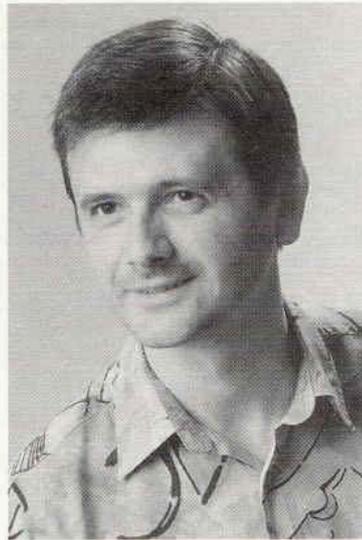


J. Emmert

Forschung Schnelldiagnostika,  
Abt. Analytische Entwicklung,  
Boehringer Mannheim,  
Mannheim



## Laktat-Leistungsdiagnostik (VIII)

# Trockenchemische Laktatmessung praxisgerecht und valide?

*Der aktuell wiederholt reklamierte Diskussionsbedarf hinsichtlich Exaktheit und Verwertbarkeit von Laktatmessungen in der sportmedizinischen Praxis erklärt sich nicht selten aus grundsätzlichen Unterschieden in der Probenvorbereitung und beim verwendeten Probenmaterial. Entsprechend ist Vergleichbarkeit von Laktatwerten nur bei identischem Meßansatz gegeben. Die Entwicklung einer mobilen Laktatmessung mittels Trockenchemie bedeutet sicherlich einen Schritt in die richtige Richtung. Perspektivisch einzufordern ist eine verbindliche Referenzmethode auch für Laktat.*

Die Heranziehung des Stoffwechselparameters Laktat für leistungsdiagnostische Fragestellungen und zur Belastungssteuerung ist heute in der Sportmedizin etabliert und auch weitgehend akzeptiert. Analytisch betrachtet, hat die Laktatdiagnostik jedoch einen fachfremden Ursprung und hat sich erst allmählich den Weg in die Sportmedizin gebahnt.

Erstmals in den 70er Jahren konnten dank der enormen Fortschritte auf dem Gebiet der Enzymforschung Reagenzien-Kits angeboten werden, einer davon auch für Laktat, das Salz der Milchsäure. Laktat ist ein chirales Molekül, entsprechend fanden zwei Reagenzien-Kits Verwendung, einer für D(-) und einer für L(+)-Laktat. Bei der Milchsäure handelt es sich bekanntlich um ein Vergärungsprodukt, sie findet sich beispielsweise in der Sauermilch, in sauren Gurken und auch im Magensaft.

Ausschließlich als L(+)-Milchsäure signalisiert dieser Stoffwechselparameter energetische Notfallbedingungen in der Muskulatur und steigt proportional zu Dauer und Ausmaß der anaeroben Belastung. Um diese biochemischen Zusammenhänge analytisch zu erfassen, mußten entsprechende Änderungen an den Reagenzien-Kits vorgenommen werden. Die ersten Probleme in der analytischen Praxis ließen dann auch nicht lange auf sich warten [1]. Blut reagiert nun einmal nicht als homogene wäßrige Fermentationsflüssigkeit. Vielmehr führt sein physiko-chemischer Aufbau aus zwei Kompartimenten (zelluläre Elemente und Plasma) zu komplizierten Verteilungsvorgängen, die zwangsläufig die Laktatkinetik beeinflussen müssen, was meines Erachtens bei der Laktatinterpretation in der Sportmedizin zu wenig Berücksichtigung findet.

Die vorliegende Arbeit will primär zur besseren Transparenz bei den verschiedenen Einflußgrößen auf die Laktatanalytik beitragen und damit das Interesse für analytische Zusammenhänge steigern. Daneben soll in diesem Kontext die Bedeutung der aktuell verfügbaren mobilen Laktatmessung mittels Trockenchemie herausgearbeitet werden.

