

Charakterisierung von Laktat- und Ammoniakkonzentrations-Zeitkurven im Unterarm-Ischämietest durch die Bateman-Gleichung bei gesunden Probanden

H. J. Koch¹, G. Uyanik², C. Raschka³, J. Schweizer⁴

¹Psychiatrische Universitätsklinik Regensburg, ²Neurologische Universitätsklinik Regensburg,

³Institut für Sportwissenschaften der Universität Frankfurt,

⁴Klinikum Chemnitz, Klinik für Innere Medizin I

Zusammenfassung

Der Unterarm-Ischämietest dient dazu, Muskelerkrankungen auf der Basis von Laktat- und Ammoniakkonzentrationen nach Belastung während Ischämie zu differenzieren. Ziel der vorliegenden Arbeit ist, Laktat- und Ammoniakkonzentrationen als Funktion der Zeit im Ischämietest durch eine pharmakokinetische Modellgleichung zu charakterisieren.

Der Unterarm-Ischämietest wurde bei Patienten im Alter zwischen 20 und 45 Jahren, bei denen bei Aufnahme die Verdachtsdiagnose einer Muskelerkrankung mit Störung des des Glukose- oder Eiweißstoffwechsels bestand, durchgeführt. Die Kurven von 8 Patienten mit normalem Anstieg von Laktat und Ammoniak wurden anonymisiert und retrospektiv ausgewertet. Die Konzentrations-Zeitkurven wurden mittels nichtlinearer Regression an pharmakokinetische Gleichungen angepaßt. Die Güte der Anpassung wurde durch den Determinationskoeffizienten (r^2) und eine F-Statistik (ANOVA) beurteilt. Die modifizierte Bateman-Gleichung $Y = C_b + B \cdot \exp(-K_e \cdot t) - D \cdot \exp(-K_a \cdot t)$ (C_b = Ausgangskonzentration; B , D Konstanten [Achsenabschnitte]; k_e Eliminationskonstante; die »Absorptionskonstante« k_a charakterisiert die Laktat- bzw. Ammoniakproduktion) erwies sich als geeignet, die Konzentration versus Zeitdaten zu beschreiben. Dies erleichtert eine vergleichende Beurteilung der Ergebnisse.

Schlüsselwörter: Unterarm-Ischämietest, Laktat, Ammoniak, pharmakokinetische Modelle

The bi-exponential pharmacokinetic equation is suited to characterize lactate and ammonia concentration versus time data of the ischemic forearm exercise test

H. J. Koch, G. Uyanik, C. Raschka, J. Schweizer

Abstract

The ischemic forearm exercise test (IFET) is used to detect metabolic disorders of muscles based on lactate and ammonia concentration during exercise under ischemia. The objective of this study was to assess whether lactate or ammonia concentration versus time curves (CVTC) can be characterised using pharmacokinetic models.

An IFET was performed in 8 patients (age: 20–45 years) supposed to have disorders of glucose metabolism or lack of myoadenylate deaminase. CVTC were fitted by means of non-linear regression to different kinetic models. The goodness of fit was assessed by means of r^2 (coefficient of determination) and F-statistic (ANOVA). The modified Bateman curve $Y = C_b + B \cdot \exp(-K_e \cdot t) - D \cdot \exp(-K_a \cdot t)$, where C_b denotes the baseline concentration, A or B correspond to the axial section, k_e denotes the elimination constant and k_a the »absorption« constant, yielded remarkable non-linear regression results. In conclusion, pharmacokinetic modelling of lactate or ammonia using the Bateman function is suited to describe CVTCs of IFETs and may be a useful tool for diagnostic interpretation of the test.

