

Kardiales Troponin T als Seromarker zur Abschätzung der pulmonalen Einschränkung bei Patient*innen mit Amyotropher Lateralsklerose

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Teresa Koch

aus Berlin

2026

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: PD Dr. med. Patrick Weydt
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Lukas Radbruch

Tag der mündlichen Prüfung: 09.07.2026

Aus der Klinik und Poliklinik für Neuromuskuläre Erkrankungen

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	4
1.	Deutsche Zusammenfassung	6
1.1	Einleitung	6
1.2	Material und Methoden	10
1.3	Ergebnisse	12
1.4	Diskussion	18
1.5	Zusammenfassung	21
1.6	Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	22
2.	Veröffentlichung	31
3.	Erklärung zum Eigenanteil	32
4.	Danksagung	33
5.	Publikation (PDF-Version)	34

Abkürzungsverzeichnis

ALSFRS _r	revidierte ALS-Funktionsskala (eng: revised ALS Functional Rating Scale)
AUC	Area under the Curve (Fläche unter der Kurve, bestimmtes Integral)
cTnI	kardiales Troponin I [ng/l]
cTnT	kardiales Troponin T [ng/l]
ECLIA	Elektrochemische Lumineszenz Immunoassay
FEV ₁	Einsekundenkapazität
FEV ₁ /FVC	Tiffenau-Kapazität
FVC	Forcierte Vitalkapazität
IC	Inspiratorische Kapazität
ILMA	Immunoluminometrischer Assay
IQR	Interquartilsabstand
ln	natürlicher Logarithmus
LUFU	Lungenfunktionsuntersuchung
MEP	maximaler Expirationsdruck
MIP	maximaler Inspirationsdruck
n	Stichprobe einer Grundgesamtheit
NfL	Leichtkette der Neurofilamente
NIV	Nichtinvasive Ventilation
PEF	Peak Expiratory Flow
PEG	perkutan-endoskopische Gastrostomie
pNfH	phosphorylierte Schwerkette der Neurofilamente
ROC	Receiver Operating Characteristic
SD	Standardabweichung
SiMoA	Single Molecule Array
SNIP	Sniff nasal Inspiratory Pressure
SpO ₂	Sauerstoffsättigung

TLC	Totale Lungenkapazität
VC	Vitalkapazität

1. Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine tödlich verlaufende neurodegenerative Erkrankung mit progredientem Untergang der zentralen und peripheren Motorneuronen, was zu Lähmungen der willkürlichen Skelettmuskulatur bis hin zur respiratorischen Insuffizienz führt. Mit einer Prävalenz von circa 3 pro 100.000 Einwohnern in Europa zählt ALS zu den seltenen Erkrankungen, ist jedoch die häufigste Motorneuronenerkrankung bei Erwachsenen (PUIU und Dan, 2010; Román, 1996; Wolfson et al., 2023). In der

Pathogenese lösen genetische und epigenetische Faktoren molekulare Signalwegstörungen aus, die schließlich zum Untergang der neuromuskulären Einheit führen (Goutman et al., 2022; Rizea et al., 2024). Neue Erkenntnisse zeigen, dass die Skelettmuskelzelle nicht nur sekundär als Folge der neuralen Untergangs geschädigt wird, sondern selbst einen eigenständigen pathogenen Beitrag zum Krankheitsgeschehen leistet (Manzano et al., 2021; Shefner et al., 2023). Die ALS-Erkrankung wird aufgrund ihrer heterogenen klinischen Präsentation anhand der Region der Erstmanifestation in die Phänotypen „spinal“ und „bulbär“ unterteilt (Feldman et al., 2022). Die Diagnostik basiert auf klinischen Kriterien und Ausschluss von Differentialdiagnosen unterstützt durch Elektromyographie, Labor- und Liquoruntersuchungen sowie bildgebenden Verfahren (Brooks et al., 2000; Petri et al., 2023b). Mangels kurativer Therapieoptionen zielen multidisziplinäre therapeutische Ansätze primär auf Symptomkontrolle und Lebensqualitätsverbesserung ab (Andersen et al., 2012; Paipa et al., 2019). Neben wenigen verfügbaren pharmakotherapeutischen Optionen können rechtzeitige Interventionen, wie die nicht-invasive Beatmung (NIV) und die perkutane endoskopische Gastrostomie (PEG) das Überleben verlängern (Cui et al., 2018; Andersen et al., 2012; Bourke, 2014; Petri et al., 2023b; Pinto und Carvalho, 2014). Im Folgenden werden hinführend auf die Fragestellung der vorliegenden Arbeit die respiratorische Dysfunktion und ihre Diagnostik bei ALS, sowie das kardiale Troponin T (cTnT) als möglicher Biomarker näher erläutert.

1.1.1 Respiratorische Dysfunktion bei ALS

Das respiratorische System wird im Verlauf der ALS-Erkrankung auf mehreren funktionellen und anatomischen Ebenen beeinträchtigt (Niedermeyer et al., 2019). Die progrediente neuromuskuläre Degeneration der in- und expiratorischen Atem(hilfs)muskulatur führt zur extrapulmonalen Restriktion des Atemapparats mit folgender Hypoventilation und Hyperkapnie (Criée et al., 2015; Sales de Campos et al., 2023). Die bulbären Funktionsstörungen aggravierern den abgeschwächten Hustenstoß und verursachen Schluckstörungen mit Aspirationsgefahr und resultierendem pulmonalen Infektionsrisiko (Hardiman, 2011; Sales de Campos et al., 2023). Insgesamt machen die Folgen der respiratorischen Insuffizienz den größten Anteil der Todesursachen bei ALS aus (Corcia et al., 2008). Bei ALS gehört die während der vollständigen In- und Expiration gemessene Lungenfunktion zum Standard der respiratorischen Diagnostik (Petri et al., 2023a; Miller et al., 2009). Eine typische Konstellation der restriktiven Störung in der Spirometrie ist eine reduzierte (forcierte) Vitalkapazität (VC, FVC) bei gleichzeitig normaler bis hochnormaler Tiffenau-Kapazität. Die komplexere Bodyplethysmographie vermag außerdem die totale Lungenkapazität (TLC) zu messen, deren Verringerung ein definierendes Charakteristikum einer Restriktion ist (Criée et al., 2015). Neben der FVC und VC gilt der Peak Expiratory Flow (PEF) als ein unabhängiger prognostischer Marker der ALS-Erkrankung (Pirola et al., 2019; Tilanus et al., 2017). Wichtigste Limitierung dieser Messmethoden ist die zur korrekten Durchführung notwendige Funktionalität der Gesichts- und Bulbärmuskulatur (Lechtzin et al., 2018). Die Lungenfunktionsparameter werden auch in den internationalen Empfehlungen zur Indikation der NIV-Beatmung bei ALS aufgeführt (Dorst und Ludolph, 2019). Hier finden sich die Schwellenwerte 80 % oder

50 % der Parameter FVC und VC, wobei der mögliche Nutzen einer frühzeitigen NIV-Beatmung aufgezeigt wird (Jacobs et al., 2016; Pinto und Carvalho, 2014; Vitacca et al., 2018). Neben weiteren apparativen Messmethoden wird die ALS-Funktionsskala, zu englisch „revised ALS Functional Rating Scale“ (ALSFRS_r), zur Symptomabfrage eingesetzt. Dieser wurde in seiner Revision im Jahr 1999 um die vierte Domäne „Respiration“ erweitert, die das Vorliegen von Dyspnoe, Orthopnoe und Anzeichen einer

respiratorischen Insuffizienz dokumentiert, wie in Abbildung 1 schematisch dargestellt ist (Cedarbaum et al., 1999).

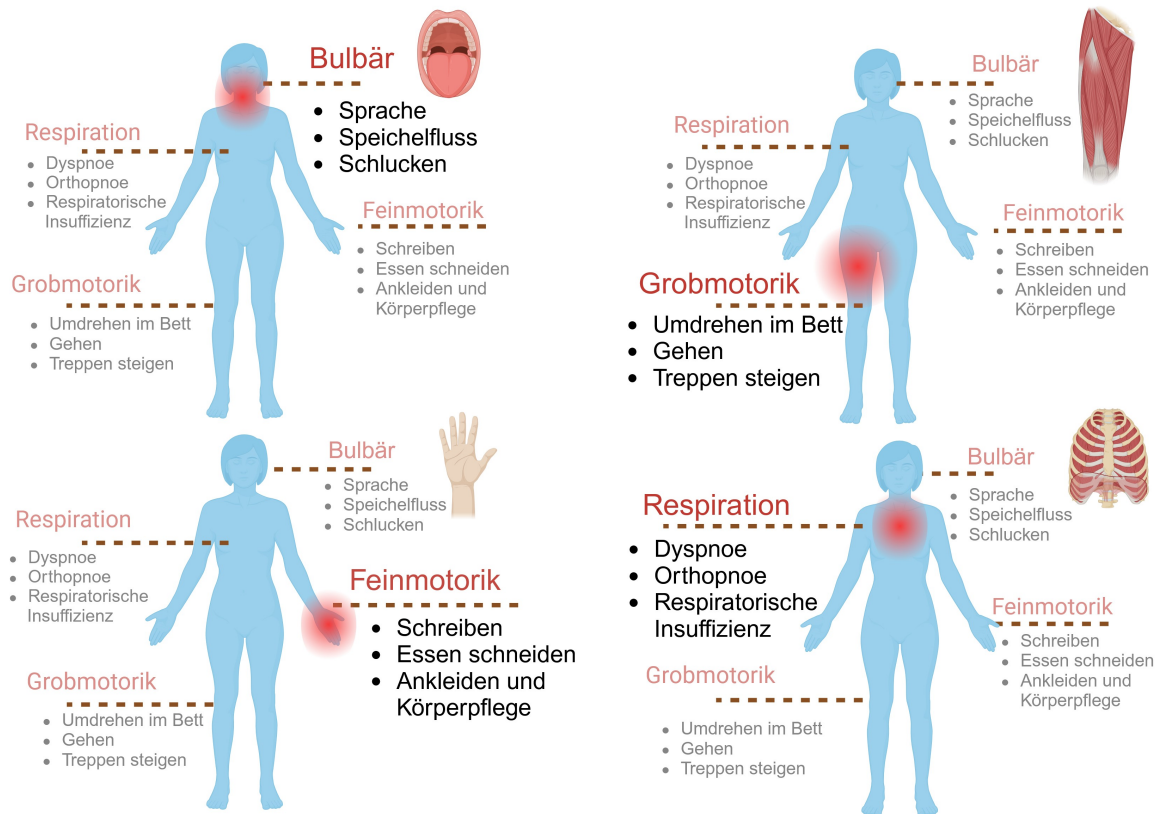


Abb. 1: Schematische Darstellung der ALSFRSr, welche die Symptomlast der ALS Erkrankung anhand von je 3 Punkten in 4 Domänen (Bulbär, Grobmotorik, Feinmotorik, Respiration) abfragt

1.1.2 Serologische Biomarker

Die Identifikation und Validierung von Biomarkern zur Diagnostik, Prognose und Therapiekontrolle stellt ein zentrales Anliegen der internationalen ALS-Forschung dar (Benatar et al., 2016; McMackin et al., 2023). Etabliert haben sich die phosphorylierte Schwereketten (pNfH) aus dem Liquor und insbesondere die im Blutserum bestimmbare Leichtkette der Neurofilamente (NfL). Neurofilamente sind Bestandteil des Zytoskeletts in myelinisierten Axonen und zeigen neuroaxonalen Schaden an (Yuan et al., 2017). Bei

ALS zeigen sie ausgezeichnete diagnostische und prognostische Qualitäten (Benatar et al., 2024; Irwin et al., 2024; Verde et al., 2019; Xu et al., 2016).

Ein neuer potenzieller Biomarker für die ALS ist das kardiale Troponin T (cTnT), das ebenfalls im Blutserum gemessen wird. Troponin T und I (cTnI) sind Strukturproteine der quergestreiften Muskulatur und bilden gewebspezifische Isoformen für Herz- und Skelettmuskel (Anderson et al., 1991; Henderson et al., 2017; Wei und Jin, 2011). Die Bestimmung von kardialem Troponin T oder I gehört aufgrund der guten Testsensibilität und -spezifität zum Goldstandard der Diagnostik des Akuten Koronarsyndroms (Collet et al., 2021). In den vergangenen Jahren haben verschiedene Studien selektive Serumerhöhungen des cTnT bei ALS-Patient*innen festgestellt (Casmiro und Graziani, 2019; Castro-Gomez et al., 2021; Hof et al., 2013; Mach et al., 2016; Rittoo et al., 2014). Einige Forschende interpretierten dies als subklinische myokardiale Beteiligung der Grunderkrankung (Giannitsis et al., 2019; Lueder et al., 2011). Aktuelle Studien unterstützen jedoch die Hypothese, dass cTnT bei chronischen neuromuskulären Erkrankungen aus dem Skelettmuskel freigesetzt werden könnte (Du Fay de Lavallaz et al., 2022; Jaffe et al., 2011; Rittoo et al., 2014; Schmid et al., 2018; Wens et al., 2016). Als zugrundeliegende Pathophysiologie wird die Re-Expression von cTnT, dem fetalen Vorläufer der skelettmuskulären Isoform, während chronischer Reparationsmechanismen des Muskelgewebes vermutet (Anderson et al., 1991; Bodor et al., 1997; Ricchiuti und Apple, 1999; Saggin et al., 1990;). Die Bonner Forschungsgruppe um Patrick Weydt konnte signifikante Korrelationen von cTnT zum Krankheitsverlauf der ALS zeigen und schlug das Protein erstmals als neuromuskulären Biomarker bei ALS vor (Castro-Gomez et al. 2021). Die diagnostischen und prognostischen Eigenschaften von cTnT wurden inzwischen in weiteren, unabhängigen Studien bestätigt (Klappe et al., 2022; Vidovic et al., 2024).

