

» Milchsäure-Bildung und Verteilung in Erythrozytenkonzentraten

E. Lachtermann¹, R. Zander²

¹ Abteilung Sportmedizin,

² Institut für Physiologie und Pathophysiologie der Universität Mainz

Schlüsselwörter: Erythrozytenkonzentrat – Lagerung – Milchsäure – Laktat – Base Excess

Key words: Red cell concentrate – Storage – Lactic acid – Lactate – Base excess

Einleitung

Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten sind in der Intensivmedizin tägliche Routine. Die erythrozytenhaltigen Blutprodukte beinhalten zum einen Stabilisatoren zum Erhalt einer besseren osmotischen Resistenz der Erythrozyten, wodurch der Säure-Basen-Status des Blutbeutels in den sauren Bereich verschoben wird. Zum anderen kommt es durch Lagerung von Blutprodukten zu einer zusätzlichen Anhäufung von Milchsäure, da der erythrozytäre Stoffwechsel sogar bei einer Lagerungstemperatur von +4 °C nicht unterbunden werden kann. Die infolge der anaeroben Glykolyse steigende H⁺-Ionen-Konzentration kann unter Umständen, d.h. unter Massivtransfusion, den Säure-Basen-Haushalt des Empfängers relevant beeinflussen.

Zum Abschätzen der unter Transfusion entstehenden Säurebelastung und Abwägung möglicher Gegenmaßnahmen sind genaue Kenntnisse über die Milchsäure- bzw. Laktatbildung in Erythrozytenkonzentraten in Abhängigkeit von der Lagerungszeit und Lagerungstemperatur notwendig. Dieser Frage wird in der vorliegenden Arbeit nachgegangen.

Da seit langem bekannt ist, dass die Milchsäureverteilung zwischen Erythrozyten und Plasma *in vivo* ungleichmäßig ist [7], ist zusätzlich abzuklären, wie sich die Milchsäure zwischen Kompartimenten des Erythrozytenkonzentrates verteilt.

Des Weiteren wird untersucht, ob sich eine direkte Proportionalität zwischen dem Base Excess und der Milchsäurekonzentration im Erythrozytenkonzentrat feststellen lässt, und wenn ja, welche Milchsäurekonzentration dem Base Excess zuzuordnen ist, die des vollen Erythrozytenkonzentrates, die der Erythrozyten oder die der extrazellulären Lösung.

Methodik

Zur Beantwortung der oben aufgeführten Fragen werden 6 Erythrozytenkonzentrate bei 4 °C für eine Dauer von 4 Wochen gelagert. In regelmäßigen Zeitabständen werden Probenentnahmen, je 2 pro Blutbeutel, vorgenommen. Eine der beiden Proben wird sofort nach Entnahme analysiert, die andere wird 24 Stunden bei Raumtemperatur (20 °C) aufbewahrt und erst dann getestet. Bestimmt wird die Milchsäurekonzentration enzymatisch-amperometrisch mit einem Laktatmessgerät (Ebio plus 6668 der Firma Eppendorf) im vollen Erythrozytenkonzentrat (cBl) sowie in der abzentrifugierten Lösung bzw. Plasma (cPl). Die zu analysierende Probe (Vollblut oder Plasma) in der Menge von 20 µl wird in ein mit 1000 µl Hämolyse-lösung vorgefülltes Safe-Lock Reaktionsgefäß überführt und anschließend ausgiebig geschüttelt. Damit wird die Probe im Falle des Vollblutes hämolysiert. Direkt danach kann eine Messung vorgenommen werden. Bei der enzymatisch-amperometrischen Messung der Laktatkonzentration wird Laktat mit Hilfe von immobilisierten Oxidasen oxidiert und das dabei entstehende Wasserstoffperoxid amperometrisch bestimmt.

