risk with Elevated LDL Cholesterol. *N Engl J Med*. 2017;376(15):1430-40.
120. Fitzgerald K, White S, Borodovsky A, Bettencourt BR, Strahs A, Clausen V, et al. A Highly Durable RNAi Therapeutic Inhibitor of PCSK9. *N Engl J Med*. 2017;376(1):41-51.

121. Ballantyne CM, Banach M, Mancini GBJ, Lepor NE, Hanselman JC, Zhao X, et al. Efficacy and safety of bempedoic acid added to ezetimibe in statin-intolerant patients with hypercholesterolemia: A randomized, placebo-controlled study. *Atherosclerosis*. 2018;277:195-203.
122. Ray KK, Bays HE, Catapano AL, Lalwani ND, Bloedon LT, Sterling LR, et al. Safety and Efficacy of Bempedoic Acid to Reduce LDL Cholesterol. *N Engl J Med*. 2019;380(11):1022-32.
123. Slack J. Risks of ischaemic heart-disease in familial hyperlipoproteinaemic states. *Lancet*. 1969;2(7635):1380-2.
124. Perez de Isla L, Alonso R, Mata N, Saltijeral A, Muniz O, Rubio-Marin P, et al. Coronary Heart Disease, Peripheral Arterial Disease, and Stroke in Familial Hypercholesterolaemia: Insights From the SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolaemia Cohort Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(9):2004-10.
125. Seed M, Hoppichler F, Reaveley D, McCarthy S, Thompson GR, Boerwinkle E, et al. Relation of Serum Lipoprotein(a) Concentration and Apolipoprotein(a) Phenotype to Coronary Heart Disease in Patients with Familial Hypercholesterolemia. *New England Journal of Medicine*. 1990;322(21):1494-9.
126. Akioyamen LE, Genest J, Chu A, Inibhunu H, Ko DT, Tu JV. Risk factors for cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Lipidol*. 2019;13(1):15-30.
127. Raal FJ, Santos RD. Homozygous familial hypercholesterolemia: current perspectives on diagnosis and treatment. *Atherosclerosis*. 2012;223(2):262-8.
128. Versmissen J, Oosterveer DM, Yazdanpanah M, Defesche JC, Basart DC, Liem AH, et al. Efficacy of statins in familial hypercholesterolaemia: a long term cohort study. *BMJ*. 2008;337:a2423.
129. Raal FJ, Pilcher GJ, Panz VR, van Deventer HE, Brice BC, Blom DJ, et al. Reduction in mortality in subjects with homozygous familial hypercholesterolemia associated with advances in lipid-lowering therapy. *Circulation*. 2011;124(20):2202-7.
130. Haralambos K, Whatley SD, Edwards R, Gingell R, Townsend D, Ashfield-Watt P, et al. Clinical experience of scoring criteria for Familial Hypercholesterolaemia (FH) genetic testing in Wales. *Atherosclerosis*. 2015;240(1):190-6.
131. Walma EP WT. NHG-Standpunt Diagnostiek en behandeling van familiale hypercholesterolemie. *Huisarts wet*. 2006;49:18-23.

132. S2-Leitlinie Humangenetische Diagnostik und genetische Beratung. Medizinische Genetik 2012;23(2):281-323.
133. Humangenetik DGf. S1 Leitlinie: Molekulargenetische Diagnostik mit Hochdurchsatzverfahren, beispielsweise mit Next-Generation Sequencing 2017 [updated 21.07.2017. Available from: [https://www.gfhev.de/de/leitlinien/LL\\_und\\_Stellungnahmen/2017\\_09\\_15\\_GfH-S1-LL\\_NGS-Diagnostik\\_final.pdf](https://www.gfhev.de/de/leitlinien/LL_und_Stellungnahmen/2017_09_15_GfH-S1-LL_NGS-Diagnostik_final.pdf). 08.01.2020
134. Schwarz JM, Rodelsperger C, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nature Methods*. 2010;7(8):575-6.
135. Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *Current Protocols in Human Genetics*. 2013;Chapter 7:Unit7 20.
136. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown GR, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(D1):D1062-D7.
137. Evans D, Beil FU. The E670G SNP in the PCSK9 gene is associated with polygenic hypercholesterolemia in men but not in women. *BMC Med Genet*. 2006;7:66.
138. Norata GD, Garlaschelli K, Grigore L, Raselli S, Tramontana S, Meneghetti F, et al. Effects of PCSK9 variants on common carotid artery intima media thickness and relation to ApoE alleles. *Atherosclerosis*. 2010;208(1):177-82.
139. Chen SN, Ballantyne CM, Gotto AM, Jr., Tan Y, Willerson JT, Marian AJ. A common PCSK9 haplotype, encompassing the E670G coding single nucleotide polymorphism, is a novel genetic marker for plasma low-density lipoprotein cholesterol levels and severity of coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(10):1611-9.
140. Cariou B, Le May C, Costet P. Clinical aspects of PCSK9. *Atherosclerosis*. 2011;216(2):258-65.
141. Kotowski IK, Pertsemlidis A, Luke A, Cooper RS, Vega GL, Cohen JC, et al. A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol. *Am J Hum Genet*. 2006;78(3):410-22.
142. Mayne J, Chye Ooi T, Raymond A, Cousins M, Bernier L, Dewpura T, et al. Differential effects of PCSK9 loss of function variants on serum lipid and PCSK9 levels in Caucasian and African Canadian populations. *Lipid in health and disease*. 2013;12(70).