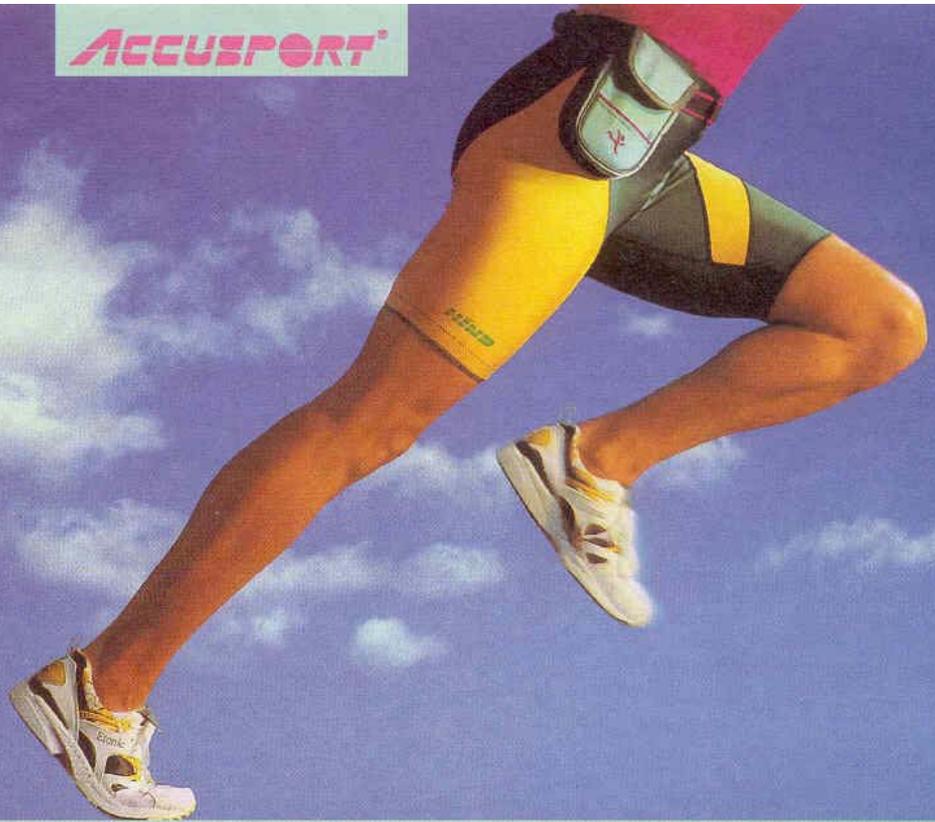
### Apparativ-analytische Laktatmessung basiert auf 3 Reaktionswegen

Die mittlerweile in der Praxis gängigen apparativen Laktatbestimmungsverfahren basieren auf 3 verschiedenen biochemischen Reaktionswegen (Abb. 1). Der entscheidende Reaktionsschritt ist dabei immer die Umsetzung von Laktat zu Pyruvat (Salz der Brenztraubensäure), alternativ durch Dehydrogenierung (Abspaltung von Wasserstoff) mittels LDH oder Oxidation unter katalytischer Einwirkung von LOD. Die nachgeschaltete Zweitreaktion dient dem Abfangen von Nebenprodukten, bildet Farbe oder setzt Elektronen frei, was dann wiederum zum eigentlichen Nachweis benutzt wird (photometrisch oder elektrochemisch). Eine Übersicht über Biochemie und Bestimmungsmethoden von Laktat gibt [2].

Das *Reaktionsschema 1* (Abb. 1) wird von den Reagenzien-Kits von Boehringer Mannheim (Testkombination für die Sportmedizin) und Behring (Testomar) verwendet, die beide enteiweißte Proben einsetzen (s. u.). Photometrisch ausgewertet wird die Zunahme von NADH durch Messung im UV-Licht bei 340 oder 365 nm.

Das *Reaktionsschema 2* (Abb. 1) kann so verwendet werden, daß das im ersten Reaktionsschritt gebildete Wasserstoffperoxid im zweiten Schritt zu einer Farbreaktion führt. Diesen Weg benutzt z. B. der Reagenzien-Kit von Labo, der ebenfalls enteiweißte Proben einsetzt. Auch das Dr.-Lange-Mini-photometer Nr. 8 benutzt diesen Weg, allerdings nach Hämolyse und anschließender Leerwertmessung. Das vollständige Reaktionsschema 2 (enzymatisch-amperometrisch) benutzt das Gerät von Yellowsprings Instruments (YSI 23L, 1500). Hier erfolgt eine Umsetzung des gebildeten Wasserstoffperoxids an einer Platin-Elektrode und eine Messung der freigesetzten Elektronen. Das Probenmaterial ist entweder unbehandeltes Vollblut oder hämolysiertes Blut. Ebenfalls enzymatisch-amperometrisch (nach Hämolyse) arbeitet der Laktatanalysator ESAT 6661 von Eppendorf.