1.1.3 Fragestellung

Die ALS ist eine tödliche Erkrankung mit progredienter neuromuskulärer Destruktion (s. 1.1.1). Die Beteiligung des respiratorischen Systems stellt den primär lebenslimitierenden

Faktor dar (s. 1.1.2). Der kardiale Biomarker cTnT ist im Großteil der untersuchten ALS-Patient*innen chronisch-progredient erhöht und wahrscheinlich skelettmuskulären Ursprungs (s. 1.1.3). Erste Veröffentlichungen diskutieren cTnT als möglichen vielversprechenden Biomarker für neuromuskulären Schaden oder Umbauprozesse (Castro-Gomez et al., 2021; Kittipeerapat et al., 2023; Vidovic et al., 2024). Die Fragestellung der vorliegenden Arbeit ist, ob ein Zusammenhang zwischen dem im Serum bestimmten cTnT und der respiratorischen Einschränkung, gemessen mithilfe der Lungenfunktionsdiagnostik und der ALSFRS_r bei ALS-Patient*innen besteht. Daran anknüpfend soll geprüft werden, ob cTnT als Seromarker zur Einschätzung der progredienten respiratorischen Dysfunktion bei ALS-Patient*innen dienen kann.

1.2 Material und Methoden

Die methodische Herangehensweise der vorliegenden Arbeit ist die retrospektive ALS-Patientendatenauswertung (s.1.2.1) und statistische Zusammenhangsanalyse zwischen dem Seromarker cTnT (s.1.2.2) und Messergebnissen der respiratorischen Organfunktion (s.1.2.3) im Vergleich zu einem Kontrollmarker NfL.

1.2.1 Studiendesign und Datenerhebung

Zur Bearbeitung der Fragestellung führten wir eine multizentrische retrospektive Querschnittsanalyse durch. Die Untersuchung gliederte sich in die respektive Nachbeobachtung von zwei unabhängigen Kohorten. Die Beobachtungskohorte (auch „Discovery-Kohorte“, „^d“) umfasste 298 ALS-Patient*innen, die im Zeitraum von März 2019 bis Dezember 2021 die Motoneuronambulanz der Universitätsklinik Bonn aufgesucht hatten. Die Untersuchung der Bestätigungskohorte (auch „Validations-Kohorte“, „^v“) von 49 ALS-Patient*innen aus der ALS-Ambulanz des Essener Krupp Krankenhauses aus dem Jahre 2023 zielte darauf ab, die initial signifikanten Ergebnisse aus der Beobachtungskohorte zu überprüfen (Abb. 1 in Koch et al., 2024). Für alle eingeschlossenen Patient*innen lagen demographische und krankheitsspezifische Daten vor (Tab.1 in Koch et al., 2024). Relevantes Einschlusskriterium war neben der ALS-Diagnose ein Zeitfenster von ± 31 Tagen zwischen Troponinmessungen und den

Ergebnissen der Lungenfunktionsuntersuchungen (n = 132) sowie der ALSFRS_r-Scala (n = 347) (Koch et al., 2024, Seite 2064). Soweit im selben Zeitraum verfügbar wurden die serologischen NfL-Messungen als Kontrollmarker mit einbezogen (n = 134). Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns und einer vorliegenden Stellungnahme der Ethikkommission für ein vergangenes Troponinprojekt konnte auf ein weiteres Ethikvotum für diese Arbeit verzichtet werden (Lfd. Nr. 324/20) (Koch et al., 2024, Seite 2064).

1.2.2 Biomarkerdiagnostik

Die Gewinnung von venösen Blutproben zur Erhebung der serologischen Biomarker wurde durch qualifiziertes Fachpersonal nach standardisierten Verfahrensanweisungen durchgeführt. Die Messung von hochsensitivem cTnT mittels Elektrochemischer Lumineszenz Immunoassay (ECLIA) und von hochsensitivem cTnI mittels Immunoluminometrischem Assay (ILMA) erfolgten im externen Medizinisches Versorgungszentrum Labor PD Dr. Volkmann in Karlsruhe. Auch die serologische Messung von NfL wurde extern im Universitätslabor Ulm mittels Single Molecule Array (SiMoA) durchgeführt (Koch et al., 2024, Seite 2064).

1.2.3 Messung der Lungenfunktionsuntersuchung

In der pneumologischen Funktionsdiagnostik der Uniklinik Bonn stand das Gerät Vyntus Body Plethysmograph von der Firma Vyaire^ö für die bodyplethysmographischen Messungen zur Verfügung. Für den Messablauf war eine Restmobilität der Patient*innen vonnöten, um die für die Untersuchung notwendige sitzende Position in der abgeschlossenen Kapsel des Plethysmographen zu gewährleisten. Bei ausgeprägter bulbärer Symptomatik wurde zusätzlich eine Maske eingesetzt, da das Mundstück des Spirometers nicht mehr eigenständig umschlossen werden konnte. In der Essener Kohorte wurde eine Handspirometrie zur Messung der VC % das Gerät Typ Vitalograph Spivotac MODEL 7000 (Vitalograph GmbH Hamburg) verwendet (Koch et al., 2024, Seite 2064).

1.2.4 Statistik

Zur Berechnung und Darstellung der in dieser Dissertation relevanten Daten wurden Microsoft Excel 2019[®], Microsoft Word[®] sowie Graph Pad Prism Version 10 und 11[®] und Biorender.com[®] verwendet. Die Darstellung der erhobenen Variablen erfolgte anhand des Skalenniveaus bei Ordinalskala mittels Median und Interquartilsabstand (IQR) sowie bei Verhältnisskala mittels Mittelwert und Standardabweichung (SD). Zum Ausgleich der in den Biowissenschaften häufigen rechtsschiefen Verteilung wurden die zu untersuchenden Biomarker zunächst in ihren natürlichen Logarithmus (ln) transformiert. Anschließend wurden die Korrelationskoeffizienten r mithilfe der parametrischen

Rangkorrelation nach Bravais-Pearson sowie einfache und multiple lineare Regressionsanalysen berechnet. Zur Vermeidung der Alpha-Fehler-Kumulierung bei multiplem Testen wurde das Signifikanzniveau mittels Bonferroni-Korrektur angeglichen. Schwellenwertanalysen (ROC) und der Youden-Index fanden Anwendung zur Überprüfung der diagnostischen Eigenschaften (Koch et al., 2024, Seite 2064 - 2065).

1.3 Ergebnisse

Einige Studien haben analysierten bereits die Eigenschaften der cTnT - Erhöhungen im Serum von ALS - Patient*innen (Casmiro und Graziani, 2019; Castro-Gomez et al., 2021; Mach et al., 2016; Kläppe et al., 2022; Vidovic et al., 2024). Wir gehen erneut auf die Betrachtung dieses Phänomens in den vorliegenden klinischen Daten ein (1.3.1). Des weiteren prüfen wir der Fragestellung dieser Arbeit nachgehend die Zusammenhänge zwischen cTnT und respiratorischen Parametern (1.3.2) sowie die ableitbaren respiratorischen Biomarkereigenschaften von cTnT (1.3.3).

1.3.1 Demographische Daten und Kardiales Troponin T

Wie in Tabelle 1 Koch et al., 2024 dargestellt, bestätigten sich in der Gesamtbetrachtung der demographischen Daten der Bonner und Essener Patient*innenkohorte ($n = 347$) die krankheitsepidemiologischen Merkmale der ALS bezogen auf den Altersgipfel (63,7 (10,4) Jahre), die Tendenz zum männlichen Geschlecht (53 %) und zur spinalen

Verlaufsform (77,8 %) (Feldman et al., 2022; Talbott et al., 2016). In Abbildung 2 wird dargestellt, dass cTnT in Übereinstimmung mit der aktuellen Literatur im Gesamtkollektiv zusammengerechnet mehrheitlich (64 % in der Beobachtungskohorte nd, 46,9 % in der Vergleichskohorte nv) über dem Schwellenwert für myokardiale Schädigung von 14,5 ng/l lag, nämlich in der Beobachtungskohorte bei 30,4 ng/l ($\pm$ 38,6) und in der Vergleichskohorte bei 27,4 ng/l ($\pm$ 42,3). (Casmiro und Graziani, 2019; Castro-Gomez et al., 2021; Schmid et al., 2018). Der Mittelwert der serologisch bestimmten NfL betrug 109,9 pg/ml ($\pm$ 87,2) und war, ebenfalls in Kongruenz mit der Literatur, insgesamt bei der Mehrheit der Patient*innen erhöht (Steinacker et al., 2016; Thouvenot et al., 2020). In der getrennten Betrachtung zeigte die Essener Kontrollkohorte im Unterschied zur Beobachtungskohorte aufgrund des kürzeren Beobachtungszeitraums eine kürzere Erkrankungsdauer, geringere Symptomlast und weniger ausgeprägte Biomarkererhöhungen (Koch et al., 2024, Seite 2066 und Seite 2070).

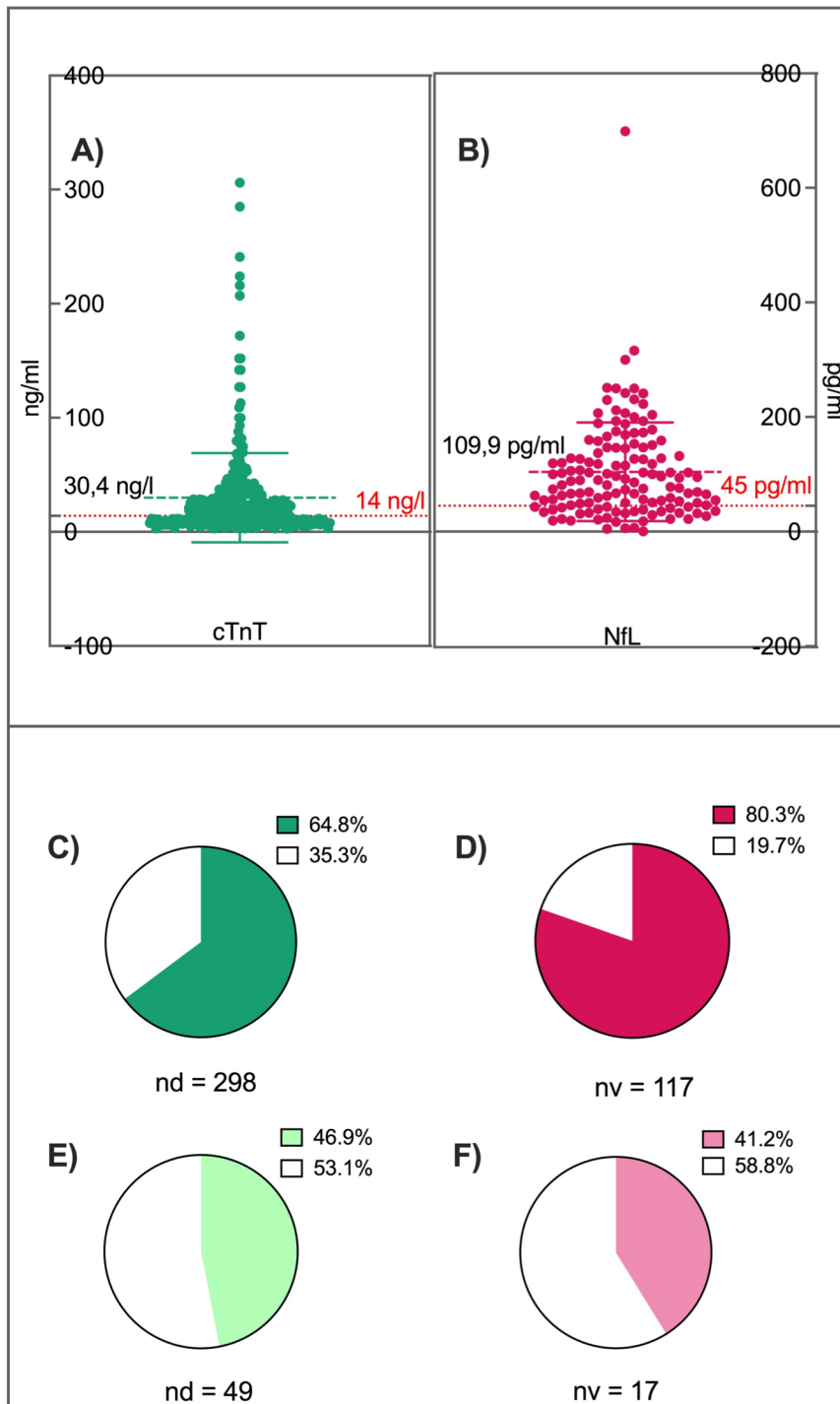


Abb. 2: Oberer Abschnitt: Verteilung aller Biomarkermessungen von cTnT in ng/ml in grün (A) und NfL in pg/ml in rosa (B). Dargestellt sind auch die Mittelwerte (gestrichelte Linie) und die SD (durchgehende Linien). Die roten gestrichelten Linien entsprechen den jeweiligen Biomarkerschwellenwerten, für cTnT bei > 14 ng/l und für NfL bei > 45 pg/ml. Unterer Abschnitt: die Tortendiagramme zeigen die Verteilung der Biomarker zwischen normal (weiß) versus erhöht (farbig) in der Beobachtungskohorte nd (C, D) sowie der Vergleichskohorte nv (E, F)

1.3.2 Ergebnisse der Zusammenhangsanalysen

In der Beobachtungskohorte zeigten sich signifikante Korrelationen zwischen cTnT und den Domänen Respiration ($r = -0,31$, $p = 0,001$), Grobmotorik ($r = -0,37$, $p = 0,001$), Feinmotorik ($r = -0,37$, $p = 0,001$), der ALSFRS_r - Skala, jedoch keine signifikanten Zusammenhänge mit der bulbären Domäne. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3 dargestellt (Koch et al., 2024) und bestätigen vorhergehende Erkenntnisse (Castro-Gomez et al., 2021). In der unabhängigen Kontrollkohorte wiederholte sich die signifikante Korrelation zur Respiration ($r = -0,48$, $p = 0,007$). NfL korrelierte in keinem Fall mit der ALSFRS_r.