Key words: ischemic forearm test, lactate, ammonia, pharmacokinetic models

Neurol Rehabil 2002; 8 (5): 235-238

Einleitung

Die Interpretation von Laktatkinetikkurven im Hinblick auf diagnostische Aussagen bei Muskelerkrankungen beruht in erster Linie auf dem Verhältnis der Metabolite im Kohlenhydratstoffwechsel [6]. Wie in der Abb. 1 dargestellt, laufen alle wichtigen metabolischen Schritte vom Glykogen bis zum Laktat im Zytosol der Muskelzelle ab. Über Pyruvat bestehen Verbindungen zum Alaninstoffwechsel

und zur Harnstoffproduktion (Pyruvat-Alanin-Zyklus), und über ADP/ATP ist die Glykolyse mit dem Purinstoffwechsel verbunden [9]. Ammoniak wird bei der Bildung von IMP (Inosinmonophosphat) aus AMP (Adenosinmonophosphat) freigesetzt. Über Inosin, Hypoxanthin und Xanthin entsteht letztlich Harnsäure, deren Konzentrationsverlauf ebenfalls im Rahmen der Leistungsdiagnostik eingesetzt wurde [8]. In der neurologischen Diagnostik hat sich der Laktat-Ischämietest (Synonym: LAER [lactate-ammonia-exercise-ra-

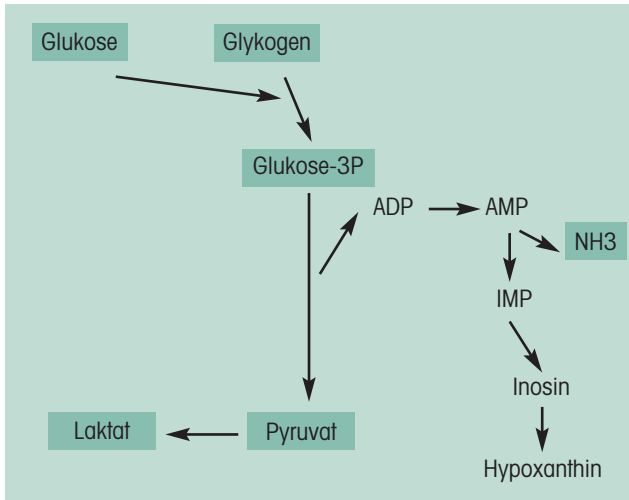


Abb. 1: Schematisch vereinfachte Darstellung des für den Ischämietest wichtigen Zuckerstoffwechsels in der Muskelzelle (Abkürzungen siehe Text).

tio] -Test) zur Beurteilung von muskulären Stoffwechselerkrankungen bewährt. Bei normalem Anstieg des Laktats nach Belastung und nur geringgradigem Anstieg der Ammoniakkonzentration (weniger als 0,7% des Laktats) liegt ein Kriterium für einen Myoadenylat-Deaminase-Mangel (MAD) vor. Die wichtigsten Symptome dieser Erkrankung sind Muskelschmerzen und Crampi bei Aussparung der Gesichtsmuskulatur [4, 5]. Bei Vorliegen eines Muskelphosphorylase mangels (McArdle-Erkrankung) bleibt der Laktatanstieg aus. Prinzipiell wird die Laktatproduktion im LAER-Test bei Störungen der Glykogenolyse oder der Glykolyse vermindert sein. Neben der Diagnostik muskulärer Erkrankungen spielt der LAER-Test auch in der Sportmedizin zur Differentialdiagnostik von Leistungsdefiziten eine Rolle [3]. Bei Verdacht auf einen Defekt der Myoadenylat-Deaminase muß differentialdiagnostisch ein reduzierter Efflux von Ammoniak aus der Zelle berücksichtigt werden [13].

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Laktat- und Ammoniak-Zeitkurven mit adäquatem Anstieg an die Bateman-Gleichung anzupassen und pharmakokinetische Kenngrößen zu definieren, die es erlauben, individuelle Kurvenverläufe zu vergleichen.