ACCUSPORT®



## Mobile Lactat-Kontrolle Ihrer Ausdauerleistung!

- Erstes Selbstkontroll-Meßsystem im Taschenformat zur Sofortbestimmung von Lactat
- Für die Messung genügt ein Tropfen Kapillarblut aus Fingerbeere oder Ohrfläppchen
- Benutzerfreundliches und bewährtes Teststreifen-Prinzip
- In der Gürteltasche macht Accusport® jede Bewegung mit
- Speicherkapazität für 100 Meßwerte
- Nur 60 Sekunden bis zum exakten Meßergebnis



Innovation aus Deutschland  
für die Welt des Sports

Bestellen Sie jetzt das  
Accusport® Startset: Meßgerät,  
BM Lactate Teststreifen, BM Control-  
Lactate, Softclix® Stechhilfe, Softclix® Lancetten zum Einführungspreis.  
Telefon 0621/8197-208 oder Telefax 0621/8197-209

Accusport®  
Lactat-Kontrolle bringt Bewegung in Bestform

BOEHRINGER  
MANNHEIM

Boehringer Mannheim GmbH  
D-68298 Mannheim  
Hestia Pharma GmbH  
D-68145 Mannheim

HESTIA  
MANNHEIM



## Laktatmessung

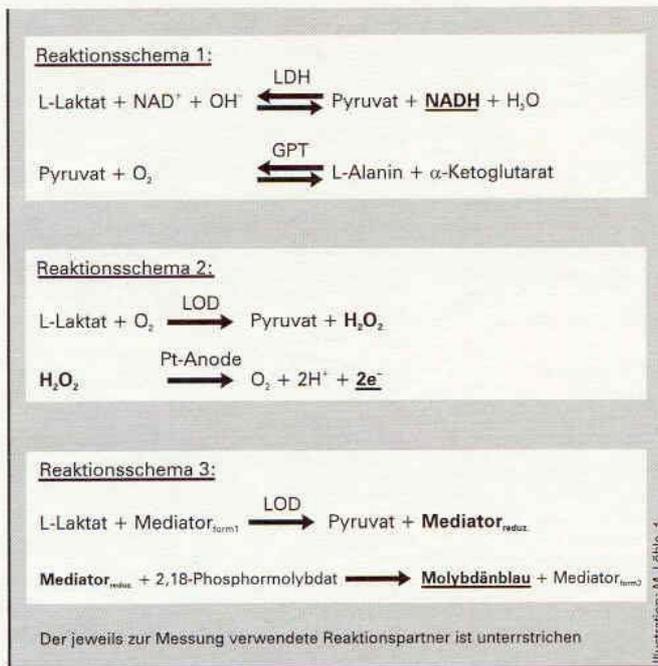


Abbildung 1 Verschiedene Reaktionswege zur analytischen Bestimmung von Laktat

Die trockenchemische Methode für den Kodak DT60 benutzt Reagenzträger (Slides), die auf der Chemie des Reaktionsweges 2 basieren. Entsprechend erfolgt zunächst die Oxidation mit Hilfe der LOD; im zweiten Schritt schließt

sich eine durch POD katalysierte Farb-reaktion zu einem roten Farbstoff an, der quantitativ reflektionsphotometrisch vermessen wird. Diese Reagenzträger benötigen Plasma als Probenmaterial. Beim Accusport® von Boehringer

Mannheim handelt es sich ebenfalls um eine Meßmethodik auf Trockenchemie-Basis, der chemische Reaktionsweg entspricht allerdings dem *Reaktionsschema 3* (Abb. 1), d. h. eine Elektronenübertragung mittels eines sog. Mediators. Im zweiten Schritt kommt es ebenfalls zu einer Farbstoffbildung, hier jedoch eines blauen Farbstoffes, dessen Intensität wiederum reflektometrisch ausgewertet wird. Probenmaterial ist hier unbehandeltes Vollblut (Kapillarblut).

