

**Diplomarbeit**

**Prospektive Studie zur Korrelation von  
Speichel-Kalium-Konzentrationen mit dem  
Plasma-Kalium bei Hämodialyse-Patient\*innen**

eingereicht von

**Bernd Rechberger**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde  
(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin  
Klinische Abteilung für Nephrologie**

unter der Anleitung von

Ass.-Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Alexander Kirsch, PhD.

und

Univ. FA Dr. med. Andras Tamas Deak, PhD.

Graz, am 22. August 2022

*Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 22. August 2022*

*Bernd Rechberger, eh.*

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei meinen Betreuern, Ass.-Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Alexander Kirsch, PhD. und Univ. FA Dr. med. Andras Tamas Deak, PhD., für jegliche Unterstützung bedanken! Durch ihre große Erfahrung, ihr umfangreiches Fachwissen und die kollegiale Aufnahme im Team der Nephrologie war das Schreiben der Diplomarbeit sowohl spannend als auch lehrreich.

Weiters möchte ich mich bei meiner Familie für die langjährige Unterstützung im Studium bedanken.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>10</b>
1.1	KALIUM PHYSIOLOGIE.....	10
1.1.1	<i>Regulation der Kaliumkonzentration.....</i>	<i>10</i>
1.1.2	<i>Symptome und Folgen von Hypo-/Hyperkaliämie.....</i>	<i>11</i>
1.2	DYSREGULATION VON KALIUM.....	12
1.2.1	<i>Ursachen.....</i>	<i>12</i>
1.2.2	<i>Diagnose.....</i>	<i>20</i>
1.2.3	<i>Therapie.....</i>	<i>22</i>
1.2.4	<i>Kaliumhaushalt bei Dialyse.....</i>	<i>27</i>
1.3	METHODISCHES ZUR MESSUNG VON KALIUM.....	28
1.3.1	<i>Präanalytik.....</i>	<i>28</i>
1.3.2	<i>Ionen-Selektive Elektrode - ISE.....</i>	<i>29</i>
1.3.3	<i>Genetically Encoded Potassium Ion Indicator (GEPII).....</i>	<i>30</i>
<b>2</b>	<b>METHODEN.....</b>	<b>35</b>
2.1	STUDIE.....	35
2.1.1	<i>Ziel.....</i>	<i>35</i>
2.1.2	<i>Patientenauswahl.....</i>	<i>35</i>
2.2	ABLAUF FÜR PATIENT*INNEN.....	36
2.3	ERHOBENE DATEN.....	37
2.4	STATISTISCHE ANALYSE.....	39
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>40</b>
3.1	BASELINE CHARAKTERISTIKA DER PATIENT*INNEN.....	40
3.2	PRÄZISION DER GEPIIS.....	42
3.2.1	<i>Messungen der Studie.....</i>	<i>43</i>
3.3	DIE KALIUM-MESSUNG BEEINFLUSSENDE FAKTOREN.....	44
3.4	KORRELATION VON SPEICHEL-KALIUM MIT PLASMA-KALIUM.....	44
3.4.1	<i>Signifikanz.....</i>	<i>45</i>
3.4.2	<i>Relative Änderung.....</i>	<i>46</i>
3.4.3	<i>Reproduzierbarkeit.....</i>	<i>48</i>
<b>4</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>50</b>

4.1	VERGLEICH.....	50
4.2	PATIENTENAUSWAHL .....	50
4.3	NUTZEN BEI PATIENT*INNEN MIT UND OHNE REFERENZWERTEN .....	51
4.3.1	<i>Nutzen im klinischen Alltag</i> .....	52
4.3.2	<i>Dialysepflichtige Patient*innen</i> .....	52
4.3.3	<i>Weiterführende Fragestellungen</i> .....	52

## Abkürzungsverzeichnis

ACE-I.	Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitor
ADPKD	autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung
Ag <sup>+</sup>	Silber
AKD	akute Nierenschädigung
AT <sub>1</sub> -R.-I.	Angiotensin-1-Rezeptor-Inhibitor
ATP	Adenosintriphosphat
BK	big K <sup>+</sup>
CKD	chronisches Nierenversagen
Cl <sup>-</sup>	Chlor
CPPS	Clinical Potassium Pilot Study
cpV	circularly permuted Venus
Cs <sup>+</sup>	Caesium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EKG	Elektrokardiogramm
ENaC	epithelialer Natriumkanal
ESA	Erythropoese-Stimulierende-Wirkstoffe
FRET	Förster Resonance Energy Transfer
GEPII	Genetically Encoded Potassium Ion Indicator
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GN	Glomerulonephritis
H <sup>+</sup>	Wasserstoff
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Hydrogencarbonat / Bicarbonat
HD	Hämodialyse
HDF	Hämodialysefiltration
HRrEF	Herzinsuffizienz mit reduzierter Auswurfsleistung
ISE	Ionen-selektive Elektrode
K <sup>+</sup>	Kalium
Kbp	K <sup>+</sup> binding protein
Mb.	Morbus
MRA	Mineralokortikoid-Rezeptor-Antagonist
mseCFP	monomeric super enhanced CFP
Na <sup>+</sup>	Natrium

NaCl	Natriumchlorid / Kochsalz
NaPSS	Natriumpolystyrolsulfonat
NGFI	Next Generation Fluorescence Imaging
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ammonium
NHE1	Na <sup>+</sup> -H <sup>+</sup> - Exchange-Isoform-1 / Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> -Antiporter
NSAR	nichtsteroidales Antirheumatikum
POC	Point of Care
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron- System
Rb <sup>+</sup>	Rubidium
ROMK	renal outer medullary K <sup>+</sup> channel
T1 / T2	Zeitpunkt 1 / 2
V	Visit
ZS-9	Natrium-Zirkonium-Cyclosilikat
ZVK	zentraler Venenzugang

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: (A) Konformationsänderung bei K-Bindung an BON und LysM (B & C) Emmissionsspektrum in Abhängigkeit der Kalium-Konzentration (E) FRET/CFP-Verhältnis in Relation zur Kalium-Konzentration (1).....	31
Abbildung 2: Kalium in Speichel und Plasma vor und nach Dialyse .....	45
Abbildung 3: Korrelation von Plasma- und Speichel- Kalium vor und nach der Dialyse ..	46
Abbildung 4: Kalium in Speichel (rund) und Plasma (quadratisch) vor und nach Dialyse	47
Abbildung 5: individuelle Kalium-Reduktion während Dialyse.....	48
Abbildung 6: Kaliumwerte in Plasma & Speichel zu T1 und T2 für einzelne*n Patient*in .....	49

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Erhobene Grunddaten.....	36
Tabelle 2: Erhobene Parameter.....	38
Tabelle 3: Patient*innencharakteristika.....	41

## Zusammenfassung

Die Prävalenz der Hyperkaliämie bei Patient\*innen mit chronischer Niereninsuffizienz beträgt bis zu 73 % und kann zu Herzrhythmusstörungen und Herzstillstand führen. Die Hyperkaliämie-assoziierte Mortalität beträgt bis zu 30 %.

Medikamente, die das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System hemmen, begünstigen das Auftreten von Hyperkaliämien, sind aber bei der Therapie vieler cardiorener Erkrankungen unerlässlich.

Der therapielimitierende Faktor ist das dosisabhängige Hyperkaliämierisiko, welches ein zuverlässiges Kalium-Monitoring erforderlich macht.

Aufgrund von Fehlern in der Präanalytik kommt es jedoch oft zu fehlerhaften Messungen, die gravierende Folgen haben können.

Im Rahmen der Clinical Potassium Pilot Study (CPPS) soll die Performance der neuartigen GEPIIs (genetically encoded potassium ion indicator) bei Speichelproben von Dialysepatient\*innen vor und nach der Dialyse untersucht und mit dem Goldstandard verglichen werden. Weiters soll untersucht werden, ob und welche Informationen sich aus dem Kaliumgehalt im Speichel ableiten lassen und ob diese das Monitoring des Kaliumhaushaltes für Patient\*innen verbessern können.

Im Rahmen der CPPS konnten Speichelproben von 30 Patient\*innen bei drei Dialysebehandlungen je vor und nach den Behandlungen gewonnen werden. Die Präzision, mit der die GEPII Kalium messen können, entspricht der des aktuellen Goldstandards. Eine Beeinflussung des Kaliumgehalts im Speichel durch diverse Grunderkrankungen oder Medikamente konnte nicht festgestellt werden. Die Analyse ist gegenüber gängigen Einflüssen, wie Temperatur oder pH-Wert, resistent.

Die Dynamik der Messwerte im Speichel folgt denen im Plasma sehr schnell und zeigt den erwarteten Abfall im Laufe der Dialysebehandlung.

Es konnte festgestellt werden, dass Kalium im Speichel ein Messwert ist, der dem Plasma-Kalium folgt und der gegenüber beeinflussenden Faktoren weitestgehend resistent ist.

Eine Rückrechnung des Speichelkaliums auf das Kalium im Plasma ist nicht gelungen. Die Speichel-Kalium-Konzentration scheint hier eine starke individuelle Varianz auszuweisen. Fortsetzende Studien, die bei einzelnen Patient\*innen mehrere Messwerte generieren, können hier vielleicht eine bessere Grundlage schaffen, um für Patient\*innen individuelle Grenzwerte zu definieren.

## **Abstract**

The prevalence of hyperkalemia in patients with chronic kidney disease exceeds 70 % and can lead to cardiac arrhythmias and cardiac arrest. Mortality associated with hyperkalemia is up to 30 %. Drugs that inhibit the renin-angiotensin-aldosterone-system promote the occurrence of hyperkalemia but are essential in the therapy of cardiorenal diseases. The therapy-limiting factor is the dose-dependent risk of hyperkalemia, which requires reliable potassium monitoring. However, due to errors in pre-analytics, incorrect measurements often occur, which can have serious consequences. The Clinical Potassium Pilot Study (CPPS) aims to examine the performance of the novel GEPIIs (genetically encoded potassium ion indicator) in saliva samples from dialysis patients before and after dialysis and compare them to the gold standard.

Furthermore, it will be examined whether and which information can be derived from salivary potassium concentration and whether this can improve monitoring of potassium homeostasis for patients. As part of the CPPS, saliva samples could be obtained from 30 patients in three hemodialysis sessions before and after treatment. The precision with which GEPII measures potassium equals the current gold standard. An influence on the potassium content in saliva by various underlying diseases or medications could not be determined. The analysis is resistant to common influences such as temperature or pH. The dynamics of the measured values in saliva follow those in plasma very closely and show the expected drop during the dialysis session. It was found that potassium in saliva is a value that follows plasma potassium and is largely resistant to interfering factors. However, it was not possible to estimate plasma potassium based on salivary potassium. The salivary potassium concentration seems to show a strong individual variance here. Future studies that generate several measurements in individual patients may be able to create a better basis for defining individual limits for patients.

# 1 Einleitung

## 1.1 Kalium Physiologie

Kalium ( $K^+$ ) wird mit der Nahrung aufgenommen und vom Körper in engen Grenzen gehalten. In westlichen Ländern beträgt die tägliche Zufuhr in etwa 50 - 100 mmol. Die Ausscheidung erfolgt primär über die Nieren und zu einem kleinen Teil, der etwa 10 % ausmacht, über das Kolon. In der Niere wird Kalium glomerulär filtriert und im proximalen Tubulus und der Henle'schen Schleife fast vollständig resorbiert. Die Ausscheidung erfolgt aktiv im distalen Tubulus und wird durch Aldosteron gesteuert (2).

Im Plasma beträgt die Konzentration von Kalium 3,5 - 4,8 mmol/L, wobei sich Kalium zu 98 % intrazellulär befindet. Ernährungsbedingte Schwankungen im Kaliumhaushalt werden über die gleichzeitige Insulinausschüttung im Zuge der Verdauung kontrolliert und durch diese rasch in den intrazellulären Raum transportiert. Schwankungen der Kaliumkonzentration im Plasma werden damit reduziert (3, 4).

Kalium ist ein Ion, das nicht nur in der Osmoregulation der Zellen und dem Säure-, Base-Haushalt eine Rolle spielt, auch die Ausbildung von elektrischen Potentialen an beispielsweise Nervenzellen und Muskelzellen ist maßgeblich von Kalium abhängig. Durch die starke Trennung von Natrium, Kalium und anderen Ionen kann zwischen intra- und extrazellulären Räumen ein steiler Gradient aufgebaut werden. Dieser Gradient stellt das Ruhemembranpotential dar, das bei äußeren Reizen depolarisieren und so die elektrische Informationsübertragung des Nervensystems ermöglichen kann (5).

### 1.1.1 Regulation der Kaliumkonzentration

Kalium wird, wie oben beschrieben, in engen Grenzen gehalten. Der Kaliumumsatz beinhaltet die Kaliumaufnahme, welche primär über Lebensmittel erfolgt und die Ausscheidung, die über Niere und Kolon gesteuert wird (6).

Früchte und Fleisch sind besonders reich an Kalium, aber auch Nahrungsergänzungsmittel oder Salze mit Kalium-Substitution können die Zufuhr stark erhöhen (6).

Die Ausscheidung erfolgt primär über die Nieren. Diese können 90 - 95 % des auszuscheidenden Kaliums über den Harn eliminieren. Ergänzt wird die Exkretion von Kalium durch das Kolon, das seine Funktion in Bezug auf die Kalium-Ausscheidung bei Niereninsuffizienz sogar noch deutlich steigern und so einer Hyperkaliämie entgegenwirken kann (6).

Der intrazelluläre Raum, besonders die Skelettmuskulatur, ist für schnelle Verschiebungen des Kaliums besonders essenziell. Über 98 % des Gesamtkörperkaliums befindet sich intrazellulär und stellt somit ein großes Reservoir dar, das jedoch bei Nekrosen oder anderen Zellzerfällen zu gefährlichen Hyperkaliämien führen kann (7).

Die langfristige Regulation im Sinne einer Ausscheidung erfolgt über die Nieren. Die Funktion des Kolons macht nur einen geringen Anteil aus, kann aber bei insuffizienter Exkretion der Niere seinen Anteil verdreifachen (6).

### **1.1.2 Symptome und Folgen von Hypo-/Hyperkaliämie**

Eine Hypokaliämie tritt auf, wenn die Plasma-Kalium-Konzentration unter 3,6 mmol/L fällt und werden 5,5 mmol/L überschritten, spricht man von einer Hyperkaliämie. Eine schwere Hyperkaliämie liegt ab 6 mmol/L vor (8, 9).

Die Hypokaliämie wirkt sich stark auf Muskelzellen aus. So kommt es in der Skelettmuskulatur zu einer Hyperpolarisation mit erschwelter Depolarisation. Diese wiederum führt zu Paralysen und birgt zudem die Gefahr einer Rhabdomyolyse. Im Darm kann es durch Lähmung der Muskulatur zu einem Ileus kommen. Die größte Gefahr besteht jedoch am Herzmuskel, wo Kalium und Digoxin gemeinsame Bindungsstellen aufweisen und es durch den Mangel an Kalium zu Digoxintoxizität kommen kann. Die Bindungsstelle dieser ist die kardiale  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase. Elektrokardiographisch lassen sich eine Verbreiterung der T-Welle, eine ST-Strecken-Senkung und eine QT-Verlängerung feststellen. Bei präexistentem Long-QT-Syndrom kann es zu Arrhythmien kommen (10).

In der Niere kommt es durch den Mangel an Kalium zu einer verstärkten Rückresorption von  $\text{NaCl}$  und  $\text{HCO}_3^-$ . Folglich kann es zu Hypertonie und Herzinsuffizienz kommen. Bei Diuretika-Therapie mit Kaliumverlust muss daher bei Hypertonie auf die Korrektur des Kaliumhaushalts geachtet werden, da diese den Blutdruck erheblich senken kann (10).

Analog zur Hypokaliämie führt auch die Hyperkaliämie zu gefürchteten kardialen Komplikationen und gilt als Notfall. Herzrhythmusstörungen können vielfältig auftreten. Es kann beispielsweise zu Störungen im Sinusknoten mit Ersatzrhythmen, ventrikulären Tachykardien bis hin zum Kammerflimmern oder einer Asystolie kommen (10).

