

Troponin T als Serumbiomarker zur Unterteilung von Endophänotypen der Amyothrophen Lateralsklerose

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Barbara-Luise Maria Radermacher

aus Würselen

2022

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: PD. Dr. med. Patrick Weydt
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Lorenz Grigull

Tag der Mündlichen Prüfung: 07.10.2022

Aus der Klinik für Neurodegenerative Erkrankungen
Direktor: Prof. Dr. med. Michael Heneka

Für meine Familie
In liebevollem Gedenken an meine Großeltern

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	7
1.	Einleitung	9
1.1	ALS	9
1.1.1	Epidemiologie	9
1.1.2	Ätiologie und Pathogenese	9
1.1.3	Histopathologie.....	10
1.1.4	Klinik.....	11
1.1.5.	Diagnostik	14
1.1.6	Differentialdiagnosen.....	16
1.1.7	Krankheitsverlauf und Prognose	16
1.1.8.	Therapie	17
1.2	Biomarker	18
1.2.1	Biomarker bei Amyotropher Lateralsklerose	18
1.2.2.	Troponine	19
1.2.3	Troponine bei Neuromuskulären Erkrankungen	21
1.3	Zielsetzung der Arbeit	22
2.	Material und Methoden	24
2.1	Studiendesign.....	24
2.2	Studienkollektiv	24
2.3	Datenerhebung.....	26
2.4	Biomaterialproben	26
2.5	Statistische Auswertung	27
3.	Ergebnisse	29
3.1	Basischarakteristika Studienkollektiv	29
3.2	Erste verfügbare Bestimmung kardialer Troponinisoformen im Serum ..	34
3.2.1	Deskriptive Statistik	34
3.2.2	Schwellenwertdefinition mittels ROC - Analyse.....	39

3.2.3	Zusammenhang zwischen hs-cTnT Serumkonzentration und klinischen Parametern	45
3.3	Bestimmung kardialer Troponinisoformen im Krankheitsverlauf.....	48
3.3.1	Änderung der Serumkonzentrationen kardialer Troponinisoformen über die Zeit	48
3.3.2	Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration kardialer Troponinisoformen und der Erkrankungsdauer	50
3.3.3	Überlebenszeitanalyse	51
4.	Diskussion	53
5.	Zusammenfassung.....	63
6.	Abbildungsverzeichnis	65
7.	Tabellenverzeichnis	67
8.	Literaturverzeichnis	69
9.	Danksagung.....	85

Abkürzungsverzeichnis

ACS	Akutes Koronarsyndrom (<i>engl. Acute Coronary Syndrome</i>)
ALS	Amyotrophe Lateralsklerose
ALS-FRSr	Revidierte ALS-Funktionsskala (<i>engl. ALS-Functional Rating Scale Revised-Score</i>)
AUC	Fläche unterhalb der Kurve (<i>engl. Area Under the Curve</i>)
BMI	Body-Mass-Index [kg/m ²]
CI	Konfidenzintervall (<i>engl. Confidence Interval</i>)
hs-cTnI	Hochsensitives kardiales Troponin I [ng/l]
hs-cTnT	Hochsensitives kardiales Troponin T [ng/l]
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECAS	Engl. Edinburgh Cognitive and Behavioral ALS Screen
fALS	Familiäre ALS
FAS	Flail-Arm-Syndrom
FLS	Flail-Leg-Syndrom
FPR	Falsch-Positiv-Rate (<i>engl. False Postive Rate</i>)
FTD	Frontotemporale Demenz
IQA	Interquartilsabstand
LMN	unteres Motoneuron (<i>engl. lower motoneuron oder 2. Motoneuron</i>)
m	Mittelwert (<i>engl. Mean</i>)
Mdn	Median
MND	Motoneuronerkrankung (<i>engl. Motoneurondisease</i>)
n	Größe der Grundgesamtheit
n.a.	Keine Angabe (<i>engl. not available</i>)
Nf	Neurofilament
NME	Neuromuskuläre Erkrankung
NNMK	Nicht neuromuskuläre Konditionen
PBP	Progressive Bulbärparalyse
PLS	Primäre Lateralsklerose
PMA	Progressive Muskelatrophie

r	Korrelationskoeffizient
ROC	Schwellenwertanalyse (<i>engl. Receiver Operating Curve</i>)
sALS	Sporadische Amyotrophe Lateralsklerose
SD	Standardabweichung (<i>engl. Standard Deviation</i>)
SEM	Standardfehler des Mittelwertes (<i>engl. Standard Error of Mean</i>)
SOP	Standardisiertes Vorgehen (<i>engl. Standard Operating Procedure</i>)
ssTn	Troponin der Typ-I Skelettmuskelfasern (<i>engl. slow skeletal troponin</i>)
TDP-43	<i>Engl. TAR DNA-binding Protein 43</i>
TPR	Richtig-Positiv-Rate (<i>engl. True Positive Rate</i>)
UMN	Oberes Motoneuron (<i>engl. Upper MotoNeuron</i> oder 1. Motoneuron)
UNE	Ulnarisneuropathie am Ellenbogen

Griechische Formelzeichen

α	Signifikanzniveau, p-Wert (<0,05)
γ_m	Schiefe
ϕ	Test auf Normalverteilung
ω	Kurtosis
Δ	Mittlere Änderung

1. Einleitung

1.1 ALS

Die zum Formenkreis der Motoneuronerkrankungen (MND) gehörende Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) wurde erstmals im 19. Jahrhundert durch J.M. Charcot namentlich erwähnt. Dieser beschrieb eine Erkrankung autoptisch feststellbarer Sklerosierung der Seitenstränge des Rückenmarks (Lateralsklerose) und eine damit einhergehende Amyotrophie der Skelettmuskulatur (Charcot, 1874). Das gegenwärtige Verständnis der ALS hat sich von dem einer reinen MND, wie sie Charcot beschrieb, distanziert. Aufgrund neuropathologischer, bildgebender, genetischer und klinischer Erkenntnisse wird sie heutzutage als Multisystemerkrankung mit vorwiegender Degeneration des motorischen Nervensystems verstanden (Hübers et al., 2016; van Es et al., 2020).

1.1.1 Epidemiologie

Die ALS stellt mit einer Inzidenz von 1,2 – 4,0/100.000 Einwohner die häufigste Motoneuronerkrankung in der kaukasischen Bevölkerung dar (Gordon, 2013). Die Prävalenz in der europäischen Bevölkerung beträgt 2,6 - 3,0/100.000 Einwohner. Inzidenz als auch Prävalenz steigen mit zunehmendem Alter. Der Altersgipfel der ALS liegt bei 50 - 75 Jahren, wobei das mediane Alter zu Erkrankungsbeginn mit 65 Jahren angegeben wird. Männer erkranken 1,2 - 1,5-mal häufiger an ALS als Frauen. Das Lebenszeitrisiko an ALS zu erkranken liegt für Männern bei 1:350, jenes für Frauen bei 1:400 (Van Es et al., 2017). Angesichts des demographischen Wandels und einer allgemein steigenden Lebenserwartung, wird in Deutschland bis 2050 ein Anstieg der Prävalenz auf 9,2 - 9,8/100.000 Einwohner erwartet (Rosenbohm et al., 2017).

1.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Ätiologie und Pathogenese der ALS und aller ihr zugehörigen Krankheitsentitäten sind bis dato nicht allumfassend verstanden. 90 – 95 % aller ALS Erkrankungen treten sporadisch (sALS) auf, lediglich 5 – 10 % in Form einer familiären ALS (fALS) (Andersen, 2000). Nach gegenwärtigen Erkenntnissen handelt es sich bei der beobachteten Neurodegeneration

um einen mehrzeitigen Prozess unterschiedlichen Einflusses genetischer und umweltbedingter Faktoren (Al-Chalabi und Hardiman, 2013; Al-Chalabi et al., 2014; Chen et al., 2013). Diskutiert wird die selektive Vulnerabilität bestimmter Neurone gegenüber Glutamat Exzitotoxizität, oxidativem Stress, mitochondrialer Dysfunktion, Proteinaggregaten, Neuroinflammation, Fehlfunktionen der Zytoskelettdynamik, der RNA-Homöostase und der DNA-Reparatur (Desoxyribonukleinsäure) (Kiernan et al., 2011; Turner et al., 2013; Oeckl et al., 2019). Insgesamt stehen 15 % aller Fälle, ungeachtet ob fALS oder sALS, im Zusammenhang mit zumeist autosomal dominanten Mutationen einzelner Gene oder Hexanukleotid-Repeat-Expansionen (Al-Chalabi et al., 2017). In Mitteleuropa stellen die Mutationen des Chromosome-9-Open-Reading-Frame-72 (C9orf72) und des Kupfer-Zink-Superoxid-Dismutase-1-Gens (SOD1) die beiden häufigsten der bislang bekannten ALS assoziierten Mutationen dar (Al-Chalabi et al., 2017; Müller et al., 2018; Renton et al., 2014). Letztere ist eine zentrale Verknüpfung zwischen den sich klinisch, als auch histopathologisch überschneidenden Entitäten ALS und Frontotemporale Demenz (FTD) (Hübers et al., 2016).

1.1.3 Histopathologie

Histopathologisches Charakteristikum der ALS sind neben der Degeneration von Motoneuronen, astrozytäre Gliosen und ubiquitin-haltige intrazelluläre Einschlüsse (Wharton und Ince, 2003). Bei 97 % aller ALS Patienten (ausgenommen SOD1- und FUS-Mutationsträger) und 50% der Fälle frontotemporaler Demenz enthalten diese Inklusionen hyperphosphoryliertes Transactive response DNA binding protein 43 kDa (TDP-43) (Blokhuys et al., 2013; Neumann et al., 2006). Im Krankheitsverlauf der ALS zeigt sich eine kortikofugal axonale Ausbreitung dieser initial im frontotemporalen Kortex und Vorderhorn des Rückenmarks nachweisbaren Einschlüsse (Brettschneider et al., 2013). Akkumulationen des durch das TAR-DNA-binding protein gene (TARDBP) codierten Proteins sind folglich auch in nicht-motorischen kortikalen und subkortikalen Regionen nachweisbar (Braak et al., 2013).

1.1.4 Klinik

Zu den Kardinalsymptomen der ALS und allen ihr zugehörigen Krankheitsentitäten zählen die Progression, der weitest gehende Erhalt sensibler und sensorische Funktionen sowie die Paralyse, als Endstadium motoneuronaler Degeneration. Gleichwohl besteht ein breites Spektrum möglicher Ausprägungen und Verläufe dieses klinisch heterogenen Krankheitsbildes (Grad et al., 2017; Turner und Jenkins, 2020). Namensgebendes Merkmal ist die simultane fortschreitende Schädigung des ersten (UMN) und des zweiten (LMN) Motoneurons. Der Untergang kortikaler Motoneurone imponiert durch zentrale Paresen mit erhöhtem Muskeltonus, Muskelkrämpfen, Spastik, Rigor, Störungen der Feinmotorik und der Präsentation gesteigerter (überspringend, kloniforme MER mit Verbreiterung der Reflexzonen) sowie pathologischer Reflexe (z.B. Babinski-, Gordon-, Oppenheim-Reflex). Durch Degeneration von Alpha-Motoneuronen in Hirnstamm und Vorderhorn des Rückenmarks bedingte periphere Paresen gehen mit Faszikulationen, Krampi, reduziertem Muskeltonus bis hin zu Atonie, sowie Hypo- und Areflexie einher. Im Gegensatz zu Faszikulationen an Rumpf- und Extremitäten sind Fibrillationen einer bilater atrophen Zunge hoch spezifisch für das Erkrankungsbild der ALS. Es ist zu beachten, dass in der klinischen Untersuchung ein Überwiegen von Symptomen des LMNs jene Zeichen des UMN maskieren kann. Neben der klassischen ALS mit gleichsam starker Affektion des UMN und LMN, existieren Phänotypen UMN- und LMN-prädominanter Verläufe. Maximalvarianten stellen die Primäre Lateralsklerose (PLS) und die Progressive Muskelatrophie (PMA) dar. Bei diesen sind in der klinischen Untersuchung ausschließlich Degenerationszeichen eines der beiden Motoneurone nachweisbar (Brown und Al-Chalabi, 2017; Kiernan et al., 2011; Rowland und Shneider, 2001).

Ein weiteres Charakteristikum der ALS ist ein fokaler, meist distal betonter, asymmetrischer Krankheitsbeginn. Bei etwa zwei Drittel der Patienten manifestiert sich die Erkrankung in Form spinaler Symptome. Beuge- und Streckmuskulatur einzelner Gelenke scheinen dabei in unterschiedlichem Maße von Atrophie und Paresen betroffen zu sein. Häufige Erstsymptome sind Fußheberschwächen oder atrophe Paresen der Thenarmuskulatur unter Aussparung der Hypothenarmuskulatur (sog. Split-Hand-Phänomen) (Al-Chalabi et al., 2019; Hübers et al., 2016). Bei etwa einem Drittel der Patienten manifestiert sich die ALS in Form von bulbären Defiziten. Neben Dysarthrie, Dysphagie und Pseudohypersalivation als Ausdruck der Läsion motorischer

Hirnnervenkerne, werden Zeichen supranukleärer Schädigung beschrieben. Dazu zählen Laryngospasmen, eine eher gepresste nasale Sprache sowie pseudobulbäre Affektstörungen. Letztere äußern sich in situativ nicht adäquaten, von Betroffenen als zur tatsächlichen Gemütslage inkongruent und schwer kontrollierbar empfundenen, Gefühlsäußerungen, wie pathologischem Weinen, Lachen oder Gähnen (Al-Chalabi et al., 2019; Brown und Al-Chalabi, 2017; Turner und Jenkins, 2020). Während respiratorische Insuffizienz die häufigste Todesursache im Zusammenhang mit ALS darstellt, weisen nur drei bis fünf Prozent der Patienten eine thorakale beziehungsweise respiratorische Erstmanifestation auf. Sie wird beispielsweise durch morgendliche Zephalgie und vermehrte Tagesmüdigkeit bei nächtlicher Hypoventilation, den Einsatz der Atemhilfsmuskulatur, Dyspnoe, Orthopnoe oder eine Schwäche der axialen Haltemuskulatur mit verminderter Extension der Halswirbelsäule (sog. Dropped-Head-Syndrom) apparent (Turner und Jenkins, 2020). Anhand der oben geschilderten Region klinischer Erstmanifestation werden die Phänotypen spinal beginnende und bulbär beginnende ALS definiert. Im Krankheitsverlauf der ALS kommt es zur konsekutiven Ausbreitung von Paresen auf Innervationsgebiete kortikal und spinal benachbarter, sowie funktionell verbundener Motoneurone. Dies zeigt sich beispielsweise im Übergreifen von Symptomen auf ipsilateral als auch kontralateral angrenzende Körperregionen (Ravits, 2014). Obgleich die Region klinischen Erstmanifestation auch bei fortgeschrittener Erkrankung den höchsten Grad funktioneller Einschränkung aufweist, entwickeln Patienten mit bulbärem Erkrankungsbeginn ebenso spinale Symptome, sowie umgekehrt. Folglich gehen die nach Erstmanifestation definierten Phänotypen im Krankheitsverlauf häufig ineinander über, unterscheiden sich jedoch prognostisch. (Ravits und La Spada, 2009; Ravits, 2014). Ausnahmen des bei der klassischen ALS zu beobachtenden Ausbreitungsmusters stellen das Flail-Arm-Syndrom (FAS; Synonym: Vulpian-Bernhardt-Syndrom), das Flail-Leg-Syndrom (FLS) und die progressive Bulbärparalyse (PBP) dar. FAS und FLS sind LMN-prädominante Varianten der ALS. Namensgebende Charakteristika, des vor allem Männer betreffenden FAS (4:1), sind initial unilaterale und im späteren Verlauf symmetrische schlaffe Paresen der oberen Extremität ohne signifikante Paresen der unteren Extremität oder Einschränkungen bulbärer Funktionen. In der klinischen Untersuchung dieser zu brachialer Diplegie führenden Variante der ALS zeigt sich ein prominenter Muskelschwund im Bereich des Schultergürtels.

Demgegenüber ist das deutlich seltenere FLS durch eine schlaffe Paraparese der unteren Extremität gekennzeichnet. Das Paresemuster beider Varianten generalisiert im Laufe der Erkrankung. Gegenüber der klassischen ALS weisen FAS und FLS jedoch eine deutlich langsamere Progredienz mit entsprechend längerer Überlebenszeit auf (Wijesekera et al., 2009). Die vor allem Frauen höheren Alters betreffende Progressive Bulbärparalyse ist eine UMN-prädominante Verlaufsform der ALS mit initial isolierter Affektion der oropharyngealen Muskulatur. Charakteristisch ist eine rasche Progression, welche durchschnittlich innerhalb von 6 - 12 Monaten zu einer vollständigen Anarthrie mit erhöhter Aspirationsgefahr führt. Entgegen früherer Annahmen entwickeln fast alle Betroffenen im Verlauf der Erkrankung Symptome in extrabulbären Segmenten. Die mittlere Überlebenszeit von zwei bis vier Jahren gleicht der der klassischen ALS. Angesichts der oben genannten Aspekte werten einige Autoren die PBP als historischer Begriff einer missinterpretierten ALS bulbären Beginns und empfehlen diese Terminologie zu meiden (Karam et al., 2010; Kiernan et al., 2011; Turner und Jenkins, 2020).

Neben der oben beschriebenen motorischen Manifestation der ALS besteht eine Vielzahl nicht-motorischer Symptome. Bis zu 50% der ALS Patienten zeigen kognitive Defizite und Verhaltensauffälligkeiten in der mit Hilfe des Edinburgh Cognitive and Behavioral ALS Screen (ECAS) standardisierten neuropsychologischen Testung. Einschränkungen exekutiver Funktionen, ein verminderter Sprachfluss und Wortfindungsstörungen dominieren das neuropsychologische Profil der Betroffenen (Abrahams et al., 2014; Beeldman et al., 2016; Niven et al., 2015). Während die oben genannten Defizite in einem Großteil der Fälle subklinisch bleiben und die Diagnosekriterien einer Demenz nicht erfüllen, präsentieren 5 – 15 % der ALS Patienten das klinische Vollbild einer behavioralen Variante der Frontotemporalen Demenz. Patienten mit ALS-FTD zeigen, bei weitgehendem Erhalt der Gedächtnisfunktionen, häufig sozialen Rückzug, Apathie, verminderte Urteilsfähigkeit, sozial unangemessen erscheinendes Verhalten mit verminderter Empathie sowie Einschränkungen der Impulskontrolle. Die oben aufgeführten neuropsychologischen Auffälligkeiten gehen den motorischen Defiziten meist zeitlich voraus, wobei Betroffene die durch ihr Umfeld beschriebene Persönlichkeitsveränderung meist negieren (Phukan et al., 2012; Strong et al., 2017). Genetisches sowie histopathologisches Korrelat der klinischen Überschneidung von ALS und FTD sind die in beiden Erkrankungen vorkommende Repeat-Expansion in C9orf72

und der Nachweis von TDP 43 Pathologien (Neumann et al., 2006). Ein weiteres nichtmotorisches Kennzeichen der ALS ist ein signifikanter Gewichtsverlust im Krankheitsverlauf. Dessen Umfang kann nicht allein durch Myopathie und verminderte Kalorienzufuhr bei Dysphagie bedingter Aspirationsgefahr erklärt werden. Vielmehr wird von einem multifaktoriell bedingten Hypermetabolismus im Rahmen der Amyotrophen Lateralsklerose ausgegangen. Diese Hypothese wird durch den Nachweis von Atrophie und TDP-43-Pathologien des Hypothalamus untermauert (Gorges et al., 2017; Mariosa et al., 2017; Vercruysse et al., 2018). Hinsichtlich weiterer nicht-motorischer Funktionen bleiben höhergradige Funktionseinschränkungen der Harnblasen-, Analsphinkter- und Augenmuskulatur in der Regel aus. Eine Beteiligung in fortgeschrittenem Stadium der Erkrankung ist jedoch möglich. Eine Ausnahme bildet der bei PLS bereits in frühen bis mittleren Krankheitsstadien beschriebene imperative Harndrang. Pathologien der epikritischen, protopatischen und propriozeptiven Sensibilität sind eher selten und primär als Folge von Kontrakturen, Immobilität, Spastik und Rigor zu werten (Brown und Al-Chalabi, 2017; Gordon et al., 2009; Gordon, 2013;).

Zusammenfassend ist die ALS eine facettenreiche Erkrankung mannigfaltiger klinischer Manifestationen. Nicht-motorische Symptome untermauern das revidierte Bild der ALS als eine über reine motoneuronale Degeneration hinausreichende Erkrankung.

1.1.5. Diagnostik

Die ALS ist eine klinische Diagnose. Apparative und laborchemische Basis- sowie Zusatzdiagnostik (vgl. Tab. 1) dienen primär dem Ausschluss möglicher Differentialdiagnosen (ALS-Mimics) (Hansel et al., 2018; Ludolph, 2016). Die ursprünglich zu Studienzwecken von der World Federation of Neurology 1994 in El Escorial (Spanien) festgelegten und 2000 revidierten Kriterien bilden bis dato den international anerkannten Standard bei der Diagnosestellung der ALS. Sie wurden 2006 um die Awaji-Kriterien ergänzt, welche die Relevanz elektrophysiologischer Untersuchungen gegenüber denen klinischer Befunde stärken. Anhand der Befundkonstellation von Schädigungszeichen des ersten und zweiten Motoneurons in den vier Körperregionen bulbär, zervikal, thorakal und lumbosakral erfolgt die Einteilung in sichere, wahrscheinliche, wahrscheinliche

laborgestützte und mögliche ALS (Brooks, 1994; Brooks et al., 2000; Carvalho et al., 2008).

Tab. 1: Diagnostisches Vorgehen bei V.a. MND im Sinne einer ALS (mod. nach Ludolph, 2016)

Basisdiagnostik (obligat)
Klinisch neurologische Untersuchung
Standardisierte neuropsychologische Testung (ECAS)
Elektrophysiologische Untersuchungen (Elektromyographie, Elektroneurographie)
Kraniale/spinale Bildgebung (Magnetresonanztomographie)
Blutgasanalyse und Lungenfunktionsuntersuchung (evtl. polygraphische Untersuchungen)
Laborchemische Analysen (Blutsenkungsgeschwindigkeit, C-reaktives Protein, Blutbild, Glutamat-Oxalat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Thyrotropin, Trijodthyronin, Thyroxin, Vit.B12 (Homocystein), Kreatinkinase, Kreatinin, Elektrolyte, Glukose, Serumeiweiß- und Immunelektrophorese)
Dokumentation Gewicht, Größe, Body-Mass-Index, ALS-FRS
Zusatzdiagnostik (fakultativ) u.a.
Liquor Diagnostik
Muskelbiopsie
Serologie (u.a. Borrelien, Lues, Humanes Immundefizienz-Virus)
Erweiterte laborchemische Analysen (u.a. Angiotensin Converting Enzyme, Hexosaminidase A und B, Antinukleärer Antikörper, Anti-DNA)
Untersuchung der Schluckfunktion (u.a. mittels Videoendoskopie)
Genetische Diagnostik (Voraussetzung: pos. Familienanamnese, genetische Beratung, Einverständnis des Patienten)
ECAS = Edinburgh Cognitive and Behavioral ALS Screen

Die Anwendung der revidierten El-Escorial-Kriterien im klinischen Alltag zeigt jedoch, dass diese die Heterogenität der verschiedenen ALS Phänotypen mit entsprechend divergierender Krankheitsprogression und Prognose unzureichend erfassen. Einzelne Subgruppen, wie PLS und PMA sind bislang von den El-Escorial-Kriterien ausgeschlossen, obgleich wissenschaftliche Erkenntnisse nahelegen, dass es sich um Varianten derselben Krankheitsentität handelt (Ince et al., 2003; Müller et al., 2018a; Müller et al., 2018b; Swinnen und Robberecht, 2014). Die bestehenden Verzögerungen

bei Diagnosestellung von durchschnittlich 12 Monaten ab Symptombeginn konnten zudem nicht minimiert werden. Angesichts der oben partiell explorierten Problematiken mahnen Wissenschaftler die kritische Reflexion der El-Escorial-Kriterien im klinischen Alltag und empfehlen primär den studiengebundenen Einsatz selbiger (Agosta et al. 2015; Cellura et al., 2012; Paganoni et al., 2014). Die 2015 und jüngst 2020 veröffentlichten Novellierungen sollen das Spektrum möglicher Phänotypen inklusive PLS, PMA, PBP, FAS und FLS besser erfassen, Hürden zur sicheren Diagnosestellung minimieren und somit Patienten einen frühzeitigen Therapiebeginn bzw. Studieneinschluss ermöglichen (Ludolph et al., 2015; Shefner et al., 2020; Turner et al., 2020). Für die PLS wurde kürzlich ein eigener diagnostischer Konsensus verabschiedet (Turner et al., 2020).