Die Milchsäurekonzentration in Erythrozyten (cEry) wird mit Hilfe des Hämatokrits (Hkt) als Fraktion nach der folgenden Formel berechnet:

$$cEry = (cPl \times Hkt + cBl - cPl) / Hkt$$

Parallel werden Proben der EK's unter physiologischen Bedingungen (37 °C, pO₂ 100 mmHg, pCO₂ 40 mmHg) in einem IL-Tonometer (Instrumentation Laboratory 237) ausgehend vom aktuellen pH-Wert durch quantitative Zugabe von NaHCO₃ (1 mol/l) auf den physiologischen pH von 7,40 zurücktitriert und auf diese (klassische) Weise der Base Excess des Blutes (mmol/l) ermittelt. Wegen der zum Teil erheblichen Volumina zugesetzter Lösung wird eine Volumenkorrektur vorgenommen.

Die Base Excess-Werte werden der Milchsäurekonzentration gegenübergestellt.

Ergebnisse

Die Zunahme der Milchsäure- bzw. Laktatkonzentration in Erythrozytenkonzentraten (4 °C) sowie in ihren Komponenten in Abhängigkeit von der Lagerungszeit ist in der Abb. 1 dargestellt. Aus der Abbildung ist ersichtlich, dass die Milchsäurekonzentration im Plasma (cPl) wesentlich höher und in den Erythrozyten (cEry) niedriger ausfällt als im Vollblut (cBl).

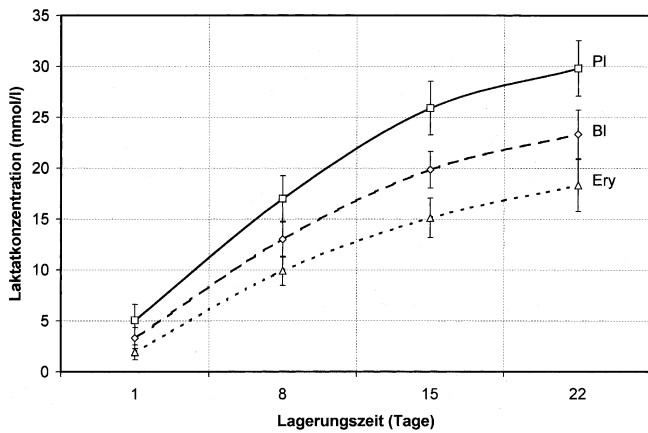


Abb. 1 Milchsäure- (Laktat-) Bildung (mmol/l) in bei 4 °C gelagerten Erythrozytenkonzentraten (cBl) (◇) als Funktion der Lagerungszeit (Tage) und ihre Verteilung zwischen Erythrozyten (cEry) (△) und der abzentrifugierten extrazellulären Lösung bzw. Plasma (cPl) (□).

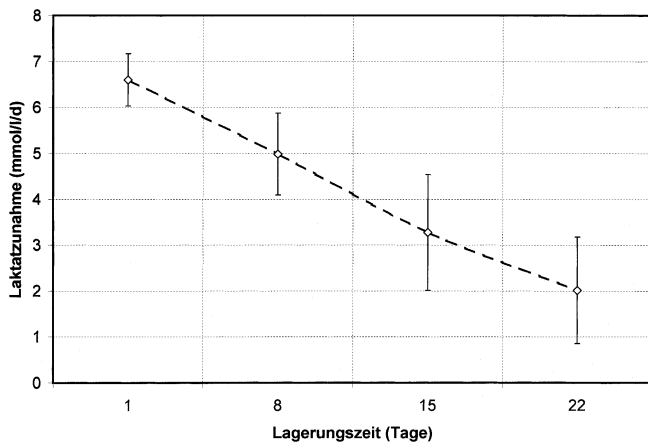


Abb. 2 Milchsäure- bzw. Laktatzunahme in Erythrozytenkonzentraten (cBl) in mmol/l/d innerhalb 24 Stunden bei 20 °C in Abhängigkeit vom Alter des Konzentrates (Tage).