Physiologisch findet sich Kalium fast ausschließlich intrazellulär und trägt so zu Zellpotentialen bei. Steigt die Konzentration an extrazellulärem Kalium, so wird dieser Gradient vermindert und eine Repolarisation der Zelle erschwert. Das entsprechende elektrokardiographische Korrelat stellt eine verbreiterte, abgeflachte T-Welle und einen breiter werdenden QRS-Komplex dar. Verändert sich der QRS-Komplex weiter und

präsentiert sich abgerundet, so steht ein Übergang ins Kammerflimmern oder eine Asystolie kurz bevor (10).

In der Muskulatur kann es durch hohe Konzentrationen an Kalium zur Paralyse kommen. Gefährlich ist besonders die Lähmung des Zwerchfells, die zu einer Beeinträchtigung der Atmung führt (10).

Die Hyperkaliämie führt über renale Mechanismen zu einer Azidose. Dort wird die Exkretion von  $\text{NH}_4^+$  vermindert. Diese konkurriert im Normalfall mit Kalium, wird aber durch einen Kalium-Überschuss kompetitiv reduziert. Diese Form der metabolischen Azidose lässt sich aber oft durch Korrektur des Kaliums wieder normalisieren (10).

## **1.2 Dysregulation von Kalium**

### **1.2.1 Ursachen**

Störungen des Kaliumhaushalts können vielfältige Ursachen haben. Zum einen können bestimmte Krankheiten per se eine Hyperkaliämie induzieren, zum anderen gibt es Erkrankungen, deren Medikation das Risiko einer Entgleisung birgt. Die Prävalenz der Hyperkaliämie in der Allgemeinbevölkerung liegt bei 2 - 4 % und steigt auf 10 - 55 % bei hospitalisierten Patient\*innen. Noch höhere Prävalenzen und damit eine Indikation für häufiges Monitoring sind Patient\*innen mit chronischer Nierenerkrankung. Hier beträgt die Prävalenz 73 %, bei Personen mit chronischer Herzinsuffizienz bis zu 40 %. Bei unzureichendem Monitoring kommt es daher zu gehäuften Krankenhausaufenthalten und einer Mortalität von bis zu 30 % (6).

#### **1.2.1.1 Dysregulation**

Im Folgenden sollen Ursachen für Störungen der Kaliumhomöostase beschrieben werden. Der Fokus soll auf Gruppen liegen, bei denen die Inzidenz einer Hyperkaliämie erkrankungsbedingt oder aufgrund von Medikamenten signifikant erhöht ist.

Die Verteilung von Kalium zwischen Intra- und Extrazellulärraum wird mittels  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase gesteuert. Eine Umverteilung von Kalium nach intrazellulär wird durch Insulin und  $\beta$ -2-Agonisten bei der Therapie der Hyperkaliämie genutzt, kann aber bei Normokaliämie zur Hypokaliämie führen. Auch Schilddrüsenhormone beeinflussen die Verteilung. Diese können durch diverse Autoimmunerkrankungen zu hoch oder zu niedrig sein oder in falschen Dosen substituiert werden. Je nach Schwere der Erkrankung und Dosierung der Medikamente sind hier Schwankungen im Kaliumhaushalt möglich (11).

Bei Verschiebungen des pH-Wertes im Blut kommt es bei einer Azidose zu einem Anstieg der  $H^+$ -Ionen und bei einer Alkalose zu einem Abfall. Um Schwankungen entgegenzuwirken, werden die  $H^+$ -Ionen daher in den Intrazellulärraum transportiert oder aus diesem freigesetzt. Kalium folgt den  $H^+$ -Ionen, weshalb es bei einer Azidose zur Hyperkaliämie und bei einer Alkalose zu einer Hypokaliämie kommt (11).

Über den Schweiß geht in der Regel wenig Kalium verloren. Beim Erbrechen kommt es zu einer Alkalose, die renal durch einen sekundären Hyperaldosteronismus und eine Bikarbonaturie ausgeglichen wird und eine Kaliurese bewirkt. Weiters kommt es bei Diarrhoe zu gastrointestinalen Kaliumverlusten (12).

Diuretika, vor allem Thiazid-Diuretika, können Kaliumverluste herbeiführen. Thiazide hemmen vor allem den  $Na^+-Cl^-$ -Kotransporter im distalen Konvolut und erhöhen damit die luminale Konzentration von Natrium im Verbindungstubulus und Sammelrohr. Dort wird Natrium dann über den epithelialen Natriumkanal (ENaC) durch Kalium ausgetauscht. Die Kaliumausscheidung wird damit erhöht (13).

Werden Schleifendiuretika gegeben, wird zusätzlich Kalzium ausgeschieden. Dieses hemmt den ENaC und vermindert so die Rückresorption von Natrium und die Ausscheidung von Kalium. Es kann somit trotz einer gesteigerten diuretischen Wirkung zu weniger Verlust an Kalium kommen (13).

Aldosteron wirkt in Form einer Aktivitätssteigerung des ENaC. Dadurch kommt es zu vermehrter Rückresorption von Natrium und einer gesteigerten Kaliumausscheidung. Aldosteron kann im Zuge verschiedenster Erkrankungen erhöht sein, oder medikamentös durch Aldosteron-Antagonisten blockiert werden (13).

Hyperkaliämien können durch Umverteilungen und reduzierte Transporte nach intrazellulär entstehen, sind aber meist Folge einer verminderten renalen Elimination. Eine erhöhte Zufuhr führt bei Nierengesunden nur selten zu Hyperkaliämien, da die Niere die Ausscheidung steigern kann (9).

Grundsätzlich werden bereits bis zu 70 % des glomerulär filtrierte Kaliums im proximalen Tubulus rückresorbiert. Dies geschieht passiv und folgt dem aktiv rückresorbierten Wasser parazellulär. Weitere 25 % des Kaliums werden in der Pars recta des distalen Tubulus resorbiert. Dort wird Kalium über den  $Na^+/K^+/2Cl^-$ -Kotransporter von luminal nach intrazellulär transportiert (4).

Der Verbindungstubulus und das Sammelrohr sind für die Kaliumausscheidung besonders wichtig, da hier Kalium, je nach Bedarf, ausgeschieden oder rückresorbiert werden kann. Hier wird an der basolateralen Membran Kalium durch die  $Na^+/K^+$ -ATPase in die Zellen

transportiert und kann anschließend passiv durch Ionenkanäle nach luminal ausgeschieden werden. Die Menge an sezerniertem Kalium hängt stark mit dem intrazellulären Kalium und Natrium zusammen. Das intrazelluläre Natrium, welches von luminal via ENaC aufgenommen wurde, fördert die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase und sorgt somit für intrazelluläres Kalium, welches im Anschluss ausgeschieden werden kann. Gleichzeitig bewirkt intrazelluläres Natrium eine Depolarisation der luminalen Membran und ermöglicht so erst den passiven Kaliumausstrom (4).

Die Aktivität der Kaliumausscheidung ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Zum einen hat das Serumkalium einen großen Effekt, da dieses von der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase nach intrazellulär gebracht werden muss. Zusätzlich ist der Rückstrom über die basolaterale Seite bei höheren Serumkonzentrationen von Kalium erschwert und es steht somit mehr Kalium intrazellulär zur Verfügung. Aldosteron wirkt ebenfalls in diesem Bereich des Nephrons über eine gesteigerte Aktivität der Natrium- und Kaliumkanäle an der luminalen Seite und inhibierend an der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase. Die Aktivität der Vorgänge an der luminalen Membran wird durch höhere Mengen an luminalem Natrium gefördert bzw. setzt diese voraus. Ein weiterer Kanal, der big  $\text{K}^+$  (BK), reguliert Kalium ebenfalls. Er sezerniert mehr Kalium in Abhängigkeit zur luminalen Flussgeschwindigkeit (4).

Zellen des Verbindungstubulus verfügen über drei Transportmechanismen an der basolateralen Membran, die dem Ausgleich von pH-Schwankungen dienen und indirekt die Kaliumausscheidung beeinflussen. Einerseits wird ein  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter beschrieben, welcher  $\text{Na}^+$  in die Zelle und  $\text{H}^+$  aus der Zelle transportiert, sowie ein  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -Cotransporter, welcher die entsprechenden Ionen nach intrazellulär bringt. Beide Mechanismen führen zu gesteigertem intrazellulärem Natrium und damit zu einer Aktivitätssteigerung der basolateralen  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase. Durch diese erhöht sich die intrazelluläre Kaliumkonzentration (4).

Und letztlich gibt es noch den  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -Antiporter, welcher  $\text{Cl}^-$  nach intrazellulär transportiert und dabei  $\text{HCO}_3^-$  nach extrazellulär freigibt (4).

Im Falle einer metabolischen Azidose werden so zwei Transportmechanismen in ihrer Aktivität vermindert und dadurch die intrazelluläre Natriumkonzentration, die der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase als Substrat dient, vermindert. Folglich wird weniger Kalium in die Zellen aufgenommen. Im Fall einer Alkaliämie kommt es gegenteilig zu einer Aktivierung der beiden Ionenkanäle und einer Aktivitätssteigerung der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (4).

Durch einen Abfall des intrazellulären pH-Wertes kommt es zusätzlich zu einer direkten Hemmung der luminalen Kanäle ENaC, ROMK (renal outer medullary  $\text{K}^+$  channel) und BK.

In Schaltzellen kommt es bei einem intrazellulären pH-Abfall hingegen zu einer Aktivitätssteigerung der ATP-abhängigen  $H^+$ -Sekretion und der  $H^+/K^+$ -ATPase, welche  $H^+$  nach luminal und  $K^+$  nach intrazellulär transportiert (4).

Zusätzlich kann es bei hyperosmolaren Infusionen entlang des osmotischen Gradienten zu einem Efflux von Kalium aus den Zellen kommen. Auch eine Hemmung der  $Na^+/K^+$ -ATPase durch Digoxinüberdosierung oder Vergiftung mit anderen Substanzen beeinträchtigt die physiologische Verteilung von Kalium (14).

Verschiedene Ursachen können eine Störung der Hypophysen-Nebennieren-Achse verursachen. Infektionen oder Autoimmunerkrankungen, wie Mb. Addison, führen zu einer Nebenniereninsuffizienz mit anschließendem Hypoaldosteronismus. Da Aldosteron am Austausch von Natrium durch Kalium beteiligt ist, führt ein Mangel zu einer verminderten Kaliumausscheidung und einer Hyperkaliämie (15).

Nicht nur Kalium, sondern auch der pH-Wert im Blut, wird vom Körper in engen Grenzen gehalten. Den größten Einfluss auf die pH-Wert-abhängige Kaliumverteilung zwischen Extra- und Intrazellulärraum in Muskelzellen hat der  $Na^+/H^+$ -Antiporter (NHE1,  $Na^+-H^+$ -Exchange-Isoform-1). Der Antiporter befördert  $H^+$  von intra- nach extrazellulär und kann so den intrazellulären pH-Wert erhöhen. Die Aktivität des NHE1 wird bei intrazellulär niedrigem pH-Wert erhöht und bei erhöhten Werten inhibiert.

Da für jedes Kalium-Ion, das die Zelle verlässt, ein Natrium-Ion aufgenommen wird, ist die Aktivität auch stark von der intrazellulären Natriumkonzentration anhängig (4).

Zusätzlich kann der intrazelluläre pH-Wert erhöht werden, wenn  $HCO_3^-$  in die Zelle gelangt. Dies gelingt über den  $Na^+$ -Bicarbonat-Cotransporter, welcher in verschiedenen Isoformen vorkommt (4).

Zur Erhöhung des extrazellulären pH-Wertes kann auch  $H^+$  gemeinsam mit einem organischen Anion in die Zelle aufgenommen werden. So kann beispielsweise die Konzentration von Laktat im Blut gesenkt werden (4).

Die genannten Transportwege beeinflussen Kalium nicht direkt, sondern im Falle der  $Na^+/H^+$ -Antiporter und  $Na^+$ -Bicarbonat-Symporter über eine Erhöhung des intrazellulären Natriums indirekt. Intrazelluläres Natrium wird im Weiteren unter ATP-Verbrauch mittels  $Na^+/K^+$ -ATPase aus der Zelle transportiert, um den osmotischen bzw. den elektrischen Gradienten aufrecht zu erhalten. Im Zuge dieses Transportes kommt es zur gegensinnigen Kaliumverschiebung (4).

Wird daher bei einer Azidose der  $H^+/Na^+$ -Antiporter inhibiert, so verringert sich die Aktivität der  $Na^+/K^+$ -ATPase und Kalium verbleibt ebenfalls in höherer Konzentration im

Extrazellulärraum. Bei einer Alkalose kommt es zu einer Aktivitätssteigerung des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporters und folglich zur Erhöhung des intrazellulären Natriums, welches durch die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase getauscht wird und einen Abfall des Serumkaliums nach sich zieht (4).

Gleiches gilt für den  $\text{Na}^+$ -Bicarbonat-Symporter. Hier wird bei metabolischer Alkalose das Bicarbonat gemeinsam mit Natrium in die Zellen transportiert. Das steigende intrazelluläre Natrium wird wieder über die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase eliminiert und Kalium dabei nach intrazellulär gebracht (4).

Bei der zellulären Aufnahme organischer Anionen wird gleichzeitig ein Wasserstoffion in die Zelle transportiert. Dieses führt aufgrund der intrazellulären pH-Reduktion zu einer Steigerung des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporters und damit zu einer erhöhten intrazellulären Natriumkonzentration. Diese wird wiederum durch die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase ausgeglichen (4).

Die Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase kann auch auf hormonellem Weg durch Insulin beeinflusst werden. Insulin steigert die Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, fördert die zelluläre Glukoseaufnahme und somit die erforderliche ATP-Gewinnung (4).

Bei Entgleisungen des Säure-Base-Haushaltes kommt es so zu begleitenden und kompensatorischen Veränderungen im Kaliumhaushalt. Störungen im Säure-Base-Haushalt können sowohl aufgrund respiratorischer als auch metabolischer Ursachen auftreten, wobei der Effekt auf den Kaliumhaushalt bei metabolischen Ursachen meist größer ist (4).

### **1.2.1.2 Erkrankungen**

Eine Vielzahl von Erkrankungen kann das Risiko einer Entgleisung der Kaliumhomöostase nach sich ziehen. Hervorzuheben sind hier in erster Linie die chronische und die terminale Niereninsuffizienz, da betroffene Patient\*innen durch ihre verminderte exkretorische Nierenfunktion das Kalium und andere Stoffe nicht suffizient eliminieren können. Bei einer akuten Nierenschädigung kann eine Hyperkaliämie als Folge einer Oligurie entstehen (2, 16).

Ist die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) im Normbereich, so kann die Hyperkaliämie Folge einer tubulointerstitiellen Erkrankung sein. Hier sind vor allem die Amyloidose, die Sichelzellanämie und die interstitielle Nephritis wahrscheinlich (16).

Risikofaktoren, die eine Hyperkaliämie bei Patient\*innen mit chronischer Nierenerkrankung erhöhen, sind eine verminderte GFR, eine Therapie mit Renin-Angiotensin-Aldosteron-System-Inhibitoren (RAAS-Inhibitoren), Diabetes mellitus, fortgeschrittenes Alter und das männliche Geschlecht (2).

Die häufigsten Ätiologien der chronischen Nierenerkrankung sind ein Diabetes mellitus Typ 2 oder eine arterielle Hypertonie. Beide führen über lange Zeit zu Schädigungen an den Gefäßen mit atherosklerotischen Veränderungen und zerstören so auch die feine Gefäßstruktur der Nieren. Eine korrekte Blutzuckereinstellung und Kontrolle des Blutdruckes sind daher essenziell, um Folgeschäden oder die Progredienz der Schädigung in anderen Organen zu vermindern (17).

Die chronische Nierenerkrankung kann neben dem Diabetes mellitus oder der arteriellen Hypertonie auch auf dem Boden entzündlicher Prozesse entstehen. In allen Fällen kommt es durch die Schädigung zur Reduktion der funktionierenden Nephrone, deren Funktion von verbliebenen Nephronen kompensiert werden muss. Diese Überbeanspruchung führt zur Hypertrophie und Hyperfiltration dieser, was im weiteren Verlauf wieder den Untergang der Nephrone nach sich zieht. Es entsteht somit ein Teufelskreis und die verbleibende GFR nimmt stetig ab (17).

Die Abnahme der renalen Funktion führt weiters zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) mit Hyperfiltration, Hypertrophie und letztlich einer Sklerose der Nephrone (18).