### Analytik darf nur Belastungslaktat erfassen

Die glykolytische Kapazität der Erythrozyten und die enzymatische Aktivität im Plasma würden eine Verfälschung der belastungsabhängigen Laktatkinetik verursachen. Folgerichtig wurde mit der sofortigen Enteiweißung mit Perchlorsäure ein pragmatischer Weg gefunden, die Proben haltbar zu machen, um sie, fern vom Trainingsplatz, erst später bearbeiten zu können. Des weiteren muß die Blutentnahme, speziell bei intensiven Belastungen, sehr

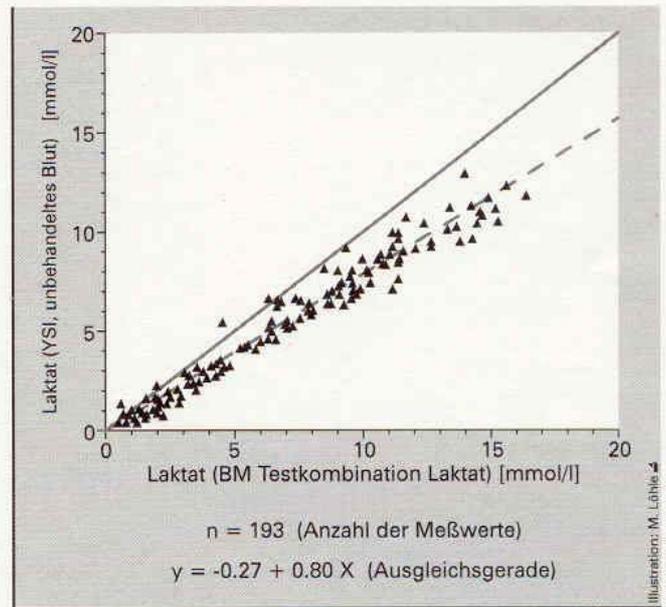


Abbildung 3 Methodenvergleich unbehandeltes Vollblut (Ordinate) gegen enteweißtes Blut (Abszisse): Die Werte im unbehandelten Blut liegen ca. 20% niedriger als bei der Messung im enteweißten Medium

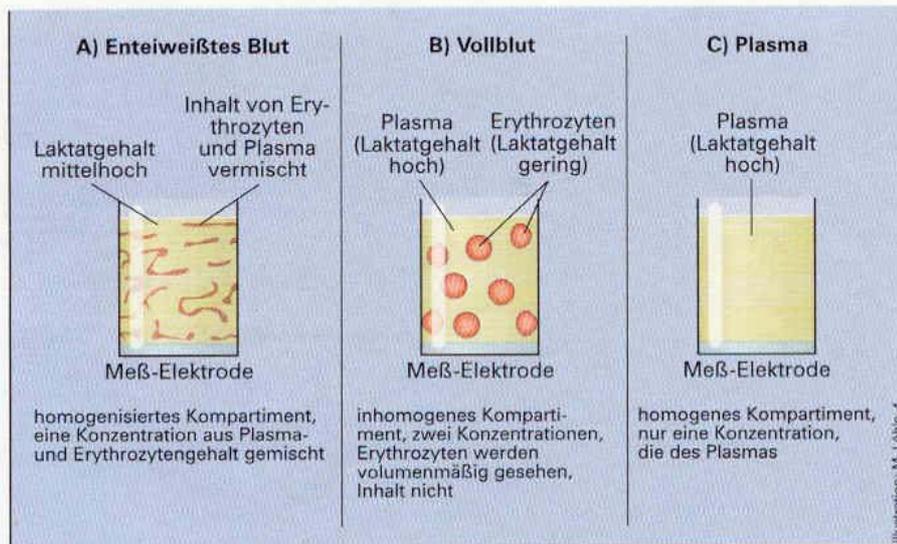


Abbildung 2 Die Wahl des Probenmaterials hat entscheidenden Einfluß auf die Höhe des Laktatwertes

rasch erfolgen, um die schnelle Laktatkinetik korrekt zu erfassen. Beim Vergleich zweier Analysemethoden ist zeitgleiche Blutabnahme unabdingbar. Bewährt hat sich hier die Entnahme von 20 µl Blut aus beiden Ohrläppchen.