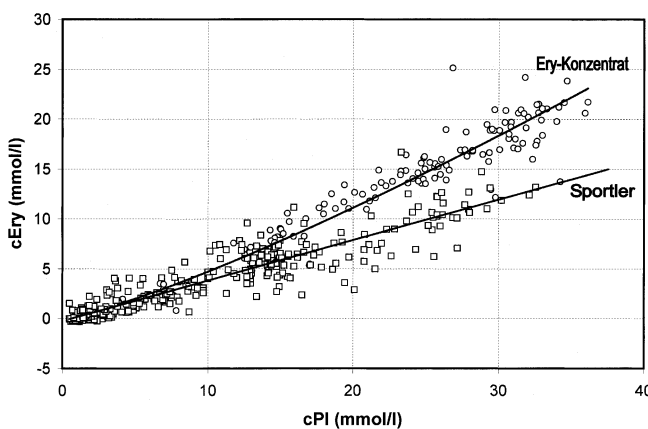


Abb. 3 Verteilung von Laktat zwischen Plasma (cPl) und Erythrozyten (cEry) im Erythrozytenkonzentrat (n = 144) (o) und bei Sportlern (n = 343) (□).

Nach 22 Tagen findet sich eine Zunahme der Milchsäurekonzentration im Vollblut (ΔcBl) von 20 mmol/l, in den Erythrozyten

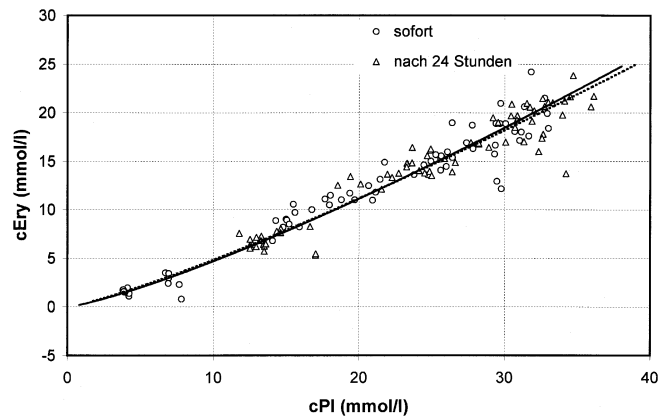


Abb. 4 Verteilung von Laktat zwischen Plasma (cPl) und Erythrozyten (cEry) im Erythrozytenkonzentrat sofort nach Probenentnahme (o) und nach 24 Stunden Lagerung bei 20 °C (△)

($\Delta cEry$) von 16 mmol/l und im Plasma (ΔcPl) von 25 mmol/l. Lässt man die entnommenen Proben für 24 Stunden bei 20 °C liegen, steigt die Milchsäurekonzentration innerhalb eines Tages im Erythrozytenkonzentrat um ca. 7 mmol/l. Zum Ende der Lagerungszeit verringert sich diese Konzentrationszunahme auf 2 mmol/l pro Tag (Abb. 2). Auch unter diesen Bedingungen lässt sich eine ungleichmäßige Milchsäureverteilung nachweisen.

Die Gegenüberstellung der Milchsäurekonzentrationen in den Erythrozyten (cEry) und im Plasma (cPl) ergibt eine nicht-lineare Abhängigkeit, die in der Abb. 3 dargestellt ist. Im Vergleich zur Milchsäureverteilung in vivo (bei Sportlern), die einen linearen Charakter aufweist, d.h. cEry konstant ca. 40% von cPlasma (Abb. 3), beträgt cEry im Erythrozytenkonzentrat zwischen 50% (cPl 10 mmol/l) und 60% (cPl 30 mmol/l) von cPl. Dabei lassen sich hinsichtlich der Milchsäureverteilung keine Unterschiede zwischen den bei 4 °C und 20 °C gelagerten Proben erkennen (Abb. 4).

Vergleicht man den zeitlichen Verlauf der Milchsäurekonzentrationen (cBl, cPl, cEry) im Erythrozytenkonzentrat mit den zugehörigen Base Excess-Werten, findet man eine direkte Proportionalität, wobei die Laktatkonzentration im Blut (cBl) der BE-Änderung entspricht (Abb. 5).