Außerdem führt eine chronische Nierenerkrankung häufig zur arteriellen Hypertonie, beziehungsweise beeinflusst diese weiter negativ. Es kommt zu kardialen Folgeerkrankungen der Hypertonie, wie der Hypertrophie und der Herzinsuffizienz. Die Morbidität und Mortalität bei kardialen Begleiterkrankungen sind stark erhöht und bedürfen daher einer strengen medikamentösen Kontrolle. Zusätzlich kann der Blutdruck über Natriumrestriktion positiv beeinflusst werden. RAAS-Inhibitoren sind gemeinsam mit anderen Blutdrucksenkern indiziert und unter Kontrolle des Kaliums auf die Zieldosis aufzutitrieren (19).

Bei beginnender Nierenschädigung muss die Kaliumkonzentration nicht unbedingt erhöht sein. Durch die spät-distale Ausscheidung von Kalium, je nach Aldosteronaktivität und aufgrund der gesteigerten gastrointestinalen Ausscheidung, kann die Homöostase über längere Zeit aufrechterhalten werden. Durch zusätzliche Therapie mit Inhibitoren des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems oder kaliumsparenden Diuretika kann die Fähigkeit zur Kompensation aber unter Umständen überschritten werden und eine Hyperkaliämie entstehen (19).

Wenn es im Zuge der chronischen Nierenschädigung zur metabolischen Azidose kommt, ist diese oft mit einer Hyperkaliämie vergesellschaftet. Durch die verminderte Produktion von

Ammonium kann der Harn nicht adäquat angesäuert werden. Dies führt zu einem Überschuss an Protonen (19).

Die Hyperkaliämie wird mit einer stark erhöhten Mortalität und kardiovaskulärer Morbidität in Verbindung gebracht, die durch die verminderte GFR oder metabolische Azidosen alleine nicht erklärt werden kann (2).

### **1.2.1.3 RAAS-Inhibitoren**

Die Hemmung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) stellt für viele Erkrankungen eine wichtige Komponente zur Reduktion der Mortalität dar. Um RAAS zu hemmen, können Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitoren (ACE-Inhibitoren) oder Angiotensin-Rezeptor-Antagonisten (AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten) zur Anwendung kommen. Beide werden unter anderem in der Therapie der Herzinsuffizienz, arteriellen Hypertonie, koronaren Herzkrankheit und nach Myokardinfarkten mit Empfehlungsgrad 1A eingesetzt. Auch bei diabetischer und chronischer Nierenschädigung werden durch ACE-Inhibitoren Endorganschäden reduziert (6).

Physiologisch wird bei einem Blutdruckabfall und folglich Abnahme des glomerulären Perfusionsdruckes Renin aus dem juxtaglomerären Apparat ausgeschüttet. Bei Freisetzung von Renin in die Blutbahn wird dort Angiotensinogen aus der Leber zu Angiotensin 1 gespalten. Angiotensin 1 wird von Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) zu biologisch wirksamen Angiotensin 2 umgewandelt (20).

Durch Angiotensin 2 vermittelt, kann dann der Blutdruck über eine starke Vasokonstriktion, eine Ausschüttung von Aldosteron und eine zentrale Sympathikusaktivierung wieder gesteigert werden. Aldosteron fördert durch Natriumchlorid-Rückresorption die passive Rückresorption von Wasser in der Niere. All das hat das Ziel, die Nierendurchblutung wieder zu normalisieren und eine Minderperfusion und Ischämie dieser zu verhindern (20).

Bei arterieller Hypertonie und Herzinsuffizienz führen ACE-Hemmer zu einer Blockade des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, indem die Umwandlung von Angiotensin 1 in Angiotensin 2 kompetitiv gehemmt wird. Der vasokonstriktive Effekt von Angiotensin 2 kann so vermindert werden. Das Gesamtvolumen wird reduziert, da weniger Aldosteron ausgeschüttet wird. Dies führt zu einer verminderten Natriumchlorid- (NaCl) und begleitenden Wasser-Rückresorption. Auch die zentrale Sympathikusaktivierung wird vermindert. Der Therapienutzen bei ACE-Inhibitoren liegt somit in der Reduktion des Blutvolumens und der Reduktion des peripheren Widerstandes, gegen den das Herz arbeiten muss (20).

Angiotensin-Converting-Enzyme aktiviert nicht nur Angiotensin 1, sondern inaktiviert auch Kinine, wie das Bradykinin. Bei manchen Patient\*innen kann es bei Blockierung dieses Abbaus zu einem Anstieg der Kinine kommen. Diese verursachen dann einen Reizhusten, welcher durch eine Therapieumstellung von ACE-Inhibitoren auf Angiotensin-1-Rezeptor-Blockern (AT<sub>1</sub>-R.-Blocker) behandelt wird (20).

Bei der Verwendung von ACE-Inhibitoren oder AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Blockern wird somit indirekt die Ausschüttung von Aldosteron reduziert. Weiters können Aldosteron-Rezeptoren auch direkt von Antagonisten besetzt und so in ihrer Funktion gehemmt werden. Aldosteron führt physiologisch zu einer Synthesesteigerung von epithelialen Natrium-Kanal-Proteinen und Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasen, die für die Rückresorption von Natrium und Wasser essenziell sind. Wird Natrium rückresorbiert, so wird gegensinnig Kalium und H<sup>+</sup> sezerniert. Werden die Aldosteron-Rezeptoren nun in ihrer Wirkung gehemmt, so kommt es zu einer Natrium- und Wasserausscheidung und einer verminderten Kaliumausscheidung. Der diuretische Effekt zur Senkung der Herzarbeit und des Blutdruckes ist gewollt, die Gefahr der Hyperkaliämie ist jedoch ein gefährliches Risiko, welches mit der Therapie einhergeht (21).

Die gesteigerte Gefahr, eine Hyperkaliämie zu entwickeln, stellt somit den limitierenden Faktor der so dringend benötigten und prognoseverbessernden Therapie vieler Erkrankungen dar. Bei Patient\*innen mit arterieller Hypertonie ohne zusätzliche Risikofaktoren, welche mit RAAS-Inhibitoren behandelt werden, liegt die Inzidenz der Hyperkaliämie bei unter 2 % und steigt bei dualer RAAS-Therapie auf 5 % an. Liegt zusätzlich eine Herzinsuffizienz oder chronische Niereninsuffizienz vor, so erhöht sich das Risiko weiter und beträgt 5 - 10 % (6).

Die aktuellen Empfehlungen bei Herzinsuffizienz und chronischer Niereninsuffizienz sehen zudem die Therapie mit Mineralocorticoid-Rezeptor-Antagonisten (Aldosteron-Rezeptor-Antagonisten, MRA) zusätzlich zur Therapie mit RAAS-Inhibitoren vor. Hierdurch wird das Risiko einer Hyperkaliämie weiter erhöht und eine suffiziente Kontrolle des Kaliumhaushalts immer wichtiger. Um diese zusätzliche Therapie mit MRA erhalten zu können, ist eine GFR von 30 ml/min/1,73m<sup>2</sup> und eine Kaliumkonzentration von unter 5 mmol/L erforderlich. Die Anwendung der MRAs konnte selbst bei Patient\*innen mit hohem Risiko, eine Hyperkaliämie zu entwickeln, effektiv und sicher eingesetzt werden. Selbst bei leichten Hyperkaliämien, wenn ein Grenzwert von 6 mmol/L nicht überschritten wurde, konnte ein Überwiegen des positiven Effekts gezeigt werden (6).

Im Rahmen einer Studie wurden Patient\*innen mit zwei verschiedenen Dosen des MRA Spironolacton behandelt. Bei einer Dosierung von 25 mg ist es bei 13,5 % zu einer

Hyperkaliämie gekommen, bei der doppelten Dosis von 50 mg bei 40 %. Daraus wurde abgeleitet, dass eine Limitierung der Dosis auf 25 mg einer kompletten Beendigung der Therapie im Falle einer Hyperkaliämie vorzuziehen ist. Der klinische Nutzen für die Patient\*innen konnte selbst bei leichten Hyperkaliämien im Zuge der RALES- und EMPHASIS-HF-Studie belegt werden (6).

Bei Patient\*innen, die mit RAAS-Inhibitoren therapiert werden und sich in keinem klinischen Setting mit regelmäßigen Kaliummonitoring befinden, kann die Inzidenz der Hyperkaliämie bis zu 50 % betragen. Diese Zahlen sind besorgniserregend und trotz vieler Hinweise in Leitlinien und Publikationen werden die Patient\*innen häufig zu wenig suffizient hinsichtlich ihrer Kaliumwerte untersucht. Die Rate an Kaliummessungen an gefährdeten Personen muss daher qualitativ und quantitativ erhöht werden, um bei den Patient\*innen die Therapie, die nachweislich positive Effekte auf das Gesamtergebnis hat, weiterführen zu können und nicht beenden zu müssen (6).

Der Grund, der eine Verbesserung im Monitoring aktuell so schwer macht, ist die Präanalytik der Kaliummessung. Die Messung erfolgt aus venösem Blut, ist invasiv und kann nur von geschultem Personal durchgeführt werden. Außerdem besteht das Risiko falscher Messergebnisse durch Hämolyse oder falscher Lagerung und Handhabung. Gesucht ist daher eine einfachere, nicht-invasive und präanalytisch leichter zu handhabende Methode, um den Kaliumhaushalt der Patient\*innen regelmäßig und präzise bestimmen zu können. Nur so kann eine Therapie mit Dosen im obersten Grenzbereich sicher beibehalten werden.

Neben Medikamenten können auch noch die Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln oder spezielle Ernährungsformen für Kaliumschwankungen ursächlich sein.

### **1.2.2 Diagnose**

Die Konzentration von Kalium im Blut kann aus Plasma oder Serum bestimmt werden. Die Bestimmung im Serum wird zunehmend von der im Plasma abgelöst. Die gemessenen Werte variieren leicht, je nach verwendeter Probe. Bei besonders hohen Kaliumkonzentrationen wird dieser Effekt stärker sichtbar und liefert in etwa 0,5 mmol/L höhere Werte im Serum als im Plasma (6).

Die Hyperkaliämie kann, je nach Schweregrad, in verschiedene Stadien eingeteilt werden. Sobald der obere Grenzwert von 5 mmol/L überschritten wird, spricht man von einer milden Hyperkaliämie. Diese reicht von 5,0 - 5,5 mmol/L. Darüber handelt es sich um eine

moderate Hyperkaliämie. Und ab einer Konzentration von 6,0 mmol/L Kalium im Serum spricht man von einer schweren Hyperkaliämie (6).

Die Inzidenz der Hyperkaliämie hängt stark mit dem individuellen Risiko zusammen und wurde im Rahmen einer Studie bei Patient\*innen mit chronischer Nierenschädigung und RAAS-inhibierender Therapie in Abhängigkeit zur jeweiligen GFR untersucht. Die Inzidenz der Hyperkaliämie, die mit 5,5 mmol/L definiert war, entspricht bei einer GFR von  $> 50 \text{ mL/min/1,73m}^2$  0,52 %, bei einer GFR zwischen 40 - 50  $\text{mL/min/1,73m}^2$  0,45 %, bei einer GFR zwischen 30 - 40  $\text{mL/min/1,73m}^2$  2,75 % und bei einer GFR von  $< 30 \text{ mL/min/1,73m}^2$  6,87 %. Somit konnte eine deutliche Steigerung des Risikos in Abhängigkeit zur Niereneinschränkung gezeigt werden (22).

Das Hyperkaliämie-assoziierte Risiko entspricht aber nicht zwangsläufig der Einteilung in mild, moderat und schwer, sondern hängt von individuellen Faktoren ab. Besonders bei Patient\*innen mit chronischer Niereninsuffizienz, Herzinsuffizienz oder Diabetes mellitus können häufig hohe Kaliumwerte bei sonstiger Symptomfreiheit beobachtet werden (6).

Eine gezielte Analyse der 1-Tages-Mortalität bei milder und bei schwerer Hyperkaliämie hat gezeigt, dass Hyperkaliämien von Patient\*innen mit eingeschränkter Nierenfunktion tendenziell eher überlebt werden, als von Patient\*innen ohne Niereninsuffizienz. Patient\*innen mit CKD scheinen daher eine erhöhte Toleranz gegenüber Hyperkaliämien zu entwickeln (23).

Je nach zeitlichem Verlauf der Hyperkaliämie kann diese einer akuten oder chronischen Form zugeordnet werden. Auch wiederkehrende Hyperkaliämien kommen vor. Hier wird auf Häufigkeit und Dauer der Episoden geachtet (6).

Von einer echten Hyperkaliämie, welche mit lebensbedrohlichen Komplikationen einhergehen kann, ist die Pseudohyperkaliämie zu unterscheiden. Diese entsteht meist durch Fehler während oder nach der Blutgewinnung. Während der Blutabnahme kann eine zu lange Stauung der Vene ursächlich für die Pseudohyperkaliämie sein. Wenn die Probe korrekt entnommen wurde, kann eine zu lange Dauer bis zur Analyse im Labor eine Hämolyse verursachen. Auch die Temperatur der entnommenen Probe hat einen Einfluss auf die gemessenen Kaliumkonzentrationen. So kommt es bei zu kalten Proben aufgrund der verminderten zellulären Kaliumaufnahme zu einer unechten Hyperkaliämie. Bei zu hohen Temperaturen wird die Kaliumbestimmung in Richtung Hypokaliämie verfälscht, da es zu vermehrter intrazellulärer Kaliumaufnahme kommt (24).

Leider ist die Verfälschung der Kaliumkonzentrationen durch präanalytische Einflüsse ein großes Problem im klinischen Alltag. Die Messung ist zu verwerfen und muss wiederholt

werden. Damit einhergehend ist eine erneute Blutabnahme bei den Patient\*innen. Im stationären Bereich ist das unkompliziert möglich, in einer Ambulanz oder im niedergelassenen Bereich sind die Patient\*innen aber meist nicht mehr vor Ort. Dies führt zu Lücken und Komplikationen im Kalium-Monitoring der Patient\*innen und kann bei bestimmten Grunderkrankungen oder medikamentösen Therapien zu gefährlichen Entgleisungen führen, die dann nicht rechtzeitig erkannt werden können.

Neben der laborchemischen Diagnostik kann eine Hyperkaliämie auch im EKG auffällig werden. Vor allem die PQ-Zeit, die QT-Zeit, die Breite des QRS-Komplexes und die T-Welle durchlaufen Veränderungen in Abhängigkeit zur Kaliumkonzentration. Die bekannteste Manifestation ist eine hohe zeltförmige T-Welle. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer ST-Strecken-Hebung und bei schwerer Hyperkaliämie ab 6,5 - 7,0 mmol/L zu einem Abflachen der P-Welle und einer Verlängerung der PQ-Dauer. Auch die Breite des QRS-Komplexes nimmt zu und der Abstand zur T-Welle wird kürzer. Bevor die Depolarisation abgeschlossen werden kann, kommt es bereits zu Repolarisationen. Je stärker ausgeprägt die Hyperkaliämie letztlich ist, desto höher ist das Risiko einer Herzrhythmusstörung und in der Folge das Risiko eines Herzstillstandes (25).

## **1.2.3 Therapie**

### **1.2.3.1 Therapie der Hypokaliämie**

Da Kalium zum Großteil intrazellulär vorkommt, kann man bei einer Hypokaliämie im Serum oder Plasma bereits von einem wesentlich größeren Gesamtkaliumverlust ausgehen. Nimmt das Gesamtkörperkalium um 100 mmol/L ab, so führt dies zu einer Reduktion des Serumkaliums um 0,27 mmol/L (26).

Die Folgen einer Hypokaliämie sind maßgeblich von Einflussfaktoren, wie einem Long-QT-Syndrom oder einer Digoxintherapie, abhängig. Generell ist die Hypokaliämie für jeden gefährlich, die Geschwindigkeit, mit der der Mangel ausgeglichen werden muss, hängt aber von zusätzlichen individuellen Risikofaktoren ab (26).

Generell muss bei der Korrektur von Kalium vorsichtig vorgegangen werden, da es nach dem Ausgleich mitunter zu Rebound-Hyperkaliämien kommen kann. Wenn die Hypokaliämie lediglich durch einen gesteigerten Sympathikotonus, eine hyperthyreotische Phase, Theophyllin oder nach einem Schädel-Hirn-Trauma auftritt, so kann diese mit einem Betablocker korrigiert werden. Wenn es sich aber um keine Umverteilungshypokaliämie sondern einen Mangel an Gesamtkalium handelt, so ist eine Substitution erforderlich (26).