1.1.6 Differentialdiagnosen

In Anbetracht der infausten Prognose und teils kausal therapierbarer Differentialdiagnosen ist der Ausschluss möglicher ALS-Mimics essentieller Bestandteil der Diagnosestellung einer ALS. Mögliche Mimics sind jene Erkrankungen, die ebenfalls mit Degeneration des ersten und, oder des zweiten Motoneurons einhergehen. Neben anderen Erkrankungen des neurodegenerativen Formenkreises inklusive neuromuskulärer Entitäten müssen strukturellen Läsionen, metabolische, infektiöse und immunologische Ursachen in Betracht gezogen werden. Diese umfassen unter anderem die Zervikale Spinalkanalstenose, die Spinale Muskelatrophie, die Hereditäre spastische Paraparese, die Einschlusskörperchenmyositis und die Spinobulbäre Muskelatrophie Typ Kennedy (Hansel et al., 2018; Turner und Jenkins, 2020).

1.1.7 Krankheitsverlauf und Prognose

Ausmaß und Progression funktioneller Defizite variieren interindividuell, während der intraindividuelle Krankheitsverlauf eine gewisse Linearität aufweist (Proudfoot et al., 2016). Die Überlebenszeit ab Symptombeginn wird dabei im Wesentlichen durch die Affektion der Atemmuskulatur inklusive des Diaphragmas mit konsekutiv respiratorischer Insuffizienz bestimmt (Chiò et al., 2009; Logroscino et al., 2010). Indikatoren für einen rasch progredienten Verlauf sind ein hohes Alter bei Erkrankungsbeginn, bulbäre oder respiratorische Erstmanifestation, die Präsentation kognitiver Defizite im Sinne einer

frontotemporalen Affektion sowie Untergewicht. Als prognostisch günstig gelten demgegenüber ein spinaler Beginn, ein niedriges Alter zu Erkrankungsbeginn (vor dem 40. Lebensjahr), ein hoher BMI sowie eine lange Latenz zwischen Symptombeginn und definitiver Diagnosestellung (Chiò et al., 2009; Daglas et al., 2018; Elamin et al., 2013; Kiernan et al., 2011; Shimizu et al., 2019). Patienten mit bulbärer Erstmanifestation versterben im Schnitt nach 2-3 Jahren, jene mit spinaler Erstmanifestation nach 3-5 Jahre. Verlaufsformen wie FAS, FLS, PLS und PMA sind mit einem längeren Überleben assoziiert (Kiernan et al., 2011; Wijesekera et al., 2009). Goldstandard zur Erfassung von Schwere und Progression der Erkrankung bildet die revidierte ALS-Funktionskala (ALS-FRSr) (Cedarbaum et al., 1999). Mit Hilfe von 12 ordinalskalierten Items werden Beeinträchtigungen in den vier Domänen bulbäre Funktion, Feinmotorik, Grobmotorik und Respiration erfasst. Für jedes Item kann ein Punktwert zwischen Null (= Verlust der Funktion) und Vier (= uneingeschränkte Funktion) vergeben werden. Der maximal erreichbare Punktwert von 48 Punkten bedeutet demzufolge die Abwesenheit jeglicher Funktionseinschränkungen (Abdulla et al., 2013; Kaufmann et al., 2007; Miano et al., 2004; Proudfoot et al., 2016).

1.1.8. Therapie

Die ALS erfordert patientenzentrierte, multimodale und interdisziplinäre Behandlungskonzepte. Angesichts fehlender kurativer Therapieoptionen stehen Symptomkontrolle und Krankheitsmodifikation im Vordergrund. Neben Pharmakotherapie, nicht-invasiver Heimbeatmung und der Anlage einer perkutan endoskopischen Gastrostomie sind supportiv-therapeutische Maßnahmen wie Physiotherapie, Ergotherapie, Logopädie, Hilfsmittelversorgung, psychosoziale und palliativmedizinischer Begleitung zentrale Elemente zur Symptomkontrolle, dem Erhalt und der Förderung von Lebensqualität, Teilhabe an sozialem Leben und größtmöglicher Autonomie (Andersen et al., 2012; Ludolph, 2016; Martin et al., 2017). Zu den krankheitsmodifizierenden Medikamenten zählen neben dem oral verfügbaren Glutamat-Antagonisten Riluzol, das bislang nur in intravenöser Formulierung verfügbare Antioxidans Edavarone und der Monoaminoxidase-B-Hemmer (MAO-B-Hemmer) Rasagilin. Im Gegensatz zu Riluzol sind letztere nur als Zusatztherapie im Rahmen

individueller Heilversuche zugelassen (Abe et al., 2017; Fang et al., 2018; Ludolph et al., 2018). Übereinstimmend mit der Annahme einer Multisystemerkrankung wird im Rahmen gegenwärtiger Forschungen eine Vielzahl verschiedener pharmakotherapeutischer Zielstrukturen untersucht (Wobst et al., 2020). Eine dieser Zielstrukturen steigenden Interesses ist Troponin und dessen pharmakotherapeutische Beeinflussung mittels Troponin-C-Aktivatoren (Al-Chalabi et al., 2019; Shefner et al., 2020).

1.2 Biomarker

Biomarker sind objektiv messbare Merkmale und Indikatoren normaler biologischer, pathologischer Prozesse sowie pharmakologischer Reaktionen auf therapeutische Interventionen. Ein valider diagnostischer, prognostischer beziehungsweise prädiktiver Biomarker vermag es sowohl lang überdauernde Eigenschaften als auch Zustandsänderungen abzubilden (Atkinson et al., 2001). Ihre Erforschung vertieft das Krankheitsverständnis durch die Exploration zugrundeliegender pathophysiologischer Mechanismen und vermag vice versa Ziele neuer Therapieansätze aufzuzeigen (Verber et al., 2019).

1.2.1 Biomarker bei Amyotropher Lateralsklerose

Die ALS ist eine heterogene Entität mit beschränkten krankheitsmodifizierenden und fehlenden kurativen Therapieansätzen. Umso wichtiger erscheint die Identifizierung sensitiver und zugleich spezifischer Biomarker, die eine frühe Diagnosestellung stützen, Krankheitsprogression erfassen, Stratifizierung von Patienten erlauben und ein mögliches Ansprechen auf pharmakotherapeutische Interventionen evaluieren. Die bisher in Zusammenhang mit ALS untersuchten Biomarker umfassen ein breites Spektrum biochemischer Analysen von Liquor, Blut, Speichel und Urin, bildgebende und elektrophysiologische Untersuchungen sowie biometrische Daten (Verber et al., 2019; Verber und Shaw, 2020; Vu und Bowser, 2017). Besonderes Interesse gilt Neurofilamenten (Nf), respektive deren nach Molekulargewicht und Phosphorylierungsgrad definierten Untereinheiten NfL (neurofilament light chain) und pNfH (phosphorylated neurofilament heavy chain), welche im Liquor als auch Serum von ALS Betroffenen nachweislich erhöht sind. Studien wiesen in symptomatischen als auch

präsymptomatischen Patienten ihre diagnostische Wertigkeit und die Korrelation zwischen Höhe der Nf und der Progressionsgeschwindigkeit der Erkrankung nach (Lu et al., 2015; Verde et al., 2019; Weydt et al., 2016). Neurofilamente, Marker neuroaxonalen Schadens, und Kreatinkinase, Marker muskulärer Denervation sind in Liquor und Serum anderen neurodegenerativen Erkrankungen ebenfalls erhöht. Folglich sind diese nicht ALS-spezifisch (Hansel et al., 2018; Poesen und Van Damme, 2019).

Insgesamt mahnen Forscher den komplementären Einsatz verschiedener Biomarker um die Heterogenität der Multisystemerkrankung ALS allumfassend abzubilden. Neben dem studiengebundenen Einsatz bei zukünftigen epidemiologischen und pharmakotherapeutischen Forschungsvorhaben wird die Berücksichtigung verschiedener Biomarker im Rahmen der medizinischen Regelversorgung gefordert (Kiernan et al., 2020; Verber et al., 2019).

1.2.2. Troponine

Troponine sind myofibrilläre Strukturproteine der quergestreiften Muskulatur und werden in Form von Proteinkomplexen exprimiert. Der Troponinkomplex, bestehend aus der calciumbindenden Untereinheit Troponin C (TnC), dem inhibitorischen Troponin I (TnI) und dem tropomyosinbindenden Troponin T (TnT), besitzt eine zentrale Rolle in der calciumvermittelten Interaktion zwischen Aktin und Myosin. Es existieren verschiedene genetisch determinierte Isoformen des TnT, TnI und TnC in Kardiomyozyten (cTn), schnellen (fsTn) und langsamen Skelettmuskelfasern (ssTn). Für Troponin T und I erfolgte im adulten Organismus der Nachweis aller drei oben genannten Isoformen. cTnT wird anhand alternativen Splicings in die Subtypen cTnT₁₋₄ unterteilt, wobei cTnT₃ die im adulten Myokard vorherrschende Isoform darstellt. Es ist zu beachten, dass cTnT während der Fetogenese zusätzlich in Skelettmuskelfasern exprimiert wird. Troponin C besitzt nur zwei Isoformen, da die kardiale Form identisch zu jener in langsamen Skelettmuskelfasern ist (Anderson et al., 1991; Gomes et al., 2002; Park et al., 2017; Takeda et al., 2003). Basierend auf der Expression gewebespezifischer Isoformen ist der distinkte antikörpervermittelte Nachweis kardialen Troponins möglich. Akute Erhöhungen der Troponinisoformen cTnT und cTnI sind ein sensibler Marker kardialer Schädigung und Schlüsselement in der diagnostischen Abklärung des Akuten Koronarsyndroms

(ACS). Gegenwärtiger Goldstandard im labordiagnostischen Nachweis von cTnT und cTnI sind hochsensitive Antikörper Assay Verfahren (hs-Tn), welche bei niedrigeren Nachweisgrenzen (LoD) und relativer Unempfindlichkeit gegenüber Interferenzen heterophiler Antikörper, eine hohe analytische Sensitivität aufweisen. Während zur Bestimmung von hs-cTnT ausschließlich der von der Firma Roche Diagnostik entwickelte Assay fünfter Generation Elecsys® Anwendung findet, existieren verschiedene Assays für hs-cTnI wie zum Beispiel der Access-hsTnI® Assay des Unternehmens Beckmann Coulter. Der jeweilige Referenzwert myokardialer Ischämie wird anhand der 99ten Perzentile eines Gesunden Vergleichskollektivs (oberer Grenzwert, URL) und einem Varianzkoeffizienten kleiner gleich zehn Prozent definiert. Für hs-cTnT beträgt der Schwellenwert myokardialer Schädigung 14,0 ng/l. Aufgrund der fehlenden Vergleichbarkeit der einzelnen cTnI Analyseverfahren empfiehlt die Europäische Gesellschaft für Kardiologie (ESC) für cTnI die Anwendung analysespezifischer Referenzwerte unter Berücksichtigung der Richtlinien der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) (Boeddinghaus et al., 2019; Christenson et al., 2020; Giannitsis et al., 2010; Jarolim, 2015; Thygesen et al., 2018).

Tab. 2: Nicht ACS assoziierte Erhöhungen kardialer Troponine (mod. nach Park et al., 2017)

Kardiale Ursachen	Extrakardiale Ursachen
Herzinsuffizienz	Schock (distributiv, hypovolämisch, obstruktiv)
Kardiomyopathien	Chronische Niereninsuffizienz
Chronisches Koronarsyndrom	Pulmonale Hypertonie
Myokarditis	Hypothyreose
Hypertensive Krise	Chemotherapie
Persistierende Tachy-/ Bradyarrhythmien	Rhabdomyolyse
Kardiologische Interventionen (u.a. Koronarangiographie, Kardioversion)	Diabetes mellitus
Takotsubo- Syndrom	Extreme körperliche Anstrengung
	Zerebrovaskulärer Insult

Neben Erhöhungen im Rahmen eines akuten Myokardinfarktes, gehen verschiedene weitere kardialen und extrakardialen Pathologien mit akuten als auch chronischen Elevationen des cTnT und cTnI einher (vgl. Tab. 2) (Park et al., 2017; McCarthy et al., 2019).

Die ESC weist in der Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction explizit darauf hin, dass im Gegensatz zu cTnT, Elevationen der Serumkonzentration von cTnI ausschließlich bei kardialer Gewebeschädigung zu beobachten seien. Insgesamt werde die Prävalenz nicht AMI assoziierter Erhöhungen des cTnT im klinischen Alltag häufig unterschätzt. Folglich erfordert die sichere Abgrenzung des akuten Myokardinfarktes gegenüber anderen ebenfalls zu Troponinelevation führenden Differentialdiagnosen die gemeinsame Betrachtung von cTnT und cTnI sowie deren Kinetik im zeitlichen Verlauf (Thygesen et al., 2018; Vestergaard et al., 2016).

1.2.3 Troponine bei Neuromuskulären Erkrankungen

In der Literatur finden sich einzelne Arbeiten zu chronischen Erhöhungen der Serumkonzentrationen von cTnT bei gleichzeitiger Normwertigkeit von cTnI in Zusammenhang mit primären sowie symptomatischen Myopathien. Dabei verbleibt die Pathophysiologie der vermeidlich ektopen Expression von cTnT versus dessen fetaler Form in intakter, de- und regenerierender Muskulatur bis dato unklar. Neben der Hypothese der Reexpression von fetalem oder adultem cTnT in der Skelettmuskulatur werden zu falsch positiven Ergebnissen führende Kreuzreaktionen und subklinisch kardiale Beteiligungen im Rahmen neuromuskulärer Erkrankungen diskutiert. Die 2014 durch Ritto et al. und die 2018 durch Schmid et al. veröffentlichten Arbeiten legen nahe, dass chronische Elevationen des cTnT bei normwertigem cTnI ein diverse neurodegenerative Erkrankungen betreffendes Phänomen darstellen (Giannitsis et al., 2019; Mair et al., 2018; Rittoo et al., 2014; Schmid et al., 2018; Welsh et al., 2019; Wens et al., 2016). Damit übereinstimmend werden in einer begrenzten Anzahl an Case Reports Fälle von cTnT Erhöhungen im Zusammenhang mit ALS beschrieben (Graziani et al., 2015; Hof et al., 2013; Von Lueder et al., 2011; Mach et al., 2015). Eine erste Untersuchung ALS assoziierter Erhöhungen des cTnT erfolgt 2016 durch Mach und Kollegen. Einschlusskriterien dieser Fall-Kontrollstudie (n=80) sind die Diagnose einer

ALS (n=40) beziehungsweise der Ausschluss selbiger oder anderer Myopathien (n=40) und die gleichzeitige Abwesenheit anamnestischer Hinweise auf kardial oder extrakardial bedingte Troponinerhöhungen. Der laborchemische Nachweis für cTnT erfolgt mittels konventionellem Immunoassay des Unternehmens Roche. CTnI wird im Rahmen dieser Studie nicht bestimmt. Es zeigt sich, dass bei 68 % der ALS- Patienten (n=27) und 5 % der alters- und geschlechtsadaptierten Kontrollgruppe (n=2) eine signifikante Elevation des cTnT vorliegt ($p < 0,001$) (Mach et al., 2016). Die 2017 durch Casmiro und Graziani veröffentlichte Studie (n=22) zeigt ähnliche laborchemische Veränderungen von hs-cTnT im Zusammenhang mit ALS. Voraussetzung für den Einschluss in die Studie ist die Diagnose einer ALS und der Ausschluss kardialer Pathologien anhand von Anamnese, EKG und klinischen Untersuchungsbefunden. Im Serum der Studienteilnehmer wird die Konzentrationen von hs-cTnT und CK-MB gemessen. Bei lediglich 6 der 22 Studienteilnehmer erfolgt die zusätzliche Bestimmung von cTnI unter Anwendung der Assays der Unternehmen Siemens® und Abbott®. Casmiro et al. schließen auf Basis der erhobenen Daten auf eine chronische Erhöhung des cTnT im Krankheitsverlauf. Diese sei unabhängig von anderen zu Troponinelevation führenden Pathologien, als auch von den klinisch definierten Phänotypen. Die Autoren beider Studien mahnen, aufgrund des jeweiligen Studiendesigns die Notwendigkeit weiterer Forschungsvorhaben entsprechend großer Studienpopulationen und längeren Beobachtungszeiträumen, um geschilderten Beobachtungen zu bestätigen und gegebenenfalls zu revidieren (Casmiro und Graziani, 2017; Mach et al., 2016).

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Erhöhungen der Serumkonzentrationen von hs-cTnT und hs-cTnI sind sensitive Marker kardialer Schädigung und Schlüsselement in der laborchemischen Abklärung des akuten Myokardinfarktes und der daraus resultierenden Indikationsstellung invasiver diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen. Darüber hinaus existieren verschiedene kardial wie auch extrakardiale Pathologien, welche mit akuten oder chronischen Elevationen kardialer Troponine im Serum vergesellschaftet sind. Zur differentialdiagnostischen Abgrenzung des akuten Myokardinfarktes sind zum einen die Bestimmung beider Isoformen, zum anderen deren Kinetik im zeitlichen Verlauf

unabdingbar. Bisherige Untersuchungen primärer und symptomatischer Myopathien und die oben genannten Casereports deuten darauf hin, dass cTnT, nicht aber cTnI in verschiedenen neuromuskulären Erkrankungen einschließlich der ALS chronisch eleviert ist. Die zwei bislang einzig existenten Studien ALS assoziierter Erhöhungen kardialer Troponine schließen potentiell kardiale Begleiterkrankungen anhand von anamnestischen Angaben, Hinweisen in körperlichen Untersuchungen und EKG Befunden aus. Es erfolgt keine systematische Bestimmung der gewebespezifischen Isoform cTnI. Beide Publikationen weisen darauf hin, dass aufgrund der Größe der Studienpopulationen (n=22; n=80) trotz signifikanter Ergebnisse keine repräsentativen Aussagen bezüglich Prävalenz und Robustheit der Beobachtungen möglich seien. Ziel dieser Arbeit ist die systematische Untersuchung potentiell chronischer Veränderungen der Serumkonzentrationen von kardialen Troponinisoformen in Zusammenhang mit ALS. Zu diesem Zwecke sollen klinische Daten und Biomaterialproben von über 300 Patienten erfasst und analysiert werden. Neben Aussagen über deren Prävalenz, gilt zu prüfen, ob kardiale Troponine ein valider diagnostischer Biomarker zur Abgrenzung der ALS gegenüber nicht neuromuskulären Konditionen (NNMK) als auch anderen neuromuskulären Erkrankungen (NME) darstellen. Darüber hinaus soll untersucht werden, in wie weit die kardialen Troponinisoformen eine Differenzierung klinisch definierter ALS Phänotypen erlauben. Es sollen mögliche Zusammenhänge zwischen Serumkonzentrationen von hs-cTnT, hs-cTnI und klinischen Daten definierter Phänotypen analysiert werden. Abschließend sollen Veränderungen der Serumkonzentrationen kardialer Troponinisoformen im weiteren Krankheitsverlauf und deren Eignung als Prädiktor der Gesamtmortalität untersucht werden. Voruntersuchungen dieser Inauguraldissertation sind in die Publikation mit dem Titel „Teaching an old dog new tricks: serum troponin T as a biomarker in amyotrophic lateral sclerosis“ miteingeflossen (Castro-Gomez et al., 2021). In der Publikation wurden eine DZNE-Studienkohorte (DESCRIBE Beobachtungsstudie) sowie eine Kohorte der medizinischen Regelversorgung des UKBonn („real-world Kohorte) untersucht. Mein Beitrag bestand in der Kuratierung und statistischen Auswertung der Daten der Kohorte aus der Regelversorgung des UK Bonn. Auf Basis der gewonnenen Ergebnisse erarbeitete ich unter der Supervision des Doktorvaters PD Dr. P Weydt eine eigene Fragestellung für eine Kohorte aus der Regelversorgung. Da sich jedoch a) das Patientenkollektiv inklusive der Kohorten sowie

b) der Beobachtungszeitraum unterscheiden und c) die vorliegende Inauguraldissertation Troponin T als Biomarker zur Endophänotypisierung der ALS und Abgrenzung gegenüber anderen neuromuskulären Erkrankungen sowie nicht neuromuskulären Konditionen untersucht, können die Ergebnisse der beiden Studien nicht direkt miteinander verglichen werden.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Im Rahmen dieser Arbeit wird eine retrospektive Kohortenstudie sowie ein Interkohortenvergleich von Patienten der Ambulanz für ALS und andere Motoneuronerkrankungen der Klinik für Neurodegenerative Erkrankungen und Gerontopsychiatrie am Universitätsklinikum Bonn durchgeführt. Dabei wurden keinerlei über die Regelversorgung hinausgehende Interventionen am Patienten durchgeführt.

Vor Durchführung der Studie wurde ein Antrag an die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät Bonn gestellt (Lfd. Nr. 324/20). Nach positivem Votum seien, gemäß § 15 der Berufsordnung für nordrhein-westfälische Ärztinnen und Ärzte, keine berufsrechtlichen oder berufsethischen Bedenken zu erheben. Die revidierte Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes (1983) und die entsprechenden Gesetze haben stets die Grundlage für alle am Patienten durchgeführten Untersuchungen gebildet.

2.2 Studienkollektiv

Das Studienkollektiv umfasst 329 Individuen, welche sich im Zeitraum von März 2019 bis Oktober 2020 konsekutiv in ambulanter oder stationärer Behandlung der Motoneuronambulanz des Universitätsklinikums Bonn befunden haben. Voraussetzung für den Einschluss in die Studie ist der klinisch begründete Verdacht auf eine ALS oder andere NME. Eine Altersbeschränkung wurde nicht festgelegt. Die Diagnose einer ALS wurde anhand der Revised-El-Escorial-Kriterien (nach Brooks, 1994; Brooks et al., 2000; Ludolph et al., 2015) unter Zusammenschau von Anamnese, Klinik, bildgebenden Befunden, elektrophysiologischen, laborchemischen Untersuchungen und nach

Ausschluss möglicher Differenzialdiagnosen (ALS-Mimics) gestellt. Die Diagnose einer PLS erfolgte unter anderem unter Berücksichtigung der Pringle-Kriterien (Gordon et al., 2006; Pringle et al., 1992). Als Vergleichskollektiv wurden Individuen definierter anderer neuromuskulärer Erkrankungen (NMD) (Deutsche Gesellschaft für Muskelkranke e.V. (DGM), 2020) sowie Individuen nicht neuromuskulärer Konditionen (NNMK) in die Studie mit eingeschlossen.