143. Yue P, Aversa M, Lin X, Schonfeld G. The c.43\_44insCTG variation in PCSK9 is associated with low plasma LDL-cholesterol in a Caucasian population. *Hum Mutat.* 2006;27(5):460-6.
144. Slimani A, Hrira MY, Najah M, Jomaa W, Maatouk F, Hamda KB, et al. PCSK9 polymorphism in a Tunisian cohort: identification of a new allele, L8, and association of allele L10 with reduced coronary heart disease risk. *Mol Cell Probes.* 2015;29(1):1-6.
145. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000438338.3] [updated 11.02.2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000438338.3> 15.03.2020
146. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000226368.4] [updated 11.02.2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000226368.4>. 15.03.2020
147. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000262903.2] [updated 18.01.2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000262903.2>. 15.03.2020
148. Brusgaard K, Jordan P, Hansen H, Hansen AB, Horder M. Molecular genetic analysis of 1053 Danish individuals with clinical signs of familial hypercholesterolemia. *Clin Genet.* 2006;69(3):277-83.
149. Dedoussis G, Skoumas J, Pitsavos C, Choumerianou D, Genschel J, Schmidt H, et al. FH clinical phenotype in Greek patients with LDL-R defective vs. negative mutations. *European Journal of clinical investigation.* 2004;34(6):402-9.
150. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000242028.3] [updated 11.02.2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000242028.3>. 15.03.2020
151. Taylor A, Wang D, Patel K, Whittall R, Wood G, Farrer M, et al. Mutation detection rate and spectrum in familial hypercholesterolaemia patients in the UK pilot cascade project. *Clin Genet.* 2010;77(6):572-80.
152. Heath KH, SE.; Middleton-Price, H.; Boxer, M. . A molecular genetic service for diagnosing individuals with familial hypercholesterolaemia (FH) in the United Kingdom. *Eur J Hum Genet.* 2001;9(4):244-52.
153. Lombardi MP RE, Defesche JC, Kamerling SW, Trip MD, Mannens MM, Havekes LM, Kastelein JJ. Molecular genetic testing for familial hypercholesterolemia:

- spectrum of LDL receptor gene mutations in The Netherlands. *Clin Genet.* 2000;57(2):116-24.
154. Damgaard D, Larsen ML, Nissen PH, Jensen JM, Jensen HK, Soerensen VR, et al. The relationship of molecular genetic to clinical diagnosis of familial hypercholesterolemia in a Danish population. *Atherosclerosis.* 2005;180(1):155-60.
155. Paththinige CS, Sirisena ND, Dissanayake V. Genetic determinants of inherited susceptibility to hypercholesterolemia - a comprehensive literature review. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):103.
156. Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Polygenic Hypercholesterolemia and Cardiovascular Disease Risk. *Curr Cardiol Rep.* 2019;21(6):43.
157. Rahalkar AR, Hegele RA. Monogenic pediatric dyslipidemias: classification, genetics and clinical spectrum. *Mol Genet Metab.* 2008;93(3):282-94.
158. Grenkowitz T, Kassner U, Wuhle-Demuth M, Salewsky B, Rosada A, Zemojtel T, et al. Clinical characterization and mutation spectrum of German patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2016;253:88-93.
159. Bourbon M, Alves AC, Alonso R, Mata N, Aguiar P, Padro T, et al. Mutational analysis and genotype-phenotype relation in familial hypercholesterolemia: The SAFEHEART registry. *Atherosclerosis.* 2017;262:8-13.
160. Dedoussis GV, Genschel J, Bochow B, Pitsavos C, Skoumas J, Prassa M, et al. Molecular characterization of familial hypercholesterolemia in German and Greek patients. *Hum Mutat.* 2004;23(3):285-6.
161. Ebhardt M, Schmidt H, Doerk T, Tietge U, Haas R, Manns M, et al. Mutation analysis in 46 German families with familial hypercholesterolemia: Identification of 8 new mutations. *Human Mutation.* 1999;13(3):257.
162. Nauck M, Köster W, Dörfer K, Eckes J, Scharnagl H, Gierens H, et al. Identification of recurrent and novel mutations in the LDL receptor gene in German patients with familial hypercholesterolemia. *Human Mutation.* 2001;18(2):165-6.
163. Jiang L, Sun LY, Dai YF, Yang SW, Zhang F, Wang LY. The distribution and characteristics of LDL receptor mutations in China: A systematic review. *Sci Rep.* 2015;5:17272.
164. Teng Y-N, Pan J-P, Chou S-C, Tai D-Y, Lee-Chen G-J. Familial defective apolipoprotein B-100: detection and haplotype analysis of the Arg3500 Gln mutation in hyperlipidemic Chinese. *Atherosclerosis.* 2000;152:385-90.