Bei einem Kaliummangel wird dieser durch Zufuhr von Kaliumchlorid oder, wenn eine Hypophosphatämie vorliegt, durch Kaliumphosphat ausgeglichen. Bei einer gleichzeitigen Azidose kann Kaliumcitrat oder Kalium-Malat verabreicht werden und bei einem gleichzeitigen Magnesiummangel muss auch dieser behoben werden, um Kalium suffizient aufnehmen zu können (26).

Der Ausgleich hin zur Normokaliämie sollte langsam über 24 - 48 Stunden erfolgen, da der Shift von Kalium in den Intrazellulärraum langsam funktioniert und man einen Rebound vermeiden möchte. Zur Infusion empfiehlt sich eine NaCl-Lösung, da bei einer Glukose-Lösung durch Insulin die Umverteilung in den Intrazellulärraum zu schnell ginge und die Hypokaliämie kurzfristig verschlechtert werden würde (26).

### **1.2.3.2 Therapie der Hyperkaliämie**

Die Hyperkaliämie kann einen medizinischen Notfall darstellen und muss dann sofort behandelt werden. Die Therapie erfolgt in drei Stufen.

Wenn bereits EKG-Veränderungen auftreten, handelt es sich um einen absoluten Notfall und eine sofortige Intervention inklusive Membranstabilisierung der Kardiomyozyten ist erforderlich, um Rhythmusstörungen zu verhindern. Liegen keine EKG-Veränderungen vor, so schließt dies eine schwere Hyperkaliämie nicht aus (27).

Die hohen intrazellulären und extrazellulären Konzentrationen von Kalium setzen die Reizschwelle für Aktionspotentiale herab. Um diese erneut anzuheben, werden 10 ml Kalziumglukonat in 10-prozentiger Konzentration über mehrere Minuten verabreicht. Diese Maßnahme hält in etwa 30 - 60 Minuten an und sichert in dieser Zeit das Schwellenpotential ab. Bei gleichzeitiger Therapie mit Digoxin muss Acht gegeben werden, da Kalzium die Toxizität von Digoxin weiter verstärkt (27).

Wenngleich vor der gleichzeitigen Gabe gewarnt wird, gibt es keine Studie, die belegt, dass tatsächlich eine erhöhte kardiale Toxizität vorliegt. Das Kalzium bewirkt einen schnellen intrazellulären Anstieg von Natrium, der zur Membranstabilität beiträgt. Alternativ zur Kalzium-Infusion kann auch hypertones Natrium verabreicht werden (28).

Wenn die kardiale Funktion temporär abgesichert ist, kann mit der schnellen, dafür aber ebenfalls nur kurzzeitigen Senkung von Plasmakalium begonnen werden. Dies gelingt über eine Verschiebung in den intrazellulären Raum durch eine Aktivitätssteigerung der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (27, 28).

Diese Umverteilung von Kalium nach intrazellulär kann durch Insulin bewirkt werden. Empfohlen werden, je nach Literatur, 10 Einheiten Insulin und ca. 25 g Glukose.

Die Glukoseinfusion sollte nicht vor dem Insulin gegeben werden, da es, wie weiter oben beschrieben, durch die hohe Osmolarität ansonsten kurzzeitig zu einer Verschlechterung kommen kann. Ein Wirkungseintritt ist nach 10 - 20 Minuten zu erwarten. Nach 30 - 60 Minuten kann man von der vollen Wirkung ausgehen. Die Wirkdauer, nach der das Kalium die Zellen wieder verlässt, beträgt 4 - 6 Stunden. Eine engmaschige Kontrolle des Blutzuckers und des Kaliums ist daher erforderlich. Ist die Glukosekonzentration bereits vor Beginn der Therapie zu hoch, so kann Insulin zu Beginn und unter engmaschigem Monitoring ohne weitere Glukose verabreicht werden. Nach der initialen Glukoseinfusion mit 25 g kann eine langsame Glukoselösung per Infusion zur Prophylaxe einer Hypoglykämie gegeben werden (27).

Werden Glukose und Insulin verabreicht, so kommt es zur zellulären Aufnahme des Kaliums über  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasen. Die Aktivität dieses Kreislaufs lässt sich wiederum durch adrenerge Substanzen wie  $\beta$ -2-Agonisten beschleunigen. In der Akutbehandlung kann Salbutamol gegeben werden. Etwa 20 % der Patient\*innen zeigen keine zusätzliche Reaktion, wenn  $\beta$ -2-Agonisten gegeben werden, weshalb diese nur zusätzlich und nicht alternativ zur Anwendung kommen. Bei Ansprechen setzt die Wirkung nach 30 Minuten ein und hält für 2 - 6 Stunden. Bei vorbekannter Herzerkrankung ist der Einsatz von  $\beta$ -2-Agonisten gefährlich, da diese auch kardiale Effekte haben (27).

Letztlich zielen alle bisher genannten Therapieansätze auf eine Vermeidung von Komplikationen und eine vorübergehende Korrektur des Kaliums ab. Bei Nachlassen der Therapie kommt es aber erneut zum Kaliumefflux und das Risiko für Komplikationen steigt wieder an. Das langfristige Ziel der Therapie der Hyperkaliämie ist die Reduktion des Gesamtkörperkaliums.

Es stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, um Kalium aus dem Körper auszuscheiden. Für kontinuierliche Therapien stehen Kationenaustauscherharze und Polymere zur Verfügung. Diese werden regelmäßig oral eingenommen. Bei erhaltener Nierenfunktion können Diuretika eine Ausschwemmung des Kaliums und anderer Ionen bewirken. Ist diese nicht vorhanden oder handelt es sich um einen Notfall, so kann Kalium mittels Hämodialyse aus dem Blut entfernt werden (27).

Ursprünglich wurde die Substanz Natriumpolystyrolsulfonat (NaPSS) verwendet. Diese wird oral eingenommen, spaltet im Gastrointestinaltrakt Natrium ab und bindet stattdessen Kalium. Da hier das Angebot an Natrium erhöht wird, kann es bei Patient\*innen mit ohnehin vergrößertem Extrazellulärvolumen zu einer Volumenüberbelastung kommen (27).

NaPSS wurde aufgrund mangelnder Alternativen lange Zeit angewendet, auch wenn der klinische Nutzen nie in hochqualitativen Studien nachgewiesen werden konnte (2).

Eine Limitation der NaPSS sind Darmnekrosen, die als Nebenwirkung auftreten können und unter Umständen dramatische Folgen haben. Aus diesem Grund und da neuere Substanzen ohne diese Nebenwirkung verfügbar sind, wird von dieser Therapie zunehmend abgesehen. Die Substanzen Patiromer (RLY5016, Veltassa) und Natrium-Zirkonium-Cyclosilikat (ZS-9) funktionieren ähnlich, scheinen aber keine Darmnekrosen zu verursachen (27).

Patiromer wird nicht resorbiert und tauscht Kalzium gegen Kalium aus. Weiters reduziert es Kalium, Magnesium und Natrium im Harn, was eine weniger selektive Bindung der Ionen vermuten lässt. Vor allem der Magnesiumhaushalt muss daher regelmäßig kontrolliert werden, um hier keinen Mangel herbeizuführen (27).

Bei Einnahme von Patiromer wird zudem Sorbitol empfohlen, um einer Obstipation durch Kalzium entgegenzuwirken (27).

ZS-9 wird ebenfalls nicht resorbiert und tauscht Natrium- und Wasserstoffionen gegen Kalium- und Ammoniumionen (27).

Dieser Ansatz reduziert die gastrointestinale Aufnahme von Kalium und ist daher nicht als Akuttherapie, sondern als kontinuierliche Dauertherapie zu verstehen (27).

Die renale Elimination von Kalium kann bei erhaltener Nierenfunktion durch Diuretika gesteigert werden. Wenn eine Hypovolämie vorliegt, ist die renale Ausscheidung generell reduziert. Eine Korrektur kann mittels Infusion einer balancierten Lösung angestrebt werden, wenn die Ursache der Hyperkaliämie ein vermindertes spättubuläres Natriumangebot ist. Liegt im Gegenteil eine Hypervolämie vor, oder werden bereits Infusionen verabreicht, so können Diuretika gegeben werden. Hier eignet sich die Therapie mit Schleifendiuretika und Thiazid-Diuretika (27).

Bei Patient\*innen mit eingeschränkter Nierenfunktion kann eine forcierte Diurese keine ausreichenden Effekte erzielen, eine Therapie mit Anionenaustauschharzen wirkt zu langsam und eine kurzfristige Verschiebung kann nicht als Dauertherapie angewendet werden. Hier muss das Kalium im Rahmen einer Dialyse aus dem Körper entfernt werden. Diese Therapie ist die effizienteste, aber auch die invasivste und am meisten belastende für Betroffene (27).

Bei erhöhtem Hyperkaliämierisiko oder einer chronischen Hyperkaliämie gilt es zudem, die Ernährung anzupassen und besonders kaliumreiche Lebensmittel zu meiden. Wenn eine diuretische Therapie stattfindet, ist darauf zu achten, dass kein kaliumsparendes Diuretikum verwendet wird und eine maximale Dosierung angestrebt wird. Medikamente wie NSAR

vermindern die renale Durchblutung und reduzieren so die Filtrationsleistung der Niere. Auch RAAS-Inhibitoren erhöhen die Kaliumkonzentration, sind aber aufgrund des prognostisch positiven Effekts, wenn möglich, beizubehalten oder bei Unterbrechung frühzeitig wieder zu initiieren (6).

### **1.2.3.3 Folgen**

Wie die vorangegangenen Abschnitte zeigen, wird versucht, ein Maximum an RAAS-Inhibierender Therapie bei einem Maximum an tolerierbarem Hyperkaliämie-Risiko einzustellen. So kann der positive Effekt auf die Mortalität verbessert werden (6).

Häufig tritt jedoch eine milde Hyperkaliämie auf. Die Nierenfunktion nimmt ebenfalls stetig ab und wird in ihrer Funktion zur Kaliumausscheidung schwächer. Medikamentenassoziiert kann es zu symptomatischen und von den Patient\*innen als störend empfundenen Hypotonien kommen. In diesen Fällen wird oft, gegen die Empfehlungen der Leitlinien, eine Dosisreduktion oder gar Beendigung der Therapie mit RAAS-Inhibitoren veranlasst (6).

Eine Datenerhebung der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie bezüglich der ACE-Inhibitor Therapie bei Patient\*innen mit chronischer Herzinsuffizienz mit reduzierter Auswurfsfraktion (HFrEF) hat gezeigt, dass weniger als ein Drittel der Patient\*innen die leitliniengerechte Therapiedosis erhalten. Ein weiteres Drittel der Studienpopulation erhielt, ohne angeführte Begründung, weniger als die vorgeschriebene empfohlene Dosis. Und bei den übrigen Patient\*innen wurde eine Hyperkaliämie als Ursache für die Adaption angegeben (29).

Nur 19 - 26 % der Patient\*innen mit chronischer Niereninsuffizienz erhalten die leitliniengerechte Dosierung ihrer RAAS-Inhibitoren, während 58 - 65 % auf eine zu geringe Dosis eingestellt sind. Bei der Auswertung der Mortalität in Abhängigkeit zur Dosis der RAAS-Inhibitoren zeigt sich ein gegensinniger Trend zur Dosis. Die Mortalität ist bei Patient\*innen ohne bzw. bei Absetzen der RAAS-Inhibitoren am höchsten, sinkt bei Patient\*innen mit submaximaler Dosierung und ist bei korrekter, leitliniengerechter Dosierung am geringsten (6).

Die BIOSTAT-CHF-Studie konnte zeigen, dass Patient\*innen, die weniger als 50 % der RAAS-inhibierenden Therapiedosis erreichen, ein erhöhtes Risiko für einen plötzlichen Herztod oder Hospitalisierungen, verglichen mit Patient\*innen die mindestens 100 % der empfohlenen Dosis erreichen, haben (6, 30).

Daher ist es essenziell, Patient\*innen, die von einer RAAS-inhibierenden Therapie profitieren, mit der maximal möglichen Dosis zu versorgen und diese unter Zuhilfenahme

von neuen gastrointestinalen Kaliumbindern noch weiter zu steigern. Eine hohe Compliance hinsichtlich ihrer Ernährung und ein striktes Monitoring des Kaliumhaushaltes sind hierfür unbedingt erforderlich (6).

Es wird daher empfohlen, mit ACE-Inhibitoren in niedriger Dosierung zu starten und schrittweise auf die Zieldosis zu steigern. Ein zu schnelles Steigern der Dosis kann die Adhärenz der Patient\*innen mindern, da sie sich erst an den gesenkten Blutdruck gewöhnen müssen. Anschließend wird die Therapie mit einem MRA komplettiert (6).

Ist das initiale Kalium zwischen 4,5 - 5,0 mmol/L, so kann auf die maximale Dosierung gesteigert werden. Bei Kaliumwerten über 5,0 mmol/L sollten kaliumsenkende Maßnahmen eingeleitet werden, um einem Entgleisen frühzeitig entgegenzuwirken (6).

Der limitierende Faktor in der Therapie mit RAAS-Inhibitoren, der Ärzt\*innen dazu veranlasst, eine niedrigere maximale Kaliumkonzentration anzustreben, ist die hohe Gefahr, die bei einer Hyperkaliämie droht. Bei besserem Monitoring der Patient\*innen könnte diese Grenze aber bei gleichem Risiko für die Patient\*innen höhere RAAS-inhibierende Medikationen ermöglichen und so die Mortalität und Morbidität der Betroffenen positiv beeinflussen. Aktuell kann Kalium aber nur invasiv und in einem entsprechenden Labor bestimmt werden. Außerdem sind viele Messpunkte aufgrund von hämolytischen Proben nicht verwendbar. Eine nichtinvasive, zuverlässige Diagnostik würde hier neue Möglichkeiten schaffen.

#### **1.2.4 Kaliumhaushalt bei Dialyse**

Eine Dialysebehandlung stellt ein extrakorporales Verfahren zur Reinigung des Blutes von Substanzen dar, die bei intakter Nierenfunktion von der Niere ausgeschieden werden, sogenannten urämischen Toxinen. Man unterscheidet prinzipiell die Peritonealdialyse von der Hämodialyse. Die Indikation zur Dialyse muss individuell gestellt werden und beinhaltet urämische Symptome, das Vorliegen einer therapieresistenten Hyperkaliämie, eine stark verminderte Flüssigkeitsausscheidung unter Diuretikatherapie und eine therapierefraktäre Azidose (31).

Im Zuge der Hämodialyse wird das Blut mit dem Dialysat über einen Dialysator in Verbindung gebracht, um über Diffusion die Konzentrationen der beiden Kompartimente anzugleichen. Bei Patient\*innen mit terminaler Niereninsuffizienz, die eine Dialyse benötigen, steigt das Kalium aufgrund fehlender Exkretionsmöglichkeiten kontinuierlich an und muss mittels eines Dialysats mit niedriger Kaliumkonzentration von diesem gereinigt

werden. Die Konzentration von Kalium im Dialysat kann zwischen 0 und 4 mmol/L variiert werden, liegt aber meist mindestens bei 2 oder 3 mmol/L (32).

Normalerweise wird die Dialyse drei Mal pro Woche durchgeführt und benötigt in etwa 4 Stunden. Die Elimination von Kalium geschieht zum Großteil zu Beginn der Dialyse und nimmt gegen Ende hin ab. Währenddessen kommt es zu Elektrolytverschiebungen zwischen Intra- und Extrazellulärraum, da vor allem das Kalium primär intrazellulär gespeichert ist (33).

Zwischen den Dialysebehandlungen kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg des Kaliums, da dieses über die Nahrung weiter aufgenommen, aber über die Nieren nicht oder nur eingeschränkt ausgeschieden wird (33).

### **1.3 Methodisches zur Messung von Kalium**

#### **1.3.1 Präanalytik**

Kalium im Serum gehört in den USA zu den zehn am häufigsten untersuchten Parametern, ist aber leider in einer Vielzahl der Fälle nicht aussagekräftig, da es meist bereits bei der Präanalytik zu Fehlern kommt. Während die analytische Phase im Labor nur in 4 - 32 % für fehlerhafte Ergebnisse verantwortlich ist und die postanalytische Phase für 9 - 55 %, so ist die Präanalytik im Fall von Kalium in 32 - 75 % Quelle fehlerhafter Messungen (34).