Methodik

Bei Personen im Alter zwischen 20 und 45 Jahren, die zwischen 1999 und 2001 zur Abklärung muskulärer Beschwerden stationär aufgenommen wurden, führte man im Rahmen der Diagnostik einen standardisierten Laktatischämietest nach eingehender Aufklärung durch. Die Laktat- und Ammoniakkurven wurden anonymisiert und 8 Kurvenverläufe, die einen adäquaten Konzentrationsanstieg zeigten, wurden retrospektiv für nichtlineare Regressionsmodelle verwendet. Eine Hypertonie, pulmonale Erkrankungen oder arterielle Verschlusskrankheit wurden vor der Auswertung ausgeschlossen.

Die Laktat- und Ammoniakbestimmungen für den Laktatischämietest wurden im Labor des Bezirksklinikums Regensburg nach standardisierten Verfahren enzymatisch ermittelt [2, 15, 16]. Die Proben wurden umgehend nach Beendigung des Versuches gekühlt (Kühlpack) zur Analyse in das Labor gebracht und verarbeitet. [Anmerkung: Für die Laktatkonzentration gilt die Umrechnungsformel mg/dl * 0.11 = mmol/l]. Die Präzision der Ammoniakbestimmung (Variationskoeffizient) lag maximal bei 3,6% und für Laktat bei 0,90%.

Ablauf des Tests und Bestimmungsmethoden

Die Patienten/Probanden werden aufgefordert, vor dem Test 2 Stunden zu ruhen und sich am Tag der Untersuchung nicht anzustrengen. Eine halbe Stunde vor dem Test werden ein Zugang in der vorgesehenen Unterarmvene gelegt und ein Ruhewert (t=0) abgenommen. Zunächst wird die Blutdruckmanschette über den systolischen Wert aufgepumpt, um eine Ischämie zu erzeugen. Danach beginnt (t=0) der Proband mit regelmäßigen maximal intensiven Faustschlußmanövern von einer Minute Dauer. Die Blutdruckmanschette wird dann gelöst, und der Proband muß bis zum Ende der Untersuchung ruhig liegenbleiben. An folgenden Zeitpunkten wird Blut im Liegen entnommen: 1 min (direkt nach Ende der Ischämie), 1,5 min, 2 min, 3 min, 4 min, 6 min, 10 min und 20 min (bei etwaigen Verschiebungen wird der genaue Zeitpunkt bezogen auf t=0 notiert).

Lineare und nichtlineare Regressionsverfahren

Eine Einführung in die Methoden der linearen und nichtlinearen Regression findet sich bei Box und Draper [1] und Zar [18]. Bei der einfachen linearen Regression wird ein funktionaler Zusammenhang zwischen einer abhängigen Variablen Y und einer unabhängigen Variablen X (»Prädiktor«) durch eine lineare Geradengleichung definiert: $Y = b_0 + b_1 * X$. Die Konstanten b_0 (Achsenabschnitt auf der Ordinate) und b_1 (Steigung) werden durch das Regressionsverfahren bestimmt. Prinzipiell wird durch repetitive Rechenschritte (Iterationen) versucht, die Quadrate der Abstände zwischen den Punkten und der angepaßten Kurve [»fit«] zu minimieren. Die Abstände zwischen den einzelnen Werten Y_i und dem durch die Kurve bestimmten Wert Y_m werden Residuen genannt ($R_i = Y_i - Y_m$). Die Residuen als Funktion von X sollten möglichst gleichförmig (Homoszedastizität) verteilt sein. Der empirische lineare Korrelationskoeffizient r beschreibt, wie stark die Punktwolke um die Regressionsgeraden streuen. Prinzipiell lassen sich immer eine Regression X auf Y und eine Regression Y auf X (häufig biologisch sinnvolle Regression) berechnen. Der Betrag von r ist umgekehrt proportional dem Öffnungswinkel zwischen den beiden Geraden.

Bei der nichtlinearen Regression wird der funktionale Zusammenhang durch eine Gleichung, z. B. der allgemeinen Form $Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2^2 + \dots + b_m X_i^m$,

beschrieben ($m=2$ entspricht einer quadratischen Regression). Prinzipiell wird die nichtlineare Kurve nach einem der linearen Regression analogen Verfahren durch repetitive Schritte an die X-Y-Daten angepaßt.