Manche Methoden arbeiten nicht mit durch Perchlorsäure enteiweißten Proben. Hier muß entweder sofort gemessen (YSI, Accusport®), oder die Probe hämolysiert werden (Lange, YSI, ESAT). Die Gewinnung von Plasma (Kodak) erfordert weitere Vorsichtsmaßnahmen. Die Glykolyse (s. o.) muß durch Zugabe von Natriumfluorid gestoppt, danach möglichst unter Kühlung sofort zentrifugiert werden. Generell gilt: Die Probenahme und -vorbereitung ist der schwierigste Teil der Laktatanalytik. Hier können schon kleinste Fehler in Zeit (Ablauf) und Volumen (Pipettieren) große Fehler bei den späteren Werten verursachen.

#### Laktatvarianz in Abhängigkeit vom Probenmaterial

Von ganz entscheidendem Einfluß auf die Höhe des gemessenen Laktatwertes ist die Wahl des Probenmaterials. Blut ist, wie bereits ausgeführt, in bezug auf die Laktatverteilung kein homogenes Medium. Das bei Muskularbeit depletierte Laktat gelangt zunächst ins Plasma. Von hier erfolgt Abbau, Ausscheidung und Verteilung, anfangs in erster Linie in die Erythrozyten. Eventuell gibt es hier einen eigenen Transportmechanismus. Unzweifelhaft sind die Laktatwerte intraerythrozytär niedriger und hinken denen im Plasma zudem hinterher [1, 3, 4]. Der Unterschied Plasma zu enteiweißtem Blut (Inhalt von Erythrozyten und Plasma vermischt) beträgt im Mittel ca. 30% (Plasma höher) mit einer gewissen Streubreite.

Den Einfluß dieser Zusammenhänge auf den gemessenen Laktatmeßwert veranschaulicht Abbildung 2: Methoden, die enteiweißen oder hämolysieren, erzielen stets einen Mischwert aus dem niedrigen Erythrozyten- und dem höheren Plasma-Laktatwert. Methoden, die in unbehandeltem Vollblut messen, ermitteln den Plasmawert, jedoch verfälscht um den Volumenfehler der