Da Kaliumentgleisungen jedoch schnell und zuverlässig erkannt werden sollten, um lebensbedrohliche Herzrhythmusstörungen verhindern zu können, ist es besonders wichtig, hier Fehler zu kennen und diese zu meiden (34).

Bereits bei der Blutabnahme führt unverhältnismäßig langes Stauen der Venen zu einem Rückstau des Blutes in diesen mit Austritt von Flüssigkeit nach extravasal. Die entstehende Hämokonzentration führt zu einer Lyse von Erythrozyten und Thrombozyten mit Freisetzung von Kalium (34).

Durch das Ballen der Faust bei der Blutabnahme kommt es durch Kaliumfreisetzung aus den Muskelzellen ebenfalls zu verfälschten Kaliumwerten. Wenn der Arm nicht gestaut wird, normalisieren sich diese Effekte aber bereits in kurzer Zeit (34).

Auch die Hautdesinfektion kann zu Problemen führen, wenn nicht gewartet wird, bis die Haut wieder vollständig trocken ist. Restmengen des Alkohols können bei Kontakt zum Blut eine Hämolyse bewirken und setzen so ihr intrazelluläres Kalium frei (34).

Für die meisten laborchemischen Untersuchungen wird eine frische Punktion einer Vene bevorzugt. Wird stattdessen ein bereits vorhandener peripherer Venenzugang genutzt, so ist

das Risiko einer Hämolyse um das Dreifache erhöht. Grund dafür sind stark wechselnde Drücke entlang des Blutflusses, die durch variierende Durchmesser entlang des Blutabnahmesystems zustande kommen. Diese können durch den Einsatz von Probenröhrchen ohne Vakuum und manuellem Unterdruckaufbau mittels einer Spritze minimiert werden (34).

Der Transportweg der Probe in ein Labor stellt nach erfolgreicher Probengewinnung den nächsten Schritt dar. Hier muss im Fall von Kalium schnell gehandelt werden, denn bereits zwei Stunden nach Gewinnung kommt es zu Kaliumerhöhungen im Plasma (34).

Mechanische Erschütterungen im Zuge des Transports oder bei der Zentrifugation stellen ebenfalls ein Risiko dar und sollten so weit wie möglich reduziert werden. Bei der Zentrifugation gilt es die Herstellerangaben in Bezug auf Geschwindigkeit, Temperatur und Zentrifugationswinkel zu beachten. Auch darf jede Probe nur einmal und keinesfalls öfter zentrifugiert werden (34).

### **1.3.2 Ionen-Selektive Elektrode - ISE**

Ionen-selektive Elektroden (ISE) sind seit langem als Goldstandard in der Laborchemie etabliert. Die wahrscheinlich bekanntesten Anwendungsbeispiele sind pH-Meter und laborchemische Analysen hinsichtlich spezifischer Ionen (35).

Im Laufe der Jahre wurde die Technologie stets weiterentwickelt. So wurden beispielsweise die minimalen Schwellwerte und auch die Beeinflussung durch andere Ionen drastisch verbessert. Folglich können heute automatisierte Quantifizierungen von pH-Wert, Natrium, Kalium, Kalzium, Chlor und auch anderen Stoffen wie Heparin mit hoher Präzision durchgeführt werden (35).

#### **1.3.2.1 Prinzip**

Die Basis einer ISE bildet eine Membran aus Polymer oder eine flüssig-membran Elektrode. Im Inneren findet sich eine Lösung mit dem primären Ion und eine Referenzelektrode. Die Referenzelektrode besteht meist aus Ag/AgCl und zeichnet sich durch ein bekanntes, stabiles elektrochemisches Potential aus. Essenziell für die Messung ist, dass das Potential der Indikatorelektrode äquivalent zur Konzentration des zu bestimmenden Ions steigt. Aus dem Gradienten der elektromotorischen Kraft, welche über einen hochohmigen Widerstand, über den es zu praktisch keinem Stromfluss kommt, abgelesen wird, kann so eine Eichkurve erstellt und im Weiteren unbekannte Werte berechnet werden (35).

In der Laborchemie gebräuchliche Elektroden haben Durchmesser von circa 0,1 - 1 mm und können aus 100  $\mu$ L Blut, Serum oder Plasma zehn Parameter parallel bestimmen (35).

### **1.3.3 Genetically Encoded Potassium Ion Indicator (GEPII)**

#### **1.3.3.1 Prinzip**

GEPII steht für „Genetically Encoded Potassium Ion Indicator“ und stellt eine alternative Messmethode dar, mit der die Konzentration von Kalium in Lösungen bestimmt werden kann (36).

Grundlage der Messung ist ein Förster Resonance Energy Transfer (FRET)-Komplex, welcher für die Quantifizierung verschiedenster Metallionen und kleiner Moleküle eingesetzt werden kann. Die erste erfolgreiche Anwendung von FRET-basierten Indikatoren wurde 1997 von Miyawaki et al. dokumentiert und zur Bestimmung der Konzentration von Kalzium genutzt (36).

Alle Sensoren verfügen über Fluoreszenzproteine und eine spezifische Bindungsstelle für den jeweiligen Analyt. Durch die Bindung wird eine Konformationsänderung induziert, welche zu einem veränderten Absorptionsspektrum führt. Dieser Prozess ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt. Auf der linken Seite ist der Komplex in Abwesenheit von Kalium abgebildet, auf der rechten wird Kalium gebunden und die Konformation des Komplexes ändert sich. In den Abbildungen darunter ist das Absorptionsspektrum der entsprechenden Varianten sichtbar (36).

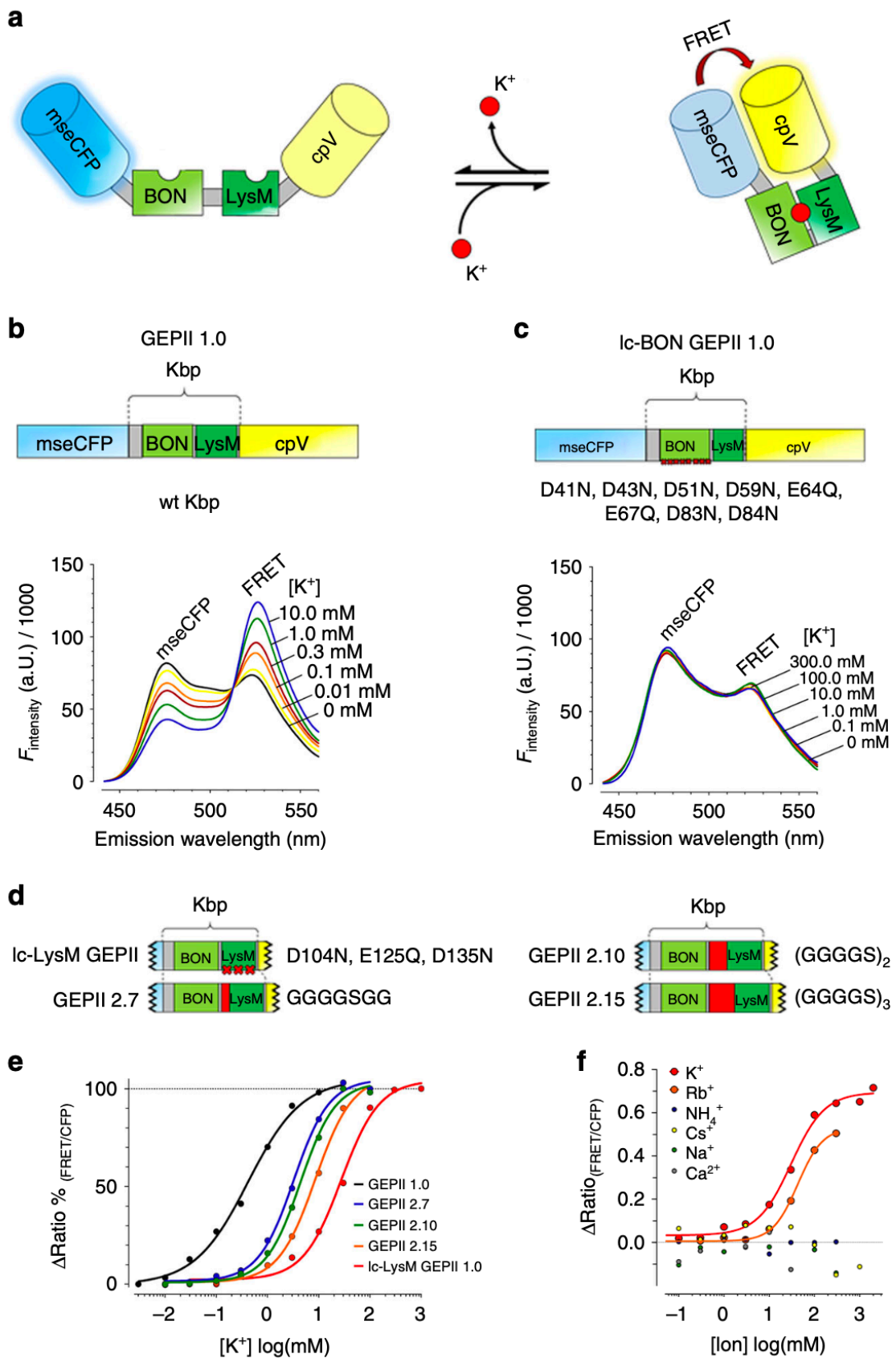


Abbildung 1: (A) Konformationsänderung bei K-Bindung an BON und LysM (B & C) Emmissionsspektrum in Abhängigkeit der Kalium-Konzentration (E) FRET/CFP-Verhältnis in Relation zur Kalium-Konzentration (I)

Das Schlüsselprotein, welches im Fall der GEPII freies Kalium bindet, ist das K<sup>+</sup> binding protein (Kbp). Dieses wurde in *E. coli* Bakterien gefunden und stabilisiert dort die intrazelluläre Kaliumkonzentration. Kbp ist hochspezifisch für Kalium und wird von Ionen wie Natrium oder anderen Metallionen weitestgehend nicht beeinflusst. So wie jedoch Kaliumtransporter oft Rb<sup>+</sup> und Cs<sup>+</sup> nicht von K<sup>+</sup> trennen können, bindet Kbp diese Ionen ebenfalls. Dies ist in Abbildung 1, Diagramm F dargestellt (37).

Beim FRET-Komplex wird die zur Anregung des Komplexes nötige Energie von einem fluoreszierenden Spender auf das benachbarte Empfänger-Fluoreszenz-Protein übertragen. FRET-Komplexe sind besonders sensitiv bezüglich der Distanz zwischen Spender und Empfänger und reagieren hier in 1 - 10 nm Bereichen. Diese hohe Sensitivität bildet die Grundlage, auf der danach Ionen-Konzentrationen, Protein-Interaktionen und Enzymaktivitäten dargestellt werden können (38).

Im Fall der GEPII liegen Fluoreszenzproteine in Cyan und Gelb vor, welche mit mseCFP (monomeric super enhanced CFP) und cpV (circularly permuted Venus) bezeichnet werden. Diese sind an den entgegengesetzten Enden des Proteins Kbp angehängt. Wenn Kalium am Kbp-Protein bindet, erhöht sich die FRET-Effizienz und verringert sich die Cyan-Emission (36).

Ein Kbp-Protein kann jeweils ein Kalium-Ion binden. Im Zuge der Bindung kommt es im Kbp zu einer starken Konformationsänderung des Proteins, welche auch ein verändertes Absorptionsspektrum zur Folge hat (37).

### **1.3.3.2 Verfahren**

Die Messung mittels ISE basiert auf einem Sensor, der die Konzentration der Lösung bestimmt, ohne selbst verbraucht zu werden. Hier ist lediglich die Reinigung der Elektrode notwendig. Da GEPIIs als Verbrauchsmaterial zu verstehen sind, sollen in diesem Abschnitt kurz die wesentlichen Herstellungsschritte beleuchtet werden. Die genaue Schritt-für-Schritt-Anleitung (Purification and Application of Genetically Encoded Potassium Ion Indicators for Quantification of Potassium Ion Concentrations within Biological Samples) dient dem folgenden Abschnitt als Quelle (36).

Im ersten Schritt werden *E. coli* Bakterien mit dem Plasmid, dessen DNA für GEPII codiert, vermischt. Nach der Inkubation wird die Proteinexpression angeregt und abschließend eine Lyse der Bakterien induziert. Abschließend kommt es zur Aufreinigung des Produkts und schließlich zur Prüfung der Funktionsfähigkeit mittels Fluoreszenz.

Für die Photometrie wird eine Eichkurve mit einem Null-Wert und einer Messreihe mit ansteigender Kaliumkonzentration verwendet. Der Null-Wert wird anschließend bei allen Messungen subtrahiert. Die Eichkurve wird zur Bestimmung der unbekanntenen Proben herangezogen.

Entscheidend ist hierbei das FRET-Verhältnis. Dieses beschreibt die Fluoreszenz des FRET-Komplexes (525 nm) im Verhältnis zur CFP-Fluoreszenz (475 nm).

Um die Validität und Reproduzierbarkeit der GEPII-Messungen weiter zu untersuchen, wurde der Effekt von Wärme auf die Messung experimentell ermittelt. Hier ist eine signifikante Änderung des FRET-Signals zu beobachten, die sich jedoch stets wieder normalisiert, sobald die Probe auf 25 Grad Celsius temperiert wird (1).

Der pH-Wert der Probe hat im Bereich von 7,0 - 9,0 einen geringen Effekt auf die Quantifizierung von Kalium und ist somit bei der klinischen Diagnostik vernachlässigbar. Die Ionen-Selektivität der GEPII wurde separat für Natrium-, Kalzium-, Cäsium-, Rubidium- und Ammonium-Ionen ermittelt. Während Natrium und Cäsium wenig verfälschend wirken, können die anderen Ionen, wenn sie in hoher Konzentration vorliegen, die Messung eventuell beeinflussen. Der Zusammenhang wird aufgrund der ähnlichen atomaren Durchmesser vermutet. Generell kann aber eine sehr hohe Ionen-Selektivität festgestellt werden (1).

### **1.3.3.3 Klinische Nutzbarkeit**

Um im klinischen Alltag Anwendung finden zu können, ist neben der Präzision und Spezifität der jeweiligen Messmethode auch die Automation ein wichtiger Faktor. In medizinischen Laboren werden täglich Unmengen an Proben analysiert. Die entsprechenden Prozesse müssen daher, um gegen den Goldstandard bestehen zu können, voll automatisierbar sein.

Vor allem die korrekte Verdünnung, die Zugabe der GEPII und die Fluorometrie müssen weitestgehend selbstständig ablaufen. Auch die Analysedauer pro Probe ist bei derartigen vielen Messungen relevant. Für die Quantifizierung von Kalium in Urin und Plasma wurden die Ergebnisse bereits mit den Ergebnissen der ISE validiert und weisen eine hohe Korrelation auf (1).

Die Stabilität der GEPII in Lösung ist ebenfalls gegeben. Ob die Probe nach der Zugabe von GEPII sofort oder erst mit vier Stunden Verzögerung analysiert wird, hat keinen relevanten Einfluss auf das Gesamtergebnis (1).

Auch wenn der Herstellungsprozess im klinischen Alltag weniger wesentlich ist, da die benötigten Komponenten meist fertig vorhanden sind, soll hier der zeitliche Aspekt der Herstellung kurz erläutert werden.

Die Vorbereitung der *E. coli*, die Inkubation, die Proteinexpression und Reinigung nimmt in etwa 29 Stunden in Anspruch, wobei die Inkubation über Nacht 12 Stunden ausmacht. Das anschließende Kalibrieren und die Probenvorbereitung benötigen zusätzliche 2 Stunden (36).

## **2 Methoden**

### **2.1 Studie**

Um gefährliche Entgleisungen des Kaliumhaushaltes in Zukunft schneller und vor allem nichtinvasiv und damit niederschwellig diagnostizieren zu können, wurde von der Grazer Firma Next Generation Fluorescence Imaging Ing. (NGFI) der GEPII (Genetically Encoded Potassium Ion Indicator) entwickelt.

Ob diese Messmethode und ob Speichel als Probe für zukünftige Diagnostik der bewährten ionenselektiven Elektrode Konkurrenz machen können, soll im Zuge der Clinical Potassium Pilot Study erprobt und evaluiert werden.