165. Alves AE, A.; Soutar, AK.; Martin, C.; Bourbon, M. Novel functional APOB mutations outside LDL-binding region causing familial hypercholesterolaemia. *Hum Mol Genet.* 2014;23(7):1817-28.
166. Cameron J, Holla OL, Ranheim T, Kulseth MA, Berge KE, Leren TP. Effect of mutations in the PCSK9 gene on the cell surface LDL receptors. *Hum Mol Genet.* 2006;15(9):1551-8.
167. Fasano T, Sun XM, Patel DD, Soutar AK. Degradation of LDLR protein mediated by 'gain of function' PCSK9 mutants in normal and ARH cells. *Atherosclerosis.* 2009;203(1):166-71.
168. Pisciotta L, Priore Oliva C, Cefalu AB, Noto D, Bellocchio A, Fresa R, et al. Additive effect of mutations in LDLR and PCSK9 genes on the phenotype of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2006;186(2):433-40.
169. Eroglu Z, Tetik Vardarli A, Duzgun Z, Gunduz C, Bozok Cetintas V, Kayikcioglu M. Case-control study on PCSK9 R496W (rs374603772) and D374Y (rs137852912) mutations in Turkish patients with primary dyslipidemia. *Anatol J Cardiol.* 2018;19(5):334-40.
170. Civeira F, Jarauta E, Cenarro A, Garcia-Otin AL, Tejedor D, Zambon D, et al. Frequency of low-density lipoprotein receptor gene mutations in patients with a clinical diagnosis of familial combined hyperlipidemia in a clinical setting. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(19):1546-53.
171. Community RotGFH. Reducing the Clinical and Public Health Burden of Familial Hypercholesterolemia: A Global Call to Action. *JAMA Cardiology.* 2020.
172. Dhiman P, Kai J, Horsfall L, Walters K, Qureshi N. Availability and quality of coronary heart disease family history in primary care medical records: implications for cardiovascular risk assessment. *PLoS One.* 2014;9(1):e81998.
173. Bates TR, Burnett JR, van Bockxmeer FM, Hamilton S, Arnolda L, Watts GF. Detection of familial hypercholesterolaemia: a major treatment gap in preventative cardiology. *Heart Lung Circ.* 2008;17(5):411-3.
174. Hirsch AT, Criqui MH, Treat-Jacobson D, Regensteiner JG, Creager MA, Olin JW, et al. Peripheral Arterial Disease Detection, Awareness, and Treatment in Primary Care. *JAMA.* 2001;286(11):1317-24.
175. Qureshi N, Humphries SE, Seed M, Rowlands P, Minhas R, Group NGD. Identification and management of familial hypercholesterolaemia: what does it mean to primary care? *Br J Gen Pract.* 2009;59(567):773-6.

176. Weng SF, Kai J, Andrew Neil H, Humphries SE, Qureshi N. Improving identification of familial hypercholesterolaemia in primary care: derivation and validation of the familial hypercholesterolaemia case ascertainment tool (FAMCAT). *Atherosclerosis*. 2015;238(2):336-43.
177. Fouchier SW, Defesche JC, Umans-Eckenhuis MW, Kastelein JP. The molecular basis of familial hypercholesterolemia in The Netherlands. *Hum Genet*. 2001;109(6):602-15.
178. Civeira F, Ros E, Jarauta E, Plana N, Zambon D, Puzo J, et al. Comparison of Genetic Versus Clinical Diagnosis in Familial Hypercholesterolemia. *American Journal of Cardiology*. 2008;102(9):1187-93.e1.
179. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Mutations causative of familial hypercholesterolaemia: screening of 98 098 individuals from the Copenhagen General Population Study estimated a prevalence of 1 in 217. *Eur Heart J*. 2016;37(17):1384-94.
180. Andermann A. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. *Bulletin of the World Health Organization*. 2008;86(4):317-9.

## 7 Anhang

Tabelle 30: Perzentilen für Gesamtcholesterin (mg/dl) Jungen <sup>1</sup>

Geglättete Perzentile für Gesamtcholesterin (mg/dl)  
Jungen (N=7.297)

Alter*	P <sub>3</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>10</sub>	P <sub>25</sub>	P <sub>50</sub> (Median)	P <sub>75</sub>	P <sub>90</sub>	P <sub>95</sub>	P <sub>97</sub>
1,5	103	108	116	131	149	168	188	200	209
2	105	110	119	133	151	171	190	203	211
2,5	108	113	121	135	153	173	193	205	213
3	110	115	123	138	156	175	194	207	215
3,5	112	117	125	140	158	177	196	209	217
4	114	119	127	142	159	179	198	210	218
4,5	116	121	129	143	161	180	199	211	219
5	117	122	130	145	162	181	200	212	220
5,5	118	123	131	146	163	182	200	212	220
6	119	124	132	146	163	182	200	212	220
6,5	120	125	133	147	164	182	200	211	219
7	120	125	133	147	163	182	199	211	218
7,5	120	125	133	147	163	181	199	210	217
8	121	125	133	147	163	181	199	210	217
8,5	121	126	133	147	164	182	199	210	217
9	121	126	134	148	164	182	200	211	218
9,5	122	127	134	148	165	183	201	212	220
10	122	127	135	149	166	184	202	214	221
10,5	123	128	135	150	167	185	203	215	223
11	122	127	135	150	167	186	204	216	223
11,5	122	127	135	149	166	185	204	215	223
12	120	125	133	148	165	184	202	214	222
12,5	118	123	131	145	163	182	200	212	220
13	115	120	128	142	160	178	196	208	216
13,5	113	117	125	139	156	175	193	204	212
14	110	115	123	136	153	171	189	201	208
14,5	108	113	120	134	151	169	187	198	206
15	106	111	119	132	149	167	185	196	204
15,5	105	110	118	131	148	166	184	196	204
16	105	110	118	132	148	167	185	197	205
16,5	105	110	118	132	150	169	187	199	207
17	106	111	119	134	151	171	190	202	210
17,5	107	112	120	135	153	173	193	205	214