Diskussion

In der Fachliteratur wird die Frage der Säurebelastung durch Bluttransfusionen seit langem diskutiert. Kenntnisse der realen Laktatproduktion bei der Lagerung von Erythrozytenkonzentraten, abhängig von Lagerungszeit und Lagerungstemperatur, erlauben, den sogenannten potentiellen BE abzuschätzen [5] und ggf. die notwendigen Maßnahmen einzuleiten. Die vorliegende Studie bestätigt einen bedeutenden Anstieg der Milchsäurekonzentration in gelagerten Erythrozytenkonzentraten, der nach einer Lagerungszeit von 22 Tagen im Mittel 20 mmol/l, bezogen auf Vollkonzentrat, beträgt. Diese Daten entsprechen im Allgemeinen bereits existierenden Untersuchungsergebnissen zum gegebenen Thema [1,2,4]. Obwohl in einzelnen Arbeiten darauf hingewiesen wird, dass es hinsichtlich der Säure-Basen-Belastung gewisse Unterschiede zwischen Vollblut und Blutkomponenten gibt [4], wird in keiner der Studien auf die Verteilung der Milchsäure zwischen Erythrozyten und

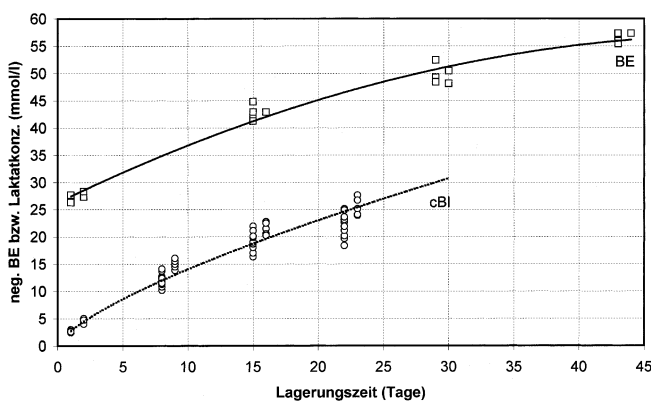


Abb. 5 Laktatkonzentration (o) und Base Excess (□) in mmol/l im Erythrozytenkonzentrat als Funktion der Lagerungszeit (Tage). Die Zunahme der Laktat- bzw. Milchsäurekonzentration (cBL) entspricht dem Anstieg des negativen BE-Wertes in mmol/l.

Plasma in Blutkonserven eingegangen. Diese Frage ist jedoch aus verschiedenen Gründen von Bedeutung, vor allem aus methodischen, denn die erzielten Messergebnisse sind abhängig von der jeweiligen Messmethode. Seit spätestens 1986 ist eine ungleichmäßige Verteilung der Milchsäure zwischen Erythrozyten und Plasma *in vivo* bekannt, wobei ihre Konzentration in Erythrozyten bei ca. 40% im Vergleich zum Plasma liegt [3, 7]. Diese ungleichmäßige Verteilung findet sich erwartungsgemäß auch im Erythrozytenkonzentrat, so dass die höchste Milchsäurekonzentration in der abzentrifugierten Lösung und die niedrigste in Erythrozyten gemessen wird (Abb. 1). Jedoch ergibt sich hier eine nichtlineare Abhängigkeit zwischen dem intra- und extrazellulären Laktat (Abb. 3), wobei das intrazelluläre Laktat verhältnismäßig höher (50–60%) als *in vivo* liegt. Der Grund dafür besteht zum einen darin, dass die Milchsäure bei körperlichen Belastungen in der Muskulatur produziert, in den Extrazellulärraum abgegeben und dann ins Blut transportiert wird. In diesem Fall gelangt die Milchsäure von außen in die Erythrozyten, während sie in Erythrozytenkonzentraten in den roten Zellen selbst produziert und nach außen abgegeben wird. Zum anderen ist die Verteilung der Milchsäure wahrscheinlich von der Größe des Extrazellulärraumes, als Verteilungsraum für die Milchsäure, abhängig: Ein verhältnismäßig kleiner Extrazellulärraum im Erythrozytenkonzentrat verursacht eine höhere Milchsäurekonzentration in den Erythrozyten des Konzentrates als im wesentlich größeren Extrazellulärraum *in vivo*.