#### **2.1.1 Ziel**

Bisher wurde die Konzentration von Kalium mittels ionen-selektiven Elektroden (ISE) gemessen. Im Rahmen der Studie wurde hierfür der Messwert aus Plasma herangezogen.

Ein Ziel der Studie war es, die Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Kaliummessung im Speichel mittels GEPIIs (Genetically Encoded Potassium Ion Indicators) zu ermitteln.

Da die Konzentrationen von Kalium in Speichel und Plasma physiologisch unterschiedlich hoch sind, soll außerdem untersucht werden, ob eine Umrechnung möglich ist. Sollte dies nicht funktionieren, stellt sich die Frage, ob eine individuelle Umrechnung durch frühere Referenzwerte möglich ist. Wenn auch das nicht funktioniert, soll evaluiert werden, ob eine schwere Hyper- oder Hypokaliämie erkannt werden kann.

Die Dynamik, mit der sich eine Kaliumänderung im Blut auf andere Körperflüssigkeiten auswirkt, wird ebenfalls untersucht. Und zum Schluss wird noch die Einfachheit, Handhabbarkeit und das Fehlerrisiko der Messmethode erörtert.

#### **2.1.2 Patientenauswahl**

Um die Studie für die Teilnehmer\*innen möglichst ohne Mehraufwand zu gestalten und mit dem Ziel, pro Patient\*in mehrere Messwerte bei gleichzeitig veränderter Kaliumkonzentration im Blut zu gewinnen, ist die Wahl auf Patient\*innen gefallen, die auf eine Hämodialyse angewiesen sind. Diese kommen mehrmals wöchentlich in das Krankenhaus und erleben im Zuge der Hämodialyse (HD) eine rapide Senkung des Gesamtkörperkaliums. Zudem war keine zusätzliche Blutabnahme nötig, da alle relevanten Parameter routinemäßig erhoben werden.

Um die Validität der Ergebnisse möglichst nicht zu beeinflussen, wurden lediglich zwei Ausschlusskriterien definiert. Dabei handelte es sich um intraventrikuläre Reizleitungsstörungen und aktive Entzündungen oder Infektionen im Mund-Rachen-Raum bzw. der Zähne. Die Reizleitungsstörungen waren deshalb ein Ausschlussgrund, weil zeitgleich eine EKG-Messung im Zuge der Studie durchgeführt wurde, die ansonsten nicht verwertbar gewesen wäre. Patient\*innen mit Entzündungen im Bereich der Speicheldrüsen waren ausgeschlossen, weil es hier unter Umständen zu einer veränderten Speichelzusammensetzung kommen kann.

Eingeschlossen waren somit alle Patient\*innen zwischen 18 und 90 Jahren, welche aufgrund eines Nierenversagens auf eine Hämodialyse angewiesen waren. Die Proband\*innen mussten gewillt sein, an der Studie teilzunehmen und sich damit einverstanden erklären, während der Dialyse nichts zu essen und nur Wasser zu trinken.

## **2.2 Ablauf für Patient\*innen**

Patient\*innen, die sich dazu bereit erklärten, an der CPPS teilzunehmen, wurden im Zuge einer Dialysebehandlung auf ihre Eignung geprüft. Die medikamentöse Therapie bei Dialysepatient\*innen ist oft sehr umfangreich, weshalb eine genaue Anamnese erhoben wurde, um eventuelle Beeinflussungen auf die Messung aufdecken zu können.

In Tabelle 1 wurden folgende Grunddaten erhoben:

*Tabelle 1: Erhobene Grunddaten*

<b>Parameter</b>	<b>Wert</b>
<b>Alter</b>	Jahre
<b>Geschlecht</b>	M/W
<b>Raucher</b>	Ja/Ehemalig/Nein
<b>Dialyse-Zugang</b>	Shunt, zentraler Zugang
<b>Dialyse-Art</b>	HD/HDF
<b>Begleiterkrankungen</b>	
<b>aktuelle Medikation</b>	

Insgesamt umfasste die Studie vier Dialysebehandlungen, im Zuge derer studienrelevante Daten erhoben wurden. Die erste Einheit diente, wie oben beschrieben, der Evaluierung der Tauglichkeit und der Erhebung der Grunddaten zur Person.

Im Rahmen der folgenden drei Dialysebehandlungen wurden die Proben zur laborchemischen Auswertung gesammelt.

Auch ein EKG wurde während der Behandlung geschrieben. Dieses hatte aber keine Relevanz für die Kalium-Messung.

Klar festzuhalten ist, dass alle Dialysebehandlungen, die die Patient\*innen für die Studie absolvierten, unabhängig von der Studie ebenfalls stattgefunden hätten. Die Teilnahme an der Studie führte zu keinen Änderungen am regulären Ablauf ihrer Dialyse. Es kam auch zu keinen zusätzlichen Blutabnahmen oder anderen invasiven Tätigkeiten.

Die Proband\*innen gaben nur jeweils zwei Speichelproben pro Sitzung ab und erklärten sich damit einverstanden, während der Dialyse nichts zu essen und ausschließlich Wasser zu trinken.

### **2.3 Erhobene Daten**

Alle Daten wurden im Rahmen von vier Aufenthalten, im weiteren Verlauf als Visits (V1 - 4) bezeichnet, jeweils vor (Zeitpunkt T1) und nach (Zeitpunkt T2) der Dialyse erhoben. Visit 1 umfasste die Evaluierung der Tauglichkeit sowie die Erhebung der Anamnese und wurde bereits erläutert.

Zur Auswertung der Daten wurde eine SPSS-Datei angelegt, in der bei allen Patient\*innen die in Tabelle 2 ersichtlichen Parameter systematisch erfasst wurden:

Tabelle 2: Erhobene Parameter

<b>Erhobene Parameter</b>
<b>Patienten-ID</b>
In der Datei werden keine Klarnamen verwendet, um dem Datenschutz der Proband*innen gerecht zu werden.
<b>Visit 1</b>
Datum des ersten Kontaktes, bei dem die Teilnehmer*innen über das Prozedere aufgeklärt werden und ihre Zustimmung geben.
<b>Geburtsdatum</b>
Datum
<b>Geschlecht</b>
M oder W
<b>Rauchen</b>
Es werden Nichtraucher*innen, ehemalige Raucher*innen und aktive Raucher*innen unterschieden.
<b>Behandlungsart</b>
Hämodialyse (HD) oder Hämodialysefiltration (HDF)
<b>Dialyse-Beginn</b>
Datum der ersten Dialyse
<b>Dialyse-Zugang</b>
Shunt oder zentralvenöser Zugang
<b>Art des Nierenversagens</b>
Chronisches Nierenversagen (CKD) oder akutes Nierenversagen (AKD)
<b>Diabetes mellitus</b>
ja oder nein
<b>Arterielle Hypertonie</b>
ja oder nein
<b>Herzinsuffizienz</b>
ja oder nein
<b>Renale Grunderkrankung</b>
hypertensive Nephropathie diabetische Nephropathie Glomerulonephritis (GN) autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung (ADPKD) andere
<b>Insulin-Therapie</b>
ja oder nein
<b>Medikamentöse Diabetes-mellitus-Therapie</b>
ja oder nein (exkl. Insulin, da dieses separat erhoben wird)
<b>Digitalis-Therapie</b>
ja oder nein
<b>Mineralokortikoid-Rezeptor-Antagonist-(MRA)-Therapie</b>
ja oder nein

## **Erhobene Parameter**

### **Erythropoese-Stimulierende-Wirkstoffe-(ESA)-Therapie**

ja oder nein

### **Schleifendiuretika-Therapie**

ja oder nein

### **$\beta$ -Blocker-Therapie**

ja oder nein

### **ACE-Antagonisten / AT-1-Rezeptor-Antagonisten**

ja oder nein

### **Kalium-Binder (Resonium, Veltassa)**

ja oder nein

### **Kalzium-Antagonisten-Therapie**

ja oder nein

**Die nachfolgenden Werte wurden bei Visit 2 - 4 erhoben.**

**Der Zeitpunkt vor der Dialyse entspricht T1, der Zeitpunkt nach der Dialyse T2.**

## **Visit 2 - 4**

Visit 2 - 4: Datum

Kalium im Speichel: T1 und T2

Kalium im Plasma: T1 und T2

Kalium mittels point of care (POC)-Messung: T1 und T2; Wird als Backup erhoben, falls die Probe, welche im Labor analysiert wird, hämolytisch ist.

Kalzium im Plasma: T1 und T2

Dialyse-Dauer: beträgt meist ca. 4 Stunden

Ultrafiltration

Dialysatfluss

Blutfluss

Substituiertes Volumen

Glukose: T1 und T2

Dialyse-Zeitslot: morgens, mittags, abends

## **2.4 Statistische Analyse**

Nach Abschluss der Datensammlung wurde mit Unterstützung des Instituts für Informatik und Statistik der Medizinischen Universität Graz evaluiert, wie gut die Plasma- und Speichel-Kaliumwerte korrelieren und ob bzw. wie sehr diese von zusätzlich erhobenen Parametern beeinflusst werden.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Baseline Charakteristika der Patient\*innen

An der Studie haben 30 Personen teilgenommen. Von diesen waren 21 (70 %) Männer und 9 (30 %) Frauen, was in Anbetracht der generell kleinen Teilnehmer\*innenzahl eine ausreichende Verteilung darstellt.

Beim Rauchverhalten dominiert hier klar die Gruppe der Nicht-Raucher\*innen mit 26 Personen (87 %). Lediglich 3 (10 %) sind ehemalige Raucher\*innen und nur 1 Person (3 %) rauchte zum Zeitpunkt der Datenerhebung.

Die Dialyse-Art, welche zum Einsatz kommt, ist vorwiegend die Hämodialyse (26 Personen, 87 %). Nur 4 Patient\*innen (13 %) werden mittels Hämodiafiltration behandelt.

Der Zugang, über den die Dialyse erfolgt, ist bei 18 Proband\*innen (60 %) ein Shunt und bei den restlichen 12 (40 %) ein zentraler Venenzugang.

Das zugrundeliegende Nierenversagen ist beinahe ausschließlich chronisch (29 Patient\*innen, 97 %). Lediglich eine Person (3 %) musste aufgrund eines akuten Nierenversagens dialysiert werden.

Ein Diabetes mellitus liegt bei 6 Patient\*innen (20 %) vor, eine arterielle Hypertonie bei 21 Proband\*innen (70 %) und eine Herzinsuffizienz bei 4 (13 %).

Beim renalen Schädigungsmuster sind aus allen Hauptgruppen Patient\*innen vertreten. 5 (17 %) leiden an einer autosomal-dominanten polyzystischen Nierenerkrankung (ADPKD), 4 (13 %) an einer diabetischen Nephropathie, 8 (27 %) an einer Glomerulonephritis, 3 (10 %) an einer hypertensiven Nephropathie und 10 (33 %) Patient\*innen fallen in keine dieser Kategorien.

Eine Digitalis-Therapie wird nur von 2 Patient\*innen (6 %) benötigt, eine MRA-Therapie von 1 Person (3 %) und eine ESA-Therapie von 12 (40 %).

Schleifendiuretika sind bei 11 Proband\*innen (37 %) im Einsatz und  $\beta$ -Blocker bei 19 (63 %). ACE-Hemmer oder AT-1-Antagonisten sind bei 9 Teilnehmer\*innen (30 %) vorhanden und Resonium/Veltassa bei 3 (10 %). Kalzium-Antagonisten bekommen beinahe die Hälfte der Proband\*innen, nämlich 16 (53 %).

In Tabelle 3 sind die Patient\*innencharakteristika tabellarisch dargestellt.

Tabelle 3: Patient\*innencharakteristika

Patient*innencharakteristika	Patient*innen	Anteil [%]
<b>1 Geschlecht</b>		
männlich	21	70%
weiblich	9	30%
<b>2 Raucher*innen</b>		
Nicht-Raucher*innen	26	87%
ehemalige Raucher*innen	3	10%
Raucher*innen	1	3%
<b>3 Dialyse-Art</b>		
Hämodialyse (HD)	26	87%
Hämodialysefiltration (HDF)	4	13%
<b>4 Dialyse-Zugang</b>		
Shunt	18	60%
zentraler Venenzugang (ZVK)	12	40%
<b>5 Art des Nierenversagens</b>		
akute Nierenschädigung (AKD)	1	3%
chronisches Nierenversagen (CKD)	29	97%
<b>6 Diabetes mellitus</b>		
ja	6	20%
nein	24	80%
<b>7 Arterielle Hypertonie</b>		
ja	21	70%
nein	9	30%
<b>8 Herzinsuffizienz</b>		
ja	4	13%
nein	26	87%
<b>9 Renale Schädigung</b>		
autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung (ADPKD)	5	17%
diabetische Nephropathie	4	13%
Glomerulonephritis	8	27%
hypertensive Nephropathie	3	10%
sonstige	10	33%

Patient*innencharakteristika	Patient*innen	Anteil [%]
<b>10 Digitalis-Therapie</b>		
ja	2	7%
nein	28	93%
<b>11 MRA-Therapie (Mineralocortikoid-Rezeptor-Antagonist, Aldosteron-Antagonist)</b>		
ja	1	3%
nein	29	97%
<b>12 ESA-Therapie (Erythropese-stimulierende Medikamente)</b>		
ja	12	40%
nein	18	60%
<b>13 Schleifendiuretika</b>		
ja	11	37%
nein	19	63%
<b>14 <math>\beta</math>-Blocker</b>		
ja	19	63%
nein	11	37%
<b>15 ACE-Hemmer / AT-1-Antagonisten</b>		
ja	9	30%
nein	21	70%
<b>16 Resonium / Veltassa</b>		
ja	3	10%
nein	27	90%
<b>17 Kalzium-Antagonisten</b>		
ja	16	53%
nein	14	47%

### 3.2 Präzision der GEPIIs

Durch den Einsatz von GEPIIs erhofft man sich, Kalium in Zukunft nicht nur extrazellulär messen, sondern Vorgänge auch auf subzellulären Ebenen in vivo mittels Fluoreszenzmikroskopie verfolgen zu können. Das Kbp scheint hierfür aufgrund seiner

hohen Spezifität Kalium gegenüber besonders geeignet zu sein. Die Hälfte der effektiven Kaliumkonzentration, die mittels GEPII 1.0 messbar ist, liegt bei 0,42 mM. Das FRET-Verhältnis, das sich über die gesamte messbare Konzentrationsbreite darstellen lässt, beschreibt eine 3,2-fache Verhältnisänderung. Die Möglichkeit, Änderungen der Kaliumkonzentration einem photometrisch differenzierbaren FRET-Quotienten zuordnen zu können, ist damit gegeben (1).

Zusätzlich wurde die Bindungskinetik zwischen Kalium und Kbp untersucht, um Rückschlüsse bezüglich der Reversibilität anstellen zu können. Hierfür wurde der Komplex mittels Agarose fixiert und das umliegende Milieu verändert. Dies hat eine hohe Dynamik gezeigt und schafft damit die Basis, die Kaliumdynamik in Echtzeit betrachten zu können (1).

Erfolgt eine Kühlung der Probe, die bereits mit GEPIIs versetzt wurde, so kommt es zu temperaturspezifischen Änderungen des Absorptionsspektrums, das sich aber bei erneutem Erreichen der Messtemperatur wieder rückbildet. Auch der Einfluss des pH-Wertes wurde untersucht und zeigt zwischen 7,0 und 9,0 keine relevanten Einflüsse auf die Messung. Eine Anwendung bei medizinischen Proben ist somit weitestgehend möglich (1).

Um Auswertungen in größeren Maßstäben durchführen zu können, wie es beispielsweise in Kliniken erforderlich ist, wurde GEPII als Lyophilisat in die Probenröhrchen gegeben und diese erst nach einer Woche verwendet. Das Ergebnis der Auswertung hat keine Qualitätsminderungen ergeben (1).

### **3.2.1 Messungen der Studie**

Die Quantifizierung von Kalium im Speichel wurde unseres Wissens nach noch nicht klinisch validiert und wurde deshalb im Rahmen der Clinical Potassium Pilot Study (CPPS) untersucht (39).

Zum Vergleich der GEPII-Messung mit dem ISE-Standard wurden 20 gefrorene Speichelproben gesunder Proband\*innen, die bereits mittels ISE vermessen worden waren, erneut mittels GEPIIs analysiert. Das Ergebnis, trotz langer Zwischenkühlung der Proben, zeigte eine hohe Präzision der GEPII-Messung (39).