Tab. 3: Diagnoseschlüssel der Vergleichskollektive andere NME und NNMK (*ALS-Mimics (Hansel et al., 2018))

Kohorte NME
Atypische Motoneuronenerkrankung (MNE)
Chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie *
Hereditäre motorisch-sensorische Neuropathie*
Hereditäre spastische Paraparese*
Einschlusskörperchenmyositis*
Post-Polio-Syndrom
Residuum eines Guillain-Barré-Syndrom
Spinobulbäre Muskelatrophie Typ Kennedy*
Spinale Muskelatrophie*
Kohorte NNMK
Benignes Faszikulations-Crampus-Syndrom *
Funktionell somatisches Syndrom
Chorea Huntington
Morbus Alzheimer
Normaldruckhydrocephalus
Ulnarisneuropathie am Ellenbogen
Zerebelläre Ataxie

Beide Gruppen beinhalten Fälle von ALS-Mimics (vgl. *Tab. 3*). Bei dem klinischen Verdacht auf atypische MNE oder ein Funktionell Somatisches Syndrom erfolgte die von der Leitlinie der DGN empfohlene umfangreiche Zusatzdiagnostik zum Ausschluss einer möglichen sALS oder fALS.

2.3 Datenerhebung

Gegenstand dieser Arbeit sind klinische Daten sowie Biomaterialproben der medizinischen Regelversorgung. Neben allgemeinen Patientendaten, wie Geschlecht, Diagnose, Ort der klinischen Erstmanifestation, Alter zu Erkrankungsbeginn, Erkrankungsdauer und BMI wurden zur Dokumentation der Schwere und Progression der Erkrankung der ins Deutsche übersetzte ALS-FRSr (vgl. Abdulla et al., 2013) erhoben. Serumkonzentration kleiner gleich der Nachweisgrenze werden unter Angabe selbiger aufgeführt. Dies beruht auf der Notwendigkeit von Absolutwerten zur Durchführung der angewendeten statistischen Operationen. Mithilfe der im Zeitraum von März 2019 bis Oktober 2020 erhobenen Daten wurde zur statischen Auswertung eine pseudonymisierte Datenbank erstellt. Speicherung und Auswertung der Daten erfolgen stets unter Einhaltung des gegenwärtig geltenden Datenschutzgesetzes. Die Ergebnisse werden ausschließlich in anonymisierter Form publiziert, so dass eine Zuordnung von Daten zu einzelnen Individuen nicht möglich ist.

2.4 Biomaterialproben

Bei den untersuchten Biomaterialproben handelt es sich um Serumproben. Diese wurden durch geschultes Laborpersonal entnommen. Zur Minimierung präanalytischer Fehler erfolgten sowohl Probenentnahme als auch -analyse unter standardisiertem Vorgehen (SOP). Die laborchemischen Analysen wurden durch das von der Deutschen Akkreditierungsstelle GmbH (DAkkS) akkreditierte MVZ Labor PD Dr. Volkmann und Kollegen GbR in Karlsruhe durchgeführt. Mit Hilfe von Elektrochemischem Lumineszenz Immunoassay erfolgte die Bestimmung von hs-cTnT Konzentrationen im Serum. Hs-cTnI Konzentrationen wurden mittels Immunoluminometrischem Assay bestimmt. Der analysespezifische Cutoff myokardialer Schädigung beträgt für hs-cTnT 14,0 ng/l und für

hs-cTnI 17,5 ng/l. Serumkonzentrationen, die oberhalb dieser Referenzgrenzen lagen, wurden als auffällig gewertet. Die laborchemische Nachweisgrenze liegt für hs-cTnT bei 3 ng/l und für hs-cTnI bei 2,3 ng/l.

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten wurde unter Verwendung von Excel Version 2016 des Unternehmens Microsoft sowie Prism Version 9 des Unternehmens Graph Pad Software durchgeführt. Nominalskalierte Variablen werden anhand von Häufigkeits- und Prozentangaben, ordinalskalierte Variablen mittels Median (Mdn) und Interquartilsabstand (IQA) und stetige sowie diskrete numerische Variablen mit Hilfe des Mittelwertes (\bar{m}) und der Standardabweichung (SD) angegeben. Alle Variablen wurden unter anderem mittels D'Agostino-Pearson-Test auf Normalverteilung sowie logarithmische Normalverteilung hin getestet. Lag keine Normalverteilung vor, wurden zur schließenden Statistik nicht-parametrische Verfahren angewendet. Unabhängige mindestens ordinalskalierte Stichproben wurden mittels Kruskal-Wallis-Test und Dunn's multiple comparisons test auf Unterschiede der zentralen Tendenz hin untersucht. Da von Chi²-Verteilungen ausgegangen werden konnte, wurden die ermittelten H-Werte mit dem jeweiligen durch die Freiheitsgrade der Chi²-Verteilung definierten kritischen Wert verglichen. Zur Ermittlung der diagnostischen Wertigkeit und des Unterscheidungspotentials von hs-cTnT und hs-cTnI wurden Receiver Operating Characteristics (ROC) mit Flächenbestimmung unterhalb der jeweiligen Kurve (AUC) durchgeführt. Der jeweils angegebene p-Wert bezieht sich auf die Signifikanz der Abweichung der AUC vom Zufall, entsprechend einer AUC von 0,5. Mit besonderem Augenmerk auf die Grenzwerte myokardialer Schädigung, wurden Sensitivität (Richtig-positiv-Rate) sowie Spezifität (Richtig-negativ-Rate) für verschiedene Cut-Off-Werte von hs-cTnT und hs-cTnI ermittelt. Aufbauend darauf wurden die entsprechenden Youden's Indizes (Sensitivität-(1-Spezifität)) berechnet. Zur Untersuchung möglicher ungerichteter Zusammenhänge zwischen der Serumkonzentration von Troponin und anderen klinischen Parametern sowie Erkrankungsdauer wurde die Rangkorrelation nach Spearman angewendet. Im Falle eines signifikant linearen Zusammenhangs wurde anschließend eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Änderungen der

Serumkonzentration kardialer Troponinisoformen im Krankheitsverlauf wurden durch den Bezug auf einen definierten Zeitraum (Quartal) normalisiert. Dabei werden jeweils die erste und letzte verfügbare Messung berücksichtigt. Zur Ermittlung bedingter Überlebenswahrscheinlichkeiten und der Güte von hs-cTnT als Prädiktor der Gesamtmortalität wurden Kaplan-Meier-Kurven erstellt. Unterschiede in der Überlebenswahrscheinlichkeit wurden mittels Long-rank-Test geprüft. Grundsätzlich wurde ein Konfidenzintervall (CI) von 95 Prozent gewählt. Wurde das Signifikanzniveau von 0,05 unterschritten, wurde die Nullhypothese verworfen und statistische Signifikanz angenommen.

3. Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der deskriptiven und der schließenden Statistik präsentiert und erläutert.

3.1 Basischarakteristika Studienkollektiv

Insgesamt wurden 329 konsekutive Individuen der ambulanten und stationären Regelversorgung in die Studie eingeschlossen. Diese werden anhand von Erkrankungsentitäten in die drei Hauptgruppen ALS (n=227), andere NME (n=46) und NNMK (n=56) unterteilt. Neben den Untersuchungsergebnissen der drei Hauptgruppen werden die Ergebnisse verschiedener ALS Phänotypen präsentiert.

Tab. 4: Basischarakteristika des Studienkollektivs

	ALS Gesamt (inkl. PLS)	ALS Spinaler Beginn (exkl. PLS)*	ALS Bulbärer Beginn (exkl.PLS)	PLS	NME	NNMK
n	227	168	47	12	46	56
Männlich (%)	55,07	61,91	44,68	0	65,22	62,50
Alter zu Erkrankungsbeginn (Jahre), m (SD)	61,25 ± 11,22	60,77 ± 11,53	65,22 ± 9,13	52,41 ± 7,97	47,20 ± 20,35	49,68 ± 15,61
Erkrankungsdauer** (Jahre), m (SD)	2,89 ± 3,23	2,80 ± 2,96	1,88 ± 1,35	8,22 ± 6,15	9,99 ± 10,89	3,11 ± 3,12
BMI (kg/m ²), m (SD)	23,83 ± 4,10	24,11 ± 4,07	22,63 ± 3,65	25,16 ± 5,32	25,29 ± 4,47	25,25 ± 4,64

* inklusive PMA (n = 2), FAS (n = 8), FLS (n = 1)

** seit Symptombeginn

n = Größe der Grundgesamtheit; m = Mittelwert; SD = Standardabweichung

Im Einzelnen sind dies ALS mit spinalem Beginn (n=168), ALS mit bulbärem Beginn (n=47) und PLS (n=12). Basischarakteristika aller drei Hauptgruppen und der ALS Subgruppen sind in Tab. 4 dargestellt.

Während in 46 Fällen definierter anderer NME und 56 Fälle NNMK Basis- und Zusatzdiagnostik den Ausschluss einer sALS oder fALS erbrachten, wurde unter Anwendung der oben genannten Kriterien bei 227 der 329 Individuen die Diagnose einer wahrscheinlich laborgestützten bis sicheren ALS gestellt. In der Mehrheit der Fälle besteht das klinische Bild einer klassischen ALS mit gleichsam starker Affektion des ersten und zweiten Motoneurons (n=204). Darüber hinaus erfüllen zwölf Individuen die Diagnosekriterien einer PLS. Zwei Patienten weisen eine Klinik im Sinne einer Progressiven Muskelatrophie auf und bei neun Patienten besteht das klinische Bild eines FAS oder FLS. Neben der auf UMN- und LMN-Beteiligung basierenden Unterteilung, werden anhand der Region klinischer Erstmanifestation die Phänotypen ALS mit spinalem und ALS mit bulbärem Beginn unterschieden. In Tab. 5 ist das Verteilungsmuster der in die Studie aufgenommenen ALS Patienten dargestellt. Aufgrund klinisch nicht zweifelsfreier Differenzierbarkeit zwischen bulbärer und pseudobulbärer Symptomatik, umschließt die Subgruppe ALS mit bulbärem Beginn (n=49) mögliche Fälle kortikobulbärer Affektion. Insgesamt geben 21,59 % der Patienten Veränderungen des Sprechens und des Schluckaktes als initiale Symptome an.

Tab. 5: Verteilungsmuster klinischer Erstmanifestation der Diagnosegruppe ALS

Region klinischer Erstmanifestation		ALS Kohorte (n = 227)
Bulbär (n = 49) *		21,59%
Spinal (n = 178) **	Zervikal	36,56%
	Thorakal	2,20%
	Lumbal	38,76%
	Unbekannt	0,89%

* inklusive pseudobulbärer Affektion
 ** inklusive PMA (n = 2), FAS (n = 8), FLS (n = 1), PLS (n = 12)

Den Phänotypen spinaler Erstmanifestation (n=178) betreffend, bilden insbesondere die zervikale und die lumbosakrale Region mit 36,56 % beziehungsweise 38,76 % die Region klinischer Erstmanifestation. Dahingegen weisen lediglich 2,20 % der in die Studie eingeschlossenen ALS Patienten eine thorakale Erstmanifestationen in Form von vermehrter Tagesmüdigkeit, morgendlicher Zephalgien oder Dyspnoe auf. Gesamt betrachtet sind 55,07 % der in die Studie eingeschlossenen ALS Patienten männlichen und 44,93 % weiblichen Geschlechtes (vgl. Tab. 4). Demnach erkranken Männer marginal häufiger an ALS als Frauen. Das mittlere Alter zu Beginn der Erkrankung liegt bei $61,25 \pm 11,22$ Jahren. Zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung sind die Betroffenen seit $2,89 \pm 3,23$ Jahren erkrankt, wobei sich die Erkrankungsdauer auf den Zeitraum ab Symptombeginn und nicht jenen ab Diagnosestellung bezieht. Innerhalb der Diagnosegruppe ALS sind Divergenzen einzelner Basischarakteristika der Phänotypen zu beobachten (vgl. Tab. 4). Von 168 der Patienten mit spinal beginnender ALS sind 61,91% männlichen Geschlechtes. Bei den Fällen bulbär beginnender ALS überwiegt hingegen der Anteil weiblicher Betroffener um circa fünf Prozent. Die Subgruppe PLS mit einer Grundgesamtheit von 12 Patienten umfasst ausschließlich Individuen weiblichen Geschlechtes. Hinsichtlich der demographischen Daten weisen Fälle bulbär und spinal beginnender ALS eine ähnliche Altersstruktur auf. Die Betroffenen erkranken im Schnitt im Alter von $60,77 \pm 11,53$, beziehungsweise $65,22 \pm 9,13$ Jahren. Bei Patienten mit bulbärer Erstmanifestation besteht die Erkrankung zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung seit $1,88 \pm 1,35$ Jahren. Patienten mit spinal beginnender ALS weisen zu diesem Zeitpunkt eine durchschnittliche Erkrankungsdauer von $2,80 \pm 2,96$ Jahren auf. Mögliche signifikante Unterschiede der zentralen Tendenz zwischen beiden Phänotypen werden durch die schließende Statistik widerlegt ($p > 0,99$) (vgl. Tab. 4). Dahingegen unterscheidet sich das Alter zu Erkrankungsbeginn zwischen Fällen klassischer ALS und Primärer Lateralsklerose signifikant ($p = 0,046$). Letzteres wird zum Zeitpunkt des Symptombeginns mit $52,41 \pm 7,97$ Jahren angegeben. Die Erkrankungsdauer zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung beträgt in den Fällen Primärer Lateralsklerose $8,22 \pm 6,15$ Jahre und überschreitet jene spinal ($p = 0,0014$) als auch bulbär ($p = 0,0002$) beginnender ALS wiederum signifikant. Die Vergleichskohorte anderer neuromuskulärer Erkrankungen als auch die Kohorte nicht neuromuskulärer Konditionen weisen ähnlich der Diagnosegruppe ALS eine Prädominanz des männlichen Geschlechtes auf. Bei Betrachtung der Gruppe

anderer neuromuskulärer Erkrankungen fallen eine gegenüber der ALS Kohorte signifikant längere Erkrankungsdauer von $9,99 \pm 10,89$ Jahren ($p=0,006$) sowie eine breite Streuung von $\pm 20,35$ Jahren um das mittlere Alter zu Erkrankungsbeginn auf. Die Kohorte nicht neuromuskulärer Konditionen weist eine mit der Diagnosegruppe ALS vergleichbare Erkrankungsdauer auf. Betroffene geben jedoch ein im Schnitt zehn Jahre niedrigeres Alter zu Symptombeginn an ($p=0,0002$). Neben demographischen Daten wurde der BMI zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung erhoben. Sowohl bei der Diagnosegruppe ALS, deren Phänotypen, als auch bei der Gruppe anderer NME und NNMK liegt dieser im Bereich des Normal- bis Übergewichtes. Dabei sind keine signifikanten Unterschiede der zentralen Tendenz erkennbar ($p=0,076$).

Zur Erfassung funktioneller Einschränkungen wurde der ALS-FRSr, sofern zum Zeitpunkt der ersten Troponinmessung verfügbar, für die Diagnosegruppe ALS als auch die Vergleichskollektive anderer NME und NNMK erfasst. Beobachtete Abweichungen des Gesamtscores, respektive der einzelnen Domänen, wurden mittels Kruskal Wallis und Dunn's multiple comparisons Test auf tatsächliche Unterschiede der zentralen Tendenz hin untersucht. Innerhalb der Diagnosegruppe ALS sind nur marginale Abweichungen des Gesamtpunktwertes des ALS-FRSr zu beobachten ($p>0,99$). Dahingegen unterscheidet sich selbiger signifikant von jenem anderer NME ($p<0,005$) und NNMK ($p<0,0001$). Für die Phänotypen ALS mit spinalem und bulbärem Erkrankungsbeginn zeigen sich unterschiedliche Punktwerte in den entsprechenden Domänen des ALS-FRSr. Der Phänotyp ALS bulbären Beginns weist gegenüber jenem mit spinalem Beginn signifikant niedrigere Werte im Bereich der Bulbärfunktion auf ($p<0,0001$). Umgekehrt sind signifikant niedrigere Punktwerte der Fein- nicht aber der Grobmotorik bei ALS Patienten mit spinaler Erstsymptomatik zu beobachten ($p<0,03$). Hinsichtlich des Phänotyps PLS sind weder gegenüber der Gruppe spinaler noch der bulbärer Erstmanifestation signifikanten Unterschiede in den Bereichen Bulbärfunktion und Feinmotorik feststellbar. Lediglich die zentrale Tendenz im Bereich Grobmotorik unterscheidet sich signifikant von jener des Phänotypen bulbärer Erstmanifestation ($p=0,039$). Auffallend ist, dass keine der Haupt- noch der Subgruppen signifikante Beeinträchtigungen im Bereich der Respiration aufweist (vgl. Tab. 6).

Tab. 6: ALS-FRSr zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung nach Erkrankungsbeginn

	ALS Gesamt (inkl. PLS)	ALS Spinaler Beginn (exkl. PLS)*	ALS Bulbärer Beginn (exkl. PLS)	PLS	NME	NNMK
n	208	154	43	11	24	28
ALS-FRSr gesamt, Mdn (IQA)	33 ± 12	34 ± 13	32 ± 15	32 ± 10	40 ± 12	46 ± 8
ALS-FRSr Bulbäre Funktion Mdn (IQA)	10 ± 4	11 ± 3	5 ± 6	9 ± 3	11 ± 3	12 ± 0
ALS-FRSr Feinmotorik Mdn (IQA)	8 ± 5	7 ± 5	9 ± 6	8 ± 3	9 ± 3	12 ± 2
ALS-FRSr Grobmotorik Mdn (IQA)	6 ± 5	6 ± 4	7 ± 6	5 ± 3	8 ± 7	12 ± 4
ALS-FRSr Respiration Mdn (IQA)	11 ± 3	11 ± 3	10 ± 3	11 ± 4	12 ± 2	12 ± 0

* inklusive PMA (n = 2), FAS (n = 7), FLS (n = 2)

Mdn = Median; IQA = Interquartilsabstand

3.2 Erste verfügbare Bestimmung kardialer Troponinisoformen im Serum

3.2.1 Deskriptive Statistik

Serumkonzentrationen der kardialen Troponinisoformen wurden für die ALS Kohorte als auch die Vergleichskollektive anderer NME und NNMK zum jeweilig frühestmöglichen Zeitpunkt nach Erkrankungsbeginn bestimmt. Die Verteilung der erhobenen Serumkonzentrationen von hs-cTnT und hs-cTnI sind in Abb. 1 und Abb. 2 dargestellt. *Tab. 7* enthält eine Übersicht der entsprechenden Lage- und Streuungsmaße. Die Prüfung der Normalverteilungseigenschaft ergab sowohl für die Haupt- als auch die Subgruppen eine logarithmische Normalverteilung der Serumkonzentrationen von hs-cTnT und hs-cTnI. Nach Transformation der Rohdaten mit Hilfe des Logarithmus zur Basis Zehn streben Kurtosis und Schiefe gegen Null, sodass von einer Gauß'schen Verteilung ausgegangen werden kann. Für die schließende Statistik wurden dennoch, entsprechend der Rohdaten, nicht parametrische Verfahren angewendet.

Untersuchungen möglicher Mittelwertunterschiede zeigen, dass sich die hs-cTnT Serumkonzentration bei PLS signifikant von der bei spinal ($p=0,0001$), nicht aber von jener bei bulbär beginnender ALS ($p=0,15$) unterscheidet. Prägnante Unterschiede der Serumkonzentrationen gegenüber anderen NME ($p=0,86$) und NNMK ($p>0,99$) konnten nicht nachgewiesen werden.

Gegenüber der oben beschriebenen Heterogenität der hs-cTnT Serumkonzentrationen, zeigen sowohl die Haupt- als auch die Nebengruppen ähnliche Profile des hs-cTnI. Die durchschnittliche Serumkonzentration der kardiospezifischen inhibitrischen Isoform beträgt innerhalb der Diagnosegruppe ALS $7,11 (\pm 6,12)$ ng/l und ist kohärent zu der anderer NME und NNMK in Höhe von $6,58 (\pm 5,90)$ ng/l, beziehungsweise $7,05 (\pm 6,72)$ ng/l. Kruskal Wallis und Dunn's multiple comparisons Tests bestätigen, dass sich die Diagnosegruppe ALS, deren Phänotypen sowie die Vergleichskollektive anderer NME und NNMK hinsichtlich der Serumkonzentration von hs-cTnI nicht unterscheiden.