Die Korrelations- und Regressionsanalysen von cTnT zeigten signifikante Zusammenhänge zu den Lungenfunktionsparametern FVC ($r = -0,45$; $p = 0,001$) und VC^d ($r = -0,50$, $p = 0,001$), dargestellt in Abbildung 3 (Koch et al., 2024). In der kleineren Kontrollkohorte war cTnT nicht signifikant mit VC^v assoziiert, wies jedoch einen vergleichbaren Korrelationskoeffizienten auf VC^v ($r = -0,46$, $p = 0,172$). In der Beobachtungskohorte wurden Korrelationen von cTnT zu weiteren Lungenfunktionsparametern für die vorliegende Arbeit analysiert und sind im Folgenden abgebildet (Abb. 4). Es zeigte sich eine weitere signifikante Korrelation von cTnT zu PEF ($r = -0,33$, $p = 0,031$), während die Korrelationen mit TLC, FEV₁, IC und der Tiffenau-Kapazität nicht signifikant waren. In allen Fällen überstiegen die Korrelationskoeffizienten zu cTnT jene der Korrelationsanalyse von cTnT mit dem Kontrollbiomarker NfL.

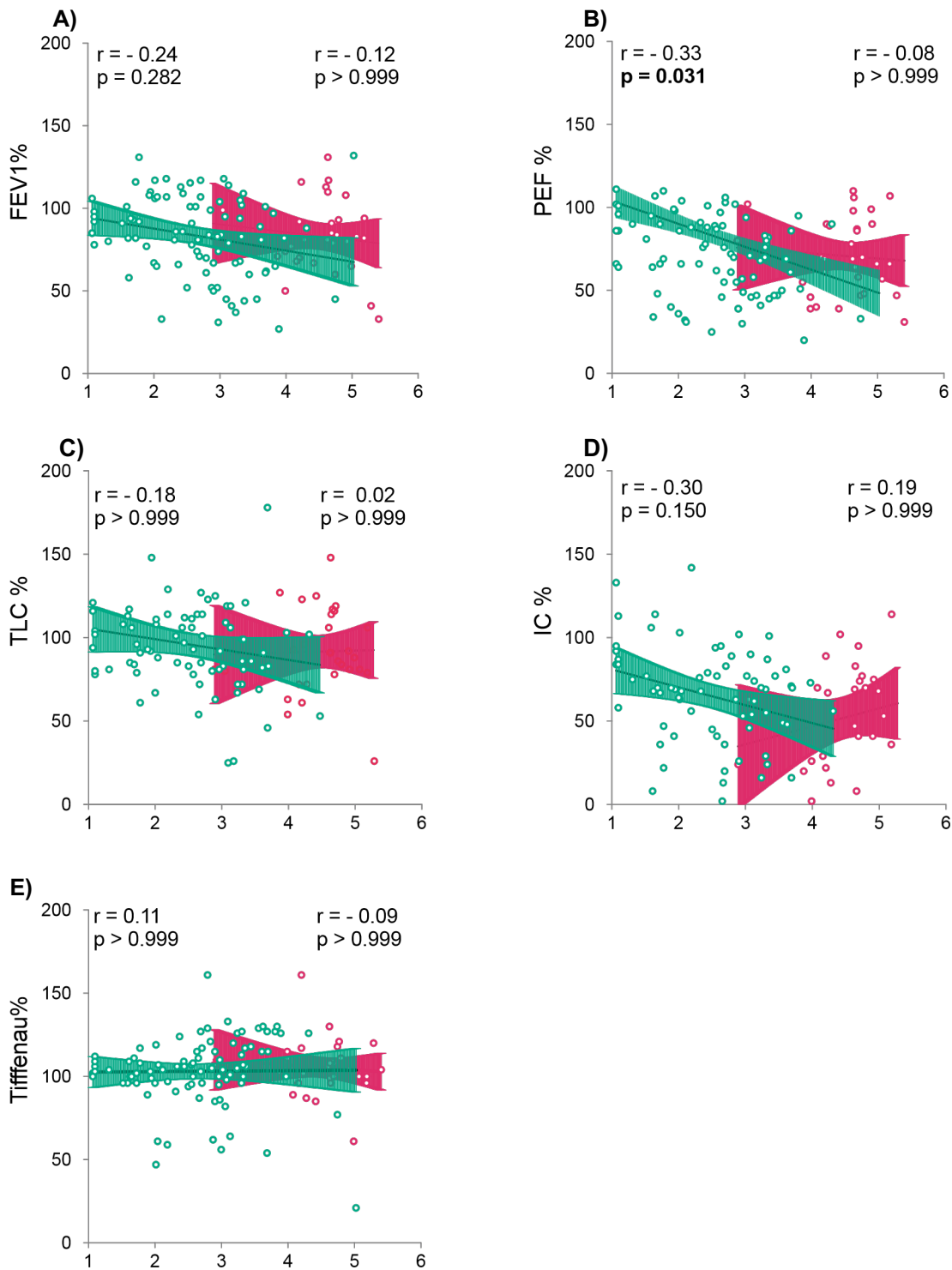


Abb. 3: Korrelations- und Regressionsanalysen mit Konfidenzintervallen von cTnT (grün) versus NfL (rosa) mit ergänzend zur Abbildung 4 in Koch et al., 2024 weiteren Parametern der Lungenfunktion (A - E) der Beobachtungskohorte (r = Pearson-Korrelationskoeffizient, p = Signifikanzwert). Der natürliche Logarithmus ($\ln$) der Blomarkert ist auf der X-Achse und die Lungenfunktionsparameter in Prozent auf der Y-Achse aufgetragen. Modifiziert aus Abbildung 4 in Koch et al., 2024.

1.3.3 Biomarkerpotential von cTnT

Um die Vorhersage von cTnT gegenüber den Lungenfunktionsparametern adjustiert für relevante Kofaktoren wie Geschlecht, Alter, Phänotyp und BMI einschätzen zu können, wurden multiple Regressionen berechnet. In Abbildung 4 sind der Regressionskoeffizienten für cTnT bezogen auf die Vorhersage unterschiedlicher Lungenfunktionsparameter mitsamt ihrer 95 %-Konfidenzintervalle in einem Forest plot dargestellt. Zusammenfassend konnte berechnet werden, dass cTnT eine signifikante Assoziation mit der Abnahme der Lungenfunktionsparameter PEF, VC^d, FVC und VC^v zeigt, und somit als möglicher prognostischer Marker infrage kommt.

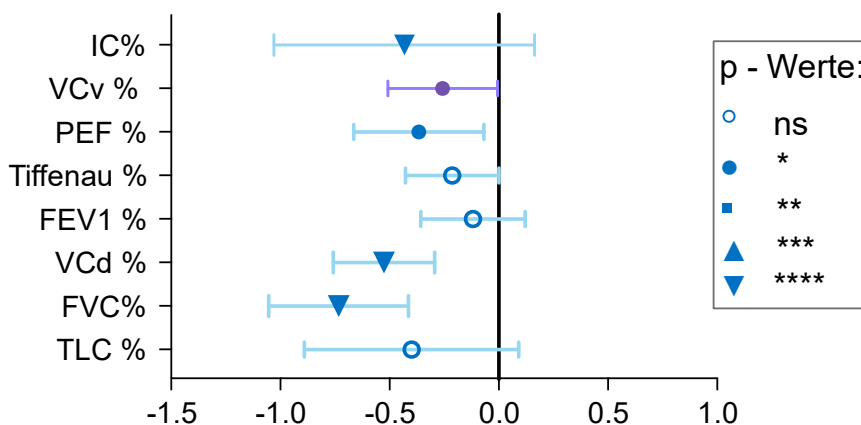


Abb. 4: Forest plot der Regressionskoeffizienten (-1,5 bis 1,0) zwischen cTnT und der links aufgeführten Lungenfunktionsparameter der Beobachtungskohorte (blau) sowie der Vergleichskohorte (lila). Die Höhe der Signifikanzniveaus wird in der Legende rechts Symbolen zugeordnet.

Mittels Schwellenwertanalyse wurde die Area under the curve (AUC, mathematisch: bestimmtes Integral) errechnet. Hierbei wurde das optimale Verhältnis von Sensibilität und Spezifität von cTnT bezogen auf die Lungenfunktionseinschränkung, gemessen mittels VC, FVC und PEF (80 % bzw. 75 % und 50 %) quantifiziert. In Koch et al., 2024 sind die Ergebnisse der beiden erstgenannten in der Abbildung 4 dargestellt und zeigten sich inklusive der Essener Ergebnisse gegenüber NfL prominent. Gegenüber dem

Absinken von PEF unter 75 % und 50 % zeigten weder cTnT noch NfL eine signifikante AUC, visuell besteht der Überlegenheitstrend von cTnT jedoch fort (Abb. 5).

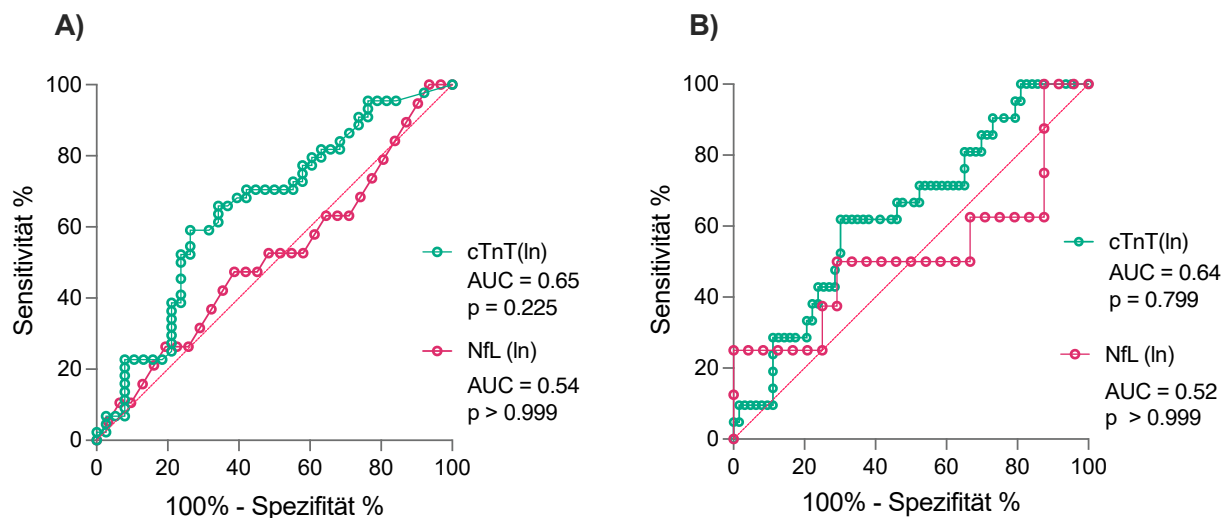


Abb. 5: Darstellung der diagnostischen Güte als Area under the Curve (AUC) und Balance von Sensitivität und Spezifität in % von cTnT (ln) (grün) versus NfL (ln) (rosa) zur Detektion von A) PEF < 75 % und B) PEF < 50 %. Modifiziert nach Abbildung 4 aus Koch et al. 2024.

1.4 Diskussion

1.4.1 Kardiales Troponin T und die respiratorische Dysfunktion

Die vorliegende Arbeit widmet sich der Erforschung von serologisch messbaren cTnT-Elevationen bei ALS-Patient*innen in Bezug auf die respiratorische Einschränkung. Im Hinblick auf die Fragestellung zeigen sich signifikante Zusammenhänge zwischen cTnT und der respiratorischen Dysfunktion in zwei unabhängigen Patient*innenkohorten.

Die Ausprägungen der vorliegenden cTnT-Messungen wie die Prävalenz, der Mittelwert und Standardabweichung erweisen sich als durchweg kongruent zu den bisher veröffentlichten Erkenntnissen über das Phänomen cTnT bei ALS-Patient*innen (Casmiro und Graziani, 2019; Castro-Gomez et al., 2021; Kläppe et al., 2022). Die Beziehung von cTnT und Respiration bei ALS wurde bislang nicht strukturiert untersucht. In der Literatur lassen sich lediglich unspezifische Hinweise wie das zeitliche Zusammenfallen von Troponinelevationen und respiratorischer Einschränkung finden (Lueder et al., 2011; Mach et al., 2015; Mach et al., 2016). Castro-Gomez et al. (2021) beschrieben einen

signifikanten Zusammenhang von cTnT zur ALSFRS_r-Skala, der unter anderem die respiratorische Domäne enthält. Die Ergebnisse unserer Arbeit bestätigen den signifikanten Zusammenhang von cTnT zur Domäne Respiration des ALSFRS_r in der Beobachtungs- und Bestätigungskohorte (Abb. 3 in Koch et al., 2024, Seite 2066). Darüber hinaus zeigt cTnT signifikante Korrelationen zu den wichtigsten Lungenfunktionsparametern der respiratorischen Dysfunktion bei ALS, namentlich VC^d, VC^v, FVC sowie PEF (Abb. 5 in Koch et al., 2024, Seite 2068). Die stärksten Zusammenhänge bestehen zu den Parametern VC und FVC, bei deren Messung ein hoher Anteil an in- und expiratorischer Atem(hilfs)muskulatur in Anspruch genommen wird. Dies stützt die Hypothese eines möglichen pathophysiologischen Zusammenhangs zwischen der Entstehung von cTnT und dem degenerativen Prozess der respiratorischen Muskulatur.