Für die Güte der Regression wurden die F-Statistik (Varianzanalyse) für das gesamte Modell herangezogen sowie r^2 (Determinationskoeffizient, DC) und die Residuen beurteilt. Der DC gibt den Anteil der abhängigen Variablen (Y) wieder, der durch das Modell erklärt wird, und beschreibt letztlich auch, wie gut die Punktwolke, wie bei der linearen Regression, durch die Regressionskurve beschrieben wird. Der nicht durch das Modell erklärte Anteil der Variabilität von Y beträgt folglich $1 - r^2$. Die Interpretation von DC ergibt sich durch seine Definition: $DC = SS_{reg} / SS_{tot}$ (SS entsprechen den jeweiligen Summen der Abstandsquadrate bezogen auf die Regressionsgrade [SS_{reg}] bzw. die Originaldaten (SS_{tot})). Als Anhaltspunkt gilt, daß in dem Fall, in dem das Modell 50% der Variabilität erklären soll, ein Korrelationskoeffizient von etwa 0,7 Voraussetzung ist.

Die modifizierte Bateman-Gleichung der allgemeinen Form $Y = C_b + B \cdot \exp(-K_e \cdot t) - D \cdot \exp(-K_a \cdot t)$ erlaubt, einige charakteristische Größen festzulegen. Die maximalen Konzentrationen der Kurve (C_{max}) und die Zeit bis zum Erreichen des Maximums (T_{max}) sowie die initiale Konzentration (basaler Wert C_b) ließen sich in Analogie zur Pharmakokinetik berechnen [9]. Der Anstieg der Kurve wird durch die Konstante k_a und die Elimination durch die Konstante k_e charakterisiert. Über die einfache Beziehung $T_a = \ln 2 / k_a$ und $T_e = \ln 2 / k_e$ lassen sich die entsprechenden Halbwertszeiten T_a und T_e in Analogie zur Absorptions- und Eliminationshalbwertszeit berechnen. Ein weiterer Wert, der das Ausmaß der Laktat- bzw. Ammoniakproduktion widerspiegelt, ist die Fläche unter der Kurve AUC_{last} (0 – last), wobei die Integration (Trapezregel) vom ersten ($t=0$) bis zum letzten Meßzeitpunkt ($t=t_{last}$) erfolgt. Die Excess- AUC_{last} , d. h. der Anteil der AUC, der durch den eigentlichen Versuch entstanden ist, wurde wie folgt geschätzt: $Excess-AUC_{last} = UC_{last} - (C_b \cdot t_{last})$, wobei das Produkt $C_b \cdot t_{last}$ der Ausgangs-AUC bei Versuchsbeginn entspricht.

Für die Auswertung wurde kommerzielle Software verwendet, die für bestimmte Fragestellungen in der jeweiligen Notation Gleichungen und Gleichungssysteme eingegeben wurden (Statistica®, Statsoft, Tulsa, USA; Table Curve™ 2D®, SPSS, Chicago, USA). Als Datenbank zum Verwalten der Rohdaten diente Microsoft Excel. Die Ergebnisse der Regression wurden deskriptiv (Mittelwert, SEM [standard error of mean]) als Tabelle dargestellt.

Ergebnisse

Die bi-exponentielle modifizierte Bateman-Gleichung hat sich als praktikabel für die Darstellung von Laktat- und Ammoniakkonzentrationen während des Laktat- und Ammoniaktests als Funktion der Zeit erwiesen. Sie wird durch einen monoton steigenden Teil, ein Maximum und einen monoton fallenden Kurventeil charakterisiert. In den Abbildun-

gen 2a und 2b sind Beispiele von nichtlinearen Kurvenanpassungen sowohl für den Verlauf der Laktatkonzentration als auch für die Ammoniakkonzentration mit den wichtigsten kinetischen Kenngrößen dargestellt ($p < 0,05$). Der Determinationskoeffizient liegt über 0,7, so daß mehr als 70% der Variabilität durch das nichtlineare Regressionsmodell erklärt werden.