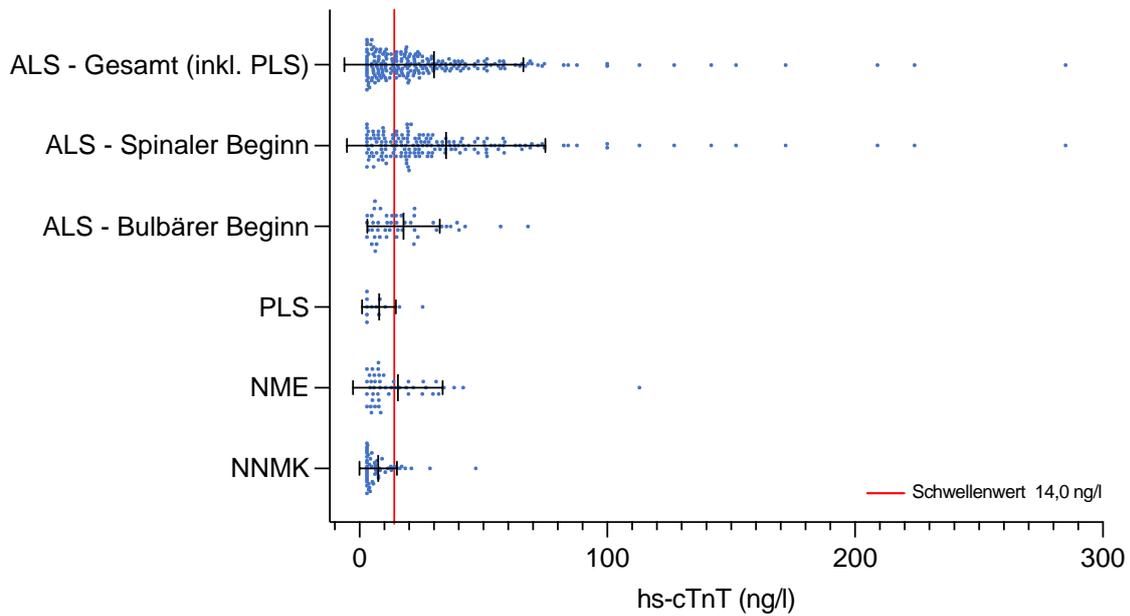


Abb. 1: Serumkonzentration des hs-cTnT (ng/l) ($m \pm SD$) zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung nach Erkrankungsbeginn

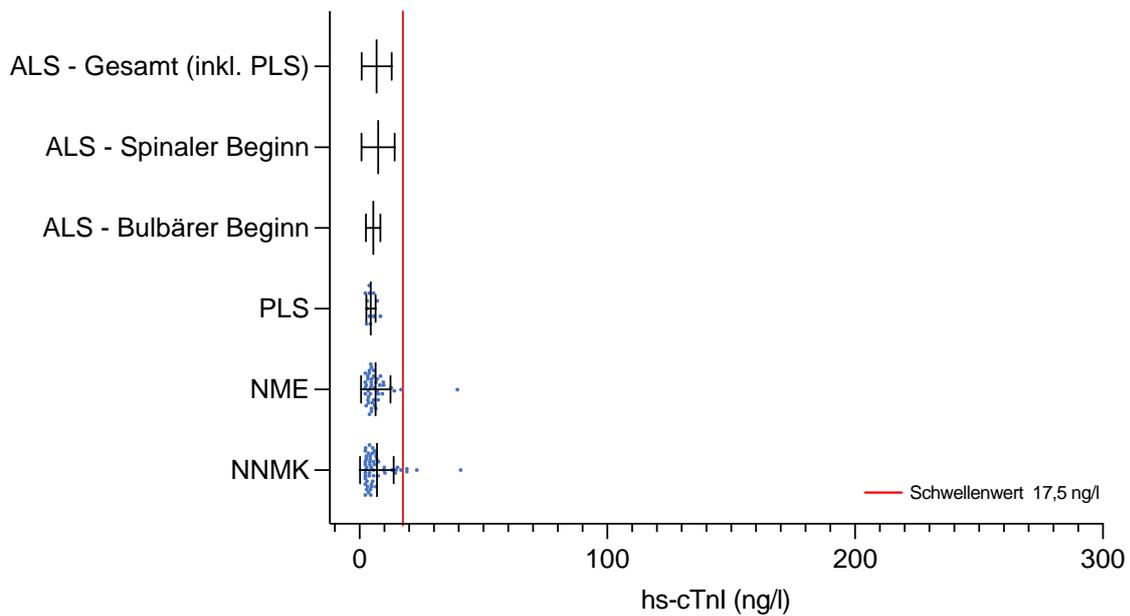


Abb. 2: Serumkonzentration hs-cTnI (ng/l) ($m \pm SD$) zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung nach Erkrankungsbeginn

Tab. 7: Erste Bestimmung der Serumkonzentrationen des hs-cTnT (ng/l) und hs-cTnI (ng/l) nach Erkrankungsbeginn

		ALS Gesamt (inkl. PLS)	ALS Spinaler Beginn (exkl. PLS)*	ALS Bulbärer Beginn (exkl. PLS)	PLS	NME	NNMK
	n	227	168	47	12	46	56
hs- cTnT	Min	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
	Max	285,00	285,00	68,00	25,50	113,00	46,90
	m	30,04	35,04	17,81	7,90	15,51	7,60
	SD	36,12	40,02	14,61	6,83	18,07	7,57
	SEM	2,40	3,09	2,13	1,97	2,66	1,01
	γ_m	3,608	3,258	1,522	1,849	3,751	3,200
	ω	17,560	13,820	2,386	3,454	18,620	13,220
	ϕ	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0034	<0,0001	<0,0001
hs-cTnI	Min	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30	2,30
	Max	44,00	44,00	17,90	8,50	39,50	40,80
	m	7,11	7,54	5,59	4,61	6,58	7,05
	SD	6,12	6,69	2,95	1,87	5,90	6,72
	SEM	0,40	0,52	0,43	0,54	0,88	0,90
	γ_m	3,308	2,975	2,104	0,9147	4,260	2,923
	ω	13,32	10,24	5,983	0,1559	22,45	11,15
	ϕ	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,3261	<0,0001	<0,0001

* inklusive PMA (n = 2), FAS (n = 7), FLS (n = 2)

Min = Minimum; Max = Maximum; SEM = Standardfehler des Mittelwertes; γ_m = Schiefe; ω = Kurtosis; ϕ = Test auf Normalverteilung

Hinsichtlich der Referenzwerte myokardialer Schädigung ergeben sich für die Haupt- und Nebengruppen die in Abb. 3 und Abb. 4 dargestellten Verteilungen. Demnach weisen 64% aller ALS Patienten, respektive 72 % der Patienten mit spinal beginnender ALS und 49 % der Patienten mit bulbär beginnender ALS hs-cTnT-Serumkonzentrationen oberhalb des in der Literatur empfohlenen Grenzwertes von 14,0 ng/l auf. Auffällig ist, dass in über 95% dieser Fälle von pathologisch eleviertem hs-cTnT eine normwertige Serumkonzentration des hs-cTnI vorliegt. Gegenüber den Fällen klassischer ALS liegen nur 17 % der bei PLS Patienten gemessenen hs-cTnT Konzentration oberhalb des Schwellenwertes von 14,0 ng/l. Gegenüber einem prozentualen Anteil von 12 % der Fälle NNMK, sind in über 35 % der Fälle anderer NME Auffälligkeiten der hs-cTnT Serumkonzentration zu beobachten. Äquivalent zu der Diagnosegruppe ALS liegt in über 96 % dieser Fälle eine normwertige Konzentration des hs-cTnI vor. Zusammenfassend zeigen sich sowohl für die Diagnosegruppe ALS als auch das Vergleichskollektiv anderer NME signifikant pathologische Elevationen des hs-cTnT bei vornehmlich normwertigen Serumkonzentrationen von hs-cTnI. Innerhalb der Diagnosegruppe ALS betrifft dies vor allem die Phänotypen spinal und bulbär beginnende ALS. Der Phänotyp PLS zeigt demgegenüber einen mit der Gruppe NNMK vergleichbaren Anteil pathologisch auffälliger cTnT Werte.

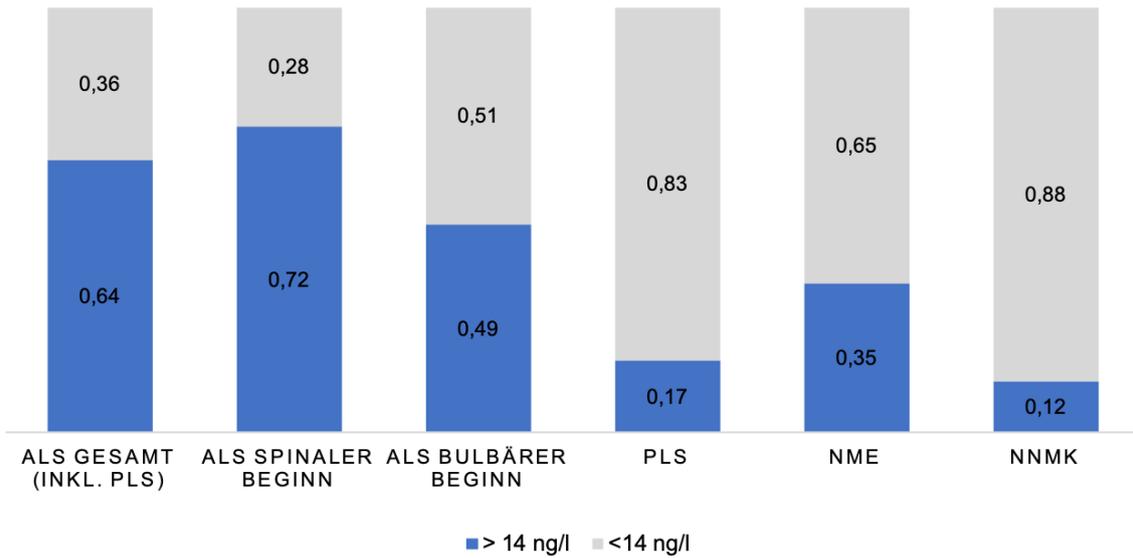


Abb. 3: Verteilung hinsichtlich des Schwellenwertes myokardialer Schädigung für hs-cTnT (14ng/l)

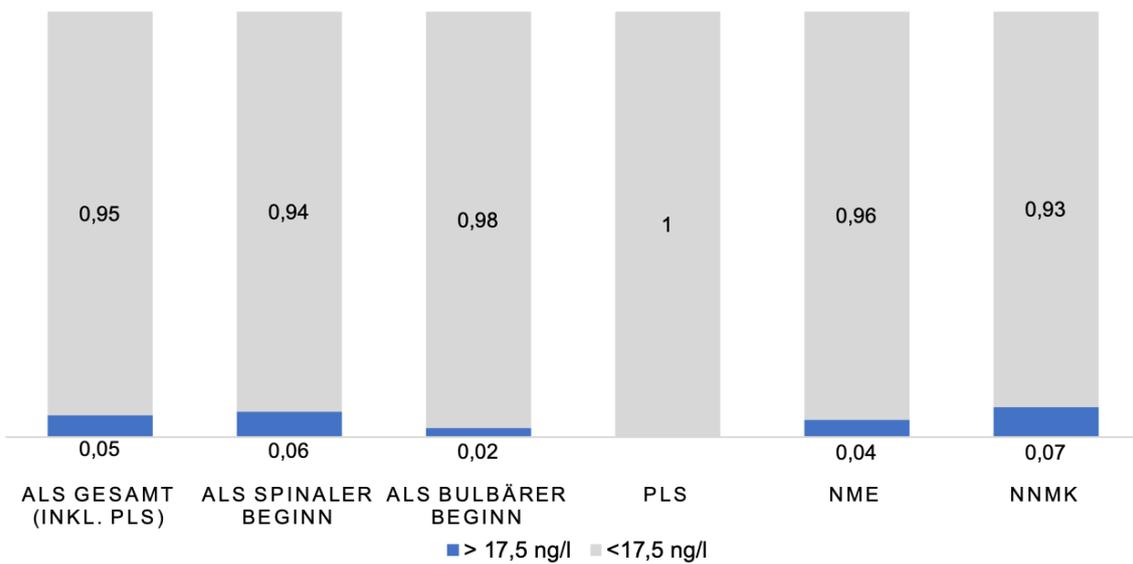


Abb. 4: Verteilung hinsichtlich des Schwellenwertes myokardialer Schädigung für hs-cTnI (17,5 ng/l)

3.2.2 Schwellenwertdefinition mittels ROC - Analyse

Zur Bestimmung der diagnostischen Wertigkeit und des Unterscheidungspotentials von hs-cTnT und hs-cTnI bei ALS respektive deren Phänotypen wurden Grenzwertoptimierungskurven (ROC) zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung nach Erkrankungsbeginn erstellt. Die auf der Y-Achse abgebildete Sensitivität entspricht der Richtig-Positiven-Rate (TPR). Sie wird unter anderem als Trennschärfe des Testes bezeichnet. Auf der X-Achse ist die falsch positive Rate (FPR) abgebildet. Sie entspricht dem Fehler erster Art. Die Fläche unterhalb der ROC-Kurve (AUC) quantifiziert die allgemeine Fähigkeit des Testes zwischen Erkrankten und Personen ohne die Erkrankung zu unterscheiden. Es ist von besonderem Interesse, inwieweit die kardialen Isoformen des Troponins eine biomarkerbasierte Abgrenzung gegenüber NNMK, als auch gegenüber anderen NME erlauben. Die AUC eines idealen Tests ohne falsch-positive und ohne falsch-negative Ergebnisse beträgt 1,00, die eines gänzlich dem Zufall entsprechenden Testes 0,5.

Zunächst wird die diagnostische Güte von hs-cTnT und hs-cTnI zur Abgrenzung der ALS gegenüber NNMK betrachtet (vgl. Abb. 5, Tab. 8 und Tab. 9). Die AUC, Maß der diskriminierenden Eigenschaft von hs-cTnT, beträgt für die Diagnosegruppe ALS 0,831 (95 % CI: 0,777 – 0,885) und unterscheidet sich signifikant vom Zufall ($p < 0,0001$). Die gesamt betrachtet höchste Fläche unter der ROC-Kurve für hs-cTnT findet sich bei Patienten mit spinal beginnender ALS und beträgt 0,867 (95 % CI: 0,818 – 0,918; $p < 0,0001$). Gefolgt wird diese vom Phänotypen bulbär beginnender ALS mit einer AUC von 0,780 (95% CI: 0,692 – 0,869; $p < 0,0001$). Für den Phänotypen PLS konnte mit einer AUC von 0,512 kein signifikanter Unterschied vom Zufall (AUC 0,5) nachgewiesen werden ($p = 0,568$). Anders als für hs-cTnT, zeigt sich für hs-cTnI weder bei der Diagnosegruppe ALS noch bei deren Phänotypen eine sich vom Zufall signifikant unterscheidende diagnostische Güte des Biomarkers hs-cTnI. Folglich ist mittels hs-cTnI keine diagnostische Abgrenzung der ALS gegenüber NNMK möglich. Neben der Bestimmung der jeweiligen Gesamtfläche unter der ROC-Kurve wurden einzelne Schwellenwerte für hs-cTnT analysiert (vgl. Tab. 9). Die untersuchten Grenzwerte umfassen die in der Literatur angegebene 99te Perzentile einer gesunden Referenzpopulation (14 ng/l) und die prospektiv festgelegten Grenzwerte 30 ng/l und 50 ng/l. Abb. 5 und Tab. 9

veranschaulichen, dass Sensitivität und Spezifität im Sinne eines Trade-Off miteinander verbunden sind. Ein hoher Schwellenwert geht mit steigender Spezifität und einer Abnahme der Sensitivität einher. Entgegengesetzt verhalten sich die Sensitivität und Spezifität bei niedrigem Schwellenwert. Obwohl die Mehrheit aller ALS Patienten hs-cTnT Elevationen deutlich oberhalb des Referenzwertes myokardialer Schädigung aufweist, besitzt hs-cTnT sowohl für die Diagnosegruppe ALS als auch deren Phänotypen die höchste diagnostische Wertigkeit bei einem Schwellenwert von 14,0 ng/l (vgl. Tab. 9). Die zugehörige Sensitivität und Spezifität betragen für die Diagnosegruppe ALS 63,88 % beziehungsweise 89,29 % und ergeben einen Youden Index von 0,532. Für den Schwellenwert von 14,0 ng/l weisen die ALS Phänotypen bei gleicher Spezifität (89,29 %) unterschiedliche Sensitivitätswerte auf (vgl. Tab. 9). Die Rate richtig-positiver Ergebnisse beträgt für den Phänotypen spinal beginnender ALS 71,43 %. Somit ergibt sich für diesen Phänotypen die höchst gemessene diagnostische Güte des hs-cTnT mit einem Youden Index von 0,607. Für den Phänotypen bulbär beginnender ALS und PLS beträgt die Sensitivität beim Schwellenwert von 14,0 ng/l lediglich 48,94 % beziehungsweise 16,67 % (vgl. Tab. 9).

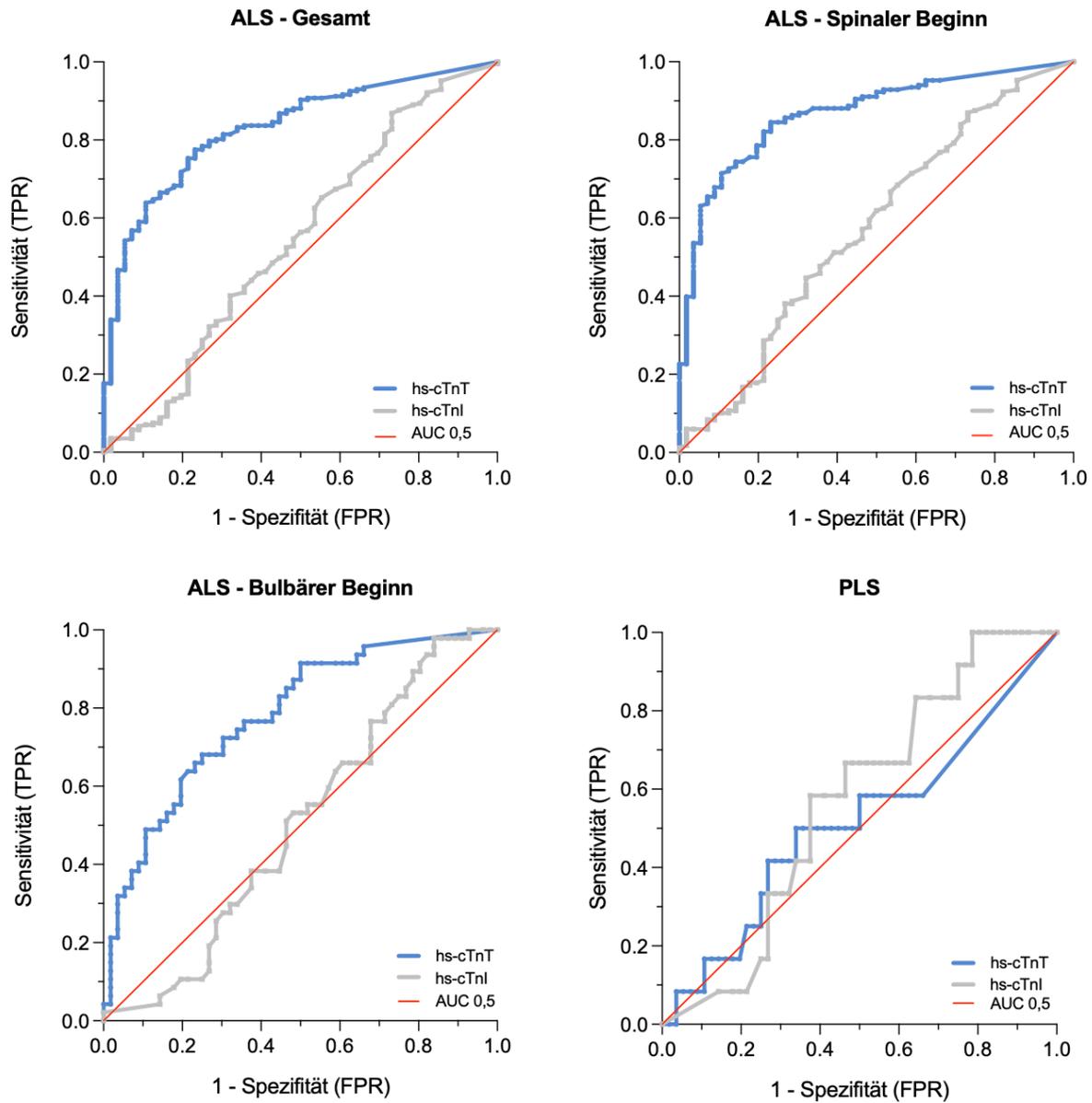


Abb. 5: ROC-Kurven der Serumkonzentrationen von hs-cTnT (Blau) und hs-cTnI (Grau) zur diagnostischen Abgrenzung der ALS und ihrer Phänotypen gegenüber NNMK (AUC = Fläche unterhalb der Kurve; p = Signifikanzwert; TPR = Richtig-Positiv-Rate; FPR = Falsch-Positiv-Rate)

Tab. 8: Flächenbestimmung der ROC-Kurven von hs-cTnT und hs-cTnI zur diagnostischen Abgrenzung der ALS und ihrer Phänotypen gegenüber NNMK (AUC = Fläche unterhalb der ROC-Kurve; CI = Konfidenzintervall; p = Signifikanzwert)

Kontrollgruppe NNMK	hs-cTnT			hs-cTnI		
	AUC	95% CI	p	AUC	95% CI	p
ALS - Gesamt	0,831	0,777 – 0,885	<0,0001	0,544	0,454 – 0,635	0,305
ALS – Spinaler Beginn	0,867	0,818 – 0,918	<0,0001	0,573	0,483 – 0,664	0,100
ALS – Bulbärer Beginn	0,780	0,692 – 0,869	<0,0001	0,504	0,392 – 0,616	0,945
PLS	0,512	0,319 – 0,704	0,897	0,568	0,414 – 0,722	0,464

Tab. 9: Sensitivität, Spezifität und Youden Index verschiedener Schwellenwerte von hs-cTnT zur Abgrenzung gegenüber NNMK

Kontrollgruppe NNMK	hs-cTnT Schwellenwert	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Youden Index
ALS - Gesamt	>14 ng/l	63,88	89,29	0,532*
	>30 ng/l	31,28	98,21	0,295
	>50 ng/l	16,30	100,00	0,163
ALS – Spinaler Beginn	>14 ng/l	71,43	89,29	0,607*
	>30 ng/l	36,31	98,21	0,345
	>50 ng/l	20,83	100,00	0,208
ALS Bulbärer Beginn	>14 ng/l	48,94	89,29	0,382*
	>30 ng/l	19,15	98,21	0,174
	>50 ng/l	4,26	100,00	0,043
PLS	>14 ng/l	16,67	89,29	0,060*
	>30 ng/l	0,00	98,21	-0,020
	>50 ng/l	n.a.	n.a.	n.a.

* max. erreichbarer Youden Index
n.a. = keine Angabe

Die Untersuchung der diagnostischen Güte kardialer Troponinisoformen zur Abgrenzung der ALS und deren Phänotypen gegenüber anderer NME zeigt eine ähnliche Divergenz der Testgüte zwischen hs-cTnT und hs-cTnI (vgl. Abb. 6 und Tab. 10). Mittels hs-cTnI ist die diagnostische Unterscheidung zwischen ALS und anderen NME nicht möglich. Für die Diagnosegruppe ALS sowie deren Phänotyp spinal beginnender ALS konnte eine signifikante Vorhersagegenauigkeit des hs-cTnT Wertes für das Vorliegen der Erkrankung nachgewiesen werden. Die entsprechenden AUC betragen 0,673 (95 % CI: 0,592 – 0,754; $p=0,0002$) beziehungsweise 0,723 (95 % CI: 0,643 – 0,803; $p<0,0001$). Die ROC-Kurven der Phänotypen bulbär beginnender ALS (AUC = 0,586; $p=0,155$) und PLS (AUC = 0,663; $p=0,095$) unterscheiden sich wiederum nicht vom Zufall. Zusammenfassend ermöglicht hs-cTnT gegenüber NNMK eine valide Vorhersage für das Vorliegen eine ALS. Ein signifikanter Nutzen von hs-cTnT zur diagnostischen Abgrenzung gegenüber anderen NME konnte primär für den Phänotypen spinal beginnender ALS nachgewiesen werden. Hs-cTnI besitzt für die ALS keine diagnostische Wertigkeit, weder zur Abgrenzung gegenüber NNMK, noch zur Abgrenzung gegenüber anderen NME.