1.4.2 Kardiales Troponin T als respiratorischer Biomarker

Der zweite Aspekt der Fragestellung diskutiert den Einsatz des im Serum erhobenen Markers cTnT zur Abschätzung der respiratorischen Dysfunktion. Die vorliegenden Ergebnisse demonstrieren, dass cTnT die Einschränkung zentraler Lungenfunktionsparameter prognostizieren und klinisch relevante Schwellenwerte detektieren kann und folglich als respiratorischer Marker infrage kommt (Abb. 5 in Koch et al., 2024, Seite 2068). Die Suche nach serologischen Biomarkern zur Beurteilung der respiratorischen Dysfunktion bei ALS-Patient*innen wurde bislang nur vereinzelt betrieben, hier zeigte sich einzig Serumchlorid als möglicher sinnvoller, jedoch unspezifischer Biomarkerkandidat (Manera et al., 2023; Morgadinho et al., 2021; ProntoLaborinho et al., 2019).

Die Vorteile von cTnT als respiratorischer Seromarker umfassen im Wesentlichen drei Punkte. Zum einen könnte cTnT die angeführte etablierte Diagnostik der respiratorischen Funktion, die aufgrund der Symptomlast der ALS-Patient*innen methodisch limitiert ist, sinnvoll ergänzen. Darüber hinaus scheint cTnT bereits in frühen Stadien der respiratorischen Insuffizienz erhöht zu sein (Abb. 2 in Koch et al., 2024, Seite 2066). Angesichts der bereits erwähnten Bedeutung einer frühzeitigen NIV-Therapie ist dieser präsymptomatische Zeitraum von besonderem Interesse, wird jedoch durch die

angeführten konventionellen Messmethoden nicht ausreichend erfasst (Hardiman, 2011). Des Weiteren ergeben sich durch das Zurückgreifen auf cTnT als einen bereits verfügbaren, gut erforschten und kostengünstigen Biomarker zweifelsohne viele Vorteile. Die Schwellenwertanalyse von cTnT zeigt, dass die Referenzwerte für die respiratorische Dysfunktion leicht über den Grenzwerten für myokardiale Schädigungen liegen (vgl. Abb 4 in Koch et al., 2024, Seite 2068). Dies unterstreicht die Notwendigkeit, cTnT - Erhöhungen im Kontext neurodegenerativer Erkrankungen neu zu interpretieren. Künftige Studien könnten eine mögliche Differenzierung der vermuteten Entstehungsorte von cTnT- Skelettmuskel oder Herzmuskel anstreben und so den Weg für cTnT als Marker für skelettmuskuläre Prozesse ebnen. Dies scheint vor allem im Hinblick auf die zunehmende Bedeutung der Skelettmuskelzelle für Pathophysiologie und Therapieforschung bei ALS bedeutsam (Duranti und Villa, 2023; Gao et al., 2024; Shefner et al., 2023). Zusammengefasst leistet diese Arbeit einen entscheidenden Beitrag zur Erforschung von cTnT als Biomarker und schlägt cTnT als Seromarker zur Abschätzung der respiratorischen Dysfunktion vor.

1.4.3 Limitationen

Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns wurde ein langer Zeitraum von bis zu 31 Tagen zwischen Labor- und Atemfunktionsmessung toleriert. Spezifischere Messtechniken der respiratorischen Muskelfunktion, wie beispielsweise dem Snif nasal inspiratory pressure (SNIP), der Messung maximaler inspiratorischer (MIP), expiratorischer Drücke (MEP), Diaphragmaultraschallmessungen oder der Polysomnographie standen nicht in ausreichender Anzahl zu Verfügung. Herauszustellen ist, dass die signifikanten Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen cTnT und den respiratorischen Funktionsparametern keine kausalen Zusammenhänge beweisen können. Weitere Forschung ist erforderlich, um das Verständnis der zugrundeliegenden Pathophysiologie und Dynamik von cTnT bei ALS zu vertiefen. Die Frage, ob die respiratorische Muskulatur eine besondere Assoziation zu cTnT im Vergleich zur Skelettmuskulatur aufweist, kann in der vorliegenden Arbeit nicht beantwortet werden.

1.5 Zusammenfassung

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine seltene Motorneuronenerkrankung, die durch fortschreitende motorische Defizite gekennzeichnet ist und letztlich zur respiratorischen Insuffizienz und zum Tod führt. Bei ALS-Patient*innen wird eine selektive Erhöhung des kardialen Troponin T (cTnT) in Abwesenheit von Myokardschaden beobachtet. Dies wird als Hinweis auf einen extrakardialen Entstehungsort des cTnT im Skelettmuskel infolge von chronischen Reparationsmechanismen interpretiert. Das vorliegende Dissertationsprojekt untersuchte erstmalig den Zusammenhang von cTnT und der neuromuskulär bedingten respiratorischen Dysfunktion bei ALS. Ziel der Arbeit war zudem, das Potential von cTnT als Biomarker für die Beurteilung der respiratorischen Einschränkung im Krankheitsverlauf zu evaluieren. Zu diesem Zweck wurden zwei unabhängige Patientenkohorten der Uniklinik Bonn ($n^d = 298$) und des Essener Krupp Krankenhauses ($n^v = 49$) retrospektiv untersucht. Der Schwerpunkt lag auf der statistischen Auswertung der Zusammenhänge zwischen den serologischen Biomarkern cTnT versus den Leichtketten der Neurofilamente (NfL) jeweils mit der revidierten ALS

Funktionsskala (ALSFRS_r) sowie mit zentralen Parametern der Lungenfunktionsdiagnostik. Es konnten signifikante Korrelationen zur respiratorischen Domäne des ALSFRS_r in beiden Kohorten ($r^d = -0,31$, $p^d = 0,001$; $r^v = -0,48$, $p^v = 0,007$), sowie zur (forcierten) Vitalkapazität ((F)VC^d) ($r^d = -0,45$, $p^d = 0,001$; $r^d = -0,50$, $p^d = 0,001$) und dem Peak expiratory flow (PEF^d) ($r^d = -0,33$, $p^d = 0,031$) der Beobachtungskohorte nachgewiesen werden. Darüber hinaus zeigte cTnT gute diagnostische und prognostische Eigenschaften gegenüber der klinisch bedeutsamen VC^d und FVC auf. Im Gegensatz dazu zeigte der etablierte Biomarker NfL keine signifikanten Zusammenhänge zur respiratorischen Dysfunktion. Die Ergebnisse weisen auf den möglichen Nutzen von cTnT als respiratorischen Biomarker hin, dessen Vorteile detailliert erörtert und seine potenziellen Anwendungsgebiete im klinischen Kontext diskutiert wurden. Vor dem Hintergrund der zunehmenden Bedeutung des Skelettmuskels für die Ursachen- und Therapieforschung der ALS-Erkrankung beleuchtet die vorliegende Arbeit die Wichtigkeit des Verständniszuwachses der cTnT-Entstehung für künftigen Studien.

1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Andersen PM, Abrahams S, Borasio GD, Carvalho M de, Chio A, van Damme P, Hardiman O, Kollewe K, Morrison KE, Weber M. EFNS guidelines on the clinical management of amyotrophic lateral sclerosis (MALS)--revised report of an EFNS task force. *Eur J Neurol* 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. *Circ Res* 1991; 69: 1226–1233

Mi M, Boylan K, Jeromin A, Rutkove SB, Berry J, Atassi N, Bruijn L. ALS biomarkers for therapy development: State of the field and future directions. *Muscle Nerve* 2016; 53: 169–182

Benatar M, Macklin EA, Malaspina A, Rogers M-L, Hornstein E, Lombardi V, Renfrey D, Shephard S, Magen I, Wu J. Prognostic clinical and biological markers for amyotrophic lateral sclerosis disease progression: validation and implications for clinical trial design and analysis. *EBioMedicine* 2024; 108: 105323

Benatar M, Boylan K, Jeromin A, Rutkove SB, Berry J, Atassi N, Bruijn L. ALS Biomarkers for Therapy Development: State of the Field & Future Directions. *Muscle Nerve* 2016; 53(2): 169–182

Bodor GS, Survant L, Voss EM, Smith S, Porterfield D, Apple FS. Cardiac troponin T composition in normal and regenerating human skeletal muscle. *Clin Chem* 1997; 43: 476–484

Bourke SC. Respiratory involvement in neuromuscular disease. *Clin Med* 2014; 14: 72–75

Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000; 1: 293–299

Casmiro M, Graziani A. Serum troponin T in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Belg* 2019; 119: 285–288

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 Commun* 2021; 3: 1–6

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. BDNF ALS Study Group (Phase III). *J Neurol Sci* 1999; 169: 13–21

Collet J-P, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, Dendale P, Dorobantu M, Edvardsen T, Siontis GCM. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart* 2021; 42: 1289–1367

Corcia P, Pradat P-F, Salachas F, Bruneteau G, Le Forestier N, Seilhean D, Hauw JJ, Meininger V. Causes of death in a post-mortem series of ALS patients. *Amyotroph Lateral Scler* 2008; 9: 59–62

Criée C-P, Baur X, Berdel D, Bösch D, Gappa M, Haidl P, Husemann K, Jörres RA, Kabitz H-J, Worth H. Leitlinie zur Spirometrie. *Pneumologie* 2015; 69: 147–164

Cui F, Sun L, Xiong J, Li J, Zhao Y, Huang X. Therapeutic effects of percutaneous endoscopic gastrostomy on survival in patients with amyotrophic lateral sclerosis: A metaanalysis. *PloS one* 2018; 13: e0192243

Dorst J, Ludolph AC. Non-invasive ventilation in amyotrophic lateral sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord* 2019; 12: 1756286419857040

Du Fay de Lavallaz J, Prepoudis A, Wendebourg MJ, Kesenheimer E, Kyburz D, Daikeler T, Haaf P, Wanschitz J, Löscher WN, Mueller C. Skeletal Muscle Disorders: A Noncardiac Source of Cardiac Troponin T. *Circulation* 2022; 145: 1764–1779

Duranti E, Villa C. Muscle Involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Understanding the Pathogenesis and Advancing Therapeutics. *Biomolecules* 2023; 13: 1582

Feldman EL, Goutman SA, Petri S, Mazzini L, Savelieff MG, Shaw PJ, Sobue G. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 2022; 400: 1363–1380

Gao J, Sterling E, Hankin R, Sikal A, Yao Y. Therapeutics Targeting Skeletal Muscle in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Biomolecules* 2024; 14

Giannitsis E, Mueller C, Katus HA. Skeletal myopathies as a non-cardiac cause of elevations of cardiac troponin concentrations. *Diagnosis (Berl)* 2019; 6: 189–201

Goutman SA, Hardiman O, Al-Chalabi A, Chió A, Savelieff MG, Kiernan MC, Feldman EL. Emerging insights into the complex genetics and pathophysiology of amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet. Neurol* 2022; 21: 465–479

Hardiman O. Management of respiratory symptoms in ALS. *J Neurol* 2011; 258: 359–365

Henderson CA, Gomez CG, Novak SM, Mi-Mi L, Gregorio CC. Overview of the Muscle Cytoskeleton. *Compr Physiol* 2017; 7: 891–944

Hof D, Jung HH, Bloch KE. Troponin T elevation in amyotrophic lateral sclerosis without cardiac damage. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* 2013; 14: 75–77

Irwin KE, Sheth U, Wong PC, Gendron TF. Fluid biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis: a review. *Mol Neurodegener* 2024; 19: 9

Jacobs TL, Brown DL, Baek J, Migda EM, Funckes T, Gruis KL. Trial of early noninvasive ventilation for ALS: a pilot placebo-controlled study. *Neurology* 2016; 87:1878-1883

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. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58:1819-1824

Kittipeerapat N, Fabian R, Bernsen S, Weydt P, Castro-Gomez S. Creatine kinase MB isoenzyme is a complementary biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *Int J Mol Sci* 2023; 24, 11682

Kläppe U, Chamoun S, Shen Q, Finn A, Evertsson B, Zetterberg H, Blennow K, Press R, Samuelsson K, Ingre C. Cardiac troponin T is elevated and increases longitudinally in ALS patients. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* 2022; 23:58-65

Koch T, Fabian R, Weinhold L, Koch FW, Barakat S, Castro-Gomez S, Grehl T, Bernsen S, Weydt P. Cardiac troponin T as a serum biomarker of respiratory impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol.* 2024, 2063-2072.