In der Tabelle 1 sind wichtige Charakteristiken der Laktat- und Ammoniakkinetik von 8 Probanden mit unauffälligem Kurvenverlauf zusammengefaßt. Im Mittel steigt die Laktatkonzentration bei unserem Kollektiv von 17 auf 31 mg/dl an. Der Ammoniakspiegel erhöht sich durch das Faustschlußmanöver von etwa 27 auf 74 µg/ml, wobei das Maximum der Laktatkonzentration im Vergleich zum Ammoniak etwas später erreicht wird. Der Unterschied der mittleren T_{max} -Werte von 1,78 und 0,86 Minuten spiegelt sich in den Halbwertszeiten des Kurvenanstiegs von 0,58 (Laktat)

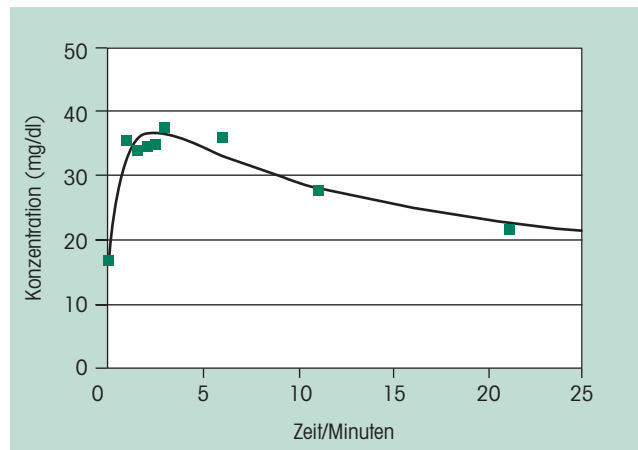


Abb. 2a: Beispiel einer Kurvenanpassung der Laktatkonzentrations-Zeitdaten eines standardisierten Ischämietests an eine modifizierte Bateman-Gleichung ($r^2 = 0,94$; $p < 0,05$). Folgende pharmakokinetischen Kenngrößen wurden ermittelt: $C_{max} = 37,29$ mg/dl; $T_{max} = 2,5$ min; $AUC_{last} = 612$ min*mg/dl; $T_e = 8,92$ min; $T_a = 0,59$ min

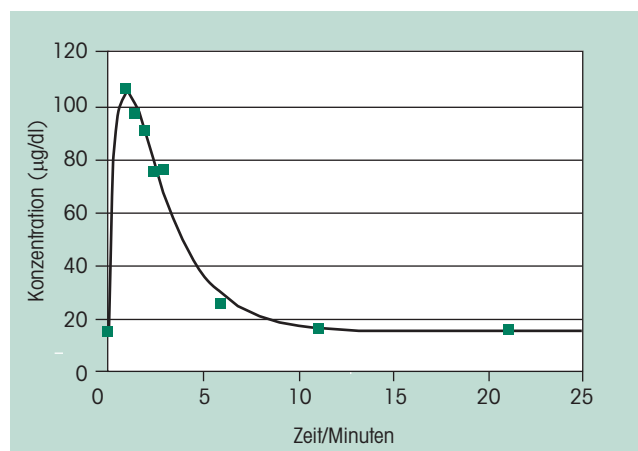


Abb. 2b: Beispiel einer Kurvenanpassung der Ammoniakkonzentrations-Zeitdaten eines standardisierten Ischämietests an eine modifizierte Bateman-Gleichung ($r^2 = 0,99$; $p < 0,05$). Folgende pharmakokinetischen Kenngrößen wurden ermittelt: $C_{max} = 104,9$ µg/dl, $T_{max} = 1,13$ min, $AUC_{last} = 641$ min*µg/dl; $T_e = 1,62$ min; $T_a = 0,44$ min