Tab. 10: Flächenbestimmung der ROC-Kurven von hs-cTnT und hs-cTnI zur diagnostischen Abgrenzung der ALS und ihrer Phänotypen gegenüber NME (AUC = Fläche unter der Kurve; CI = Konfidenzintervall; p = Signifikanzwert)

Kontrollgruppe NME	hs-cTnT			hs-cTnI		
	AUC	95% CI	p	AUC	95% CI	p
ALS - Gesamt	0,673	0,592 – 0,754	0,0002	0,504	0,414 – 0,596	0,920
ALS – Spinaler Beginn	0,723	0,643 – 0,803	<0,0001	0,540	0,448 – 0,633	0,404
ALS – Bulbärer Beginn	0,586	0,469 – 0,702	0,155	0,556	0,438 – 0,674	0,353
PLS	0,663	0,485 – 0,841	0,095	0,632	0,467 – 0,798	0,161

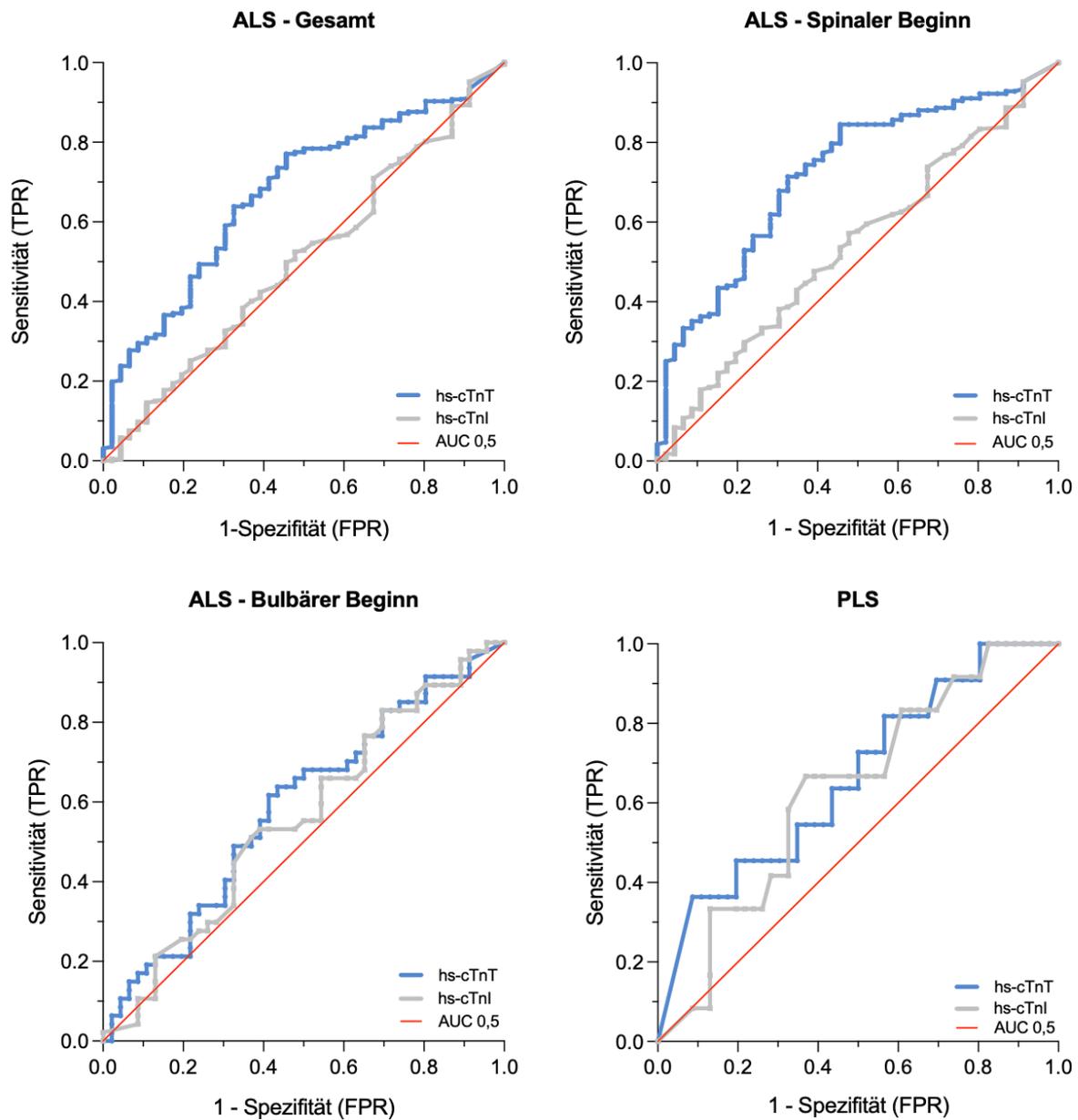


Abb. 6: ROC-Kurven der Serumkonzentrationen von hs-cTnT (Blau) und hs-cTnI (Grau) zur diagnostischen Abgrenzung der ALS gegenüber anderen NME (AUC = Fläche unterhalb der Kurve; TPR = Richtig-Positiv-Rate; FPR = Falsch-Positiv-Rate)

3.2.3 Zusammenhang zwischen hs-cTnT Serumkonzentration und klinischen Parametern

Verschiedene klinische Parameter geben Auskunft über die Schwere und Progression der ALS Erkrankung. Mittels Rangkorrelation nach Spearman wurde ein möglicher ungerichteter Zusammenhang zwischen diesen und der Serumkonzentration von hs-cTn analysiert. Die Vorhersagbarkeit der abhängigen Variable hs-cTn durch einen jeweiligen Prädiktor wurden mittels linearer Regression ermittelt. Je näher die Wertepaare der Variablen an der Regressionsgeraden liegen, desto höher ist die Vorhersagekraft der unabhängigen Variable. Sie wird durch das Bestimmtheitsmaß R^2 beschrieben. Beträgt R^2 1 so besteht ein perfekter linearen Zusammenhang. Ab einem Wert von $R^2 > 0,05$ wird ein linearer Zusammenhang zwischen Prädiktor und Kriterium angenommen.

Zunächst wird der Zusammenhang zwischen hs-cTnT und ALS-FRSr versus dessen Domänen betrachtet. Im Falle der Diagnosegruppe ALS besteht ein signifikant gegenläufiger Zusammenhang zwischen dem Gesamtpunktwert des ALS-FRS und der Serumkonzentration von hs-cTnT ($r = -0,404$; $p < 0,0001$) (vgl. Tab. 11). Demnach gehen höhere Gesamtpunktwerte des ALS-FRSr mit niedrigeren Serumkonzentrationen von hs-cTnT einher und umgekehrt. In Abb. 7 ist die zugehörige Regressionsgerade dargestellt. Demzufolge werden 12 % der Varianz der Serumkonzentration von hs-cTnT durch den Gesamtpunktwert des ALS-FRSr erklärt. Ein signifikant negativer Zusammenhang zwischen hs-cTnT und Gesamtscore konnte zudem für die Phänotypen spinal beginnende ($r = -0,434$; $p < 0,0001$) und bulbär beginnende ALS ($r = -0,542$; $p = 0,0002$) nachgewiesen werden. Der Phänotyp PLS zeigt keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnT und dem ALS-FRSr Gesamtscore ($p = 0,298$). Hinsichtlich der Domänen des ALS-FRSr korreliert die Serumkonzentration von hs-cTnT der Diagnosegruppe ALS und die der Phänotypen spinal und bulbär beginnender ALS signifikant mit dem Punktwert in den Bereichen Feinmotorik, Grobmotorik und Respiration (vgl. Tab. 11). Eine signifikant schwache Korrelation der Bulbärfunktion des ALS-FRSr mit der Serumkonzentration von hs-cTnT konnte lediglich für den Phänotypen spinal beginnende ALS nachgewiesen werden ($r = -0,208$; $p < 0,0001$). Für das ALS Gesamtkollektiv, den Phänotypen bulbär beginnende ALS und PLS zeigt sich kein

Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnT und der Domäne Bulbärfunktion. Die Frage, ob es einen Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnI und dem ALS-FRSr beziehungsweise dessen Domänen gebe muss sowohl für das ALS Gesamtkollektiv als auch die ALS Phänotypen verneint werden ($p > 0,05$).

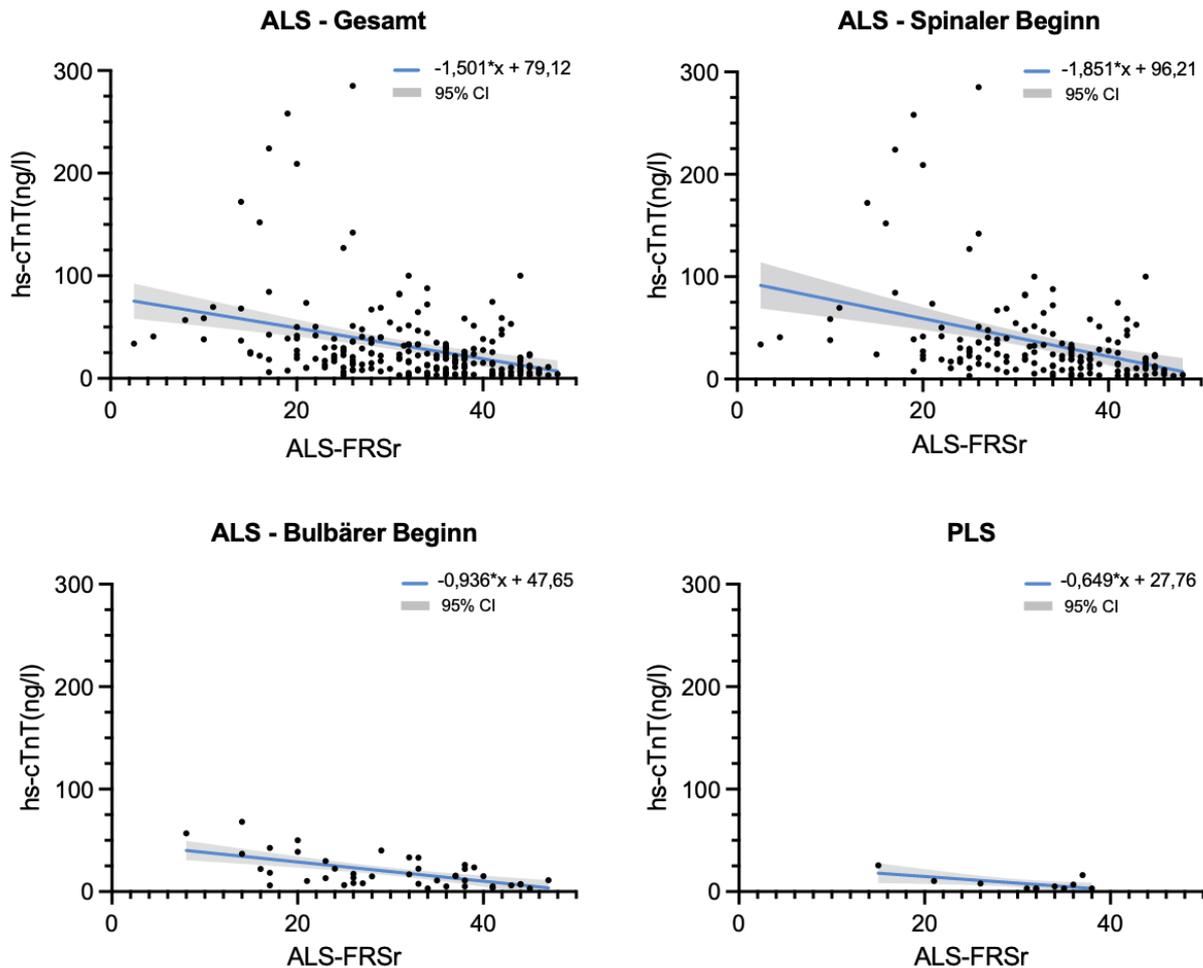


Abb. 7: Zusammenhangsanalyse zwischen hs-cTnT und ALS-FRSr Gesamtscore (blaue Gerade = Regressionsgerade; graue Fläche = 95 %-Konfidenzintervall der Regressionsgeraden)

Tab. 11: Zusammenhangsanalyse der Serumkonzentration von hs-cTnT und dem ALS-FRSr (r = Korrelationskoeffizient; p = Signifikanzwert; R² = Bestimmtheitsmaß; signifikante Ergebnisse sind fettgedruckt)

Zusammenhang zwischen hs-cTnT und ALS-FRSr		r	p	R ²
Gesamtscore	ALS - Gesamt	-0,403	<0,0001	0,119
	ALS - Spinaler Beginn	-0,434	<0,0001	0,143
	ALS - Bulbärer Beginn	-0,542	0,0002	0,365
	PLS	-0,344	0,298	0,424
Bulbärfunktion	ALS - Gesamt	-0,051	0,463	7,75*10 ⁻⁴
	ALS - Spinaler Beginn	-0,208	0,010	0,026
	ALS - Bulbärer Beginn	-0,248	0,108	0,095
	PLS	-0,347	0,294	0,423
Feinmotorik	ALS - Gesamt	-0,346	<0,0001	0,124
	ALS - Spinaler Beginn	-0,282	0,0004	0,103
	ALS - Bulbärer Beginn	-0,490	0,0009	0,335
	PLS	-0,371	0,255	0,444
Grobmotorik	ALS - Gesamt	-0,398	<0,0001	0,111
	ALS - Spinaler Beginn	-0,418	<0,0001	0,119
	ALS - Bulbärer Beginn	-0,507	0,0005	0,330
	PLS	-0,508	0,114	0,401
Respiration	ALS - Gesamt	-0,295	<0,0001	0,122
	ALS - Spinaler Beginn	-0,317	<0,0001	0,152
	ALS - Bulbärer Beginn	-0,470	0,002	0,183
	PLS	-0,333	0,309	0,140

Zum Zeitpunkt der ersten Messung nach Erkrankungsbeginn wurde wie bereits in Tab. 4 aufgeführt, der BMI aller ALS Patienten erhoben. Die Rangkorrelationsanalyse nach Spearman zeigt, dass zu diesem Zeitpunkt kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnT und dem BMI besteht (vgl. Abb. 8). Selbiges gilt für einen möglichen Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnI und dem BMI.

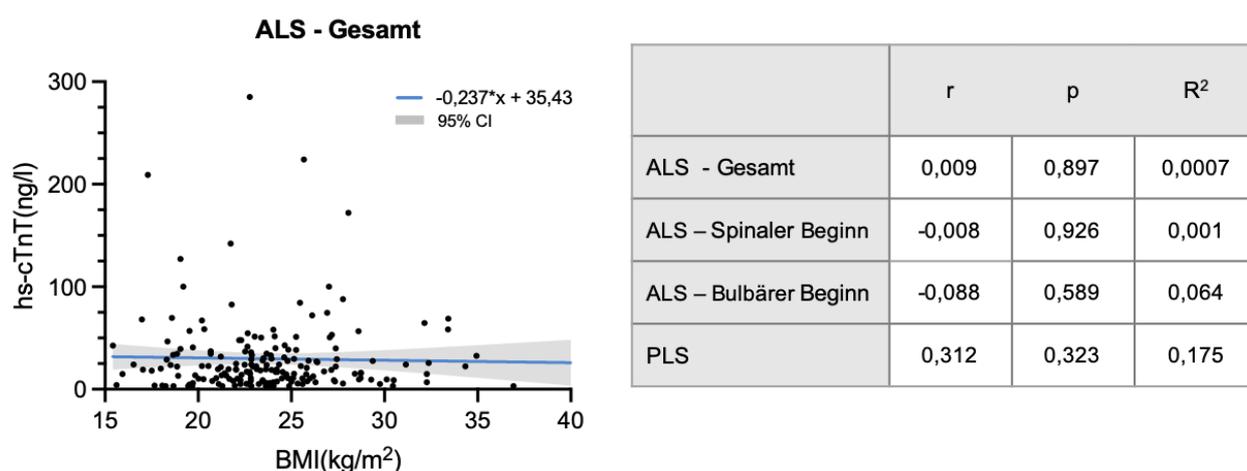


Abb. 8: Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnT (ng/l) und dem BMI (kg/m²) (r = Korrelationskoeffizient; p = Signifikanzwert; R² = Bestimmtheitsmaß)

3.3 Bestimmung kardialer Troponinisoformen im Krankheitsverlauf

3.3.1 Änderung der Serumkonzentrationen kardialer Troponinisoformen über die Zeit

Im Rahmen der ambulanten und stationären Regelversorgung erfolgten neben der initialen Bestimmung von hs-cTnT und hs-cTnI nach Erkrankungsbeginn weitere Messungen beider Troponinisoformen im Krankheitsverlauf. Aufgrund interindividuell abweichender Zeiträume zwischen den entsprechenden Arztkontakten werden Änderungen der Serumkonzentration durch den Bezug auf einen definierten Zeitraum (Quartal) normalisiert. Dabei werden jeweils die erste und letzte verfügbare Messung berücksichtigt. In Abb. 9 sind die entsprechenden Änderungen der Serumkonzentration von hs-cTn pro Quartal (ng/l) für die Diagnosegruppe ALS und deren Phänotypen dargestellt. Tab. 12 enthält eine Übersicht der entsprechenden Lage- und

Streuungsmaße. Die Mehrheit der Datenpunkte der ALS Patienten versus deren Phänotypen spinal und bulbär beginnender ALS liegen oberhalb der hypothetischen Änderung von Null. Die Serumkonzentration von hs-cTnT steigt bei der Diagnosegruppe ALS um durchschnittlich $4,791(\pm 9,783)$ ng/l pro Quartal an, wobei der Anstieg bei spinalem Beginn größer als bei bulbär beginnender ALS ist (vgl. Tab. 12). Auffallend ist die breite Streuung der Daten, insbesondere bei dem Phänotypen spinal beginnender ALS. Für die Diagnosegruppe ALS und die beiden Phänotypen unterscheidet sich der Anstieg signifikant von einer hypothetisch konstanten Serumkonzentration ($p < 0,0001$). Für den Phänotypen PLS konnte keine signifikante Änderung der Serumkonzentration von hs-cTnT über die Zeit nachgewiesen werden (vgl. Abb. 9 und Tab. 12). Bei Betrachtung der Änderung von hs-cTnI über die Zeit sind sowohl bei der Diagnosegruppe ALS als auch deren Phänotypen nur marginale Änderungen zu beobachten (vgl. Abb. 9 und Tab. 12).

Tab. 12: Lage und Streuungsmaße der Änderung von hs-cTn über die Zeit

Δ hs-cTn (ng/l) / Quartal		ALS - Gesamt	ALS – Spinaler Beginn	ALS – Bulbärer Beginn	PLS
n		141	100	30	11
hs-cTnT	m	4,791	5,435	4,189	-0,577
	SD	9,783	11,110	5,259	1,203
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,218
hs-cTnI	m	-0,351	-0,725	0,981	-0,344
	SD	5,021	5,050	5,715	0,965
	p	0,030	0,043	0,859	0,160
p = Signifikanzwert des Wilcoxon Signed Rank Test ($\Delta = 0$)					

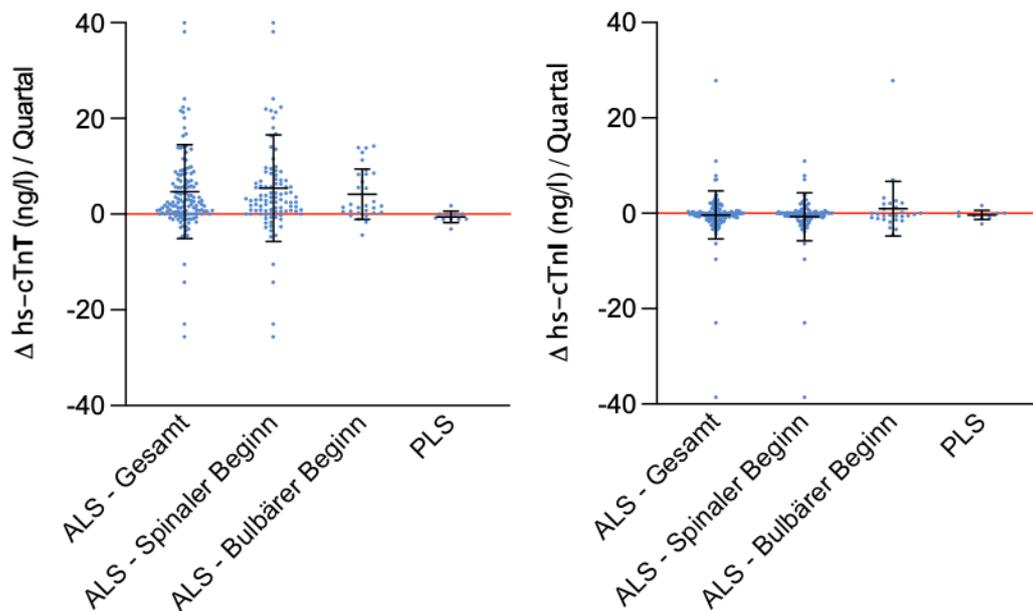


Abb. 9: Änderung der Serumkonzentration von hochsensitivem kardialen Troponin T und I über die Zeit (Δ hs-cTn (ng/l) / Quartal) (Mittelwert und Standardabweichung)

3.3.2 Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration kardialer Troponinisoformentypen und der Erkrankungsdauer

Mittels Rangkorrelation nach Spearman wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration kardialer Troponinisoformentypen (ng/l) und der Erkrankungsdauer (Jahren) von ALS Patienten untersucht. Für hs-cTnI konnte weder für die Diagnosegruppe ALS noch deren Phänotypen ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit der Erkrankungsdauer nachgewiesen werden ($p > 0,05$). Im Fall spinal beginnender ALS korreliert die Serumkonzentration von hs-cTnT signifikant positiv mit der Erkrankungsdauer ($r = 0,381$; $p < 0,0001$) (vgl. Abb. 10). Demnach geht eine längere Erkrankungsdauer mit höheren Serumkonzentrationen von hs-cTnT einher und umgekehrt. Für die Phänotypen bulbär beginnende ALS ($p = 0,999$) und PLS ($p = 0,323$) konnte hingegen kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnT und der Erkrankungsdauer nachgewiesen werden.

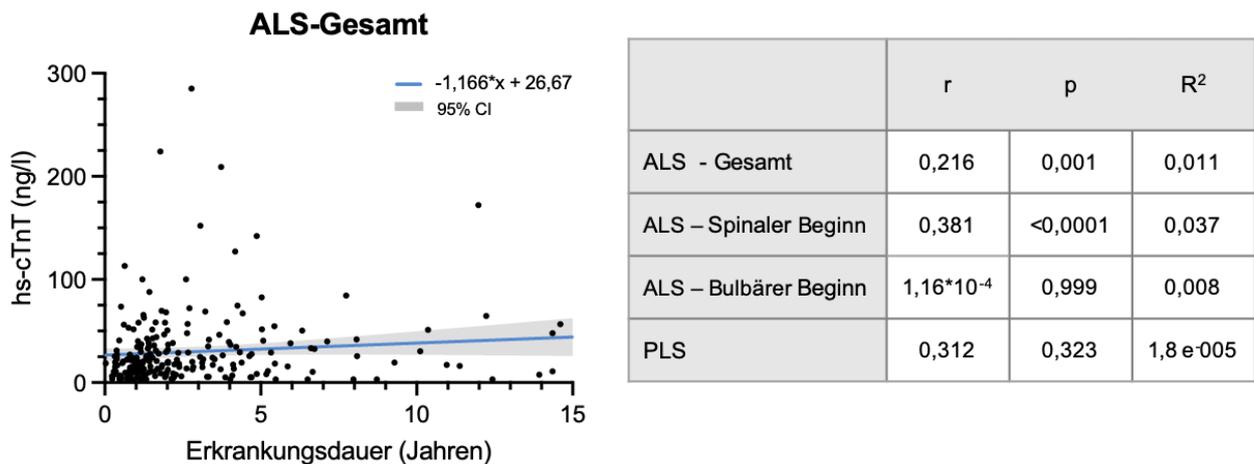


Abb. 10: Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnT (ng/l) und der Erkrankungsdauer (Jahren) (r = Korrelationskoeffizient; p = Signifikanzwert; R² = Bestimmtheitsmaß)

3.3.3 Überlebenszeitanalyse

Im Rahmen der Studie wurden die Überlebensdaten aller ALS Patienten erfasst. Zur Überlebenszeitanalyse der Patienten mit elevierten versus normwertigen Serumkonzentrationen von hs-cTnT wurden Kaplan-Meier-Kurven erstellt. Berücksichtigt wird jeweils die jüngste Bestimmung vor dem Sterbedatum versus vor Ende des Beobachtungszeitraumes. Bei jenen Individuen bei denen das Ereignis (Tod) bis zum Ende des Beobachtungszeitraum ausbleibt, liegt eine zensierte Beobachtung im Sinne einer Mindestüberlebenszeit vor. Es sei erwähnt, dass kongruent zu Abb. 4 über 95% der Patienten mit elevierten hs-cTnT normwertige Konzentrationen von hs-cTnI aufweisen. In Abb. 11 sind die Überlebenszeitkurven der Phänotypen spinal und bulbär beginnender ALS abgebildet. Für den Phänotypen PLS können aufgrund der im Vergleich zum Krankheitsverlauf kurzen Beobachtungszeit keine Aussagen über dessen bedingten Überlebenswahrscheinlichkeiten getroffen werden. Sowohl für den Phänotypen spinal als auch bulbär beginnende ALS verläuft die Überlebenskurve der Patienten mit eleviertem hs-cTnT während des gesamten Zeitraums unterhalb derer bei normwertigem hs-cTnT. Dies lässt auf eine niedrigere Überlebensrate und somit auf ein höheres Todesfallsrisiko der Patienten mit eleviertem hs-cTnT schließen. Nach Long-Rank-Test besteht ein statistisch signifikanter Unterschied in der bedingten Überlebenswahrscheinlichkeit zwischen Patienten mit eleviertem und normwertigen Serumkonzentrationen von hs-cTnT

($p_{\text{spinaler Beginn}}=0,003$; $p_{\text{bulbärer Beginn}}=0,037$). Die Effektschätzung nach dem Proportional-Hazard-Modell ergibt für Patienten mit eleviertem Troponin T eine Hazard Ratio von 3,629 (95 % CI: 1,535-8,580). beziehungsweise 3,378 (95 % CI: 1,072-10,65) (vgl. Abb. 11). Demnach ist das Sterberisiko für Patienten mit elevierten hs-cTnT 3,6- beziehungsweise 3,4-mal höher als das derer mit normwertigem hs-cTnT.