Lechtzin N, Cudkowicz ME, Carvalho M de, Genge A, Hardiman O, Mitsumoto H, Mora JS, Shefner J, van den Berg LH, Andrews JA. Respiratory measures in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* 2018; 19: 321–330

Lueder TG von, Melsom MN, Atar D, Agewall S. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), a novel rare cause of elevated plasma troponin T levels. *Clin Lab* 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 Neurol Belg* 2016; 116: 557–564

Mach L, Konečný T, Jaffe AS, Sorenson EJ, Reeder GS. Can amyotrophic lateral sclerosis chronically elevate troponin T? *Cor Vasa* 2015; 57: e320-e322

Manera U, Grassano M, Matteoni E, Bombaci A, Vasta R, Palumbo F, Torrieri MC, Cugnasco P, Moglia C, Calvo A. Serum chloride as a respiratory failure marker in amyotrophic lateral sclerosis. *Front Aging Neurosci* 2023; 15: 1188827

Manzano R, Toivonen JM, Moreno-Martínez L, La Torre M de, Moreno-García L, López-Royo T, Molina N, Zaragoza P, Calvo AC, Osta R. What skeletal muscle has to say in amyotrophic lateral sclerosis: Implications for therapy. *Br J Pharmacol* 2021; 178: 1279–1297

McMackin R, Bede P, Ingre C, Malaspina A, Hardiman O. Biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis: current status and future prospects. *Nat Rev Neurol* 2023; 19: 754–768

Miller RG, Jackson CE, Kasarskis EJ, England JD, Forshew D, Johnston W, Kalra S, Katz JS, Mitsumoto H, Woolley SC. Practice parameter update: the care of the patient with amyotrophic lateral sclerosis: drug, nutritional, and respiratory therapies (an evidencebased review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2009; 73: 1218–1226

Morgadinho J, Pronto-Laborinho AC, Conceição VA, Gromicho M, Pinto S, Swash M, Carvalho M de. Plasma Creatinine Level Does Not Predict Respiratory Function in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neuromuscul Dis* 2021; 8: 795–799

Niedermeyer S, Murn M, Choi PJ. Respiratory Failure in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Chest* 2019; 155: 401–408

Paipa AJ, Povedano M, Barcelo A, Domínguez R, Saez M, Turon J, Prats E, Farrero E, Virgili N, Corbella X. Survival benefit of multidisciplinary care in amyotrophic lateral

sclerosis in Spain: association with noninvasive mechanical ventilation. *J Multidiscip Healthc* 2019; 12: 465–470

Petri S, Grehl T, Grosskreutz J, Hecht M, Hermann A, Jesse S, Lingor P, Löscher W, Maier A, Ludolph AC. Guideline "Motor neuron diseases" of the German Society of Neurology (Deutsche Gesellschaft für Neurologie). *Neurol Res Pract* 2023a; 5: 25

Petri S, Grehl T, Grosskreutz J, Hecht M, Hermann A, Jesse S, Lingor P, Löscher W, Maier A, Ludolph AC. Guideline "Motor neuron diseases" of the German Society of Neurology (Deutsche Gesellschaft für Neurologie). *Neurol Res Pract* 2023b; 5: 25

Pinto S, Carvalho M de. Breathing new life into treatment advances for respiratory failure in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurodegener Dis Manag* 2014; 4: 83–102

Pirola A, Mattia E de, Lizio A, Sannicolò G, Carraro E, Rao F, Sansone V, Lunetta C. The prognostic value of spirometric tests in Amyotrophic Lateral Sclerosis patients. *Clin Neurol Neurosurg* 2019; 184: 105456

Pronto-Laborinho A, Pinto S, Gromicho M, Pereira M, Swash M, Carvalho M de. Interleukin-6 and amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 2019; 398: 50–53

Puiu M, Dan D. Rare diseases, from European resolutions and recommendations to actual measures and strategies. *Maedica (Bucur)* 2010; 5: 128–131

Ricchiuti V, Apple FS. RNA Expression of Cardiac Troponin T Isoforms in Diseased Human Skeletal Muscle. *Clin Chem* 1999; 45: 2129–2135

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. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63: 2411–2420

Rizea RE, Corlatescu A-D, Costin HP, Dumitru A, Ciurea AV. Understanding Amyotrophic Lateral Sclerosis: pathophysiology, diagnosis, and therapeutic advances. *Int J Mol Sc* 2024; 25

Román GC. Neuroepidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: clues to aetiology and pathogenesis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 61: 131–137

Saggin L, Gorza L, Ausoni S, Schiaffino S. Cardiac troponin T in developing, regenerating and denervated rat skeletal muscle. *Development* 1990; 110: 547– 554

Sales de Campos P, Olsen WL, Wymer JP, Smith BK. Respiratory therapies for Amyotrophic Lateral Sclerosis: A state of the art review. *Chron Respir Dis* 2023; 20: 14799731231175915

Schmid J, Liesinger L, Birner-Gruenberger R, Stojakovic T, Scharnagl H, Dieplinger B, Asslaber M, Radl R, Beer M, Rainer PP. Elevated Cardiac Troponin T in Patients With Skeletal Myopathies. *J Am Coll Cardiol* 2018; 71: 1540–1549

Shefner JM, Musaro A, Ngo ST, Lunetta C, Steyn FJ, Robitaille R, Carvalho M de, Rutkove S, Ludolph AC, Dupuis L. Skeletal muscle in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 2023; 146: 4425–4436

Steinacker P, Feneberg E, Weishaupt J, Brettschneider J, Tumani H, Andersen PM, Arnim CAF von, Böhm S, Kassubek J, Otto M. Neurofilaments in the diagnosis of motoneuron diseases: a prospective study on 455 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2016; 87: 12–20

Talbott EO, Malek AM, Lacomis D. The epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. *Handb Clin Neurol* 2016; 138: 225–238

Thouvenot E, Demattei C, Lehmann S, Maceski-Maleska A, Hirtz C, Juntas-Morales R, Pageot N, Esselin F, Alphantéry S, Camu W. Serum neurofilament light chain at time of

diagnosis is an independent prognostic factor of survival in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Neurol* 2020; 27: 251–257

Tilanus TBM, Groothuis JT, TenBroek-Pastoor JMC, Feuth TB, Heijdra YF, Slenders JPL, Doorduyn J, van Engelen BG, Kampelmacher MJ, Raaphorst J. The predictive value of respiratory function tests for non-invasive ventilation in amyotrophic lateral sclerosis. *Respir Res* 2017; 18

Verde F, Steinacker P, Weishaupt JH, Kassubek J, Oeckl P, Halbgebauer S, Tumani H, Arnim CAF von, Dorst J, Otto M. Neurofilament light chain in serum for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2019; 90: 157–164

Vidovic M, Lapp HS, Weber C, Plitzko L, Seifert M, Steinacker P, Otto M, Hermann A, Günther R. Comparative analysis of neurofilaments and biomarkers of muscular damage in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain Commun* 2024; 6

Vitacca M, Montini A, Lunetta C, Banfi P, Bertella E, Mattia E de, Lizio A, Volpato E, Lax A, Paneroni M. Impact of an early respiratory care programme with non-invasive ventilation adaptation in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Neurol* 2018; 25: 556-e33

Wei B, Jin J-P. Troponin T isoforms and posttranscriptional modifications: Evolution, regulation and function. *Arch Biochem Biophys* 2011; 505: 144–154

Wens SCA, Schaaf GJ, Michels M, Kruijshaar ME, van Gestel TJM, Groen S in 't, Pijnenburg J, Dekkers DHW, Demmers JAA, Pijnappel WWMP. Elevated Plasma Cardiac Troponin T Levels Caused by Skeletal Muscle Damage in Pompe Disease. *Circ Cardiovasc Genet* 2016; 9: 6–13

Wolfson C, Gauvin DE, Ishola F, Oskoui M. Global Prevalence and Incidence of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review. *Neurology* 2023; 101: e613-e623

Xu Z, Henderson RD, David M, McCombe PA. Neurofilaments as Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. PloS one 2016; 11: e0164625

Yuan A, Rao MV, Veeranna, Nixon RA. Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease. Cold Spring Harb Perspect Biol 2017; 9

2. Veröffentlichung

Dieser Publikationsdissertation liegt die folgende, unabhängig begutachtete Veröffentlichung zugrunde:

Koch T, Fabian R, Weinhold L, Koch FW, Barakat S, Castro-Gomez S, Grehl T, Bernsen S, Weydt P. Cardiac troponin T as a serum biomarker of respiratory impairment in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol.* 2024, 2063-2072.

<https://doi.org.10.1002/acn3.52126>

3. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Klinik Aus der Klinik für Neuromuskuläre Erkrankungen der Universität Bonn unter Betreuung von Herrn PD Dr. med. Patrick Weydt durchgeführt.

Die Konzeption der Arbeit erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. med. Sarah Bernsen, Fachärztin für Neurologie und PD Dr. med. Patrick Weydt, Leiter des Zentrums für Motoneuronenerkrankungen und choreatische Bewegungsstörungen der Universität Bonn. Sämtliche Analysen wurden nach selbstständiger Einarbeitung von mir mit Unterstützung durch PD Dr. med. Patrick Weydt durchgeführt.

Das zur Auswertung verwendete Datenmaterial wurde eigenständig zusammengestellt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch das Institut für Medizinische Biometrie, Informatik und Epidemiologie (IMBIE) nach Anleitung durch Dr. rer. nat. Leonie Weinhold durch mich.

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

4. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Priv.- Doz. Dr. med. Patrick Weydt und meiner Betreuerin Dr. med. Sarah Bernsen. PD Dr. med. Weydt war trotz der herausfordernden Zeiten immer erreichbar und mit Erfahrung und ausgezeichnetem Wissen stets wegweisend für das Gelingen der vorliegenden Arbeit. Sarah Bernsen ist mir mit Geduld und sehr viel Geschick jederzeit tatkräftig zur Seite gestanden. Beide haben in mir eine Begeisterung am wissenschaftlichen Arbeiten hervorgerufen.

Sehr dankbar bin ich der gesamten Arbeitsgruppe. Hervorzuheben die Statistikerin Dr. rer. Leonie Weinhold und Ali Barakat, sowie Christine Preis und weitere studentische Hilfskräfte. Vielen Dank an meinen Vorgänger Maher Zoubi für die Einarbeitung. Darüber hinaus möchte ich mich bei den Mitarbeitenden der Motorneuronambulanz in Bonn bedanken, die mir zu jeder Tageszeit Räumlichkeiten für die Datenerhebung und weitere Arbeitsprozesse zur Verfügung stellten. Dies gilt auch für die Mitarbeitenden der pneumologischen Funktionsdiagnostik. Hervorzuheben ist der Verein „Alle lieben Schmidt“, die aus der Arbeit in Bonn an ALS nicht wegzudenken ist. Gegründet wurde der Verein durch den inzwischen verstorbenen Bruno Schmidt, der als Betroffener und Fürsprecher für die Patient*innen als Vorbild gilt- auch ihm gilt mein Dank.

Ein herzliches Dankeschön an meinen Vater Dr. med. Franz-Wilhelm Koch, der in fachlicher Hinsicht durch Wissen und kritisches Feedback nachhaltig mit zur Qualität der Arbeit beigetragen hat. Besonders wertvolle Unterstützung erhielt ich durch meine Geschwister Rebekka, Johannes, Sophia sowie meiner Mutter, Brigitte Arndt-Koch. Meinen drei Großeltern Hans Arndt und Helga und Ludwig Koch gilt herausragende Ehrwürdigung, da sie während meines beruflichen Werdegangs maßgeblich unterstützend und weichenstellend waren und Vorbilder bezüglich Durchhaltevermögen und Disziplin sind. Meine Verlobte Vanessa Heeger ist mir bei dem Prozess ganz persönlich beigestanden und ist daher besonders hervorzuheben. Vielen Dank an meine guten Freund*innen, ohne deren Unterstützung ich diese Arbeit und die Studienjahre kaum gemeistert hätte.

5. Publikation (PDF-Version)



RESEARCH ARTICLE

Cardiac troponin T as a serum biomarker of respiratory impairment in amyotrophic lateral sclerosis

Teresa Koch¹ , Rachel Fabian¹, Leonie Weinhold², Franz-W. Koch³, Saman Barakat¹, Sergio Castro-Gomez^{4,5} , Torsten Grehl⁶, Sarah Bernsen^{1,7,*} & Patrick Weydt^{1,4,7,*}

¹Department of Neuromuscular Diseases, Center for Neurology, University Hospital Bonn, Bonn, 53127, Germany

²Department for Medical Biometry, Informatics and Epidemiology, University Hospital Bonn, Bonn, 53127, Germany

³Department of Pulmology, Neukölln Hospital, Berlin, Germany

⁴Department of Parkinson, Sleep and Movement Disorders, Center for Neurology, University Hospital Bonn, Bonn, 53127, Germany

⁵Institute of Physiology II, University Hospital Bonn, Bonn, 53115, Germany

⁶Department of Neurology, Alfried - Krupp-Hospital, Essen, Germany

⁷German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, 53127, Germany

Correspondence

Patrick Weydt, Center for Neurology, Department of Neuromuscular Disorders, University Hospital Bonn, Bonn 53127, Germany. Tel: +49 228 28713775; Fax: +49 228 2879031310; E-mail: patrick.weydt@ukbonn.de

Received: 9 May 2024; Revised: 26 May 2024; Accepted: 3 June 2024

Annals of Clinical and Translational Neurology 2024; 11(8): 2063–2072

doi: 10.1002/acn3.52126

*These authors contributed equally to this work.

This manuscript was uploaded to a preprint server: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.12.31.23300684v1>.