\* exaktes Alter in Jahren (der Wert für z. B. 2 Jahre gilt approximativ für Kinder von 1,75 bis unter 2,25 Jahren)

<sup>1</sup> Bevölkerungsbezogene Verteilungswerte ausgewählter Laborparameter aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS), Robert-Koch-Institut; Kardiovaskuläre Risikofaktoren; Seite 67-79

Tabelle 31: Perzentilen für Gesamtcholesterin (mg/dl) Mädchen<sup>1</sup>

Geglättete Perzentile für Gesamtcholesterin (mg/dl)  
Mädchen (N = 6.951)

Alter*	P <sub>3</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>10</sub>	P <sub>25</sub>	P <sub>50</sub> (Median)	P <sub>75</sub>	P <sub>90</sub>	P <sub>95</sub>	P <sub>97</sub>
1,5	105	111	120	136	154	173	191	201	208
2	107	113	122	138	156	175	193	204	211
2,5	109	115	124	140	158	177	195	206	213
3	111	117	126	142	160	179	197	208	215
3,5	113	119	128	144	162	181	199	209	217
4	115	121	130	145	164	182	200	211	218
4,5	117	123	132	147	165	184	202	213	220
5	119	124	133	148	166	185	203	214	221
5,5	120	126	134	150	167	186	204	215	222
6	121	127	135	150	168	187	205	216	223
6,5	122	128	136	151	169	187	205	216	223
7	123	128	137	151	169	187	205	216	224
7,5	124	129	137	152	169	188	205	217	224
8	124	129	137	152	169	188	206	217	224
8,5	124	129	138	152	169	188	206	217	225
9	124	129	138	152	169	188	206	217	225
9,5	124	129	137	152	169	188	206	217	225
10	124	129	137	151	168	187	205	217	225
10,5	123	128	136	150	167	186	204	216	224
11	122	127	135	149	166	185	203	215	223
11,5	121	126	134	148	165	183	202	213	221
12	120	125	132	146	163	182	200	212	220
12,5	119	124	131	145	162	181	199	211	219
13	118	123	130	144	161	180	198	210	218
13,5	117	122	129	143	160	179	198	210	218
14	117	121	129	143	160	179	198	211	219
14,5	116	121	129	143	160	179	199	212	221
15	117	121	129	143	160	180	200	214	223
15,5	117	122	129	144	161	182	203	216	226
16	118	122	130	145	163	184	206	220	230
16,5	118	123	131	146	165	187	209	224	235
17	119	124	133	148	167	189	213	228	239
17,5	120	125	134	149	169	192	216	233	244

\* exaktes Alter in Jahren (der Wert für z. B. 2 Jahre gilt approximativ für Kinder von 1,75 bis unter 2,25 Jahren)

Tabelle 32: Perzentilen für LDL-C (mg/dl) Jungen<sup>1</sup>

Geglättete Perzentile für LDL-Cholesterin (mg/dl)  
Jungen (N=7.291)

Alter*	P3	P5	P10	P25	P50 (Median)	P75	P90	P95	P97
1,5	49	52	59	71	86	104	122	134	142
2	50	54	60	72	88	106	124	136	144
2,5	51	55	62	74	90	107	125	137	145
3	52	56	63	75	91	109	127	138	146
3,5	53	57	64	76	92	110	128	139	147
4	54	58	65	77	93	111	129	140	148
4,5	54	58	65	78	93	111	129	140	148
5	55	59	66	78	94	111	129	140	147
5,5	55	59	66	78	94	111	128	139	147
6	55	59	66	78	93	110	127	138	145
6,5	55	59	66	78	93	110	126	137	144
7	55	59	65	77	92	109	125	136	143
7,5	55	59	65	77	92	108	125	135	142
8	55	59	65	77	92	108	124	135	142
8,5	54	59	65	77	92	108	124	135	142
9	54	58	65	77	92	109	125	135	142
9,5	54	58	65	77	93	109	125	136	143
10	54	58	65	78	93	110	126	137	144
10,5	54	58	65	77	93	110	126	137	144
11	53	58	65	77	93	110	126	137	144
11,5	53	57	64	77	92	109	126	137	144
12	52	56	63	76	91	108	125	136	143
12,5	51	55	62	74	90	107	124	134	141
13	49	54	61	73	88	105	122	132	139
13,5	48	52	59	72	87	103	120	130	137
14	47	51	58	70	85	102	118	128	135
14,5	46	50	57	69	84	100	116	126	133
15	45	49	56	68	83	100	115	126	132
15,5	45	49	56	68	83	99	115	125	132
16	44	49	55	68	83	100	116	126	133
16,5	44	49	56	68	84	101	117	127	134
17	44	49	56	69	85	102	118	129	136
17,5	44	49	56	69	85	103	120	130	138