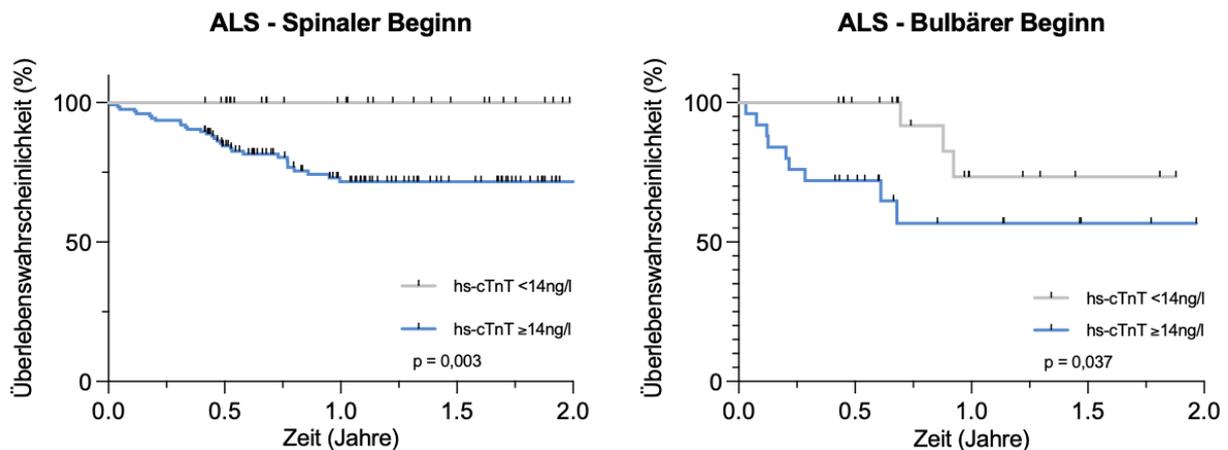


Abb. 11: Kaplan-Meier Überlebenszeitkurven für Patienten spinal und bulbär beginnender ALS mit einer zuletzt gemessenen hs-cTnT Serumkonzentration $\geq 14\text{ng/l}$ beziehungsweise $< 14\text{ng/l}$ (p = Signifikanzwert des Long-Rank-Test)

4. Diskussion

Bei der zum Formenkreis der Motoneuronerkrankungen gehörende ALS handelt es sich um eine Multisystemerkrankung mit vorwiegender Degeneration des motorischen Nervensystems (van Es et al., 2020). Trotz wachsender neuropathologischer, bildgebender, genetischer und klinischer Erkenntnisse verbleibt die ALS eine primär klinische Diagnose mit begrenzten krankheitsmodifizierenden und fehlenden kurativen Therapieoptionen. Wissenschaftler fordern die Etablierung valider Biomarker in Studien und medizinischer Regelversorgung um Diagnose, Patientenstratifizierung und die Entwicklung möglicher Therapien nachhaltig zu verbessern (Verber et al., 2019).

Troponine sind myofibrilläre Strukturproteine der quergestreiften Muskulatur, wobei in Kardiomyozyten (cTn), schnellen (fsTn) und langsamen Skelettmuskelfasern (ssTn) distinkte genetisch determinierte Isoformen exprimiert werden. Dabei sind akute Erhöhungen der Troponinisoformen cTnT und cTnI sensitive Marker kardialer Schädigung und Schlüsselement in der diagnostischen Abklärung des Akuten Koronarsyndroms. Neben einem MI gehen verschiedene kardiale und extrakardiale Pathologien mit akuten wie auch chronischen Elevationen kardialer Troponinisoformen einher (Park et al., 2017; McCarthy et al., 2019). In der Literatur finden sich unabhängige Fallberichte zu ALS-assoziierten chronischen Elevationen von cTnT bei normwertigen Serumkonzentrationen von cTnI (Graziani et al., 2015; Hof et al., 2013; Von Lueder et al., 2011; Mach et al., 2015). Dies führt zu der Frage, nach einer grundlegend alterierten Expression kardialer Troponinisoformen sowohl bei ALS als auch anderen NME. Bei den beiden bislang einzig existenten Studien zu ALS assoziierten Erhöhungen von cTnT erfolgt bei den Studienteilnehmern ($n_1=80$, $n_2=22$) keine systematische Bestimmung von cTnI. Zum Ausschluss einer potentiell kausalen Myokardischämie wurden in beiden Studien vornehmlich anamnestische Angaben, klinische Untersuchungen und EKG Befunde berücksichtigt (Casmiro und Graziani, 2017; Mach et al., 2016). Die Europäische Gesellschaft für Kardiologie (ESC) weist in der zuletzt 2018 veröffentlichten Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction explizit darauf hin, dass cTnT sowohl im Rahmen kardialer als auch extrakardialer Pathologien akut respektive chronisch eleviert sein könne. Dahingegen sei cTnI ausschließlich bei myokardialer Gewebeschädigung im Serum erhöht (Thygesen et al., 2018). Die sichere Abgrenzung einer Myokardschädigung

gegenüber anderen ebenfalls zu Troponin T Elevation führenden Pathologien erfordert somit die gleichzeitige Bestimmung beider kardialer Troponinisoformen und deren Kinetik im zeitlichen Verlauf. Folglich vermag keine der oben genannten Studien den objektiven Ausschluss subklinischer und somit potentiell kausaler Myokardbeteiligungen der beobachteten cTnT Elevationen. Die vorliegende Studie ist die erste systematische Untersuchung potentiell chronischer Veränderungen der Serumkonzentration von hs-cTnT und hs-cTnI in Zusammenhang mit ALS. Zu diesem Zweck wurden Patienten der ambulanten und stationären Regelversorgung (n=329) untersucht. Die Altersstruktur der betrachteten ALS Kohorte (n=227) ist sowohl für die Fälle klassische ALS als auch die Primärer Lateralsklerose kohärent zu den Angaben in der Fachliteratur. Zudem zeigt sich eine in der Literatur beschriebene marginale Prädominanz des männlichen Geschlechtes (Van Es et al., 2017). Übereinstimmend mit vergleichbaren epidemiologischen Studien wie der Registerstudie Schwaben bilden vornehmlich die bulbäre und spinale Region den Ort klinischer Erstmanifestation. Im Großteil der Fälle besteht das klinische Bild einer klassischen ALS mit gleichsamer Affektion des ersten (UMN) und zweiten Motoneurons (LMN). Nur eine geringe Anzahl der untersuchten Patienten (5,3 %) erfüllt die Diagnosekriterien einer Primären Lateralsklerose (vgl. Rosenbohm et al., 2017). Ein durchschnittlicher ALS-FRSr Gesamtscore von 33 ± 12 , signifikant niedrigere Punktwerte der Phänotypen in den entsprechenden Domänen des ALS-FRSr, eine geringe Beeinträchtigung der Respiration und das Vorliegen von Normal- bis Übergewicht sprechen für eine erhaltene Differenzierbarkeit der klinisch definierten Phänotypen und einen frühen bis mittleren Zeitpunkt im Krankheitsverlauf. Unter Zusammenschau der Basischarakteristika handelt es sich um ein für die ALS repräsentatives Studienkollektiv. Die in die Studie mit eingeschlossenen ALS-Mimics umfassen eine Gruppe heterogener Krankheitsentitäten mit entsprechend unterschiedlichem Alter bei Erkrankungsbeginn und Krankheitsprogression (Hansel et al., 2018). Dies erklärt die bei dem Vergleichskollektiv anderer NME zu beobachtende breite Streuung von Alter und Erkrankungsdauer. Die Bestimmung von hs-cTnT und hs-cTnI im Serum stellt ein im klinischen Alltag breit verfügbares, relativ kostengünstiges und gegenüber der Bestimmung zerebrospinaler Biomarker vergleichbar gering invasives Verfahren dar (Zachoval et al., 2020). Um die Güte eines Biomarkers zu evaluieren müssen die Limitationen des angewendeten Analyseverfahren bekannt sein, SOPs angewendet werden und eine Retest Reliabilität

gegeben sein (Verber et al., 2019). Die angewendeten hochsensitiven Antikörper Verfahren der Firma Beckmann Coulter (hs-cTnI) und Roche (hs-cTnT) weisen eine hohe analytische Sensitivität und relative Unempfindlichkeit gegenüber Interferenzen heterophiler Antikörper auf (Boeddinghaus et al., 2019). Sowohl Probenentnahme als auch -verarbeitung erfolgten zur Minimierung präanalytische und analytischer Fehler stets unter standardisiertem Vorgehen (SOP). Zu Beginn der Studie durchgeführte Kontrollmessungen im Zentrallabor des UKB bestätigen die Reproduzierbarkeit und die Reliabilität der im Labor Volkmann bestimmten Serumkonzentrationen.

Im Rahmen dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Mehrheit aller ALS Patienten bereits zu Beginn der Erkrankung chronisch isolierte Elevationen von hs-cTnT aufweisen. Zum Zeitpunkt der ersten Messung nach Symptombeginn liegt bei 64 % der 227 untersuchten ALS Patienten die hs-cTnT Serumkonzentration oberhalb des Referenzwertes myokardialer Schädigung (14,0ng/l). Die zugehörige durchschnittliche Serumkonzentration beträgt $30,04 \pm 36,12$ ng/l und liegt signifikant oberhalb derer bei NNMK ($m=7,60$; $p<0,0001$) als auch oberhalb derer bei anderer NME ($m=15,51$ ng/l; $p=0,001$). Bei Letzteren zeigen sich in 12 % (NNMK) respektive 35 % (andere NME) der Fälle isolierte hs-cTnT Elevationen oberhalb des Schwellenwertes myokardialer Schädigung. Diese Beobachtungen sind kongruent zu den Untersuchungsergebnissen von Mach und Kollegen, welche unter Vorbehalt der fehlenden Bestimmung von hs-cTnI, in 68 % der untersuchten ALS Patienten und 5 % der Kontrollgruppe chronische Elevationen von hs-cTnT beschreiben (Mach et al., 2016). Handle es sich bei den beobachteten Elevationen von hs-cTnT um Fälle subklinischer Myokardischämien, wäre eine gleichsinnige Erhöhung der gewebespezifischen Isoform hs-cTnI ($\geq 17,5$ ng/l) zu erwarten (Schmid et al., 2018; Thygesen et al., 2018). Tatsächlich liegt jedoch bei über 95 % der ALS Patienten mit eleviertem hs-cTnT eine normwertige Serumkonzentration von hs-cTnI vor. Selbiges gilt für die Gruppe anderer NME (96 %). Untersuchungen primärer und symptomatischer Myopathien beschreiben eine ähnliche Diskonkordanz der Serumkonzentration beider Troponinisofomen und legen übereinstimmend mit den Untersuchungsergebnissen dieser Studie nahe, dass dies ein diverse neuromuskuläre Erkrankungen betreffendes Phänomen darstellt (Rittoo et al., 2014; Schmid et al., 2018). Neben einer zu falsch positiven Ergebnissen führenden Kreuzreaktivität und einer subklinische Myokardbeteiligung wird die Reexpression von fetalem cTnT in intakter, de-

und regenerierender Skelettmuskulatur diskutiert (Mair et al., 2018; Rittoo et al., 2014; Schmid et al., 2018; Welsh et al., 2019; Wens et al., 2016). Unabhängige Studien der angewendeten Antikörper der Firma Beckmann Coulter (hs-cTnI) und Roche (hs-cTnT) zeigen keine signifikante zu falsch positiven Ergebnissen führende Kreuzreaktivität, weder mit anderen Troponinisoformen, Fibrinogen, Myosin, Myoglobin, Tropomyosin noch mit CK-MB (Boeddinghaus et al., 2019; Christenson et al., 2020). Die Hypothese einer zu falsch positiven Ergebnissen führenden Kreuzreaktivität und die Hypothese einer subklinisch kardialen Beteiligung im Rahmen ALS stehen somit im Widerspruch zu den Ergebnissen dieser Studie. Im Gegensatz zu cTnI wird cTnT während der Fetogenese sowohl im Myokard als auch in der quergestreiften Skelettmuskulatur gebildet (Anderson et al., 1991; Bodor et al., 1995). Studien zeigen gewisse Überschneidungen zwischen embryonaler Myogenese und der Regeneration von Skelettmuskulatur (Chargé und Rudnicki, 2004). In der Vergangenheit wurde cTnT mittels immunohistochemischer Verfahren bereits in regenerierender Skelettmuskulatur nachgewiesen. Bei gleichzeitig fehlendem Nachweis von cTnI wurde dies als Hinweis auf die Reexpression der fetalen Isoform gewertet (Bodor et al., 1995; Bodor et al., 1997; Jaffe et al., 2011). Die genaue Pathophysiologie der beobachteten Diskonkordanz von hs-cTnT und hs-cTnI konnte bis dato jedoch nicht abschließend geklärt werden (Giannitsis et al., 2019). Insgesamt indizieren die Daten dieser Studie, dass die Expression von cTnT in Zusammenhang mit ALS sowie anderen NME grundlegend verändert zu sein scheint. Die Diskonkordanz zwischen hs-cTnT und hs-cTnI legt nahe, dass die beobachteten Elevationen von hs-cTnT nicht kardialen Ursprunges sind. Die Klärung von Ätiologie und Pathophysiologie der beobachteten isolierten hs-cTnT Elevationen erfordern jedoch die zukünftige systematische und simultane molekularbiologische Untersuchung von Skelettmuskulatur und Myokard im Rahmen randomisiert kontrollierter Studien. Als potentieller Marker neuromuskulärer Schädigung gilt es zu prüfen, ob die hs-cTnT Serumkonzentration Informationen für Diagnose, Prognose und gegebenenfalls Prädiktion der ALS Erkrankung innehält. Ein valider diagnostischer, prognostischer beziehungsweise prädiktiver Biomarker vermag es sowohl lang überdauernde Eigenschaften als auch Zustandsänderungen abzubilden (Atkinson et al., 2001). Definierendes Charakteristikum der ALS ist die progrediente Degeneration des ersten und zweiten Motoneurons. Gleichwohl besteht ein breites Spektrum klinischer Manifestationen und

Krankheitsprogression (Grad et al., 2017). Casmiro und Graziani postulieren eine Unabhängigkeit der beobachteten chronischen hs-cTnT Elevationen vom klinischen Phänotyp der ALS (Casmiro und Graziani, 2017). Die Ergebnisse dieser Studie widerlegen diese Aussage. Sie zeigen eine signifikante Divergenz der Serumkonzentrationen von hs-cTnT zwischen den klinisch definierten Phänotypen spinal beginnende ALS, bulbär beginnende ALS und PLS. Während 72 % der Patienten mit spinal beginnende ALS bereits zu Beginn der Erkrankung eine isolierte Elevation von hs-cTnT aufweisen, beträgt der entsprechende Anteil bei bulbär beginnender ALS nur 49 %. Es gilt zu beachten, dass die Subgruppe bulbär beginnender ALS bei klinisch nicht zweifelsfreier Differenzierbarkeit zwischen bulbärer (LMN) und pseudobulbärer (UMN) Symptomatik, mögliche Fälle primär kortikobulbärer Affektion beinhaltet. Fälle isolierter Affektion des ersten Motoneurons im Sinne einer Primären Lateralsklerose zeigen vornehmlich normwertige Serumkonzentrationen der kardialen Troponinisoform hs-cTnT. Die mittlere Serumkonzentration von hs-cTnT beträgt bei spinalem Erkrankungsbeginn 35,04ng/l und liegt signifikant oberhalb derer bei bulbär beginnender ALS ($m=17,81\text{ng/l}$; $p=0,02$) als auch derer in Fällen Primärer Lateralsklerose ($m=7,90\text{ng/l}$; $p=0,0001$). Hinsichtlich der Lage- und Streuungsmaße der hs-cTnT Serumkonzentrationen zeigt sich vor allem für den Phänotypen spinal beginnende ALS eine große Varianz. Diese ist vermutlich Ausdruck der Heterogenität dieser Subgruppe mit interindividuell unterschiedlichen Paresemustern respektive abweichender Krankheitsprogression (Proudfoot et al., 2016). Untersuchungen auf das Vorliegen logarithmischer Normalverteilung und die Transformation der Rohdaten durch Logarithmieren deuten darauf hin, dass diese Streuung im Sinne eines statistischen Rauschens zu werten ist. Insgesamt konnte dennoch gezeigt werden, dass hs-cTnT zu Beginn der Erkrankung ein valider Biomarker zur Unterscheidung der klinisch definierten Phänotypen PLS, spinal und bulbär beginnende ALS darstellt. Die Untersuchungen zeigen, dass ein bulbärer Erkrankungsbeginn mit niedrigeren hs-cTnT Serumkonzentrationen einhergeht als ein spinaler Erkrankungsbeginn und dass Fälle isolierter Affektion des ersten Motoneurons mit normwertigen Serumkonzentrationen von hs-cTnT vergesellschaftet sind. Anders als hs-cTnT ist hs-cTnI unabhängig vom klinischen Phänotyp der ALS, ist in über 95 % der Fälle normwertig und erlaubt daher keine Differenzierung selbiger.

Die ALS ist eine klinische Diagnose, wobei die ursprünglich zu Studienzwecken von der World Federation of Neurology verabschiedeten El-Escorial Kriterien, beziehungsweise deren Novellierungen, den entsprechenden international anerkannten Diagnosestandard darstellen (Brooks 1994; Brooks et al. 2000; de Carvalho et al. 2008; A. Ludolph et al. 2015). Bis dato dienen apparative und laborchemische Basis- sowie Zusatzdiagnostik vornehmlich dem Ausschluss möglicher Differentialdiagnosen. Die Regelversorgung von ALS Patienten zeigt jedoch, dass viele der Betroffenen die oben genannten Diagnosekriterien initial nicht erfüllen. Durchschnittlich besteht eine 12-monatigen Latenz zwischen Symptombeginn und Diagnosestellung. Zudem werden die verschiedenen Phänotypen der ALS unzureichend erfasst. Wissenschaftler fordern daher die Implementierung valider Biomarker, um bei klinisch begründetem Verdacht die Diagnosestellung einer ALS zu erleichtern, frühzeitige Patientenstratifizierung zu ermöglichen und einen raschen Therapiebeginn beziehungsweise Studieneinschluss zu gewährleisten (Shefner et al., 2020; Verber et al., 2019). Der Nachweis signifikant chronisch isolierter hs-cTnT Elevationen in der Mehrheit der Fälle ALS führt unweigerlich zu der Frage nach dessen Eignung als diagnostischer Biomarker. Während für hs-cTnI keinerlei diagnostische Information ($AUC = 0,5$) nachgewiesen werden konnte, ermöglicht hs-cTnT bei klinisch begründetem Verdacht eine valide diagnostischen Abgrenzung der ALS ($AUC=0,831$, $p<0,0001$) beziehungsweise deren Phänotypen spinal ($AUC=0,867$; $p<0,0001$) und bulbär ($AUC=0,78$; $p<0,0001$) beginnender ALS gegenüber NNMK. Darüber hinaus erlaubt hs-cTnT eine Abgrenzung der ALS gegenüber anderen NME ($AUC_{ALS-Gesamt} = 0,673$; $p = 0,0002$), wobei die entsprechende diskriminierende Eigenschaft etwas geringer ist. Im Falle einer isolierten Affektion des ersten Motoneurons erlauben weder hs-cTnI noch hs-cTnT eine diagnostische Abgrenzung gegenüber NNMK oder anderen NME ($p>0,05$). Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass zwei in weiten Teilen homologe Proteine eine sehr unterschiedliche Aussagekraft für die Diagnosestellung der ALS beziehungsweise deren Phänotypen spinal und bulbär beginnende ALS besitzen. Obgleich hs-cTnT nicht ALS-spezifisch ist, besitzen die Untersuchungsergebnisse dieser Studie hohe Relevanz sowohl für studiengebundene Zwecke als auch die Betreuung von ALS Patienten im Rahmen der medizinischen Regelversorgung. Verber et al. weisen darauf hin, dass der komplementäre Einsatz verschiedener Biomarker notwendig sei, um die ALS als Multisystemerkrankung gänzlich

zu erfassen (Verber et al., 2019). Die gemeinsame Bestimmung von hs-cTnT als Marker neuromuskulärer Schädigung und Neurofilamenten als Marker neuroaxonalen Schadens könnte beispielsweise die Diskriminierung zwischen ALS und deren Differentialdiagnosen (ALS-Mimics) in frühen Krankheitsstadien erleichtern (Verde et al., 2019; Weydt et al., 2016). Darüber hinaus erscheint die Reevaluierung von hs-cTnT Serumkonzentrationen bei ALS Patienten mit dem vermeidlich laborchemischen Nachweis einer akuten Myokardischämie notwendig. Der international einheitliche Schwellenwert myokardialer Schädigung von hs-cTnT (14,0 ng/l) wurde anhand der 99ten Perzentile eines gesunden Referenzkollektivs definiert. Ähnlich der Forderung nach geschlechts- und altersspezifischen Schwellenwerten kardialer Troponinisoformen stellt sich die Frage nach ALS-spezifischen Referenzwerten in der laborchemischen Abklärung des akuten MI. Auch wenn für den Schwellenwert von 14,0 ng/l sowohl für die Diagnosegruppe ALS (0,532; Sensitivität 63,88 %, Spezifität 89,29%) als auch deren Phänotypen spinal (0,607; Sensitivität 71,43 %; Spezifität 89,29%) und bulbär beginnende ALS (0,382; Sensitivität 48,94 %; Spezifität 89,29 %) der höchste Youden Index nachgewiesen wurde, sollte ein Schwellenwert grundsätzlich nicht über die Kriterien der maximalen diagnostischen Güte definiert werden. Es handelt sich primär um eine klinisch medizinische aber auch gesundheitsökonomische Fragestellung. Ein Beispiel ist die Festlegung des PSA Schwellenwertes zur Diagnostik des Prostatakarzinoms. Hier wird ein Schwellenwert möglichst hoher Sensitivität (ca. 90 %) gewählt. Gleichzeitig billigt man eine damit verbundene geringe Spezifität (30 %) mit den damit verbundenen Folgen wie invasiver Folgeuntersuchungen (Hoffman et al., 2002). Im Falle der beobachteten chronisch isolierten Elevationen von hs-cTnT bei ALS als Biomarker neuromuskulärer Schädigung scheint die Festlegung eines hohen Schwellenwertes ratsam. Ziel wäre dabei eine möglichst hohe Spezifität, um ALS Patienten vor fehlindizierten invasiven Interventionen zu schützen. Insgesamt empfiehlt sich übereinstimmend mit der Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction die gemeinsame Betrachtung von hs-cTnT und hs-cTnIn sowie deren Kinetik im zeitlichen Verlauf (Thygesen et al., 2018).