Auch bei Patient\*innen der CPPS, welche aufgrund ihres Nierenversagens im Endstadium auf die Dialyse angewiesen sind, lieferten 180 Speichel- und zugehörige Blutwerte. Diese unterscheiden sich im Wesentlichen in höheren Kaliumkonzentrationen und einer größeren Spannweite gegenüber Proben Gesunder. Auch die hier gewonnenen höheren Kaliumkonzentrationen konnten ausgezeichnet gemessen werden (39).

Die Speichelgewinnung als nicht-invasive Probengewinnung konnte bei den meisten Probanden\*innen zufriedenstellend erledigt werden. Jedoch leiden Dialysepatient\*innen aufgrund der Wasserrestriktionen öfters an Mundtrockenheit, welche das Prozedere teilweise geringfügig verlängert hatte. Diese Komplikation ist bei Gesunden oder bei Patient\*innen, die mit ACE-Hemmer behandelt werden, nicht zu erwarten (39).

Konnte die Probe gesammelt werden, so lieferte die Kaliummessung, unabhängig vom Analyseverfahren, gleiche Werte. Manchmal, wenn nur geringe Mengen sammelbar waren, wurde lediglich die GEPII-Messung durchgeführt, da diese verglichen mit der ISE nur ein Zehntel der Probenmenge benötigt (39).

Leider waren viele Speichelproben der Dialysepatient\*innen verunreinigt und wiesen Verfärbungen auf. Diese circa 16 % der Proben wurden aus der abschließenden Analyse exkludiert und später wieder inkludiert. Erstaunlicherweise änderten sich Gesamtergebnis, Trends und Signifikanz kaum. Folglich kann von einer hohen Toleranz gegenüber Verunreinigungen ausgegangen werden (39).

### ***3.3 Die Kalium-Messung beeinflussende Faktoren***

Im Zuge der Studie wurden 17 häufige Parameter erhoben. Diese sind oben aufgelistet und umfassen Geschlecht, Erkrankungen und Medikationen.

Ergebnis der CPPS ist eine Datenbank von in Summe 2.160 Messwerten und Parametern, welche vom Institut für Statistik der Medizinischen Universität Graz mit der Fragestellung untersucht wurde, ob Einflüsse auf die Kaliumbestimmung in Speichel oder Blut feststellbar sind.

Die Analyse durch Priv. Doz. Mag. Dr. Alexander Avian kommt zu dem Schluss, dass keine relevanten Einflüsse feststellbar sind. Die wenigen signifikanten Ergebnisse liegen im Bereich des Zufälligen. Bei manchen Einflüssen ist die Vergleichsgruppe jedoch zu klein, um eine definitive Aussage treffen zu können.

Dieses Ergebnis lässt annehmen, dass die Konzentrationen von Kalium in Blut und Speichel weitestgehend korrelieren und keinen wesentlichen Einflüssen unterliegen.

### ***3.4 Korrelation von Speichel-Kalium mit Plasma-Kalium***

Für klinische Belange am bedeutendsten ist, welche Informationen aus der Kaliumkonzentration im Speichel abgeleitet werden können und welche Konsequenzen den erhobenen Daten folgen können. Dass die Messung mittels GEPIIs in Hinblick auf

Signifikanz und Spezifität mindestens ebenso gute Ergebnisse erzielt wie die Messung mittels ISE, ist hinreichend validiert.

Da auf den Kaliumgehalt des Bluts rückgeschlossen werden soll, stellt sich nicht nur die Frage, wie gut Kalium in Blut und Speichel korrelieren, sondern auch, wie dynamisch Änderungen des Kaliumhaushalts im Blut den Gehalt an Kalium im Speichel beeinflussen. Die Dialyse eignet sich daher besonders gut, da bei chronischer Nierenerkrankung die renale Kaliumexkretion vermindert ist und folglich der Kaliumgehalt im Blut von Dialyse zu Dialyse steigt. Während der Dialyse, derer sich Patienten meist alle zwei Tage unterziehen, wird die Konzentration des Ions in vier Stunden um circa 1 mmol/L gesenkt. Die Untersuchung der Dynamik bietet sich damit regelrecht an, da bei Patient\*innen pro Dialysetag vor und nach der Dialyse bis zur nächsten Dialyse Werte in Bezug gebracht werden können. Die Kaliumkonzentration in Speichel und Plasma vor sowie nach der Dialyse sind in Abbildung 2 dargestellt.

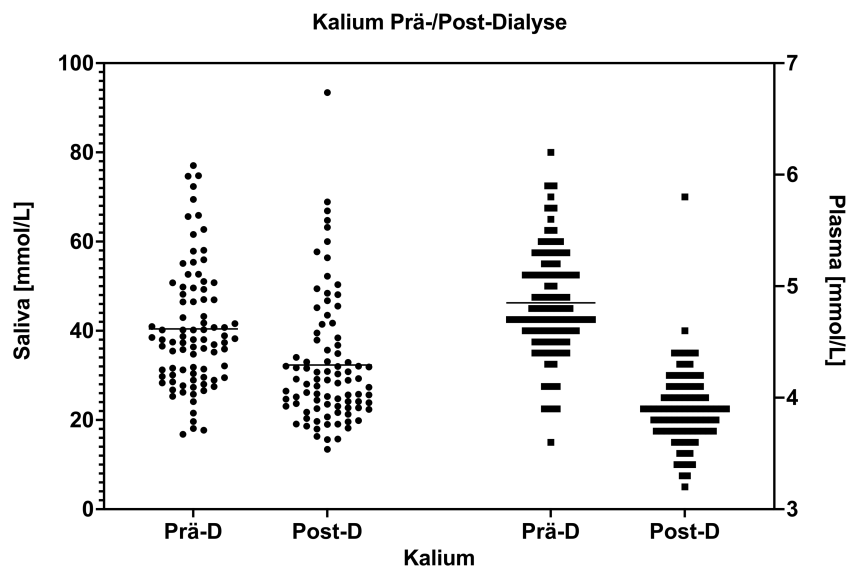
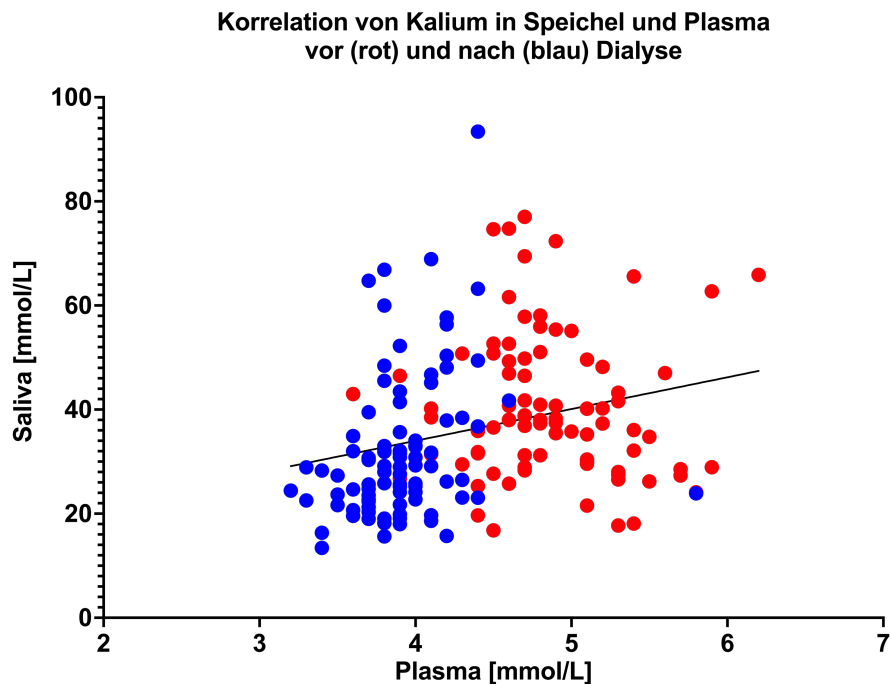


Abbildung 2: Kalium in Speichel und Plasma vor und nach Dialyse

### 3.4.1 Signifikanz

Zuerst stellt sich die Frage, ob der Kaliumgehalt im Blut überhaupt einen signifikanten Einfluss auf den Kaliumgehalt im Speichel hat. Hierfür wurde ein X-Y-Diagramm (Abbildung 3) erstellt, in dem die Konzentrationen von Kalium im Speichel auf der Ordinate und die im Plasma auf der Abszisse aufgetragen wurden. Die Korrelation nach Pearson weist eine starke Signifikanz auf und lässt somit annehmen, dass sich die beiden Konzentrationen gleichsinnig verhalten (39).



*Abbildung 3: Korrelation von Plasma- und Speichel- Kalium vor und nach der Dialyse*

Weiters wurde eine lineare Regression durchgeführt. Die Streuung ist jedoch viel zu groß und das Bestimmtheitsmaß entsprechend niedrig, um von einer Korrelation sprechen zu können.

Da die Kaliumkonzentrationen im Speichel bei Proband\*innen eine große Varianz aufweisen, wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Speichelzusammensetzung eine individuelle Komponente einschließt. Um dieser Vermutung nachzugehen, wurden die Daten für jede Person einzeln ausgewertet.

### **3.4.2 Relative Änderung**

Die relative Änderung oder auch das Verhältnis, in dem sich Kalium in Speichel und Blut ändert, variiert sehr stark zwischen den Proband\*innen. Der Mittelwert von Kalium im Speichel entspricht circa dem Achtfachen des Mittelwertes im Blut und weist außerdem eine hohe Schwankungsbreite auf. Bei manchen Messpaaren beträgt der Faktor lediglich das 5-fache, bei anderen hingegen das 16-fache. In Abbildung 4 wurden die Patient\*innen nach Kalium im Speichel sortiert. Auf der linken Seite finden sich Patient\*innen, deren Speichel-Kalium in Bezug auf das Plasma-Kalium geringer erhöht ist, auf der rechten Seite jene, deren Speichel-Kalium sehr stark erhöht ist. Anzumerken ist hier, dass die individuelle Streuung

ebenfalls sehr hoch ist. Ein direkter linearer Zusammenhang bei einem Patienten ist damit auch nicht gegeben.

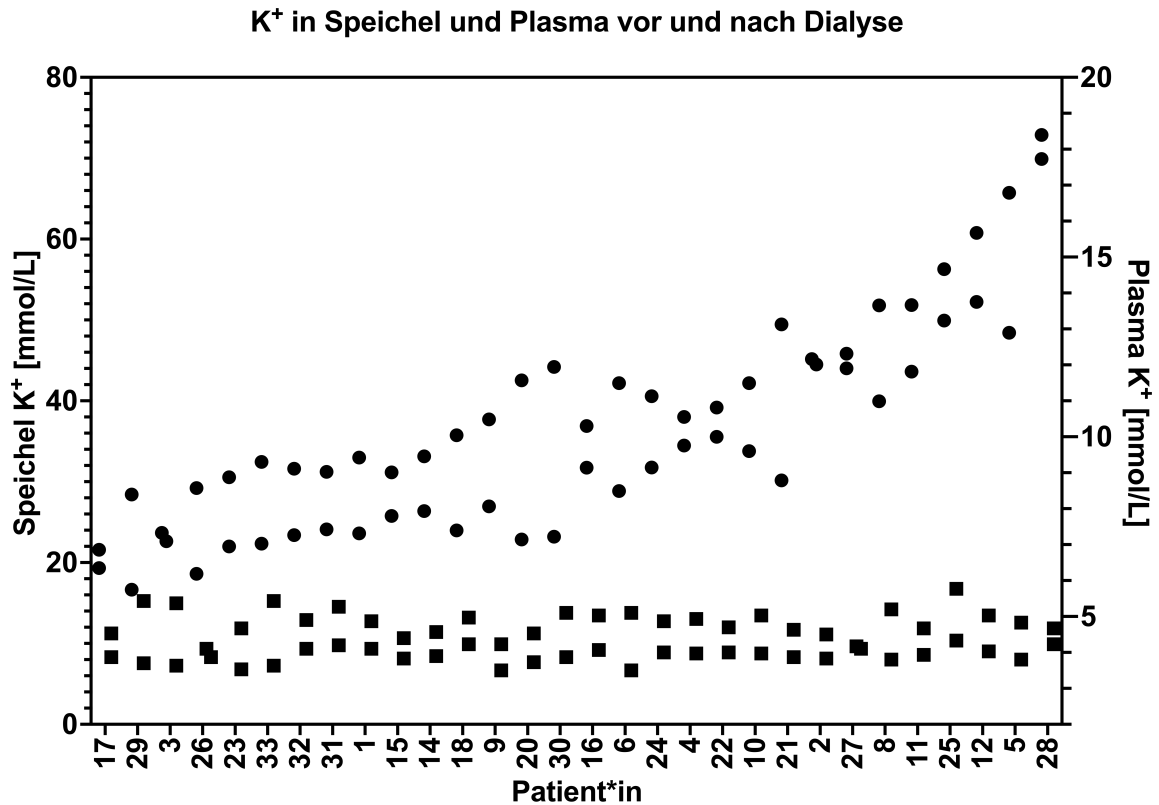


Abbildung 4: Kalium in Speichel (rund) und Plasma (quadratisch) vor und nach Dialyse

Nicht nur die relative Änderung ist sehr individuell, sondern auch der „Offset“. Würde man den Sachverhalt linear ( $y = k \cdot x + d$ ) darstellen, hätten alle Patient\*innen ein eigenes „k“ und ein eigenes „d“.

Die Darstellung der individuellen Kalium-Konzentrationen vor und nach der Dialyse in Abbildung 5 zeigt einmal mehr, wie unterschiedlich die Ausgangswerte vor der Dialyse sind und wie unterschiedlich die Senkung und der resultierende Kaliumgehalt ist. Die Varianz des Ausgangswertes ist nicht weiter verwunderlich, da diätetische Maßnahmen nicht von allen gleich befolgt werden und auch der Schweregrad der Erkrankung teils noch unterschiedlich ist. Die Endwerte nach der Dialyse sollten aber im Plasma in etwa ähnlich sein. Die Varianz zeigt, dass es einen großen individuellen Offset gibt.

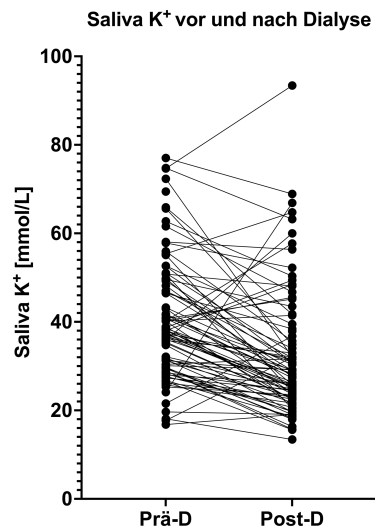
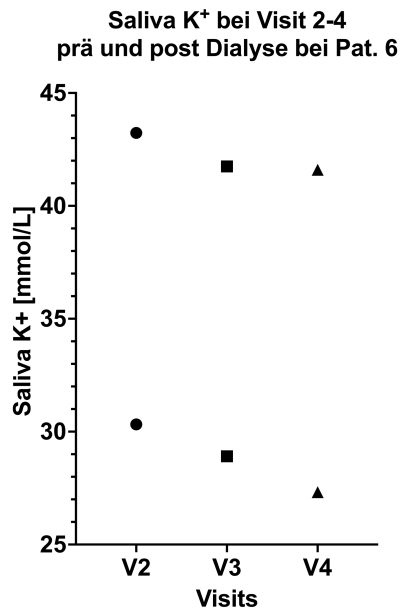


Abbildung 5: individuelle Kalium-Reduktion während Dialyse

### 3.4.3 Reproduzierbarkeit

Wenn man alle Datenpaare eines\*r Patient\*in in einem X-Y-Diagramm darstellt, ist die Streuung nicht zu übersehen. Abbildung 4 zeigt die patientenspezifischen Unterschiede auf. Die Bildung der Mittelwerte für alle Teilnehmer\*innen vor und nach der Dialyse, bei der sich der oben gezeigte Trend gut feststellen lässt, ist statistisch nicht zulässig und zeigt zwar, dass ein Zusammenhang vorliegt und bei manchen Patient\*innen tendenziell höhere Kaliumwerte im Speichel zu finden sind als bei anderen. Eine Schlussfolgerung lässt diese Darstellung aber nicht zu.