\* exaktes Alter in Jahren (der Wert für z. B. 2 Jahre gilt approximativ für Kinder von 1,75 bis unter 2,25 Jahren)

Tabelle 33: Perzentilen für LDL-C (mg/dl) Mädchen<sup>1</sup>

Geglättete Perzentile für LDL-Cholesterin (mg/dl)  
Mädchen (N = 6.942)

Alter <sup>*</sup>	P3	P5	P10	P25	P50 (Median)	P75	P90	P95	P97
1,5	50	55	63	76	93	110	126	137	144
2	51	56	63	77	93	111	127	138	145
2,5	52	56	64	78	94	112	128	139	146
3	52	57	65	78	95	112	129	140	147
3,5	53	58	66	79	96	113	130	141	148
4	54	59	66	80	96	114	131	142	149
4,5	54	59	67	80	97	115	132	143	150
5	55	60	67	81	97	115	132	143	150
5,5	55	60	68	81	97	115	133	144	151
6	56	60	68	81	98	115	133	144	151
6,5	56	60	68	81	98	115	133	144	151
7	56	61	68	81	97	115	133	144	151
7,5	56	61	68	81	97	115	133	144	151
8	56	61	68	81	97	115	133	144	151
8,5	56	61	68	81	97	115	133	144	152
9	56	61	68	81	97	115	133	144	152
9,5	56	61	68	81	97	115	132	144	151
10	56	60	67	80	96	114	132	143	151
10,5	55	60	67	79	95	113	131	142	150
11	55	59	66	78	94	112	130	141	149
11,5	54	58	65	77	93	111	128	140	148
12	53	58	64	77	92	110	127	139	147
12,5	53	57	63	76	91	109	126	138	146
13	52	56	63	75	90	108	126	137	145
13,5	52	56	62	74	90	107	125	137	145
14	52	56	62	74	90	107	125	137	146
14,5	52	56	62	74	90	108	126	138	147
15	52	56	62	74	90	108	127	140	148
15,5	52	56	63	75	91	110	129	142	151
16	52	56	63	76	92	111	131	144	153
16,5	53	57	64	77	93	113	133	147	157
17	54	58	65	78	95	115	136	150	160
17,5	54	58	65	78	96	117	138	153	163

\* exaktes Alter in Jahren (der Wert für z. B. 2 Jahre gilt approximativ für Kinder von 1,75 bis unter 2,25 Jahren)

Tabelle 34: Normbereiche Laborparameter Amedes Labor

Analyse	Referenzbereich	Einheit	SI-Einheit
Gesamtcholesterin	< 240	mg/dl	< 6,2 mmol/l
LDL-C	< 140	mg/dl	< 3,6 mmol/l
HDL-C*	35-60	mg/dl	0,9 – 1,6 mmol/l
Triglyceride	50-170	mg/dl	0,6 – 1,9 mmol/l
Lp(a)	0 - 30	mg/dl	0 – 72 nmol/l
ApoA	m 104-202	mg/dl	37 - 72 µmol/l
	w 108- 225	mg/dl	39 – 80 µmol/l
ApoB	m 66 – 133	mg/dl	1,2 - 2,4 µmol/l
	w 60 - 117	mg/dl	1,1 - 2,1 µmol/l
Glucose	< 100	mg/dl	< 5,6 mmol/l
HbA1c	< 6,2 %		
GPT/ALAT*	m < 50	U/l	< 0,8 µmol/s
	w < 30	U/l	< 0,6 µmol/s
GOT/ASAT*	m < 50	U/l	< 0,8 µmol/s
	w < 30	U/l	< 0,6 µmol/s
Gamma GT *	m < 60	U/l	< 1 µmol/s
	w < 40	U/l	< 0,7 µmol/s
Alkalische Phosphatase	m 40 – 129	U/l	0,7 – 2,2 µmol/s
	w 35 - 104	U/l	0,6 – 1,7 µmol/s
Bilirubin gesamt*	< 1,2	mg/dl	< 21µmol/s
Harnsäure*	m 3,4 – 7,0	mg/dl	202 – 416 µmol/s
	w 2,4 – 5,7	mg/dl	143 – 339 µmol/s
Harnstoff	10 - 50	mg/dl	1,7 – 8,4 mmol/l
Kreatinin	m < 1,2	mg/dl	< 106,2 µmol/s
	w < 0,9	mg/dl	< 79,7 µmol/s
GFR	90 - 999	ml/min	
TSH*	m 0,27 – 4,2	mU/l	
	w 0,20 – 4,2	mU/l	
Freies T3*	m 1,9 – 5,1	ng/l	2,9 – 7,9 pmol/l
	w 1,6 – 5,1	ng/l	2,5 – 7,9 pmol/l
Freies T4*	m 0,9 – 1,7	ng/dl	11,6 – 21,9 pmol/l
	w 0,7 – 1,6	ng/dl	9,0 – 20,6 pmol/l