	Cb	AUC _{last}	C _{max}	T _a	T _e	T _{max}
Laktat	17,01	461,1	31,06	0,58	6,16	1,78
	(2,27)	(50,1)	(3,11)	(0,21)	(1,05)	(0,61)
	mg/dl	mg*min/dl	mg/dl	min	min	min
NH ₃	27,04	683,1	74,28	0,32	1,70	0,86
	(7,54)	(140,7)	(14,64)	(0,18)	(0,54)	(0,30)
	µg/dl	µg*min/dl	µg/dl	min	min	min

Tab. 1: Wichtige Kenngrößen (MW, SEM) der Laktat- und Ammoniakkinetik (n=8) bei Probanden ohne Hinweis auf eine metabolische Myopathie

bzw. 0,32 Minuten (Ammoniak) wider. Die Eliminationshalbwertszeit von Ammoniak ist mit 1,7 Minuten im Mittel deutlich kürzer als die von Laktat mit 6,2 Minuten. Von der Gesamt-AUC_{last} entfallen beim Laktat etwa 121 mg*min/dl (26,3%) auf die muskuläre Aktivität (Excess-AUC_{last}), während beim Ammoniak 143 µg*min/dl (20,9%) durch den Laktatischämietest bedingt sind.

Diskussion

Der Laktatischämietest ist ein einfaches Verfahren, um vor allem den Glukosestoffwechsel des Muskels und die Funktion der Myoadenylat-Deaminase zu beurteilen. Laktat- und Ammoniakbestimmungsmethoden stehen praktisch in jedem Kliniklabor zur Verfügung [11, 12]. Im Gegensatz zum Stufentest besteht beim Ischämietest nur bedingt die Möglichkeit, das Ausmaß der Laktatproduktion auf die erbrachte Leistung zu normieren, da das Ergebnis von der Mitarbeit des Probanden abhängt. Der Einsatz von Ballon-Vigorimetern [14] für Forschungszwecke ist zwar denkbar, würde aber in der Praxis ein einfaches Verfahren erheblich verkomplizieren. Ein Kompromiß wäre, vor Beginn der Testserie die maximale Kraft der Unterarmmuskulatur mit Hilfe einer Blutdruckmanschette zu dokumentieren und über die Frequenz der Faustschlußmanöver die erbrachte Leistung zu schätzen. Die Motivation des Probanden ist, unabhängig von der angewandten Methodik, der entscheidende Faktor. Die Blutprobenabnahme des konventionellen Laktatischämietests erlaubt, eine einfache nichtlineare Regression (Typ: Summe von Exponentialkurven) zu berechnen. Prinzipiell sind auch andere mathematische Funktionen, die durch einen monotonen Anstieg, ein Maximum und einen monoton fallenden Teil (Typ: »pulse curves«) charakterisiert werden, für die nichtlineare Regression geeignet. Der Nachteil liegt aber darin, daß solche Gleichungen oft mehr als 4 Parameter aufweisen und daß diese Modellparameter nur eingeschränkt physiologisch interpretiert werden können. Gerade die Tatsache, daß die Bateman-Gleichung gestattet, Größen wie Halbwertszeit, T_{max} oder C_{max} zu bestimmen, die in die Pharmakokinetik Eingang gefunden haben, ist vorteilhaft. Mit zwei Exponentialtermen lassen sich sowohl die Laktat- bzw. die Ammoniakproduktion als auch deren Elimination anschaulich beschreiben. Der ansteigende Schenkel der Kurve ist dabei durch die Regression weniger gesichert als die Eliminationshalb-