Abstract

Objective: Informative biomarkers are an urgent need in the management of amyotrophic lateral sclerosis. Serum cardiac troponin T is elevated in the majority of amyotrophic lateral sclerosis patients and increases with disease progression. We sought to establish the informative value of cardiac troponin T with regard to respiratory function, a major prognostic factor in amyotrophic lateral sclerosis. **Methods:** In this retrospective observation, we analyzed two independent hospital-based cohorts (d = discovery cohort; v = validation cohort) regarding serum cardiac troponin T (n_d = 298; n_v = 49), serum neurofilament light chain (n_d = 117; n_v = 17), and respiratory tests (n_d = 93; n_v = 49). **Results:** Serum cardiac troponin T, in contrast to serum neurofilament levels, was associated with the respiratory domain of the revised amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale and with pulmonary function parameters, namely forced vital capacity % (r = -0.45 , p = 0.001) and slow vital capacity % (r = -0.50 , p = 0.001). Serum cardiac troponin T reliably discriminated benchmarks of slow vital capacity <80% (AUC 0.73, 95% CI 0.62–0.84) and <50% (AUC 0.80, 95% CI 0.68–0.93), forced vital capacity <80% (AUC 0.72, 95% CI 0.61–0.83) and <50% (AUC 0.79, 95% CI 0.67–0.91). **Interpretation:** Our findings position cardiac Troponin T as a valuable serum biomarker in amyotrophic lateral sclerosis, complementing neurofilaments and expanding the understanding of underlying physiological mechanisms. In clinical practice, serum cardiac troponin T can flag benchmarks of compromised respiratory function.

Introduction

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disorder characterized by the degeneration of central and peripheral motor neurons. This leads to progressive skeletal muscle weakness and spasticity, culminating in respiratory failure within very few years.¹ Currently, treatment options for ALS are limited. Therapy development and the challenging disease management requires reliable biomarkers to guide treatment decisions and help define critical disease stages.² Neurofilament

light chain (NfL) levels reflect neuroaxonal damage and are readily quantifiable in blood and in cerebrospinal fluid. They support the diagnosis, convey prognostic information and have been accepted as therapy response markers by regulatory authorities.^{3–5}

Serum cardiac troponin T (cTnT) and I (cTnI) levels are widely used as markers of myocardial injury. Recently, serum cTnT has emerged as a promising candidate serum biomarker for ALS, tracking disease severity and progression.^{6,7} Accumulating evidence suggests that degenerating skeletal muscle is an extracardiac source of

serum cTnT, and can result in chronic serum cTnT elevations in neuromuscular disorders independent of myocardial damage.^{8–10}

Respiratory impairment is one of the main determinants of survival in ALS and may occur at any time during the variable course of the disease, which may initially manifest subtly and unspecific.^{11,12} Early recognition of respiratory dysfunction helps to ensure that noninvasive ventilation (NIV), one of the most life-prolonging therapies, is discussed in a timely fashion.^{13,14} Moreover, the quantification of the respiratory impairment helps gauge individual prognosis.¹⁵

The respiratory domain of the ALS functioning rating scale revised (ALSFRS_r), while well established as a predictor of survival,¹⁶ is a comparatively crude three-item, 12-point metric of respiratory function. In a clinical setting respiratory function is commonly evaluated with a range of lung parameters that indirectly capture the inspiratory and expiratory muscle functions in pulmonary function testing (PFT). Among these test modalities slow vital capacity (SVC) and forced vital capacity (FVC) are the most widely used in clinical practice and research studies.^{14,17} In ALS, they are recommended to monitor respiratory impairment and provide functional benchmarks for initiating interventions like NIV (SVC or FVC below 80% or 50%), and percutaneous gastrostomy placement (FVC below 50%).^{18,19}

The objective of the present study was to investigate the relationship between the functional implications of cTnT serum levels and respiratory dysfunction as captured by ALSFRS_r and PFT.

Materials and Methods

Study design and patient characteristics

The present retrospective cross-sectional study was conducted on two independent hospital-based cohorts, one from the University Hospital Bonn and one from the Alfred Krupp Hospital Essen (Fig. 1). We first reviewed the files of all patients seen at the ALS clinic of the University Hospital Bonn from 01 March 2019 to 31 December 2021, providing a convenient study size (discovery cohort, $n_d = 298$). We included patients with a diagnosis of ALS according to the El Escorial diagnostic criteria's categories "possible, probable, and definite"²⁰ including progressive muscle atrophy (PMA), determined by board-certified neurologists (PW, RF, and SB). ALSFRS_r, serum cTnT, and serum cTnI are collected as part of the clinical routine at the Bonn clinic.

Serum NfL testing was implemented in routine testing with a lag of several months and thus is only available for a subset of the Bonn patients ($n_d = 117$). In this cohort,

we identified 93 patients with PFT measurements (SVC and FVC) in a time window of ± 31 days of the serum cTnT sampling, of which 32 had additional NfL sampling.

Demographic data included sex, age, height, weight, and body mass index (BMI). Disease history information included date and region of ALS symptom onset and disease duration (time interval from symptom onset).

The Essen cohort served as an independent validation cohort ($n_v = 49$) with data on demographics, disease history, ALSFRS_r, serum cTnT, serum NfL, and PFT (SVC).

As the laboratory measurements and clinical assessments were part of the routine clinical work up and retrospectively analyzed, no formal consent was needed per statement of our institutional ethics review board (Ethics Board decision letter 324/20).

Biomarker measurements

Serum cTnT was measured using the high-sensitivity electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) in a commercial laboratory (Labor Volkman Karlsruhe, Germany) as described previously.⁶ Serum NfL was measured in an academic laboratory (University of Ulm, Department of Neurology) with single-molecule arrays (Simoa, Quanterix Corporation, Lexington, MA, USA) according to the instructions supplied by the manufacturer.

Respiratory function assessments

PFT readouts were obtained at the Bonn University Pulmonology department with a Vyntus[®] Body Plethysmograph (Vyaire Medical GmbH Höchberg). In the Essen clinic SVC measurements are part of the routine work up and obtained with a Vitalograph Spivotac MODEL 7000 (Vitalograph GmbH Hamburg).

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with GraphPad Prism[®] (10) (GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Microsoft Excel 2019[®] was used for data storage (Microsoft Redmond, Washington, USA). [Biorender.com](https://biorender.com) was utilized for figures BioRender (Toronto, ON Canada).

Patient characteristics are presented as absolute and relative frequencies for categorical variables and as means with standard deviations (SDs) or median with interquartile ranges (IQR) for continuous variables. For analysis, the biomarker serum cTnT and serum NfL were log-transformed (natural logarithm) providing normality distribution.

Correlation between cTnT with pulmonary function tests and ALSFRS_r were calculated with Pearson's test.

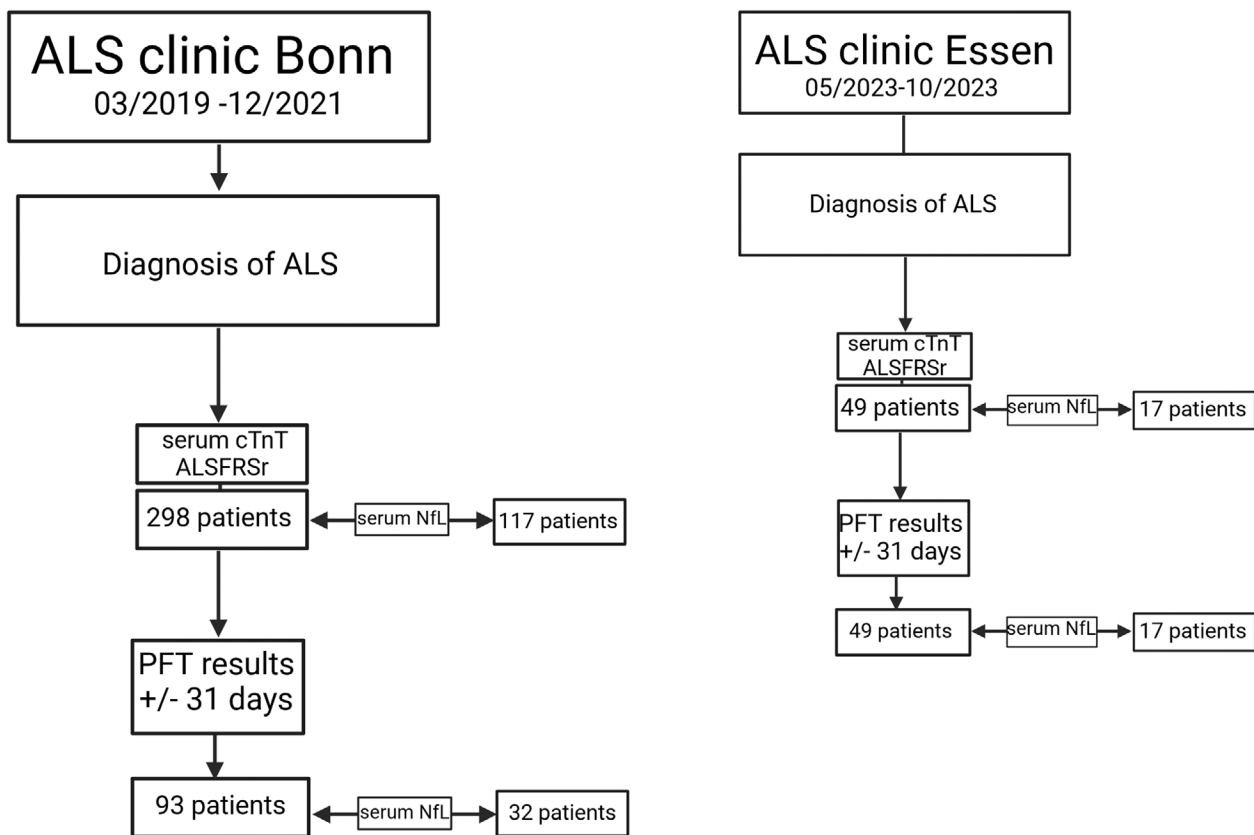


Figure 1. Flow chart of retrospective analysis of two independent study cohorts (discovery cohort Hospital Bonn, 2019–2021; validation cohort Hospital Essen, 2023) was performed targeting the same clinical characteristics: the diagnosis of ALS following the EFNS task force, serum cTnT, serum NfL measurements, and ALSFRSr scale. Results of pulmonary function tests were included when available ± 31 days to the latter. ALS, amyotrophic lateral sclerosis; ALSFRSr, revised ALS functional rating scale; cTnT, cardiac troponin T; PFT, pulmonary function test; serum NfL, serum neurofilament light chain.

To calculate the diagnostic utility of serum cTnT and NfL for the distinction of clinically relevant thresholds of SVC and FVC (80% and 50%, respectively) the area under the curve (AUC) was calculated with receiver operating characteristic (ROC) curve analyses with 95% confidence intervals (CI). The optimal cutoff points were determined based on the Youden Index.

All analyses were initially conducted using the discovery cohort and significant findings were subsequently tested in the validation cohort. The significance level was set with an alpha level of 0.05 and p-values were adjusted by the Bonferroni correction for multiple testing.

Results

Clinical characteristics

The basic characteristics of the discovery cohort and the validation cohort are described in Table 1. The two

cohorts were similar regarding key demographic features such as age, sex ratio, ALSFRSr scale, and proportion of cases with spinal versus bulbar onset. The discovery cohort (Bonn) had a significantly longer median disease duration at sample collection (20 months) than the validation cohort (5 months), reflecting the earlier initiation of the study.

The mean of serum cTnT levels in the discovery cohort was 30.8 ng/L (± 39.2), that is, >2 times above the upper reference limit (URL) of 14.0 ng/L. In total, 193 (65%) of 298 patients had elevated serum cTnT. None of these patients had elevated serum cTnI levels, ruling out cardiac involvement. In the validation cohort 24 of measurements (47%) were elevated with a similar mean of 27.4 ng/L (± 42.3). This is in line with previous reports.^{7,21} The mean serum NfL was 109.9 pg/mL (± 87.2) and elevated in 94 patients (80.3%) of 117 patients in the discovery cohort. Similarly, the mean NfL serum level of the validation cohort was elevated above URL at 65.80 pg/mL

Table 1. Baseline characteristics of the discovery and the validation cohort of patients with amyotrophic lateral sclerosis.

	Discovery cohort ($n_d = 298$)	Validation cohort ($n_v = 49$)
Sex, female, n (%)	133 (44.6%)	30 (61.2%)
Mean age, years ($\pm$ SD)	63.9 ($\pm$ 10.1)	62.5 ($\pm$ 12.2)
BMI kg/m ² ($\pm$ SD)	24.2 ($\pm$ 4.0)	25.5 (6.2)
Disease duration, months, median [IQR]	20 [0–37]	5 [3–7]
Spinal onset, n (%)	231 (77.5%)	36 (80%)
ALSFRS _r , median [IQR]	34 [26.5–39]	39 [34–45]
ALSFRS _r respiratory, median [IQR]	11 [9.3–12.0]	12 [11–12]
ALSFRS _r decay rate/month ($\pm$ SD)	1.02 ($\pm$ 1.27)	2.58 ($\pm$ 3.20)
ALSFRS _r respiratory decay rate/month ($\pm$ SD)	0.13 ($\pm$ 0.30)	0.23 ($\pm$ 0.62)
SVC %, mean ($\pm$ SD)	82.1 ($\pm$ 23.9)	80.6 ($\pm$ 25.8)
cTnT ng/L, mean ($\pm$ SD)	30.8 ($\pm$ 39.2)	27.4 ($\pm$ 42.3)
cTnT >14 ng/L, n (%)	193 (64.8%)	23 (46.9%)
cTnT (ln), mean ($\pm$ SD)	3.0 ($\pm$ 0.9)	2.72 ($\pm$ 0.96)
NfL pg/mL, mean ($\pm$ SD)	109.9 ($\pm$ 87.2)	65.8 ($\pm$ 66.4)
NfL >45 pg/mL, n (%)	94 (80.3%)	7 (41.2%)
NfL (ln), mean ($\pm$ SD)	4.5 ($\pm$ 0.7)	3.42 ($\pm$ 1.7)

ALSFRS_r, revised amyotrophic lateral sclerosis functional rating scale; BMI, body mass index; cTnT, cardiac troponin T; IQR, interquartile range.; ln, natural logarithm; NfL, neurofilament light chain; SD, standard deviation.