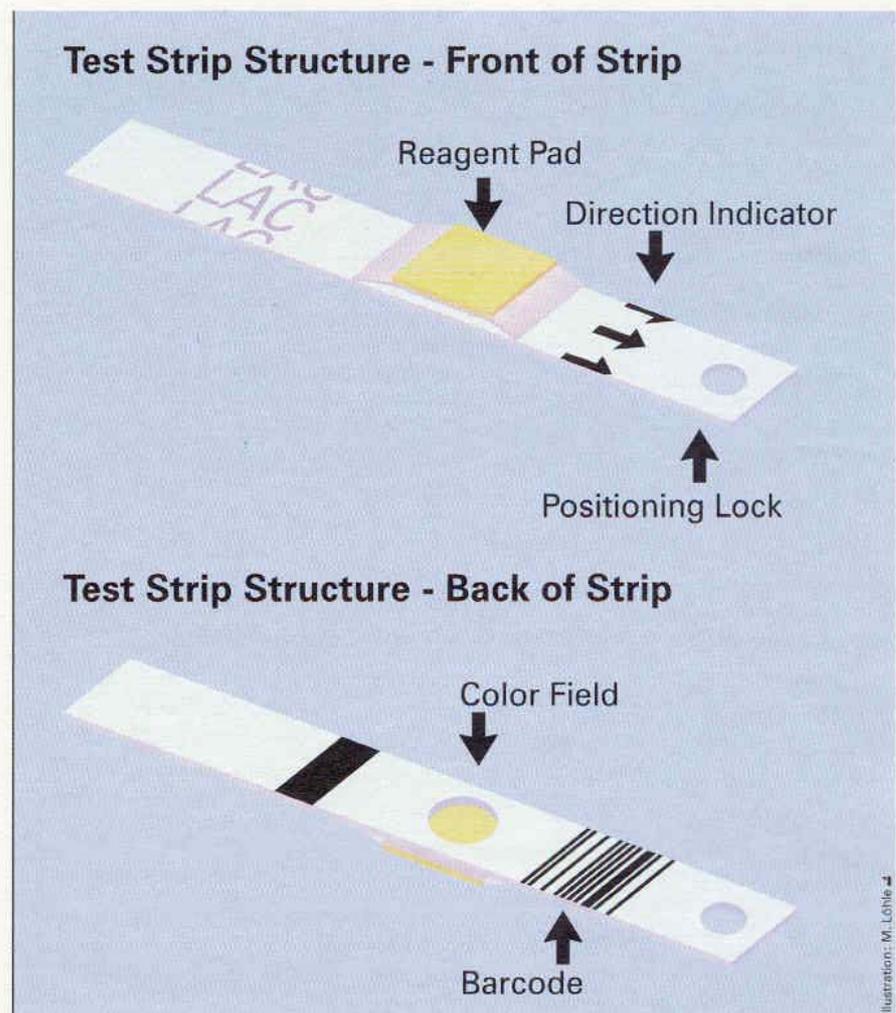


Abbildung 4 Aufbau des Accusport®-Teststreifens (Laktat-Reagenzträger)

Erythrozyten, da diese zwar ein Volumen einnehmen, ihr Inhalt jedoch einer Messung nicht zugänglich ist. Hieraus erklärt sich der methodisch bedingte Meßwert-Unterschied zwischen der YSI-Elektrode, wenn diese in unbehandeltem Vollblut mißt, und den enzymatischen Methoden, die enteiweißte Proben einsetzen (Abb. 3). Die mit 193 Meßwerten berechnete Ausgleichsgerade hat eine Steigung von 0,80, d. h., die Werte im unbehandelten Blut liegen ca. 20% niedriger als mit enteiweißenden Methoden. Wenn jedoch vorher hämolysiert wird, erhält man vergleichbare Ergebnisse. Erfolgt eine Messung in reinem Plasma, dann bekommt man

dessen höheren Wert unverfälscht. Über diese Unterschiede zwischen verschiedenen Laktatmeßmethoden wird auch in [5, 6] berichtet.

#### Laktat-Trockenchemie – mobil, valide, keine Probenvorbereitung

Wie reiht sich nun hier die Trockenchemie ein, was kann sie leisten, wie ist die Vergleichbarkeit? Während der Reagenzträger des DT60 an einem klinischen Analysator vermessen wird (Plasma), ist der Reagenzträger des Accusport® dafür ausgelegt, mit dem zugehörigen Gerät mobile Messungen zu

**Aktuelles Wissen für den  
erfolgreichen Sportmediziner**

# TW SPORT + MEDIZIN

**S**eehofer will an Ihre Kasse – wir nicht!

Während alles „Inflation“ schreit, halten wir den Abo-Preis auch im dritten Jahr stabil.

Bestellen Sie noch heute Ihr persönliches Abonnement! Sie sichern sich eine gut lesbare, regelmäßige und preiswerte Fortbildung.



Bitte senden Sie mir die TW SPORT+MEDIZIN für mindestens 1 Jahr (6 Ausgaben) frei Haus zum Komplettpreis von DM 69,-.

Name, Vorname \_\_\_\_\_

Fachrichtung \_\_\_\_\_

Straße \_\_\_\_\_

PLZ/Ort \_\_\_\_\_

**Gewünschte Zahlungsweise (bitte ankreuzen)**  
**Der bequemste Weg für Sie: Bargeldlos durch Bankeinzug**

BLZ \_\_\_\_\_

Kto.-Nr. \_\_\_\_\_

Geldinstitut \_\_\_\_\_

**Gegen Rechnung**

Datum \_\_\_\_\_

1. Unterschrift des Abonnenten \_\_\_\_\_

**Mein Recht:** Sie garantieren mir, daß ich die Bestellung innerhalb von 10 Tagen (Poststempel) schriftlich bei G. Braun Fachverlage, Postfach 17 09, 76006 Karlsruhe, widerrufen kann. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs.