\* altersabhängig

Tabelle 35: Kardiovaskuläre Risikokategorien (modifiziert nach Mach et al. 2019)

Very-high-risk	<p>People with any of the following:</p> <p>Documented ASCVD, either clinical or unequivocal on imaging. Documented ASCVD includes previous ACS (MI or unstable angina), stable angina, coronary revascularization (PCI, CABG, and other arterial revascularization procedures), stroke and TIA, and peripheral arterial disease. Unequivocally documented ASCVD on imaging includes those findings that are known to be predictive of clinical events, such as significant plaque on coronary angiography or CT Scan (multivessel coronary disease with two major epicardial arteries having &gt; 50% stenosis), or on carotid ultrasound.</p> <p>DM with target organ damage<sup>a</sup>, or at least three major risk factors, or early onset of T1DM of long duration (&gt;20 years).</p> <p>Severe CKD (eGFR &lt; 30 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>).</p> <p>A calculated SCORE ≥ 10% for 10-year risk of fatal CVD.</p> <p>FH with ASCVD or with another major risk factor.</p>
High-risk	<p>People with:</p> <p>Markedly elevated single risk factors, in particular TC &gt; 8mmol/L (&gt;310 mg/dl), LDL-C &gt; 4,9 mmol/L (&gt;190 mg/dl), or BP ≥ 180/110 mmHg.</p> <p>Patients with FH without other major risk factors.</p> <p>Patients with DM without target organ damage<sup>a</sup>, with DM duration ≥ 10 years or another additional risk factor.</p> <p>Moderate CKD (eGFR 30-59 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>).</p> <p>A calculated SCORE ≥ 5% and &lt; 10% for 10-year risk of fatal CVD</p>
Moderate-risk	<p>Young patients (T1DM &lt; 35 years; T2DM &lt; 50 years) with DM duration &lt; 10 years, without other risk factors. Calculated SCORE ≥ 1% and &lt; 5% for 10-year risk of fatal CVD.</p>
Low-risk	<p>Calculated SCORE &lt; 1% for 10-year risk of fatal CVD.</p>

ASCVD = atherosclerotic cardiovascular disease; ACS = acute coronary syndrome; BP = blood pressure; CABG = coronary artery bypass graft surgery; CKD = chronic kidney disease; CT = computed tomography; CVD = cardiovascular disease; DM = diabetes mellitus; eGFR = estimated glomerular filtration rate; FH = familial hypercholesterolaemia; LDL-C = low-density lipoprotein cholesterol; MI = myocardial infarction; PCI = percutaneous coronary intervention; SCORE = Systematic Coronary Risk Estimation; T1DM = type 1 DM; T2DM = type 2 DM; TC = total cholesterol; TIA = transient ischaemic attack.

<sup>a</sup>Target organ damage is defined as microalbuminuria, retinopathy, or neuropathy

Tabelle 36: Übersicht der detektierten Sequenzvarianten im LDLR-, APOB- und PCSK9-Gen

Gen	Transkriptvariante	Proteinvariante	Region	Art der Sequenzvariante	PolyPhen2	MutationTaster	Klinische Signifikanz ClinVar (ACMG) <sup>1</sup>	Class Clinical (ACGS)	Anzahl der Träger
<b>APOB</b>	c.10579C>T	p.Arg3527Trp	26	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (6) Uncertain significance (1)	5	1
<b>APOB</b>	c.10580G>A	p.Arg3527Gln	26	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (17), Likely pathogenic (2), Uncertain significance (1)	5	3
<b>LDLR</b>	c.1027G>A	p.Gly343Ser	7	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (5), Likely pathogenic (4), Uncertain significance (4)	4	1
<b>LDLR</b>	c.148G>T	p.Ala50Ser	2	PM (missense)	Benign	Polymorphism	Benign (3), Likely benign (6), Uncertain significance (3)	1	1
<b>LDLR</b>	c.1692delT <sup>n</sup>	p.Asn564Lysfs*5	11	Deletion (frameshift)	x	Disease causing	x	x	2*
<b>LDLR</b>	c.1836C>T	p.Ala612=	12	PM (SV)	x	x	Likely benign (5), Likely pathogenic (1), Uncertain significance (3)	2	1
<b>LDLR</b>	c.530C>T	p.Ser177Leu	4	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (11), Likely pathogenic (4)	4	2*
<b>LDLR</b>	c.798T>A	p.Asp266Glu	5	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (4), Likely pathogenic (9), Likely benign (1), Uncertain significance (1)	4	2
<b>LDLR</b>	c.(2311+1_2312-1)(c.2583+1_?)del <sup>n</sup>		16-18	Deletion	x	x	x	x	2*
<b>LDLR</b>	c.1070_1073dup	p.Cys358*		Duplikation (nonsense)	x	Disease causing	Pathogenic (1)	5	1
<b>LDLR</b>	c.1125C>G <sup>n</sup>	p.Y375*		PM (nonsense)	x	Disease causing	x	x	2*
<b>LDLR</b>	c.1194C>T	p.Ile398=	9	PM (SV)	x	Disease causing	Benign (3), Likely benign (1), Likely pathogenic (1)	1	1