(± 66.4), albeit in a smaller proportion of cases (41.2%). The analysis of both serum biomarker elevations in rela-

tion to stages of respiratory impairment, categorized by SVC as >80%, 50–80%, and <50%, revealed an increase

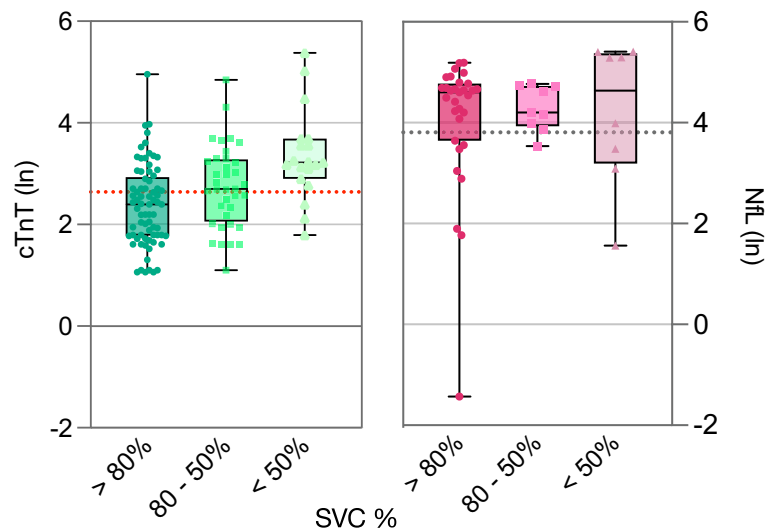
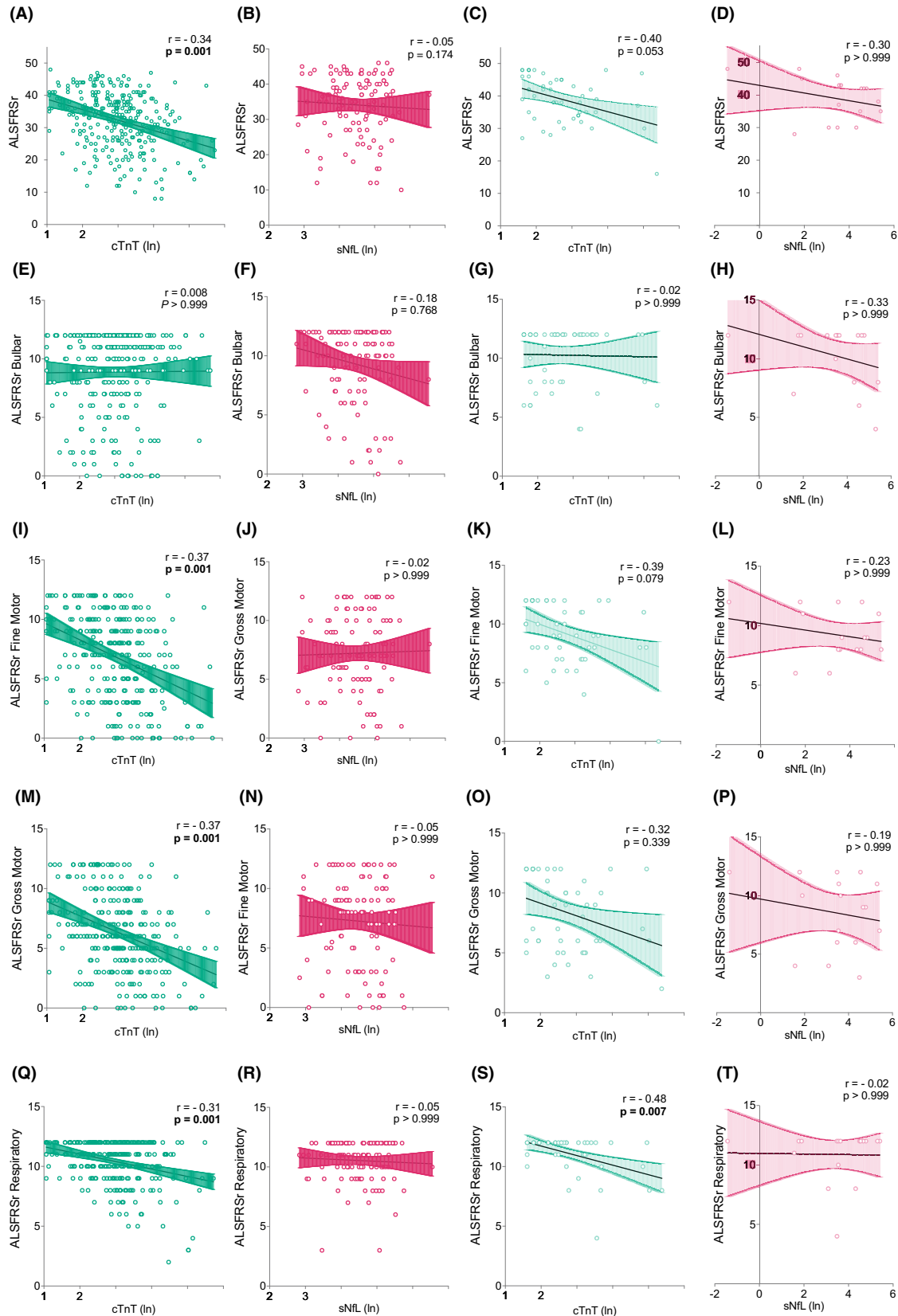


Figure 2. Three groups of SVC % impairment (>80%, 80–50%, and <50%) were formed following clinically important thresholds of respiratory impairment in ALS disease. Box and whiskers plot with minimum and maximum range present the distribution natural logarithm of serum cTnT levels (left) and NfL levels (right) of all patients (discovery and validation cohort) grouped by respiratory stages. The dashed horizontal red line (left) demonstrates the cTnT cutoff value of 14 ng/L (2.64 ln) for myocardial damage. The dashed horizontal black line (right) is the cutoff value of NfL at 45 pg/mL (3.81 ln). cTnT, cardiac troponin T; ln, natural logarithm; NfL, neurofilament light chain.

Figure 3. Serum cTnT and NfL levels in correlation with ALSFRS_r in two cohorts of ALS patients. Colored areas represent 95% CI. The graphs show correlations of cTnT (green) and of NfL (pink) with the ALSFRS_r scale and its four domains (bulbar, fine motor, gross motor, and respiratory). The first two columns demonstrate correlations of serum biomarkers cTnT and NfL with the ALSFRS_r domains in the discovery cohort ($n_d = 298$) and the second two columns in the validation cohort ($n_v = 49$). ALSFRS_r, revised ALS functional rating scale.



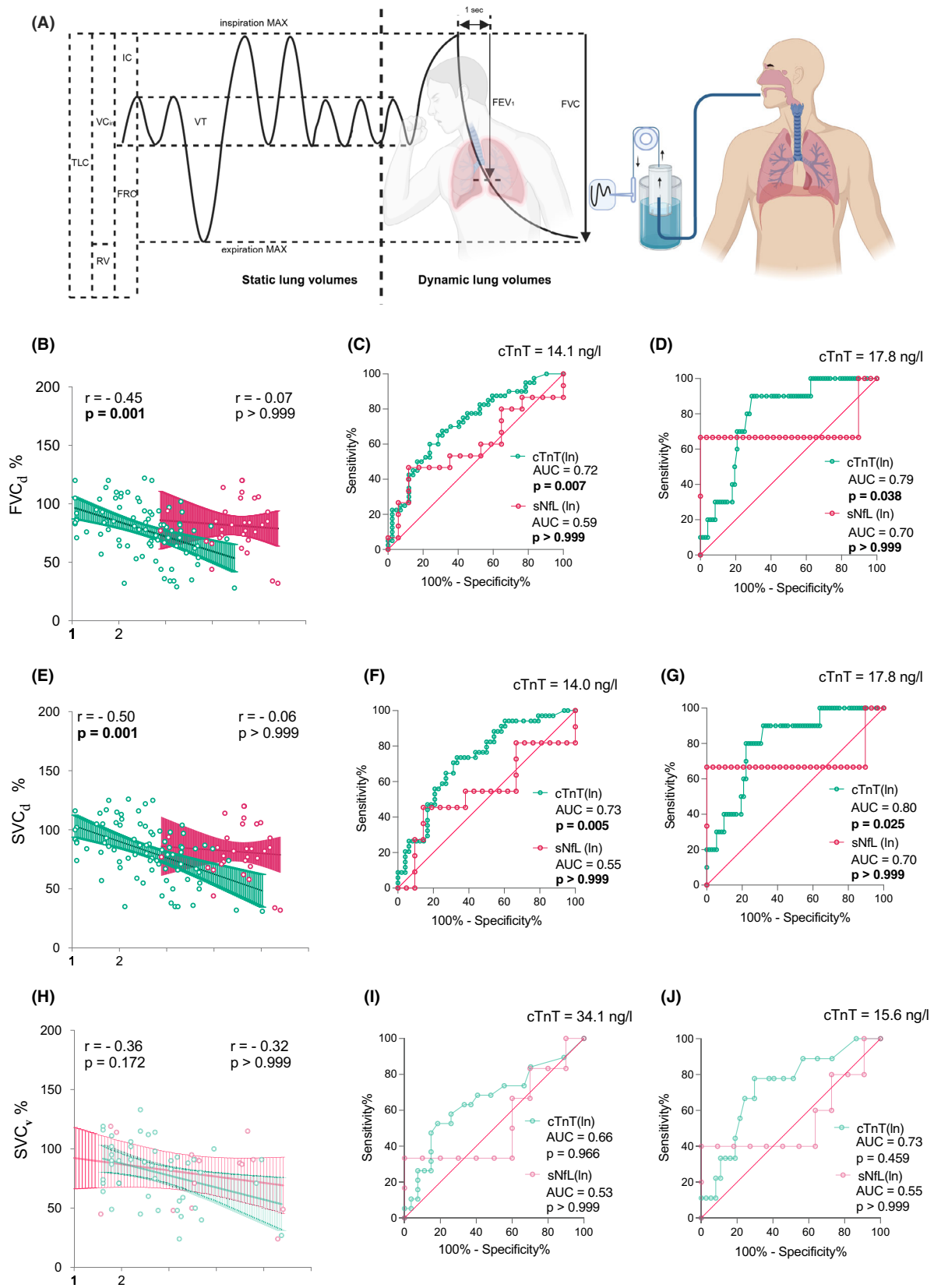


Figure 4. The relationship of serum cTnT and NfL with respiratory impairment measured by pulmonary function tests. Upper Figure (A): the schematic panel shows and the principle of pulmonary function testing (PFT) with static and dynamic lung volumes. Below: Correlation plots between natural logarithm of serum cardiac troponin T (green) and serum neurofilament light chain (pink) with FVC% (B) and SVC% (E) in the discovery cohort and with SVC% (H) in the validation cohort. Colored areas represent 95% confidence interval (CI). Receiver operating characteristic (ROC) curve analyses were performed for cTnT In and NfL In distinguishing FVC 80% (C), FVC 50% (D) and SVC 80% (F), SVC 50% (G) in the discovery cohort, and SVC 80% (I), SVC 50% (J) in the validation cohort. The appropriate serum cTnT levels were calculated with Youden analysis, presented in ng/L in every ROC plot. AUC, area under the curve; cTnT, cardiac troponin T; FEV1%, forced expiration in first second; FRC, function residual capacity; FVC%, forced vital capacity; IC, inspiratory capacity; RV, residual volume; SVC, slow vital capacity; TLC, total lung capacity; VC, vital capacity; VT, tidal volume.

of average serum cTnT with decreasing SVC category. However, such a trend was not observed for NfL levels (Fig. 2).

Correlations with clinical parameters and pulmonary function

Serum cTnT levels correlated strongly and negatively with the total ALSFRSr ($r = -0.34$, $p = 0.001$), and – pertinent to the present study – with its respiratory domain ($r = -0.31$, $p = 0.001$) (Fig. 3). This correlation was fully recapitulated in the smaller validation cohort ($r = -0.48$, $p = 0.007$). The serum NfL levels, in sharp contrast, showed no correlation with the respiratory domain. As respiratory function is one of the most important prognostic factors in ALS,^{15,22} we were compelled to further probe the relationship of serum cTnT with respiration. We found that serum cTnT showed significant negative correlations with the selected parameters, namely FVC (-0.45 , $p = 0.001$) and SVC (-0.50 , $p = 0.001$) (Fig. 4). While the correlation with SVC was consistent with the validation cohort ($r = -0.36$, $p = 0.172$), statistical significance was likely limited by sample size. To test the diagnostic potential of serum cTnT levels to flag PFT declines below clinically important thresholds, we generated ROC curves (Fig. 4). The most robust results were observed for SVC below 80% (AUC = 0.73, 95% CI 0.62–0.84) and below 50% (AUC 0.80, 95% CI 0.68–0.93), and FVC below 80% (AUC 0.72, 95% CI 0.61–0.83) and 50% (AUC 0.79, 95% CI 0.67–0.91). The optimal cutoff values for serum cTnT to detect impaired respiration measured as FVC, and SVC below 80% or 50% ranged in between 14.0 and 22.4 ng/L.