Datum \_\_\_\_\_

2. Unterschrift des Abonnenten \_\_\_\_\_

**G. BRAUN FACHVERLAGE** **BB**  
Verlag Medizin  
Postfach 17 09  
76006 Karlsruhe

ermöglichen. Den Aufbau des Teststreifens zeigt Abbildung 4.

Zur Messung wird ein Tropfen Blut aus dem Ohrläppchen oder der Fingerbeere auf das Testfeld von oben aufgebracht. Der Streifen ist selbstdosierend, daher ist keine Pipette nötig. Allerdings muß man darauf achten, daß man von oben und nicht seitlich auftröpfelt. Das im Reagenzträger integrierte Glasfaservlies trennt die Erythrozyten ab, die eigentliche Messung erfolgt im Plasma. Ein Rechenalgorithmus im Gerät ermöglicht die Anzeige von gewohnten Werten aus enteweißtem Blut oder von Plasmawerten, je nach Wunsch. Die korrekte Umrechnung wurde gemäß den oben gemachten Ausführungen in einer Studie ermittelt [7]. Das Ergebnis ist ein *mittlerer* Umrechnungsfaktor, der einer gewissen individuellen Streuung unterliegt, die Reproduzierbarkeit von einzelnen Meßwerten oder Leistungskurven ist für ein Individuum gegeben. In einer Multicenter-Studie wurde die Vergleichbarkeit mit den etablierten Laktatbestimmungsmethoden belegt [8].

### Ausblick – Einheitliches Vorgehen bei Probengewinnung und verbindliche Referenzmethode fehlen noch

Der Vorteil der mobilen Laktatmessung mit Trockenchemie liegt sicherlich in der sofortigen Verfügbarkeit des Meßwertes, und zwar ohne langen Laborvorlauf bei gleichzeitiger einfacher Gerätehandhabung. Die ermittelten Werte können unmittelbar in den laufenden Trainingsprozeß integriert werden.

Aktuell vermißt der Analytiker bei den Methoden zur Laktatbestimmung noch eine einheitliche Vorgehensweise bei der Gewinnung des Probenmaterials und eine verbindliche Referenzmethode, möglichst physiko-chemisch determiniert, wie sie für diverse klinisch-chemische Parameter längst verfügbar ist. Beides würde manche Diskussion über Laktatwerte auf eine sachlich fundierte Grundlage stellen.

### Literatur

- Schwab W., W. Tritschler, A. Ch. Kessler, W. Bablok: Neue enzymatische Laktatbestimmung: Methodische Aspekte und Probengewinnung. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 17, 65–70 (1979)
- Toffaletti J. G.: Blood Lactate: Biochemistry, Laboratory Methods, and Clinical Interpretation. *Critical Reviews. Clin. Lab. Sci.* 28, 4, 253–268 (1991)
- Buono M. J., J. E. Yeager: Intraerythrocyte and plasma lactate concentrations during exercise in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 55, 326–329 (1986)
- Foxdal P., et al.: Lactate concentration differences in plasma, whole blood, capillary finger blood and erythrocytes during submaximal graded exercise in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.* 61, 218–222 (1990)
- Rodriguez F. A., et al.: A Comparative Study of Blood Lactate Analytic Methods. *Int. J. Sports Med.* 13, 462–466 (1992)
- Kamber M.: Laktatmessungen in der Sportmedizin; Methodenvergleich. *Schweiz. Ztschr. Sportmed.* 40, 77–86 (1992)
- Lormes, et al.: Vortrag ACSM Annual Meeting, Seattle (1993). *Med. Sci. Sports Exerc.* 25, 5 Suppl., Abstr. 364 (1993)
- Gambke B., et al.: Poster beim ACSM Annual Meeting, Indianapolis (1994). *Med. Sci. Sports Exerc.* 26, 5 Suppl., Abstr. 240 (1994)

Dr. rer. nat. J. Emmert, Boehringer Mannheim, Forschung Schnell Diagnostika, Abt. Analytische Entwicklung, Sandhofer Str. 116, 68298 Mannheim