Bei einer patientenspezifischen Analyse der Werte (Abbildung 6 für Proband\*in Nr. 6) wurde die Kaliumkonzentration im Speichel bei Visit 2 bis 4 je vor und nach der Dialyse dargestellt. Hier ist ein sehr konstanter Ausgangs- und Zielwert zu erkennen. Auch die Reduktion des Kaliums im Speichel ist annähernd konstant.



*Abbildung 6: Kaliumwerte in Plasma & Speichel zu T1 und T2 für einzelne\*n Patient\*in*

## **4 Diskussion**

### **4.1 Vergleich**

Beide Messmethoden haben Vor- und Nachteile. Abschließend lassen sich jedoch folgende Punkte festhalten, die gerade im klinischen Alltag besonders relevant sind.

Die Korrelation der beiden untersuchten Messmethoden ist sehr gut. Als zu analysierendes Medium wurde bisher Plasma, Urin und jetzt auch Speichel validiert. Die Messung ist Einflüssen wie Farbe, pH-Wert und Temperatur gegenüber robust und somit für Analysen in biologischen Proben verwendbar (39).

Ein wesentlicher Unterschied ist das benötigte Probenvolumen. Bei GEPIIs wird nur etwa ein Zehntel der Menge benötigt, um valide Messungen durchführen zu können. Besonders bei Experimenten mit Tieren, die über ein geringeres Gesamtblutvolumen verfügen, ist dies ein essenzieller Vorteil, um beispielsweise mehrere Messungen am gleichen Tier durchführen zu können (39).

Der zeitliche Faktor liegt etwas zugunsten der ISE. Für die Messung mittels GEPIIs wird circa 1 Stunde benötigt. Bei weiterer Entwicklung und besserer Automatisierung ist hier aber noch Potential für schnellere Analysen vorhanden (36).

Ein unbestrittener Vorteil der ISE ist, dass sie nur in die Lösung getaucht werden muss. Stellt man sich beispielsweise ein Dialysegerät vor, kann hier der Kaliumgehalt durch Umspülen der Elektrode in Echtzeit bestimmt werden. Bei GEPIIs müsste für die Analyse jeweils Blut aus dem Kreislauf entfernt werden, da ja GEPIIs für die Messung hinzugefügt wird. Eventuell kann eine kontinuierliche automatisierte Entnahme aus derartigen Kreisläufen realisiert werden, ob sie einen Vorteil bietet, ist aber noch zu klären.

### **4.2 Patientenauswahl**

Die Gruppe von 30 Patient\*innen eignet sich gut, um die Korrelation von Kalium in Speichel und Plasma beurteilen zu können. Für aussagekräftigere Vergleiche bezüglich möglicherweise beeinflussender Faktoren müsste aber eine Fortsetzungsstudie mit zum Beispiel MRA-Therapie oder Digitalis-Therapie durchgeführt werden.

Alles in allem deckt die Studiengruppe viele wichtige Medikationen, Grunderkrankungen und Dialyse-Modalitäten gut ab. Bei Parametern, die von 5 oder weniger Personen erfüllt werden, ist es selbstverständlich schwierig, Korrelationen sicher auszuschließen. Ein erster Eindruck und eine Abschätzung, ob es zu außergewöhnlichen Beobachtungen in diesen Gruppen kommt, kann aber vorgenommen werden.

### **4.3 Nutzen bei Patient\*innen mit und ohne Referenzwerten**

Ein klinischer Nutzen bei Patient\*innen, bei denen bisher keine Referenzwerte erhoben werden konnten, beispielsweise Patient\*innen in der Notaufnahme im akuten Setting, ist sehr unwahrscheinlich. Solche Patient\*innen werden höchstwahrscheinlich von der Kaliumbestimmung im Speichel nicht profitieren, da die Absolutwerte zwischen individuellen Patient\*innen zu stark divergieren.

Bei Patient\*innen, bei denen bereits individuelle Ausgangs- und Referenzwerte etabliert wurden, kann es durchaus Möglichkeiten geben, die Messung von Kalium im Speichel zu nutzen. Wenn man von Dialysepatient\*innen absieht, bei denen die Kaliumwerte, durch die Erkrankung verursacht, eine große Spannweite aufweisen, gibt es auch noch jene, mit noch nicht hochgradig eingeschränkter Nierenfunktion, die unter anderem aufgrund von medikamentösen Therapien und dem höheren Risiko für akute GFR-Abnahme dem Risiko einer Hyperkaliämie ausgesetzt sind.

Wie bereits im Abschnitt Dysregulation von Kalium beschrieben, können Diuretika, ACE-Inhibitoren oder andere blutdruckregulierende Medikamente in den Kaliumhaushalt eingreifen und zu gefürchteten Hyperkaliämien führen.

Die Spannweite der Kalium-Konzentrationen bei Patient\*innen, die nicht dialysepflichtig sind, ist wesentlich geringer. Man kann daher in weiteren Studien untersuchen, wie konstant die Speichel-Kalium-Konzentration bei diesen Patient\*innen ist und ob sich hier individuelle Grenzwerte für bestimmte Situationen festlegen lassen.

Wenn Patient\*innen diese Referenzbereiche verlassen, kann beispielsweise die Einnahme kaliumsenkender Medikamente empfohlen, oder, bei weiter Überschreitung, die Vorstellung im Krankenhaus nahegelegt werden.

Bei Patient\*innen, die an Diabetes Mellitus Typ 1 leiden und die daher auf eine Therapie mit Insulin angewiesen sind, konnte eine Studie zeigen, dass die kontinuierliche Messung des Blutzuckers mit einer niedrigeren Rate an Hypoglykämien assoziiert ist. Verglichen mit konventionellen Messungen, die mehrmals am Tag durchgeführt werden, kam es bei der kontinuierlichen Messung zu einer Reduktion der Hypoglykämien von 72 % (40).

Da es essenziell ist, Entgleisungen des Kaliumhaushalts frühzeitig zu erkennen und ehestmöglich zu beheben, ist eine schnelle und präzise Diagnostik erforderlich. Auch die Grenzwerte müssen valide im Zuge größerer Studien erhoben werden.

Was bei der Auswertung der Daten ersichtlich war, war das sehr unterschiedliche Verhältnis von Kalium in Speichel und Blut. Ob manche Patient\*innen, beispielsweise die, bei denen

der Faktor größer ist, durch eine noch größere Änderung des Speichel-Kaliums besser für ein derartiges Monitoring geeignet sind, kann ebenfalls überlegt werden.

#### **4.3.1 Nutzen im klinischen Alltag**

Hier wird die Messung von Kalium im Speichel vermutlich eine kleinere Rolle spielen. Die Analyse von Elektrolyten wie Kalium in anderen Körperflüssigkeiten, wie Plasma oder Urin, kann je nach praktikabler Einbindung in den Alltag Vorteile haben. Wenn automatisierte Systeme mit vorgefertigten Lyophilisaten eingesetzt werden, können so mit kleinen Volumina Messungen erfolgen.

#### **4.3.2 Dialysepflichtige Patient\*innen**

Die Relevanz des Speichel-Kaliums für dialysepflichtige Patient\*innen wird sich vermutlich in Grenzen halten. Zum einen wissen Patient\*innen mit chronischer Nierenerkrankung, wie viel Kalium sie in etwa zuführen dürfen, um gewisse Grenzen nicht zu überschreiten, zum anderen sind sie unabhängig davon alle zwei Tage zur Dialyse im Krankenhaus und bekommen im Zuge dessen auch eine invasive Bestimmung ihres Kaliumspiegels. Auf der anderen Seite stellen unerkannte Hyperkaliämien wahrscheinlich die häufigste Ursache für plötzlichen Herztod, die häufigste Todesursache dieser Patient\*innengruppe, dar. Somit lässt sich durchaus ein Szenario aufzeichnen, bei dem ausgewählte Patient\*innen von der nicht-invasiven selbst durchgeführten Kaliummessung profitieren können. Voraussetzungen dafür sind eine Validierung der Technologie und des beschriebenen Einsatzes.

#### **4.3.3 Weiterführende Fragestellungen**

Dass die Analyse mittels GEPIIs eine hohe Genauigkeit aufweist, konnte erfolgreich demonstriert werden. Es konnte jedoch mithilfe der CPPS keine ausreichende Korrelation der individuellen Speichel-Kalium-Konzentration mit dem begleitenden Risiko ausgemacht werden. An sich ist Speichel dem Plasma in Bezug auf die Kaliummessung überlegen, was die Probengewinnung anbelangt, wobei dieser Vorteil bei nicht dialysepflichtigen Patient\*innen sicher stärker ausgeprägt sein dürfte als in der vorliegenden Arbeit. Bei Patient\*innen, die auf eine Dialyse angewiesen sind, kommt es oft zu Atrophie und Fibrosierung der Speicheldrüsen mit folglich verminderter Speichelproduktion und erschwerter Probengewinnung (41).

Die Bestimmung des Kaliums aus Plasma birgt leider immer die Gefahr von präanalytischen Verfälschungen des tatsächlichen Wertes.

Eine weiterführende Studie, die für einzelne Patient\*innen eine größere Zahl an Messungen sammelt, wäre hier sicher zielführend und könnte weitere Informationen bereitstellen, welche für die Weiterentwicklung der Anwendung dieser Technologie von großer Bedeutung sind. Hierbei könnte man das Ziel verfolgen, individuelle Grenzwerte besser zu definieren und dadurch einen klinischen Nutzen herstellen.

## Literaturverzeichnis

1. Bischof H, Rehberg M, Stryeck S, Artinger K, Eroglu E, Waldeck-Weiermair M, et al. Novel genetically encoded fluorescent probes enable real-time detection of potassium in vitro and in vivo. *Nat Commun.* 2017;8(1):1422.
2. Seliger SL. Hyperkalemia in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 2019;34(Suppl 3):iii12-iii8.
3. Silbernagl S, Despopoulos jr A, Draguhn A. Kaliumhaushalt. In: Silbernagl S, Despopoulos jr A, Draguhn A, editors. *Taschenatlas Physiologie.* 9., vollständig überarbeitete Auflage ed: Georg Thieme Verlag KG; 2018.
4. Aronson PS, Giebisch G. Effects of pH on potassium: new explanations for old observations. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(11):1981-9.
5. Silbernagl S, Despopoulos jr A, Draguhn A. Ruhemembranpotenzial. In: Silbernagl S, Despopoulos jr A, Draguhn A, editors. *Taschenatlas Physiologie.* 9., vollständig überarbeitete Auflage ed: Georg Thieme Verlag KG; 2018.
6. Rosano GMC, Tamargo J, Kjeldsen KP, Lainscak M, Agewall S, Anker SD, et al. Expert consensus document on the management of hyperkalaemia in patients with cardiovascular disease treated with renin angiotensin aldosterone system inhibitors: coordinated by the Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.* 2018;4(3):180-8.
7. Tsvetkov D, Gollasch M. Störungen des Kaliumhaushalts. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin.* 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
8. Tsvetkov D, Gollasch M. Hypokaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin.* 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
9. Tsvetkov D, Gollasch M. Hyperkaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin.* 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
10. Tsvetkov D, Gollasch M. Klinisches Bild. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin.* 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
11. Tsvetkov D, Gollasch M. Umverteilung und Hypokaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin.* 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.

12. Tsvetkov D, Gollasch M. Nicht renaler Kaliumverlust. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
13. Tsvetkov D, Gollasch M. Renaler Kaliumverlust. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
14. Tsvetkov D, Gollasch M. Umverteilung und Hyperkaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
15. Tsvetkov D, Gollasch M. Hypoaldosteronismus und Hyperkaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
16. Tsvetkov D, Gollasch M. Niereninsuffizienz und Hyperkaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
17. Gabriëls G. Ätiologie und Epidemiologie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
18. Gabriëls G. Pathophysiologie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
19. Gabriëls G. Klinische und laborchemische Manifestationen des chronischen Nierenversagens und der Urämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
20. Hein L, Fischer JW. Hemmstoffe des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. In: Hein L, Fischer JW, editors. *Taschenatlas Pharmakologie*. 8., überarbeitete und erweiterte Auflage ed: Georg Thieme Verlag KG; 2019.
21. Hein L, Fischer JW. Kaliumsparende Diuretika. In: Hein L, Fischer JW, editors. *Taschenatlas Pharmakologie*. 8., überarbeitete und erweiterte Auflage ed: Georg Thieme Verlag KG; 2019.
22. Weinberg JM, Appel LJ, Bakris G, Gassman JJ, Greene T, Kendrick CA, et al. Risk of Hyperkalemia in Nondiabetic Patients With Chronic Kidney Disease Receiving Antihypertensive Therapy. *Archives of Internal Medicine*. 2009;169(17):1587-94.
23. Einhorn LM, Zhan M, Hsu VD, Walker LD, Moen MF, Seliger SL, et al. The frequency of hyperkalemia and its significance in chronic kidney disease. *Arch Intern Med*. 2009;169(12):1156-62.

24. Tsvetkov D, Gollasch M. Pseudohyperkaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
25. Trappe H-J, Schuster H-P. Hyperkaliämie. In: Trappe H-J, Schuster H-P, editors. *EKG-Kurs für Isabel*. 7., überarbeitete und erweiterte Auflage ed: Georg Thieme Verlag KG; 2017.
26. Tsvetkov D, Gollasch M. Behandlung: Hypokaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
27. Tsvetkov D, Gollasch M. Behandlung: Hyperkaliämie. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
28. Coutrot M, Dépret F, Legrand M. Tailoring treatment of hyperkalemia. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(Suppl 3):iii62-iii8.
29. Maggioni AP, Anker SD, Dahlström U, Filippatos G, Ponikowski P, Zannad F, et al. Are hospitalized or ambulatory patients with heart failure treated in accordance with European Society of Cardiology guidelines? Evidence from 12,440 patients of the ESC Heart Failure Long-Term Registry. *Eur J Heart Fail*. 2013;15(10):1173-84.
30. Beusekamp JC, Tromp J, van der Wal HH, Anker SD, Cleland JG, Dickstein K, et al. Potassium and the use of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors in heart failure with reduced ejection fraction: data from BIOSTAT-CHF. *Eur J Heart Fail*. 2018;20(5):923-30.
31. Gabriëls G. Behandlungsmöglichkeiten für Patienten mit terminalem Nierenversagen. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
32. Gabriëls G. Hämodialyse. In: Suttorp N, Möckel M, Siegmund B, Dietel M, editors. *Harrisons Innere Medizin*. 20. Auflage ed: ABW Verlag; 2020.
33. Kovesdy CP. Fluctuations in plasma potassium in patients on dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(Suppl 3):iii19-iii25.
34. Stankovic AK, Smith S. Elevated serum potassium values: the role of preanalytic variables. *Am J Clin Pathol*. 2004;121 Suppl:S105-12.
35. Bakker E, Pretsch E. Modern potentiometry. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2007;46(30):5660-8.
36. Bischof H, Burgstaller S, Vujic N, Madl T, Kratky D, Graier WF, et al. Purification and Application of Genetically Encoded Potassium Ion Indicators for Quantification of

Potassium Ion Concentrations within Biological Samples. *Current Protocols in Chemical Biology*. 2019;11(3):e71.

37. Ashraf Khuram U, Josts I, Mosbahi K, Kelly Sharon M, Byron O, Smith Brian O, et al. The Potassium Binding Protein Kbp Is a Cytoplasmic Potassium Sensor. *Structure*. 2016;24(5):741-9.

38. Bajar BT, Wang ES, Zhang S, Lin MZ, Chu J. A Guide to Fluorescent Protein FRET Pairs. *Sensors (Basel)*. 2016;16(9).

39. Graier WF, UP Dr., Malli R, UP Dr. Clinical Potassium Correlation Study. Next Generation Fluorescence Imaging Inc., Graz Austria; 2020.

40. Heinemann L, Freckmann G, Ehrmann D, Faber-Heinemann G, Guerra S, Waldenmaier D, et al. Real-time continuous glucose monitoring in adults with type 1 diabetes and impaired hypoglycaemia awareness or severe hypoglycaemia treated with multiple daily insulin injections (HypoDE): a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2018;391(10128):1367-77.

41. Bossola M. Xerostomia in patients on chronic hemodialysis: An update. *Semin Dial*. 2019;32(5):467-74.