Verschiedene klinische Parameter geben Auskunft über die Schwere, Progression und somit Prognose der ALS Erkrankung. Goldstandard zu deren Erfassung bildet unter anderem der ALS-FRSr (Cedarbaum et al., 1999; Proudfoot et al. 2016). Mittels Rangkorrelation nach Spearman konnte sowohl für die Diagnosegruppe ALS als auch

deren Phänotypen spinal und bulbär beginnende ALS ein signifikant negativer Zusammenhang zwischen ALS-FRSr Gesamtscore ($p \leq 0,0002$) beziehungsweise den Domänen Grobmotorik ($p \leq 0,0005$), Feinmotorik ($p \leq 0,0009$), Respiration ($p \leq 0,002$) und der Serumkonzentration von hs-cTnT nachgewiesen werden. Demnach gehen niedrigere Punktwerte (d.h. höhere Funktionseinschränkungen), mit höheren Serumkonzentrationen von hs-cTnT und umgekehrt einher. Dahingegen konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der hs-cTnT Serumkonzentration und der Bulbärfunktion nachgewiesen werden. Die Beobachtung, dass cTnT Konzentrationen mit den Domänen Grob-, Feinmotorik und Respiration, nicht aber mit der Bulbärfunktion korrelieren deutet somit auf die Skelettmuskulatur als möglichen Ursprung der beobachteten Elevation von hs-cTnT im Serum hin. Die Annahme, dass hs-cTnT als Biomarker neuromuskulärer Schädigung vor allem die Beteiligung des zweiten Motoneurons widerspiegelt deckt sich mit den Untersuchungsergebnissen von Bodor et al., welche cTnT in regenerierender Skelettmuskulatur einschließlich des Diaphragmas nachweisen konnten (Bodor et al., 1997). Wie bereits erwähnt sind jedoch zukünftig immunohistochemische Untersuchungen von Skelettmuskulatur und Myokard notwendig um die Ätiologie der beobachteten Elevation zu verifizieren. Der fehlende Nachweis eines Zusammenhangs zwischen hs-cTnT Serumkonzentration und BMI könnte möglicherweise durch den Untersuchungszeitpunkt im Krankheitsverlauf begründet sein. Das Studienkollektiv weist zum Zeitpunkt der Untersuchung ein frühes bis mittleres Erkrankungsstadium mit fehlender bis moderater Dysphagie auf. Um den objektiven Nachweis eines fehlenden Zusammenhanges zu erbringen, sind jedoch wiederkehrende Messungen im weiteren Erkrankungsverlauf notwendig.

Im Krankheitsverlauf der ALS kommt es zur konsekutiven Ausbreitung von Paresen auf Innervationsgebiete kortikal und spinal benachbarter, sowie funktionell verbundener Motoneurone (Ravits, 2014). Dies äußert sich in dem Übergreifen von Symptomen auf ipsilateral als auch kontralateral angrenzende Körperregionen und die damit verbundene Zunahme an Paresen. Daher stellt sich die Frage, ob sich die Serumkonzentration von hs-cTnT als Marker neuromuskulärer Schädigung im Krankheitsverlauf der ALS verändert. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Serumkonzentration von hs-cTnT anders als die von hs-cTnI im Verlauf der ALS Erkrankung signifikant ($p < 0,0001$) ansteigt. Es zeigt sich eine durchschnittliche Zunahme von $4,791 \text{ ng/l } (\pm 9,78)$ pro Quartal,

wobei der Anstieg bei spinal beginnender ALS größer als bei bulbär beginnender ALS ist. Für die Fälle Primärer Lateralsklerose mit isolierter Affektion des UMN konnte keine signifikante Änderung von hs-cTnT oder hs-cTnI über die Zeit nachgewiesen werden. Die fortbestehende Normwertigkeit von hs-cTnI spricht gegen eine mögliche Myokardbeteiligung im weiteren Krankheitsverlauf der ALS. Die Beobachtungen legen nahe, dass hs-cTnT als Marker neuromuskulärer Schädigung die zunehmende Affektion des LMN widerspiegelt. Diese Hypothese wird durch die bei dem Phänotypen spinal beginnende ALS nachgewiesene signifikant positive Korrelation zwischen Erkrankungsdauer und hs-cTnT Serumkonzentration bestärkt ($r=0,381$; $p<0,0001$). Die hohe Streuung von Δ hs-cTnT ist vermutlich in der interindividuell abweichenden Krankheitsprogression begründet. Vergangene Studien zum Verlauf des ALS-FRSr zeigten, dass während sich die interindividuelle Krankheitsprogression häufig stark unterscheidet, der intraindividuelle Krankheitsverlauf eine gewisse Linearität zeigt (Turner und Jenkins, 2020). Grundsätzlich weist die Region klinischer Erstmanifestation auch bei fortgeschrittener ALS den höchsten Grad funktioneller Einschränkung auf. Dennoch entwickeln Patienten mit bulbär beginnender ALS ebenso spinale Symptome, wie umgekehrt (Ravits, 2014). Folglich ist davon auszugehen, dass bei bulbär beginnender ALS die zunehmende Affektion spinaler Regionen mit einem Anstieg der Serumkonzentration von hs-cTnT einhergeht. Da bei der Änderung der Serumkonzentrationen von hs-cTnT die erste und letzte verfügbare Messung berücksichtigt wurden, sind jedoch keine Aussagen über mögliche sprunghafte Veränderungen im Krankheitsverlauf möglich. Aufgrund des Studiendesigns gilt es die Studienergebnisse in zukünftigen randomisiert kontrollierten Studien mit entsprechend längeren Beobachtungszeiträumen zu überprüfen.

Abschließend konnte bei der Untersuchung der Überlebenszeitdaten der ALS Patienten gezeigt werden, dass die chronische isolierte Elevation von hs-cTnT ein signifikanter Prädiktor für die Gesamtmortalität darstellt, sowohl für die Fälle bulbär als auch die spinal beginnender ALS. Demnach ist das Sterberisiko für Patienten mit isolierter Elevation von hs-cTnT 3,6- beziehungsweise 3,4-mal höher als das derer mit normwertiger Serumkonzentration von hs-cTnT. Für den Phänotypen PLS können aufgrund der im Vergleich zum Krankheitsverlauf kurzen Beobachtungszeit keine Aussagen über dessen bedingte Überlebenswahrscheinlichkeiten getroffen werden.

Rückblickend bilden die Ergebnisse dieser Beobachtungsstudie eine entscheidende Grundlage für die Reevaluierung und Interpretation kardialer Troponinisoformen in Zusammenhang mit ALS und anderen neuromuskulären Erkrankungen. Chronische Elevationen von hs-cTnT bei normwertigen Serumkonzentrationen von hs-cTnI sind ein bislang unterschätztes und häufig als myokardiale Schädigung missinterpretiertes Phänomen. Dies deckt sich mit dem Hinweis der ESC, dass die Prävalenz nicht AMI assoziierter Erhöhungen des cTnT im klinischen Alltag häufig unterschätzt werde (Thygesen et al., 2018). Hs-cTnT ist nicht ALS-spezifisch. Dennoch ermöglicht es als Marker neuromuskulärer Schädigung die diagnostische Abgrenzung der ALS versus der Phänotypen spinal und bulbär beginnender ALS, sowohl gegenüber NNMK als auch anderen NME. Untersuchungen der klinisch definierten Phänotypen legen nahe, dass chronische Elevationen von hs-cTnT die Beteiligung des LMN reflektieren. Ob de- und regenerierendes Muskelgewebe der Ursprung dieses kardialen Troponin Ts ist und ob es sich tatsächlich um eine Reexpression von fetalen hs-cTnT handelt, vermag diese Studie nicht zu beantworten. Zukünftige randomisiert kontrollierte Studien von ALS und anderen NME sind notwendig, um die genaue Ätiologie zu prüfen. Abschließend sei darauf hingewiesen, dass Troponin C eine in der ALS Forschung pharmakotherapeutische Zielstruktur steigenden Interesses darstellt. Bei dem von dem amerikanischen Arzneimittelunternehmen Cytokinetics Inc. entwickelten Troponin-C-Aktivator Reldesemtiv soll das Antwortverhalten des in schnellen Skelettmuskelfasern vorhandenen Troponin C (fsTn) mittels Calciumfreisetzung moduliert und somit die Krankheitsprogression verlangsamt werden (Al-Chalabi et al., 2019; Kiernan et al., 2020; Shefner et al., 2020). Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass die Expression weiterer Troponinisoformen bei neuromuskulärer Degeneration grundlegend verändert sein könnte. Angesichts struktureller Homologien von Troponin T und C sollte dies bei der Planung zukünftiger Arzneimittelstudien berücksichtigt werden. Dies betrifft sowohl die ALS Forschung als auch die Erforschung anderer NME.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Studie ist die erste systematische Untersuchung potentiell chronischer Veränderungen der Serumkonzentration von hs-cTnT und hs-cTnI in Zusammenhang mit ALS respektive deren klinisch definierten Phänotypen. Ziel dieser Arbeit war es, deren Prävalenz zu objektivieren und die Eignung kardialer Troponinisoformen als diagnostischen und prognostischer Biomarker zu evaluieren. Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass Troponin T, nicht aber Troponin I bereits zu Beginn der ALS Erkrankung in über 64 % der Patienten chronisch eleviert ist. Die Expression von hs-cTnT scheint bei motoneuronaler Degeneration grundlegend verändert zu sein. Chronisch isolierte Elevationen von hs-cTnT stellen ein bei ALS und anderen NME bislang unterschätztes und häufig als myokardiale Schädigung missinterpretiertes Phänomen dar. Bei klinisch begründetem Verdacht und Normwertigkeit von hs-cTnI ist hs-cTnT ein valider Biomarker zur diagnostischen Abgrenzung der ALS, sowohl gegenüber NNMK als auch anderen NME. Darüber hinaus erlaubt hs-cTnT, eine Differenzierung der klinisch definierten Phänotypen spinal beginnende ALS, bulbär beginnende ALS und PLS. Für hs-cTnI, welches unabhängig vom klinischen Phänotypen in über 95% der Fälle normwertig war, konnte keine diagnostische Güte für die ALS oder deren Phänotypen nachgewiesen werden. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass ein bulbärer Erkrankungsbeginn mit niedrigeren Elevationen von hs-cTnT einher geht als ein spinaler Beginn. Fälle isolierter Affektion des UMN sind hingegen mit normwertigen Serumkonzentrationen von hs-cTnT vergesellschaftet. Die beobachtete Korrelation zwischen hs-cTnT Serumkonzentration und den ALS-FRS Domänen Grob-, Feinmotorik und Respiration bei gleichzeitig fehlendem Zusammenhang mit der Bulbärfunktion legt nahe, dass hs-cTnT als Marker neuromuskulärer Schädigung die Beteiligung des LMN widerspiegelt. Angesichts gegenwärtiger Pharmastudien zur Krankheitsmodifikation mittels Troponin-C-Aktivatoren könnte cTnT relevant sein, um Patienten nach Beteiligung des LMN zu stratifizieren. Abschließend konnte gezeigt werden, dass die hs-cTnT Serumkonzentration im Laufe der ALS Erkrankung und insbesondere bei spinalem Erkrankungsbeginn signifikant ansteigt. Eine chronisch isolierte Elevation von hs-cTnT Serumkonzentrationen ist mit einem höheren Sterberisiko verbunden, unabhängig davon, ob es sich um Fälle bulbär oder spinal beginnender ALS handelt. Obgleich die Ergebnisse dieser Studie einen wichtigen

Baustein in dem Krankheitsverständnis der Multisystemerkrankung ALS bilden, bedarf es zukünftiger multizentrischer randomisiert kontrollierter prospektiver Studien um diese zu verifizieren und den biologischen Ursprung der beobachteten isolierten Elevation von hs-cTnT Serumkonzentrationen zu klären.

6. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Serumkonzentration des hs-cTnT (ng/l) ($m \pm SD$) zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung nach Erkrankungsbeginn.....	35
Abb. 2: Serumkonzentration hs-cTnI (ng/l) ($m \pm SD$) zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung nach Erkrankungsbeginn.....	35
Abb. 3: Verteilung hinsichtlich des Schwellenwertes myokardialer Schädigung für hs-cTnT (14ng/l).....	38
Abb. 4: Verteilung hinsichtlich des Schwellenwertes myokardialer Schädigung für hs-cTnI (17,5 ng/l).....	38
Abb. 5: ROC-Kurven der Serumkonzentrationen von hs-cTnT (Blau) und hs-cTnI (Grau) zur diagnostischen Abgrenzung der ALS und ihrer Phänotypen gegenüber NNMK	41
Abb. 6: ROC-Kurven der Serumkonzentrationen von hs-cTnT (Blau) und hs-cTnI (Grau) zur diagnostischen Abgrenzung der ALS gegenüber anderen NME	44
Abb. 7: Zusammenhangsanalyse zwischen hs-cTnT und ALS-FRSr Gesamtscore.....	46
Abb. 8: Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnT (ng/l) und dem BMI (kg/m^2)	48
Abb. 9: Änderung der Serumkonzentration von hochsensitivem kardialen Troponin T und I über die Zeit ($\Delta\text{hs-cTn}$ (ng/l) / Quartal)	50
Abb. 10: Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von hs-cTnT (ng/l) und der Erkrankungsdauer (Jahren)	51

Abb. 11: Kaplan-Meier Überlebenszeitkurven für Patienten spinal und bulbär beginnender ALS mit einer zuletzt gemessenen hs-cTnT Serumkonzentration $\geq 14\text{ng/l}$ beziehungsweise $< 14\text{ng/l}$ 52

7. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Diagnostisches Vorgehen bei V.a. MND im Sinne einer ALS (mod. nach Ludolph, 2016)	15
Tab. 2: Nicht ACS assoziierte Erhöhungen kardialer Troponine (mod. nach Park et al., 2017)	20
Tab. 3: Diagnoseschlüssel der Vergleichskollektive andere NME und NNMK (*ALS-Mimics (Hansel et al., 2018))	25
Tab. 4: Basischarakteristika des Studienkollektivs	29
Tab. 5: Verteilungsmuster klinischer Erstmanifestation der Diagnosegruppe ALS	30
Tab. 6: ALS-FRSr zum Zeitpunkt der ersten verfügbaren Messung nach Erkrankungsbeginn	33
Tab. 7: Erste Bestimmung der Serumkonzentrationen des hs-cTnT (ng/l) und hs-cTnI (ng/l) nach Erkrankungsbeginn	36
Tab. 8: Flächenbestimmung der ROC-Kurven von hs-cTnT und hs-cTnI zur diagnostischen Abgrenzung der ALS und ihrer Phänotypen gegenüber NNMK	42
Tab. 9: Sensitivität, Spezifität und Youden Index verschiedener Schwellenwerte von hs-cTnT zur Abgrenzung gegenüber NNMK	42
Tab. 10: Flächenbestimmung der ROC-Kurven von hs-cTnT und hs-cTnI zur diagnostischen Abgrenzung der ALS und ihrer Phänotypen gegenüber NME	43
Tab. 11: Zusammenhangsanalyse der Serumkonzentration von hs-cTnT und dem ALS-FRSr	47

Tab. 12: Lage und Streuungsmaße der Änderung von hs-cTn über die Zeit 49

8. Literaturverzeichnis

Abdulla S, Vielhaber S, Körner S, Machts J, Heinze H J, Dengler R, Petri S. Validation of the German Version of the Extended ALS Functional Rating Scale as a Patient-Reported Outcome Measure. *Journal of Neurology* 2013; 260: 2242–2255

Abe K, Aoki M, Tsuji S, Itoyama Y, Sobue G, Togo M, Hamada C, Tanaka M, Akimoto M, Nakamura K, Takahashi F, Kondo K, Yoshino H, Abe K, Aoki M, Tsuji S, Itoyama, Y, Sobue G, Togo M, Hamada C, Sasaki H, Yabe I, Doi S, Warita H, Imai T, Ito H, Fukuchi M, Osumi E, Wada M, Nakano I, Morita M, Ogata K, Maruki Y, Ito K, Kano O, Yamazaki, M, Takahashi Y, Ishiura H, Ogino M, Koike R, Ishida C, Uchiyama T, Mizoguchi K, Obi T, Watanabe H, Atsuta N, Aiba I, Taniguchi A, Sawada H, Hazama T, Fujimura H, Kusaka, H, Kunieda T, Kikuchi H, Matsuo H, Ueyama H, Uekawa K, Tanaka M, Akimot, M, Ueda M, Murakami A, Sumii R, Kudou T, Nakamura K, Morimoto K, Yoneoka T, Hirai M, Sasaki K, Terai H, Natori T, Matsui H, Kotani K, Yoshida K, Iwasaki T, Takahashi F, Kondo K, Yoshino H. Safety and Efficacy of Edaravone in Well Defined Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *The Lancet* 2017 *Neurology* 16: 505–512

Abrahams S, Newton J, Niven E, Foley J, Bak TH. Screening for Cognition and Behaviour Changes in ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2014; 15: 9–14

Agosta F, Al-Chalabi A, Filippi M, Hardiman O, Kaji R, Meininger V, Nakano I. The El Escorial Criteria: Strengths and Weaknesses. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2015; 16: 1–7

Al-Chalabi A, Van Den Berg LH, Veldink J. Gene Discovery in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Implications for Clinical Management. *Nature Reviews Neurology* 2017; 13: 96–104

Al-Chalabi A, Calvo A, Chio A, Colville S, Ellis CM, Hardiman O, Heverin M, Howard R, Huisman MHB, Keren N, Leigh PN, Mazziani L, Mora G, Orrell RW, Rooney J, Scott KM, Scotton WJ, Seelen M, Shaw CE, Sidle KS, Swinger R. Analysis of Amyotrophic Lateral Sclerosis as a Multistep Process: A Population-Based Modelling Study. *The Lancet Neurology* 2014; 13: 1108–1113

Al-Chalabi A und Hardiman O. The Epidemiology of ALS: A Conspiracy of Genes, Environment and Time. *Nature Reviews Neurology* 2013; 9: 617–628

Al-Chalabi A, Heunks LMA, Papp Z, Pollesello P. Potential of the Cardiovascular Drug Levosimendan in the Management of Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Overview of a Working Hypothesis. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2019; 74: 389–399

Andersen, PM. Genetic Factors in the Early Diagnosis of ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 2000; 1: 31–42

Andersen PM, Abrahams S, Borasio GD, de Carvalho M, Chio A, Van Damme P, Hardiman O, Kollewe K, Morrison KE, Petri S, Pradat PF, Silani V, Tornik B, Wasser M, Weber M. EFNS Guidelines on the Clinical Management of Amyotrophic Lateral Sclerosis (MALS) - Revised Report of an EFNS Task Force. *European Journal of Neurology* 2012; 19: 360–375

Anderson PA, Malouf NN, Oakeley AE, Pagani ED, Allen PD. Troponin T Isoform Expression in Humans. A Comparison among Normal and Failing Adult Heart, Fetal Heart, and Adult and Fetal Skeletal Muscle. *Circulation Research* 1991; 69: 1226–1233

Atkinson A, Colburn W, Degruittola V, Demets D, Downing G, Hoth D, Oates J, Peck C, Schooley R, Spilker B, Woodcock J, Zeger S. Biomarkers and Surrogate Endpoints: Preferred Definitions and Conceptual Framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 89–95.

Beeldman E, Raaphorst J, Twennaar MK, De Visser M, Schmand BA, De Haan RJ. The Cognitive Profile of ALS: A Systematic Review and Meta-Analysis Update. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2016; 87: 611–619

Blokhuis AM, Groen EJM, Koppers M, Van Den Berg LH, Pasterkamp RJ. Protein Aggregation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Acta Neuropathologica* 2013; 125: 777–794

Bodor GS, Porterfield D, Voss EM, Smith S, Apple FS. Cardiac Troponin-I Is Not Expressed in Fetal and Healthy or Diseased Adult Human Skeletal Muscle Tissue. *Clinical Chemistry* 1995; 41: 1710–1715

Bodor GS, Survant L, Voss EM, Smith S, Porterfield D, Apple FS. Cardiac Troponin T Composition in Normal and Regenerating Human Skeletal Muscle. *Clinical Chemistry* 1997; 43: 476–484.

Boeddinghaus J, Nestelberger T, Twerenbold R, Koechlin L, Meier M, Troester V, Wussler D, Badertscher P, Wildi K, Puelacher C, du Fay de Lavallaz J, Rubini Giménez M, Zimmermann T. High-Sensitivity Cardiac Troponin I Assay for Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *Clinical Chemistry* 2019; 65: 893–904

Braak H, Brettschneider J, Ludolph AC, Lee VM, Trojanowski JQ, Del Tredici K. Amyotrophic Lateral Sclerosis - A Model of Corticofugal Axonal Spread. *Nature Reviews Neurology* 2013; 9: 708–714

Brettschneider J, Del Tredici K, Toledo JB, Robinson JL, Irwin DJ, Grossman M, Suh E, Van Deerlin VM, Wood EM, Baek Y, Kwong L, Lee EB, Elman L, Mc Cluskey L, Fang L, Feldengut S, Ludolph AC, Lee VMY, Braak H, Trojanowski JQ. Stages of PTDP-43 Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Annals of Neurology* 2013; 74: 20–38

Brooks BR. El Escorial World Federation of Neurology Criteria for the Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 1994; 124: 96–107

Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL. El Escorial Revisited: Revised Criteria for the Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 2000; 1: 293–299

Brown RH und Al-Chalabi A. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The New England Journal of Medicine* 2017; 377: 162–172

De Carvalho M, Dengler R, Eisen A, England JD, Kaji R, Kimura J, Mills K, Mitsumoto H, Nodera H, Shefner J, Swash M. Electrodiagnostic Criteria for Diagnosis of ALS. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 2008; 119: 497–503

Casmiro M und Graziani A. Serum Troponin T in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Acta Neurologica Belgica* 2017; 119: 1–4

Castro-Gomez S, Radermacher B, Tacik P, Mirandola SR, Heneka MT, Weydt P. Teaching an old dog new tricks: serum troponin T as a biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Communications* 2021; fcab274

Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, Fuller C, Hilt D, Thurmond B, Nakanishi A. The ALSFRS-R: A Revised ALS Functional Rating Scale That Incorporates Assessments of Respiratory Function. *Journal of the Neurological Sciences* 1999; 169: 13–21

Cellura E, Spataro R, Taiello AC, La Bella V. Factors Affecting the Diagnostic Delay in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 2012; 114: 550–554

Charcot, JM. Amyotrophies Spinales Deuteropathiques Sclérose Latérale Amyotrophique & Sclérose Latérale Amyotrophique. *Bureaux Du Progrès Médical* 1874; 2: 234–266

Chargé SBP und Rudnicki MA. Cellular and Molecular Regulation of Muscle Regeneration. *Physiological Reviews* 2004; 84: 209–238

Chen S, Sayana P, Zhang X, Le W. Genetics of Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Update. *Molecular Neurodegeneration* 2013; 8: 1

Chiò A, Logroscino G, Hardiman O, Swingler R, Mitchell D, Beghi E, Traynor BG. Prognostic Factors in ALS: A Critical Review. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 2009; 10: 310–323

Christenson RH, Duh SH, Mullins KE, LeClair MM, Grigorov IL, Peacock WF. Analytical and Clinical Characterization of a Novel High-Sensitivity Cardiac Troponin Assay in a United States Population. *Clinical Biochemistry* 2020; 83: 28–36

Daghlas I , Lever TE, Leary E. A Retrospective Investigation of the Relationship between Baseline Covariates and Rate of ALSFRS-R Decline in ALS Clinical Trials. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2018; 19: 206–211

Deutsche Gesellschaft für Muskelkranke e.V. (DGM). 10.08.2020. Diagnosegruppen Und Muskelerkrankungen. 2020. <https://www.dgm.org/>.