## Anhang

<b>LDLR</b>	c.1246C>T	p.Arg416Trp	9	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (7), Likely pathogenic (6)	4	1
<b>LDLR</b>	c.1247G>A	p.Arg416Gln	9	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (2), Likely pathogenic (2)	4	1
<b>LDLR</b>	c.1444G>A	p.Asp.482Asn	10	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (7), Likely pathogenic (8)	4	2
<b>LDLR</b>	c.1690A>C	p.Asn564His	11	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (4), Likely pathogenic (2), Uncertain significance (2)	3	1
<b>LDLR</b>	c.2397_2405 del	p.(Val800_Leu802del)	17	Deletion (inframe)	x	Polymorphism	Pathogenic (4), Likely pathogenic (4), Uncertain significance (1)	4	1
<b>LDLR</b>	c.1706-10G>A		11	IV	x	Polymorphism	Benign (5), Likely benign (9), Uncertain significance (2)	2	1
<b>LDLR</b>	c.1730G>A	p.Trp577*	12	PM (nonsense)	x	Disease causing	Pathogenic (3), Likely pathogenic (1)	5	1
<b>LDLR</b>	c.1773 C>T	p.Asn591=	12	PM (SV)	x	Polymorphism	Benign (6), Likely benign (2)	1	1
<b>LDLR</b>	c.1875C>T	p.Asn625=	13	PM (SV)	x	Disease causing	Likely benign (7)	2	1
<b>LDLR</b>	c.2000G>A	p.Cys667Tyr	14	PM (missense)	x	Disease causing	Pathogenic (8), Likely pathogenic (4)	4	1
<b>LDLR</b>	c.2054C>T	p.Pro685Leu	14	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (12), Likely pathogenic (4)	4	1
<b>LDLR</b>	c.2328T>C <sup>n</sup>	p.Ala776=	16	PM (SV)	x	Polymorphism	x	x	1
<b>LDLR</b>	c.2416delG	p.Val806Serfs*123	17	Deletion (frameshift)	x	Disease causing	Pathogenic (2)	5	2*
<b>LDLR</b>	c.259T>G	p.Trp87Gly	3	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (7), Likely pathogenic (5)	4	1

## Anhang

<b>LDLR</b>	c.501C>A	p.Cys167*	4	PM (nonsense)	x	Disease causing	Pathogenic (11), Likely pathogenic (1)	5	1
<b>LDLR</b>	c.664T>C	p.Cys222Arg	4	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (2), Likely pathogenic (3), Uncertain significance (1)	4	1
<b>LDLR</b>	c.682G>A	p.Glu228Lys	4	PM (nonsense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (16), Likely pathogenic (1)	4	1
<b>LDLR</b>	c.718G>A	p.Glu240Lys	5	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (4), Likely pathogenic (3), Likely benign (1), Uncertain significance (1)	4	1
<b>LDLR</b>	c.81C>G	p.Cys27Trp	2	PM (missense)	Probably damaging	Disease causing	Pathogenic (3), Likely pathogenic (6), Likely benign (1)	4	1
<b>PCSK9</b>	c.720C>T	p.Gly240=		PM (SV)	x	Disease causing	Benign (5), Likely benign (3), Uncertain significance (2)	x	1
<b>PCSK9</b>	c.1681+17G>A		Intron	IV	x	x	Benign (1), Likely benign (2)	x	1
<b>PCSK9</b>	c.2009A>G	p.Glu670Gly	12	PM (missense)	Benign	Polymorphism	Benign (9), Likely benign (2)	x	11
<b>PCSK9</b>	c.63_65dup GCT	p.Leu23dup	1	Duplikation (inframe)	x	Polymorphism	Benign (7), Likely benign (2)	x	13
<b>PCSK9</b>	c.158C>T	p.Ala53Val	1	PM (missense)	Benign	Polymorphism	Benign (9), Likely benign (2)	x	8
<b>PCSK9</b>	c.1487G>A	p.Arg496Gln	9	PM (missense)	Probably damaging	Pathogen	Pathogenic (1) Benign (1), Likely benign (1), Uncertain significance (2)	x	2

\* bestehendes Verwandtschaftsverhältnis, <sup>n</sup> neue Mutation; ACGS Association for Clinical Genetics and Science, x = Information nicht verfügbar, SV = synonyme Variante, IV = Intron Variante,

<sup>1</sup>Nummern in Klammern beziehen sich auf die Anzahl der Autoren welche die Variante entsprechend bewerteten

Tabelle 37: LDL-C-Konversionstabelle; modifiziert nach Haralambos et al. und Walma et al. (130, 131)