Der zeitliche Verlauf der Laktatkonzentration im gelagerten Blutbeutel zeigt, dass die anaerobe Glykolyse besonders aktiv in den ersten Lagerungstagen und -wochen ist und später nachlässt (Abb. 1), da es zur Erschöpfung des Glukosevorrates als wichtigstem Substrat der anaeroben Glykolyse kommt. Die gleiche Tendenz lässt sich auch in den bei Raumtemperatur (20 °C) gelagerten Proben erkennen (Abb. 3), wobei die Intensität der Milchsäurebildung hier wesentlich höher ist als bei 4 °C, sie beträgt ca. 7 mmol/l pro Tag im Vollkonzentrat, 9 mmol/l pro Tag in der abzentrifugierten Lösung und 5 mmol/l pro Tag in den Erythrozyten. Die Milchsäureverteilung zwischen Komponenten des Erythrozytenkonzentrates bei 20 °C entspricht der bei 4 °C, d.h., die Verteilung der Milchsäure ist temperaturunabhängig (Abb. 4).

Die Gegenüberstellung der im Laufe der Lagerungszeit gemessenen Laktat- und BE-Werte ergibt eine äquivalente Zunahme des Base Excess in mmol/l und der Milchsäurekonzentration, bezogen auf Vollkonzentrat (Abb. 5). Dies bedeutet, dass die Zunahme der H⁺-Ionen-Konzentration bzw. des negativen BE-Wertes ausschließlich durch die Milchsäure aus der anaeroben Glykolyse verursacht ist. Im Vergleich zur Laktatbildung in der Muskulatur bei körperlichen Belastungen, bei der die Zunahme des negativen Base Excess-Wertes der *Plasma-Laktat-Zunahme* in mmol/l entspricht [6], wird im Erythrozytenkonzentrat eine direkte Proportionalität zwischen dem Base Excess und der Milchsäurekonzentration des *Vollkonzentrates* gefunden (mmol pro Liter EK), was wiederum auf die unterschiedliche Größe des Extrazellulärraumes *in vivo* und *in vitro* zurückzuführen ist.

Schlussfolgerungen

Bei der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten ist zu berücksichtigen, dass

- längere Lagerungszeiten (> 2 Wochen) und eine Unterbrechung der Kühlkette (> 1 Tag) zu einer zunehmenden Milchsäure-Belastung für den Patienten führen,
- die Verschlechterung des negativen Base Excess-Wertes während der Lagerung ausschließliche Folge der anaeroben Glykolyse ist,
- die Verteilung der Milchsäure bzw. des Laktats zwischen den Komponenten des EK's ungleichmäßig und temperaturabhängig ist, wodurch die Laktat-Konzentration in der umgebenden Lösung die der Erythrozyten deutlich übersteigt

Literatur

- Hansen M, Schroeder TH, Schmid E, Deutsch H. Laktatzufuhr durch Erythrozytenkonzentrate. *Anästh Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1998; 33: S 264
- Hansen M, Schmid E, Häberle L, Heinemann N. Storage time of packed red cells influences serum lactate levels of children during open heart surgery. *Br J Anaesth* 1999; 82 Suppl. 2: S 30
- Lachtermann E, Zander R. Laktatkonzentration im Plasma als bester Indikator der Laktatbildung in der Arbeitsmuskulatur. *Dtsch Z Sportmed* 1999; 50: S 27
- Schmitt HJ. Störungen des Säure-Basen-Haushaltes durch Blutprodukte. *Anästh Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1995; 30 Suppl. 1: 62–64
- Zander R. Physiologie und Klinik des extrazellulären Bikarbonat-Pools: Plädoyer für einen bewussten Umgang mit HCO₃⁻. *Infusionsther Transfusionsmed* 1993; 20: 217–235
- Zander R, Lachtermann E. Optimale Proportionalität zwischen Base Excess des Blutes und Laktatkonzentration des Plasmas. *Anästh Intensivmed* 1999; 40: 449
- Zander R, Lachtermann E. Laktat: Ein Marker für Gewebhypoxie? (Leserbrief). *Anästh Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1999; 34: 724–725

Dr. med. E. Lachtermann

Abteilung Sportmedizin, Fachbereich Sport
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Saarstraße 21
55099 Mainz