Discussion

Our data offer a novel interpretation of cTnT as a serum biomarker for respiratory dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis, an issue that had been addressed by previous studies with limited success.^{23,24} Our key finding is the robust correlation between serum cTnT with PFT and

the ALSFRSr respiratory domain, supporting the concept that respiratory skeletal muscles drive, or at least substantially contribute to the serum cTnT level elevations in ALS. Particularly noteworthy is the strong correlation with SVC, the most accurate PFT parameter to capture respiratory impairment in ALS patients.^{25,26}

These results are in line with our and other previous studies reporting the relationship of serum cTnT with skeletal muscle function measured by ALSFRSr.^{6,7} We confirm the high prevalence (62%) of serum cTnT elevations above the URL and independent of cTnI, arguing for a noncardiac origin of cTnT.^{6,7,9,10,27,28}

Our findings hold the potential to immediately affect clinical practice for several reasons: Serum cTnT levels are useful in discriminating relevant respiratory thresholds (SVC and FVC 80% and 50%, respectively) recommended for informing decisions on important interventions (NIV implementation, indication for PEG). Of note, this is especially true for patient subpopulations where pulmonary functional assessment is particularly unreliable, namely ALS patients with bulbar symptoms and/or with frontotemporal dementia (ALS/FTD).^{7,16}

In our dataset, serum cTnT is already altered in patients with mildly impaired respiratory function, even before the ALSFRSr respiratory domain is affected. Thus, serum cTnT levels could prove useful to uncover early stages of respiratory insufficiency. In support of this interpretation, earlier case reports already documented longitudinal measurements of serum cTnT tracking progressive respiratory failure and changes in PaO₂/CO₂.^{29,30} Another study reported that increased serum cTnT levels were associated with more severe respiratory involvement.²¹ To externally validate the presented relationship of serum cTnT and respiratory impairment, future studies should examine serum cTnT in relation to the current benchmarks symptoms such as orthopnea, unrefreshing sleep, daytime somnolence, and any evidence of nocturnal desaturation.¹²

Further research is also necessary to see longitudinal measures and Kaplan–Meier analyses of survival against cTnT, NfL, and PFT. Of particular interest might be the

biomarker response to therapeutic interventions, including NIV, but also treatment with tofersen. We believe that a key strength of our approach lies in the repurposing of serum cTnT, an established and readily available biomarker.

It is well established that neurofilament levels reflect the rate of neuroaxonal damage.³¹

NfL have excellent diagnostic and prognostic performance in ALS, but our data show that they are not correlated to respiratory function. This contrast underscores that serum cTnT captures an aspect of the disease that is missed by neurofilament levels (either in serum or in cerebrospinal fluid).

A limitation is the observational nature of our investigation. We sought to mitigate this by including a discovery and a (albeit small and not perfectly matched) validation cohort from an independent ALS center in Essen, Germany.

Of note, the Essen ALS center is a secondary care facility, which likely contributes to the remarkably short median diagnostic delay of 5 months. In contrast, the discovery cohort was from Bonn University Hospital, a large tertiary care center.

Also, hospital cohorts, while by nature not rigorously stratified or otherwise standardized, provided comparably robust findings. However, the use of a time window of ± 31 days for inclusion of PFT data might have introduced a sampling bias potentially overrepresenting patients at a certain stage of their disease progression.

While the validation cohort does not fully confirm all correlations found in the discovery cohort, possibly because of lack of power, the overall agreement between the two cohorts strongly argues for the robustness of the observed correlation between serum cTnT and respiratory function. Although the correlation analyses between serum cTnT and respiratory function parameters yielded statistically significant results, correlations alone cannot establish causality. Further research is clearly necessary to increase the understanding of underlying pathophysiology of the skeletal muscle in ALS patients, and in particular, the respiratory muscles, including the diaphragm. Future studies might correlate serum cTnT with data of diaphragmatic ultrasound or response on phrenic nerve stimulation or ultrasound.

Conclusion

We conclude that serum cTnT levels can be repurposed as a biomarker in ALS allowing remarkably robust conclusions on the respiratory capacity of ALS patients. This novel insight could support therapeutic decision-making. We outline serum cTnT as a biomarker complementing neurofilaments by covering a different disease aspect that

could aid with prognosis and future management of the disease. It will be critical to determine how these two serum markers perform in combination.

Author Contributions

T.K., S.B., S.C.-G., and P.W. contributed to the conception and design of the study. T.K., P.W., T.G., F.W.K., L.W., R.F., S.C.-G., and S.B. contributed to the acquisition and analysis of data. T.K., S.B., and P.W. contributed to drafting the text or preparing figures.

Acknowledgments

The research was supported through unrestricted donations from our patients (to TG and PW), especially Bruno Schmidt (1965–2022) and the Initiative *Alle-Lieben-Schmidt e. V.* to PW. TG and PW are also grateful for support from the Boris Canessa Foundation. S.C.-G. is supported by the Alzheimer Forschung Initiative e.V (Grant 21060), the Hertie Network of Excellence in Clinical Neuroscience (Grant 2021-1A-12), the BONFOR-Forschungskommission der Medizinischen Fakultät Bonn, the Neuro-aCSis Bonn Neuroscience Clinician Scientist Program and by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, German Research Foundation) under the Germany's Excellence Strategy—EXC2151–390873048. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Conflict of Interest

The authors have no conflict of interest to declare.

Data Availability Statement

Anonymized data will be made available upon reasonable requests to the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

References

1. Feldman EL, Goutman SA, Petri S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*. 2022;400(10360):1363–1380. doi:[10.1016/S0140-6736\(22\)01272-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01272-7)
2. McMackin R, Bede P, Ingre C, Malaspina A, Hardiman O. Biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis: current status and future prospects. *Nat Rev Neurol*. 2023;19(12):754–768. doi:[10.1038/s41582-023-00891-2](https://doi.org/10.1038/s41582-023-00891-2)
3. Meyer T, Salkic E, Grehl T, et al. Performance of serum neurofilament light chain in a wide spectrum of clinical courses of amyotrophic lateral sclerosis—a cross-sectional multicenter study. *Eur J Neurol*. 2023;30(6):1600–1610. doi:[10.1111/ene.15773](https://doi.org/10.1111/ene.15773)

4. Lu C-H, Macdonald-Wallis C, Gray E, et al. Neurofilament light chain: a prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*. 2015;84(22):2247-2257. doi:[10.1212/WNL.0000000000001642](https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001642)
5. Xu Z, Henderson RD, David M, McCombe PA. Neurofilaments as biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164625. doi:[10.1371/journal.pone.0164625](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164625)
6. 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 Commun*. 2021;3(4):fcab274. doi:[10.1093/braincomms/fcab274](https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab274)
7. Kläppe U, Chamoun S, Shen Q, et al. Cardiac troponin T is elevated and increases longitudinally in ALS patients. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2022;23(1–2):58–65. doi:[10.1080/21678421.2021.1939384](https://doi.org/10.1080/21678421.2021.1939384)
8. du Fay de Lavallaz J, Prepoudis A, Wendebourg MJ, Kesenheimer E, et al. Skeletal muscle disorders: a noncardiac source of cardiac troponin T. *Circulation*. 2022;145(24):1764–1779. doi:[10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058489](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058489)
9. 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. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(22):2411–2420. doi:[10.1016/j.jacc.2014.03.027](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.03.027)
10. Schmid J, Liesinger L, Birner-Gruenberger R, et al. Elevated cardiac troponin T in patients with skeletal myopathies. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(14):1540–1549. doi:[10.1016/j.jacc.2018.01.070](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.01.070)
11. Pinto S, de Carvalho M. Breathing new life into treatment advances for respiratory failure in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurodegener Dis Manag*. 2014;4(1):83–102. doi:[10.2217/nmt.13.74](https://doi.org/10.2217/nmt.13.74)
12. Dorst J, Ludolph AC. Non-invasive ventilation in amyotrophic lateral sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord*. 2019;12:1756286419857040. doi:[10.1177/1756286419857040](https://doi.org/10.1177/1756286419857040)
13. Bourke SC, Tomlinson M, Williams TL, Bullock RE, Shaw PJ, Gibson GJ. Effects of non-invasive ventilation on survival and quality of life in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol*. 2006;5(2):140–147. doi:[10.1016/S1474-4422\(05\)70326-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70326-4)
14. Heiman-Patterson TD, Cudkowicz ME, de Carvalho M, Genge A, et al. Understanding the use of NIV in ALS: results of an international ALS specialist survey. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*. 2018;19(5–6):331–341. doi:[10.1080/21678421.2018.1457058](https://doi.org/10.1080/21678421.2018.1457058)
15. Westeneng H-J, Debray TPA, Visser AE, et al. Prognosis for patients with amyotrophic lateral sclerosis: development and validation of a personalised prediction model. *Lancet Neurol*. 2018;17(5):423–433. doi:[10.1016/S1474-4422\(18\)30089-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30089-9)
16. Kaufmann P, Levy G, Thompson JLP, Delbene ML, et al. The ALSFRS_r predicts survival time in an ALS clinic population. *Neurology*. 2005;64(1):38–43. doi:[10.1212/01.WNL.0000148648.38313.64](https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000148648.38313.64)
17. Andrews JA, Meng L, Kulke SF, et al. Association between decline in slow vital capacity and respiratory insufficiency, use of assisted ventilation, tracheostomy, or death in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA Neurol*. 2018;75(1):58–64. doi:[10.1001/jamaneurol.2017.3339](https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.3339)
18. Miller RG, Jackson CE, Kasarskis EJ, et al. Practice parameter update: the care of the patient with amyotrophic lateral sclerosis: drug, nutritional, and respiratory therapies (an evidence-based review). *Neurology*. 2009;73(15):1218–1226. doi:[10.1212/WNL.0b013e3181bc0141](https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181bc0141)
19. Petri S, Grehl T, Grosskreutz J, et al. Guideline “motor neuron diseases” of the German Society of Neurology (deutsche gesellschaft für Neurologie). *Neurol Res Pract*. 2023;5:25. doi:[10.1186/s42466-023-00251-x](https://doi.org/10.1186/s42466-023-00251-x)
20. Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2000;1(5):293–299. doi:[10.1080/146608200300079536](https://doi.org/10.1080/146608200300079536)
21. Mach L, Konecny T, Helanova K, et al. Elevation of cardiac troponin T in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Belg*. 2016;116(4):557–564. doi:[10.1007/s13760-015-0596-8](https://doi.org/10.1007/s13760-015-0596-8)
22. Chio A, Logroscino G, Hardiman O, Swingle R, et al. Prognostic factors in ALS: a critical review. *Amyotroph Lateral Scler*. 2009;10(5–6):310–323. doi:[10.3109/17482960802566824](https://doi.org/10.3109/17482960802566824)
23. Pronto-Laborinho A, Pinto S, Gromicho M, Pereira M, Swash M, de Carvalho M. Interleukin-6 and amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci*. 2019;398:50–53. doi:[10.1016/j.jns.2019.01.026](https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.01.026)
24. Pronto-Laborinho AC, Gromicho M, Pereira M, et al. Plasma level of club-cell (CC-16) predicts outcome in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 2018;137(2):233–237. doi:[10.1111/ane.12851](https://doi.org/10.1111/ane.12851)
25. Andersen T, Sandnes A, Vollsæter M, Halsvorsen T, et al. Measurement of vital capacity in amyotrophic lateral sclerosis – forced and slowly performed. *Eur Respir J*. 2015;46:PA3730. doi:[10.1183/13993003.congress-2015.PA3730](https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2015.PA3730)
26. Huang X, Du C, Yang Q, Fan D. Comparison of slow and forced vital capacity on ability to evaluate respiratory function in bulbar-involved amyotrophic lateral sclerosis. *Front Neurol*. 2022;13:938256. doi:[10.3389/fneur.2022.938256](https://doi.org/10.3389/fneur.2022.938256)

27. Casmiro M, Graziani A. Serum troponin T in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Belg.* 2019;119(2):285-288. doi:[10.1007/s13760-017-0855-y](https://doi.org/10.1007/s13760-017-0855-y)
28. Hof D, Jung HH, Bloch KE. Troponin T elevation in amyotrophic lateral sclerosis without cardiac damage. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration.* 2013;14(1):75-77. doi:[10.3109/17482968.2012.696659](https://doi.org/10.3109/17482968.2012.696659)
29. Lueder TGV, Melsom MN, Atar D, Agewall S. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), a novel rare cause of elevated plasma troponin T levels. *Clin Lab.* 2011;57(7-8):615-618.
30. Mach L, Konecny T, Jaffe AS, Sorenson E, et al. Can amyotrophic lateral sclerosis chronically elevate troponin T? *Cor Vasa.* 2015;57(4):e320-e322.
31. Khalil M, Teunissen CE, Lehmann S, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders — towards clinical application. *Nat Rev Neurol.* 2024;20:269-287. doi:[10.1038/s41582-024-00955-x](https://doi.org/10.1038/s41582-024-00955-x)