wertszeit, da er nach den bisherigen Versuchsprotokollen meist nur durch zwei Punkte definiert wird. Die Beispiele zeigen, daß ein bis zwei zusätzliche Blutabnahmen genügen würden, um den Anstieg der Laktat- bzw. Ammoniak-Zeitkurven noch sicherer zu bestimmen. Dies ist auch ein Grund dafür, daß Konfidenzintervalle in diesem Bereich der Regressionskurve nicht sinnvoll berechnet werden können. Praktikabel wäre z. B. eine zusätzliche Blutabnahme 30 Sekunden nach Beginn des Faustschlußmanövers. Gerade für eine detaillierte Auswertung von Laktatkurven in der Leistungsdiagnostik wäre es von Vorteil, wenn die Phase der Laktatproduktion noch besser charakterisiert werden könnte. Zusammenfassend zeigt die vorliegende Arbeit, daß sich die Laktat- und Ammoniakkonzentrationen im Ischämietest als Funktion der Zeit mit Hilfe der Bateman-Gleichung beschreiben lassen. Die daraus abgeleiteten pharmakokinetischen Kenngrößen erlauben eine praktische Interpretation des Kurvenverlaufs, was sowohl in der klinischen Bewertung als auch für Forschungsfragestellungen nützlich ist.

Literatur

1. Box G, Draper N: Empirical Model Building and Response Surfaces. Wiley and Sons, New York 1987
2. Da Fonseca-Wollheim F: Direkte Plasmaammoniakbestimmung ohne Enteiweißung. Z Klin Biochem 1973; 11: 426-431
3. Fishbein WN, Foellmer JW, Davis JI: Medical implication of the lactate and ammonia relationship in anaerobic exercise. Int J Sports Med 1990; 11 (Suppl 2): 91-100
4. Haller RG, Bertocci LA: Exercise Evaluation of Metabolic Myopathies. Engel AG, Franzini-Armstrong C (Hrsg): In: Myology: Basic and Clinical - Chapter 33. McGraw-Hill, NY 1994, 807-821
5. Hufschmidt A, Lücking CH: Neurologie Compact. Leitlinien für Klinik und Praxis. Thieme, Stuttgart 1999, 290-294
6. Jerusalem F: Muskelerkrankungen: Klinik – Therapie – Pathologie. Thieme, Stuttgart 1979, 99-108
7. Jerusalem F, Zierz S: Muskelerkrankungen. Thieme, Stuttgart 1991
8. Karlson P: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. Thieme, Stuttgart 1974
9. Karlson P, Gerok W, Groß W: Pathobiochemie. Thieme, Stuttgart 1977, 16-34 und 118-126
10. Klotz U: Klinische Pharmakokinetik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1979
11. Livingstone C, Chinnery PF, Tunbull DM: The ischemic lactate-ammonia test. Ann Clin Biochem 2001; 38: 304-310
12. Pourmand R: Metabolic myopathies. A diagnostic evaluation. Neurol Clin 2000; 18: 1-13
13. Riggs JE, Schochet SS, Webb RW: Exertional myalgia syndrome associated with diminished serum ammonia elevation in ischemic exercise testing. Mil Med 1999; 164: 663-665
14. Schrank B: Neurodiagnostik: Laktat-Ischämietest. Neurodate 2000; 3: 17-18
15. Thomas L: Lactat. Thomas L (Hrsg): In: Labor und Diagnose. TH Books, Frankfurt 1998, 164-170
16. Tietz NW: Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Ausgabe. WB Saunders, Philadelphia 1995: 382-383
17. Toffaletti J, Hammes ME, Gray R, Lineberry B, Abrams B: Lactate measured in diluted and undiluted whole blood and plasma: Comparison of methods and effects of hematocrit. Clin Chem 1992; 38: 2430-2434
18. Zar JH: Biostatistical Analysis. Prentice Hall International, Englewood Cliffs 1984

Korrespondenzadresse:

Dr. Horst Josef Koch
 Psychiatrische Universitätsklinik – Gerontopsychiatrie
 Universitätsstraße 84
 D-93053 Regensburg
 e-mail: horst.koch@bkr-regensburg.de