Therapie (mg/Tag)	Korrekturfaktor*
<b>Ezetimib</b>	
10	1,2
<b>Pravastatin</b>	
10	1,2
20	1,3
40	1,5
<b>Pravastatin + Ezetimib</b>	
10 + 10	1,5
20 + 10	1,6
40 + 10	1,7
<b>Simvastatin</b>	
10	1,4
20	1,6
40	1,7
80	1,9
<b>Simvastatin + Ezetimib</b>	
10 + 10	1,9
20 + 10	2,0
40 + 10	2,3
80 + 10	2,4
<b>Atorvastatin</b>	
10	1,6
20	1,8
40	2,0
80	2,2
<b>Atorvastatin + Ezetimib</b>	
10 + 10	2,0
20 + 10	2,2
40 + 10	2,2
80 + 10	2,5
<b>Rosuvastatin</b>	
5	1,8
10	1,9
20	2,1
40	2,4
<b>Rosuvastatin + Ezetimib</b>	
10 + 10	2,5
20 + 10	2,7
40 + 10	3,3
<b>Fluvastatin</b>	
10	1,2
20	1,3
40	1,4
80	1,5

\* Entsprechender Korrekturfaktor ist mit der LDL-C Konzentration unter Therapie zu multiplizieren



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck - Ratzeburger Allee 160 - 23538 Lübeck

Herrn  
Prof. Dr. med. Sebastian Schmid  
Medizinische Klinik I

im Hause

#### Ethik-Kommission

Vorsitzender:  
Herr Prof. Dr. med. Alexander Katalinic  
Stellv. Vorsitzender:  
Herr Prof. Dr. med. Frank Gieseler

Ratzeburger Allee 160  
23538 Lübeck

Sachbearbeitung: Frau Janine Erdmann  
Tel.: +49 451 3101 1008  
Fax: +49 451 3101 1024  
ethikkommission@uni-luebeck.de

Aktenzeichen: 19-396

Datum: 03. Dezember 2019

#### **Familiären Hypercholesterinämie: Charakterisierung eines norddeutschen Patientenkollektivs – eine retrospektive anonyme Datenauswertung**

Sehr geehrter Herr Prof. Schmid,

mit o.g. Schreiben informierten Sie uns über o.g. Studienvorhaben.

Es lagen folgende Unterlagen vor:

- Ihr Anschreiben vom 18. November 2019
- Anschreiben Endokrinologikum in Hamburg vom 16. August 2019 und Stellungnahme der Ethik-Kommission der Ärztekammer Hamburg vom 27. August 2019.

Die Ethik-Kommission nimmt das von Ihnen in Ihrem Anschreiben beschriebene Vorhaben zur Kenntnis. Eine Behandlung im normalen Antragsverfahren wird nicht für notwendig erachtet.

Mit freundlichen Grüßen

A blue ink handwritten signature, appearing to read 'Alexander Katalinic', written over a horizontal line.

Prof. Dr. med. Alexander Katalinic  
Vorsitzender

## 8 Danksagungen

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Martin Merkel, der mir nicht nur mein Dissertationsthema überlassen hat und ein exzellenter Betreuer war, sondern auch meine Begeisterung wissenschaftlich zu arbeiten geweckt hat. Vielen Dank für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes, die gute Zusammenarbeit und für Ihre Ratschläge, Betreuung und Unterstützung.

Außerdem möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Sebastian M. Schmid bedanken, der mich als Doktorandin angenommen und mitbetreut hat. Danke für Ihr Vertrauen, Ihre beständige Hilfestellung und die gute fachliche Betreuung.

Abschließend danke ich meiner Familie, die mich erneut, wie bei all meinen bisherigen Vorhaben, bedingungslos unterstützt hat und mir immer das Gefühl gibt auf dem richtigen Weg zu sein. Ein großer Dank geht vor allem an meine Schwester, deren Wissen über den Fettstoffwechsel als Nicht-Medizinerin inzwischen exzeptionell sein müsste.

## 9 Lebenslauf



### Persönliche Daten

Name Louisa Lehner  
Geburtsdatum 25.12.1993  
Geburtsort Salzburg

### Ausbildung

09/2015 – 07/2019 Studium der Humanmedizin am Asklepios Campus Hamburg der Semmelweis Universität Budapest; Abschluss: Diplom  
09/2013 – 06/2015 Studium der Humanmedizin an der Semmelweis Universität Budapest  
09/2004 – 06/2012 Hochschulreife Akademisches Gymnasium Salzburg

### Zeitraum der Dissertation

07/2018 – 07/2019 Literaturrecherche  
07/2019 – 11/2019 Planung und Datenerhebung  
12/2019 – 03/2020 Ausarbeitung der Promotionsarbeit

### Abstracts und Kongressbeiträge

03/2020 Severe Hypercholesterolemia: Familial or not? A real-life perspective  
L. Lehner, S. M. Schmid, W. März, M. Merkel  
German Society of Endocrinology 2020 (Poster)  
Vascular Medicine and Atherosclerosis Congress 2020 (Poster)

02/2020 Familiär oder nicht? Differentialdiagnostik der schweren  
Hypercholesterinämie in der Praxis  
L. Lehner, S. M. Schmid, M. Merkel  
amedes-Tag der Medizin und Wissenschaft 2020 (Poster)

03/2019 Mutation spectrum of patients with suspected familial hypercholesterolemia  
L. Lehner, A. Gröning, R. Glaubitz, M. Merkel  
German Society of Endocrinology 2019 (Poster)