Elamin M, Bede P, Byrne S, Jordan N, Gallagher L, Wynne B, O'Brien C, Phukan J, Lynch C, Pender N, Hardiman O. Cognitive Changes Predict Functional Decline in ALS: A Population-Based Longitudinal Study. *Neurology* 2013; 80: 1590–1597

Es MA van, Hardiman O, Chio A, Al-Chalabi A, Pasterkamp RJ, Veldink JH, van den Berg LH. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The Lancet* 2017; 390: 2084–2098

Es MA van, Goedee HS, Westeneng HJ, Nijboer TCW, van den Berg LH. Is It Accurate to Classify ALS as a Neuromuscular Disorder?. *Expert Review of Neurotherapeutics* 2020; 20: 895–906

Fang T, Al Khleifat A, Meurgey JH, Jones A, Leigh PN, Bensimon G, Al-Chalabi A. Stage at Which Riluzole Treatment Prolongs Survival in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Retrospective Analysis of Data from a Dose-Ranging Study. *The Lancet Neurology* 2018; 17: 416–422

Giannitsis E, Kurz K, Hallermayer K, Jarausch J, Jaffe AS, Katus HA. Analytical Validation of a High-Sensitivity Cardiac Troponin T Assay. *Clinical Chemistry* 2010; 56: 254–261

Giannitsis E, Mueller C, Katus HA. Skeletal Myopathies as a Non-Cardiac Cause of Elevations of Cardiac Troponin Concentrations. *Diagnosis (Berlin, Germany)* 2019; 6: 189–201

Gomes AV, Potter JD, Szczesna-Cordary D. The Role of Troponins in Muscle Contraction. *IUBMB Life* 2002; 54: 323–333

Gordon PH, Cheng B, Katz IB, Mitsumoto H, Rowland LP. Clinical Features That Distinguish PLS, Upper Motor Neuron-Dominant ALS, and Typical ALS. *Neurology* 2009; 72: 1948–1952

Gordon PH, Cheng B, Katz IB, Pinto M, Hays AP, Mitsumoto H, Rowland LP. The Natural History of Primary Lateral Sclerosis. *Neurology* 2006; 66: 647–653

Gordon PH. Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Update for 2013 Clinical Features, Pathophysiology, Management and Therapeutic Trials. *Aging and Disease* 2013; 4: 295–310

Gorges M, Vercruysse P, Müller HP, Huppertz HJ, Rosenbohm A, Nagel G, Weydt P, Petersén A, Ludolph AC, Kassubek J, Dupuis L. Hypothalamic Atrophy Is Related to Body Mass Index and Age at Onset in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2017; 88: 1033–1041

Grad LI, Rouleau GA, Ravits J, Cashman NR. Clinical Spectrum of Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2017; 7: a024117

Graziani A, Giudice E, Casmiro M, Pontone G, Lanzi A, Mirrici Cappa F, Stefanini G, Casalini P, Tani F. Elevation of Troponin T in Mechanical Ventilated Patient with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Case Reports in Internal Medicine* 2015; 2: 22–25

Hansel A, Dorst J, Rosenbohm A, Hübers A, Ludolph AC. ALS-Mimics. *Neurology International Open* 2018; 2: E60–E71

Hof D, Jung HJ, Bloch KE. Troponin T Elevation in Amyotrophic Lateral Sclerosis without Cardiac Damage. *Amyotrophic Lateral Sclerosis & Frontotemporal Degeneration*. England 2013; 14: 75-77

Hoffman RM, Gilliland FD, Adams-Cameron M, Hunt WC, Key CR. Prostate-Specific Antigen Testing Accuracy in Community Practice. *BMC Family Practice* 2002; 3:19-19

Hübers A, Ludolph AC, Rosenbohm A, Pinkhardt EH, Weishaupt JH, Dorst J. Amyotrophe Lateralsklerose: Eine Multisystemdegeneration. *Nervenarzt* 2016; 87: 179–188

Ince PG, Evans J, Knopp M, Forster G, Hamdalla HHM, Wharton SB, Shaw PJ. Corticospinal Tract Degeneration in the Progressive Muscular Atrophy Variant of ALS. *Neurology* 2003; 60: 1252–1258

Jaffe AS, Vasile VC, Milone M, Saenger AK, Olson KN, Apple FS. Diseased Skeletal Muscle: A Noncardiac Source of Increased Circulating Concentrations of Cardiac Troponin T. *Journal of the American College of Cardiology* 2011; 58: 1819–1824

Jarolim P. High Sensitivity Cardiac Troponin Assays in the Clinical Laboratories. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2015; 53: 635–652

Karam C, Scelsa SN, MacGowan DJL. The Clinical Course of Progressive Bulbar Palsy. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 2010; 11: 364–368

Kaufmann P, Levy G, Montes J, Buchsbaum R, Barsdorf A, Battista V, Arbing R, Gordon P, Mitsumoto H, Levin B, Thompson J, Excellent Inter-Rater, Intra-Rater, and Telephone-Administered Reliability of the ALSFRS-R in a Multicenter Clinical Trial. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 2007; 8: 42–46

Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O, Burrell JR, Zoing MC. *Amyotrophic Lateral Sclerosis. The Lancet* 2011; 377: 942–955

Kiernan MC, Vucic S, Talbot K, McDermott CJ, Hardiman O, Shefner JM, Al-Chalabi A, Huynh W, Cudkowicz M, Talman P, Van den Berg LH, Dharmadasa T, Wicks P, Reilly C, Turner MR. Improving Clinical Trial Outcomes in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Nat Rev Neurol.* 2021; 17: 104-118

Logroscino G , Traynor BJ, Hardiman O, Chió A, Mitchell D, Swingler RJ, Millul A, Benn E, Beghi E. Incidence of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Europe. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2010; 81: 385–390

Lu CH, Macdonald-Wallis C, Gray E, Pearce N, Petzold A, Norgren N, Giovannoni G, Fratta P, Sidle K, Fish M, Orrell R, Howard R, Talbot K, Greensmith L, Kuhle J, Turner MR, Malaspina A. Neurofilament Light Chain: A Prognostic Biomarker in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 2015; 84: 2247–2257

Ludolph AC. *Neurologie - Amyotrophe Lateralsklerose Und Andere Motoneuronerkrankungen.* Berlin Heidelberg: Springer Medizin 2016; 813–826.

Ludolph AC, Schuster J, Dorst J, Dupuis L, Dreyhaupt J, Weishaupt JH, Kassubek J, Weiland U, Petri S, Meyer T, Grosskreutz J, Schrank J, Boentert M, Emmer A, Hermann A, Zeller D, Prudlo J, Winkler AS, Grehl T, Heneka MT, Wollbeck JS, Göricke B. Safety and Efficacy of Rasagiline as an Add-on Therapy to Riluzole in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Randomised, Double-Blind, Parallel-Group, Placebo-Controlled, Phase 2 Trial. *The Lancet Neurology* 2018; 17: 681–688

Ludolph AC, Drory V, Hardiman O, Nakano I, Ravits J, Robberecht W, Shefner J. A Revision of the El Escorial Criteria - 2015. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2015; 16: 291–292

Lueder TG von, Melsom MN, Atar D, Agewall S. Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS), a Novel Rare Cause of Elevated Plasma Troponin T Levels. *Clinical Laboratory* 2011; 57 : 615–618.

Mach L, Konecny T, Helanova K, Jaffe AS, Sorenson EJ, Somers VK, Reeder GS. Elevation of Cardiac Troponin T in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Acta Neurologica Belgica* 2016; 116: 557–564

Mach L, Konecny T, Jaffe AS, Sorenson EJ, Reeder GS. Can Amyotrophic Lateral Sclerosis Chronically Elevate Troponin T?. *Cor et Vasa* 2015; 57: e320–322

Mair J, Lindahl B, Hammarsten O, Müller C, Giannitsis E, Huber K, Möckel M, Plebani M, Thygesen K, Jaffe AS. How Is Cardiac Troponin Released from Injured Myocardium? *European Heart Journal. Acute Cardiovascular Care* 2018; 7: 553–560

Mariosa D, Hammar N, Malmström H, Ingre C, Jungner I, Ye W, Fang F, Walldius G. Blood Biomarkers of Carbohydrate, Lipid, and Apolipoprotein Metabolisms and Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A More than 20-Year Follow-up of the Swedish AMORIS Cohort. *Annals of Neurology* 2017; 81: 718–728

Martin S, Trevor-Jones E, Khan S, Shaw K, Marchment D, Kulka A, Ellis CE, Burman R, Turner MR, Carroll L, Mursaleen L, Leigh PN, Shaw CE, Pearce N, Stahl D, Al-Chalabi A. The Benefit of Evolving Multidisciplinary Care in ALS: A Diagnostic Cohort Survival Comparison. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2017; 18: 569–575

McCarthy CP, Raber I, Chapman AR, Sandoval Y, Apple FS, Mills NL, Januzzi JL Jr. Myocardial Injury in the Era of High-Sensitivity Cardiac Troponin Assays: A Practical Approach for Clinicians. *JAMA Cardiology* 2019; 4: 1034–1042

Miano B, Stoddard GJ, Davis S, Bromberg MB. Inter-Evaluator Reliability of the ALS Functional Rating Scale. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders : Official Publication of the World Federation of Neurology, Research Group on Motor Neuron Diseases* 2004; 5: 235–239

Müller HP, Agosta F, Riva N, Spinelli EG, Comi G, Ludolph AC, Filippi M, Kassubek J. Fast Progressive Lower Motor Neuron Disease Is an ALS Variant: A Two-Centre Tract of Interest-Based MRI Data Analysis. *NeuroImage: Clinical* 2018a; 17: 145–152

Müller HP, Gorges M, Kassubek R, Dorst J, Ludolph AC, Kassubek J. Identical Patterns of Cortico-Efferent Tract Involvement in Primary Lateral Sclerosis and Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Tract of Interest-Based MRI Study. *NeuroImage: Clinical* 2018b; 18: 762–769

Müller K, Brenner D, Weydt P, Meyer T, Grehl T, Petri S, Grosskreutz J, Schuster J, Volk AE, Borck G, Kubisch C, Klopstock T, Zeller D, Jablonka S, Sendtner M, Klebe S, Knehr A, Günther K, Weis J, Claeys KG, Schrank B, Sperfeld AD, Hübers A, Otto M, Dorst J, Meitinger T, Strom TM, Andersen PM, Ludolph AC, Weishaupt JH. Comprehensive Analysis of the Mutation Spectrum in 301 German ALS Families. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2018; 89: 817–827

Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, Bruce J, Schuck T, Grossmann M, Clark CM, Mc Cluskey LF, Miller BL, Masliah E, Mackenzie IR, Feldmann H, Feiden W, Kretzschmar HA, Trojanowski JQ, Lee VMY. Ubiquitinated TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Science* 2006; 314: 130–133

Niven E, Newton J, Foley J, Colville S, Swingler R, Chandran S, Bak TH, Abrahams S. Validation of the Edinburgh Cognitive and Behavioural Amyotrophic Lateral Sclerosis Screen (ECAS): A Cognitive Tool for Motor Disorders. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2015; 16: 172–179

Oeckl P, Weydt P, Steinacker P, Anderl-Straub S, Nordin F, Volk AE, Diehl-Schmid J, Andersen PM, Kornhuber J, Danek A, Fassbender K, Fliessbach K, Jahn H, Lauer M, Müller K, Knehr A, Prudlo J, Schneider A, Thal DR, Yilmazer-Hanke D, Weishaupt JH, Ludolph AC, Otto M. Different Neuroinflammatory Profile in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia Is Linked to the Clinical Phase. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2019; 90: 4–10

Paganoni S, Macklin EA, Lee A, Murphy A, Chang J, Zipf A, Cudkovicz M, Atassi N. Diagnostic Timelines and Delays in Diagnosing Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2014; 15: 453–456

Park KC, Gaze DC, Collinson PO, Marber MS. Cardiac Troponins: From Myocardial Infarction to Chronic Disease. *Cardiovascular Research-European Society of Cardiology* 2017; 113: 1708–1718

Phukan J, Elamin M, Bede P, Jordan N, Gallagher L, Byrne S, Lynch C, Pender N, Hardiman O. The Syndrome of Cognitive Impairment in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Population-Based Study. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2012; 83: 102–108

Poesen K, Van Damme P. Diagnostic and Prognostic Performance of Neurofilaments in ALS. *Frontiers in Neurology* 2019; 9: 1167

Pringle CE, Hudson AJ, Munoz DG, Kiernan JA, Brown WF, Ebers GC. Primary Lateral Sclerosis. Clinical Features, Neuropathology and Diagnostic Criteria. *Brain : A Journal of Neurology* 1992; 115: 495–520

Proudfoot M, Jones A, Talbot K, Al-Chalabi A, Turner MR. The ALSFRS as an Outcome Measure in Therapeutic Trials and Its Relationship to Symptom Onset. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2016; 17: 414–425

Ravits JM. Focality, Stochasticity and Neuroanatomic Propagation in ALS Pathogenesis. *Experimental Neurology* 2014; 262: 121–126

Ravits JM, La Spada AR. ALS Motor Phenotype Heterogeneity, Focality, and Spread: Deconstructing Motor Neuron Degeneration. *Neurology* 2009; 73: 805-811

Renton AE, Chiò A, Traynor BJ. State of Play in Amyotrophic Lateral Sclerosis Genetics. *Nature Neuroscience* 2014; 17: 17–23

Rittoo D, Jones A, Lecky B, Neithercut D. Elevation of Cardiac Troponin T, but Not Cardiac Troponin I, in Patients with Neuromuscular Diseases: Implications for the Diagnosis of Myocardial Infarction. *Journal of the American College of Cardiology* 2014; 63: 2411–2420

Rosenbohm A, Peter RS, Erhardt S, Lulé D, Rothenbacher D, Ludolph AC, Nagel G, Andres F, Arnold G, Asshauer I, Baezner H, Baier H, Beattie J, Becker T, Behne F, Bengel D, Boertlein A, Bracknies V, Broer R, Burkhard A, Connemann B, Dempewolf S, Dettmers C, Dieterich M, Etzersdorfer E, Freund W, Gersner T, Gold HJ, Hacke W, Hamann G, Hecht M, Heimbach B, Hemmer B, Hendrich C, Herting B, Huber R, Huber-Hartmann K, Hülser PJ, Jüttler E, Kammerer-Ciernioch J, Kaspar A, Kern R, Kimmig H, Klebe S, Kloetzsch C, Klopstock T, Kohler A, Kuethmann A, Lewis D, Lichy C, Lindner A, Mäurer M, Maier-Janson, W, Metrikat J, Meudt O, Meyer A, Müller vom Hagen J, Naegele A,

Naumann M, Neher KD, Neuhaus O, Neusch C, Niehaus L, Opherk C, Raape J, Ratzka P, Rettenmayr C, Riepe MW, Rothmeier J, Sabolek M, Schabet M, Schell C, Schlipf T, Schmauss M, Schoels L, Schuetz K, Schweigert B, Sommer N, Sperber, W, Steber C, Steber R, Stroick M, Synofzik M, Trottenberg T, Tumani H, Wahl C, Weber F, Weiler M, Weiller C, Wessig, C, Winkler A. Epidemiology of Amyotrophic Lateral Sclerosis in Southern Germany. *Journal of Neurology* 2017; 264: 749–757

Rowland LP, Shneider NA. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The New England Journal of Medicine* 2001; 344: 1688–1700

Schmid J, Liesinger L, Birner-Gruenberger R, Stojakovic T, Scharnagl H, Dieplinger B, Aszlaber M, Radl R, Beer M, Polacin M, Mair J, Szolar D, Berghold A, Quasthoff S, Binder JS, Rainer PP. Elevated Cardiac Troponin T in Patients With Skeletal Myopathies. *Journal of the American College of Cardiology* 2018; 71: 1540–1549

Shefner JM, Al-Chalabi A, Baker MR, Cui LY, De Carvalho M, Eisen A, Grosskreutz J, Hardiman O, Henderson R, Matamala JM, Mitsumoto H, Paulus W, Simon N, Swash M, Talbot K, Turner MR, Ugawa Y, Van den Berg LH, Verdugo R, Vucic Steven, Kaji R, Burke D, Kiernan MC. A Proposal for New Diagnostic Criteria for ALS. *Clinical Neurophysiology* 2020a; 131: 1975–1978

Shefner JM, Andrews JA, Genge A, Jackson C, Lechtzin N, Miller TM, Cockroft BM, Meng L, Wei J, Wolff AA, Malik FI, Bodkin C, Brooks BR, Caress J, Dionne A, Fee D, Goutman SA, Goyal NA, Hardiman O, Hayat G, Heiman-Patterson T, Heitzman D, Henderson, RD, Johnston W, Karam C, Kiernan MC, Kolb SJ, Korngut L, Ladha S, Matte G, Mora JS, Needham M, Oskarsson B, Pattee GL, Pioro, EP, Pulley M, Quan D, Rezanian K, Schellenberg KL, Schultz D, Shoemith C, Simmons Z, Statland J, Sultan S, Swenson A, Van den Berg LH, Vu T, Vucic S, Weiss M, Whyte-Rayson A, Wymer J, Zinman L, Rudnicki SA. A Phase 2, Double-Blind, Randomized, Dose-Ranging Trial Of Reldesemtiv In Patients With ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2020; 0: 1–13

Shimizu T, Nakayama Y, Matsuda C, Haraguchi M, Bokuda K, Ishikawa-Takata K, Kawata A, Isozak Ei. Prognostic Significance of Body Weight Variation after Diagnosis in ALS: A Single-Centre Prospective Cohort Study. *Journal of Neurology* 2019; 266: 1412–1420

Strong MJ, Abrahams S, Goldstein LH, Woolley S, Mclaughlin P, Snowden J, Mioshi E, Roberts-South A, Benatar M, Hortobágyi, Rosenfeld J, Silani V, Gince P, Turner MR. Amyotrophic Lateral Sclerosis - Frontotemporal Spectrum Disorder (ALS-FTSD): Revised Diagnostic Criteria. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2017; 18: 153–174

Swinnen B, Robberecht W. The Phenotypic Variability of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Nature Reviews Neurology* 2014; 10: 661–670

Takeda S, Yamashita A, Maeda K, Maéda Y. Structure of the Core Domain of Human Cardiac Troponin in the Ca(2+)-Saturated Form. *Nature* 2003; 424: 35–41

Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction. *Circulation* 2018; 138: e618–651

Turner MR, Jenkins L. *Diagnosing Amyotrophic Lateral Sclerosis*. S. Karger Publishers Ltd. 2020

Turner MR, Barohn RJ, Corcia P, Fink JK, Harms MB, Kiernan MC, Ravits J, Silani V, Simmons Z, Statland J, Van den Berg LH, Mitsumoto H. Primary Lateral Sclerosis: Consensus Diagnostic Criteria. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry* 2020; 91: 373–377

Turner MR, Bowser R, Bruijn L, Dupuis L, Ludolph AC, McGrath M, Manfredi G, Maragakis N, Miller RG, Pullman SL, Rutkove SB, Shaw PJ, Shefner J, Fischbeck KH. Mechanisms, Models and Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 2013; 14: 19–32

Verber NS, Shepheard SR, Sassani M, McDonough HE, Moore SA, Alix JJP, Wilkinson ID, Jenkins TM, Shaw PJ. Biomarkers in Motor Neuron Disease: A State of the Art Review. *Frontiers in Neurology* 2019; 10: 1–28

Verber N, Shaw PJ. Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Review of New Developments. *Current Opinion in Neurology* 2020; 33: 662–668

Vercruysse P, Vieau D, Blum D, Petersén Å, Dupuis L. Hypothalamic Alterations in Neurodegenerative Diseases and Their Relation to Abnormal Energy Metabolism. *Frontiers in Molecular Neuroscience* 2018; 11: 1–16

Verde F, Steinacker P, Weishaupt JH, Kassubek J, Oeckl P, Halbgebauer S, Tumani H, Von Arnim CAF, Dorst J, Feneberg E, Mayer B, Müller HP, Gorges M, Rosenbohm A, Volk AE, Silani V, Ludolph AC, Otto M. Neurofilament Light Chain in Serum for the Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 2019; 90 (2): 157–164

Vestergaard KR, Jespersen CB, Arnadottir A, Sölétormos G, Schou M, Steffensen R, Goetze JP, Kjøller E, Iversen KK. Prevalence and Significance of Troponin Elevations in Patients without Acute Coronary Disease. *International Journal of Cardiology* 2016; 222: 819–825

Vu LT, Bowser R. Fluid-Based Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 2017; 14: 119–134

Welsh P, Preiss D, Hayward C, Shah ASV, McAllister D, Briggs A, Boachie C, McConnachie A, Padmanabhan S, Welsh C, Woodward M, Campbell A, Porteous D, Mills NL, Sattar N. Cardiac Troponin T and Troponin I in the General Population. *Circulation* 2019; 139: 2754–2764

Wens SCA, Schaaf GJ, Michels M, Kruijshaar ME, Van Gestel TJM, Groen SI, Pijnenburg J, Dekkers DHW, Demmers, JAA, Verdijk LB, Brusse E, Van Schaik RHN, Van der Ploeg AT, van Doorn PA, Pijnappel WWMP. Elevated Plasma Cardiac Troponin T Levels Caused by Skeletal Muscle Damage in Pompe Disease. *Circulation. Cardiovascular Genetics* 2016; 9: 6–13

Weydt P, Oeckl P, Huss A, Müller K, Volk AE, Kuhle J, Knehr A, Andersen, Peter M, Prudlo J, Steinacker P, Weishaupt JH, Ludolph AC, Otto M. Neurofilament Levels as Biomarkers in Asymptomatic and Symptomatic Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Annals of Neurology* 2016; 79: 152–158

Wharton S, Ince PG. Chapter 2 Pathology of Motor Neuron Disorders. In *Motor Neuron Disorders*, edited by Pamela J Shaw and Michael J B T - Blue Books of Practical Neurology Strong, 2003; 28:17–49

Wijesekera LC, Mathers S, Talman P, Galtrey C, Parkinson MH, Ganesalingam J, Willey E, Among MA, Ellis CM, Shaw CE, Al Chalabi A, Leigh PN. Natural History and Clinical Features of the Flail Arm and Flail Leg ALS Variants. *Neurology* 2009; 72: 1087–1094

Wobst HJ, Mack KL, Brown DG, Brandon NJ, Shorter J. The Clinical Trial Landscape in Amyotrophic Lateral Sclerosis—Past, Present, and Future. *Medicinal Research Reviews* 2020; 40: 1352–1384

Zachoval CF, Dolscheid-Pommerich R, Graeff I, Goldschmidt B, Grigull A, Stoffel-Wagner B, Nickenig G, Zimmer S. High-Sensitivity Troponin T Testing: Consequences on Daily Clinical Practice and Effects on Diagnosis of Myocardial Infarction. *Journal of Clinical Medicine* 2020; 9: 775

9. Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei allen Patient*innen der Ambulanz für ALS und andere Motoneuronerkrankungen für ihre Offenheit und ihr Vertrauen bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Bruno Schmidt. Selbst an ALS erkrankt, gründete er im Jahr 2016 den Verein „ALS - Alle Lieben Schmidt e.V.“. Sein unermüdlicher Einsatz für eine bessere Versorgung von an ALS erkrankten Patienten*innen und deren Familien in Deutschland und die Unterstützung von Studien zur Erforschung der Erkrankung haben mich tief berührt.

Ferner möchte ich mich bei allen Mitarbeiter*innen der Klinik für Neurodegenerative Erkrankungen bedanken, welche zum Gelingen der medizinischen Regelversorgung und der Durchführung von Forschungsvorhaben beitragen. Ebenso bedanke ich mich bei dem Labor Volkmann und Dr. rer. nat. Thomas Strauch für die gute Kooperation zur Bestimmung von hs-cTnT und hs-cTnl.

Im Besonderen möchte ich meinem Doktorvater PD Dr. Patrick Weydt, sowie PD Dr. Pawel Tacik, Dr. Dr. med. Sergio Castro-Gomez und Prof. Dr. Michael Heneka danken, welche mich von der ersten Famulatur an begleitet haben. Das Mitwirken im Team der Ambulanz für ALS und andere Motoneuronerkrankungen hat mich in meiner Tätigkeit als angehende Ärztin nachhaltig geprägt. Zum einen ermöglichte es mir die Aneignung eines umfangreichen Fachwissens. Zum anderen durfte ich erfahren, wie multiprofessionelle und interdisziplinäre Versorgung von ALS Patienten gelingen kann. Die Sozialberatung durch Frau Andrea Gasper lehrte mich patientenzentrierte, bedarfsorientierte Beratung und Unterstützung von Patient*innen und deren Angehörigen.

Schließend danke ich meiner Familie und meinem Partner Benedikt Schmidt für ihre bedingungslose Unterstützung während meines gesamten Medizinstudiums und darüber hinaus.