

Laktaatin mittaus kudosnesteestä biosensorin avulla kestävyysurheilussa

TkK-tutkielma
Turun yliopisto
Bioteknologian laitos
Biotekniikka
Maaliskuu 2025
Milja Väättäjä

Hyödynsin tämän tutkielman tekemisessä ChatGPT:tä hakulausekkeiden muodostamiseen lähdeartikkeleita etsiessä sekä kielen oikeellisuuden ja sopivien ilmaisujen muotoiluun.

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

TURUN YLIOPISTO

Bioteknologian laitos

MILJA VÄÄTÄJÄ: Laktaatin mittaus kudostesteistä biosensorin avulla
kestävyysurheilussa

TkK-tutkielma, 18 s

Biotekniikka

Maaliskuu 2025

Turun yliopiston laatuvarmistuksen mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Laktaatin määrä elimistössä korreloi elimistön happamuuden kanssa, ja tätä yhteyttä käytetään hyödyksi urheilumaailmassa. Laktaatin mittaus on erityisesti kestävyysurheilussa laajalti käytetty menetelmä, jolla selvitetään, kuinka koville elimistö joutuu harjoituksissa tai suorituskykytesteissä sekä optimoidaan harjoittelu oikeilla tehoalueilla.

Nykyisin laktaatin mittaus urheilijan harjoittelun yhteydessä tehdään verestä kannettavalla laktaattimittarilla. Tämä on toimiva menetelmä, mutta ei kovin käytännöllinen. Näytteenotto on invasiivista, mikä aiheuttaa kipua ja kudostraumaa. Tiedetään, että laktaattia päätyy aineenvaihduntatuotteena veren lisäksi myös kudostesteeseen. Tiettyjen spesifisten biosensorien avulla on mahdollista määrittää laktaattipitoisuutta myös kudostesteistä. Minimaalisen invasiivinen tai ei-invasiivinen määrittäminen olisi urheilijalle miellyttävämpää ja mahdollistaisi tarkemmat määrittämiset olosuhteista riippumatta. Minimaalisen invasiivinen mikroneulamääritys sekä ei-invasiivinen käänteis-iontoforeesimääritys ovat tämän hetken tutkimustiedon mukaan lupaavimpia määrittämenetelmiä laktaatin mittaukseen kudostesteistä. Mikroneulamääritykseen perustuvat biosensorit voidaan jakaa tarkemmin vielä elektronien kuljetustavan mukaan ensimmäisen, toisen ja kolmannen sukupolven sensoreihin, joista kaikkiin liittyy omat haasteensa ja etunsa.

Isoimmat haasteet liittyvät juuri mittauksen reaaliaikaisuuteen sekä käytännöllisyyteen. Vielä ei ole löydetty eikä kehitetty urheilumaailmaan täysin sopivaa kudostestistä mittaavaa biosensoria, mutta mikroneulamääritys ja käänteis-iontoforeesimääritys ovat tähän tarkoitukseen lupaavia menetelmiä. Jotta tarkka, reaaliaikainen ja käytännöllinen laite saadaan kehitettyä ja tuotua urheilijoiden käyttöön, vaaditaan kuitenkin vielä runsaasti tutkimus- ja tuotekehitystyötä.

Avainsanat

laktaatti, urheilu, kudosteste, biosensori

Sisällys

1	Johdanto	2
2	Laktaatti urheilussa	4
3	Mittaustavat ja biosensoryypit.....	6
3.1	Minimaalisesti invasiivinen monimikroneulamääritys	6
3.1.1	Ensimmäisen sukupolven biosensorit	7
3.1.2	Toisen sukupolven biosensorit.....	8
3.1.3	Kolmannen sukupolven biosensorit	10
3.2	Ei-invasiivinen käänteis-iontoforeesimääritys	10
4	Tulevaisuus ja kaupalliset näkymät	13
4.1	Edut	13
4.2	Haasteet	14
5	Yhteenveto	15
6	Lähteet	17

1 Johdanto

Laktaatti on elimistössä energia-aineenvaihdunnan seurauksena syntyvä pieni polaarinen molekyyli, jota muodostuu jatkuvasti. Laktaatti on maitohapon anioni ja laktaatilla on kaksi optista isomeeriä, L ja D, joista l-laktaattia muodostuu elimistössä. Elimistö käyttää laktaattia energialähteenä muun muassa lihaksissa, aivoissa ja sydämessä. Laktaattia muodostuu nopeammin ja enemmän terveystilan tietynlaisen heikkenemisen yhteydessä sekä kovan liikunnan seurauksena. Elimistön energiankulutus kasvaa urheilusuorituksen intensiteetin kasvaessa. Aerobisen energia-aineenvaihdunnan ylläpitämiseksi tarvitaan happea, mutta kun elimistö ei pysty enää kuljettamaan riittävästi happea lihaksille, muuttuu energia-aineenvaihdunta anaerobiseksi ja laktaattia muodostuu runsaammin. (Freeman ja muut 2023; Hall ja muut 2016.)

Terveen ihmisen laktaattipitoisuus levossa on noin 1–2 mmol/l sekä veressä että kudospasteissa. Biomolekyylien pitoisuudet veressä ja kudospasteissa ovat yhteydessä toisiinsa ja erityisen vertailukelpoisia pitoisuudet ovat laktaatin kaltaisilla pienillä polaarilla molekyyliillä, jotka pääsevät diffundoitumaan matriisien välillä parasellulaarisesti solujen välistä (Freeman ja muut 2023; Ming ja muut 2022). Kovan urheilusuorituksen aikana laktaattikonsentraatio voi nousta kuitenkin jopa yli 20 mmol/l (Bollella ja muut 2019).

Tietoa siitä, että laktaatin muodostuminen elimistössä kiihtyy selkeästi energia-aineenvaihdunnan muuttuessa anaerobiseksi, käytetään hyväksi kestävyysurheilussa. Tehoharjoituksissa seurataan laktaatin käyttäytymistä, jotta harjoitus osataan tehdä juuri oikealla intensiteetillä. Nykyiset laktaattimittarit ovat invasiivisia, verinäyte otetaan sormenpästä tai korvolehdestä. Urheilija voi joutua pistämään pistolansetilla sormesta jopa kymmenen kertaa yhden harjoituksen aikana, jotta saa haluamansa laktaattimittaukset tehtyä. Tämä aiheuttaa kivun lisäksi haasteita myös siinä, että verinäytteeseen sekoittuu helposti hikeä tai ihon mikrobeja, jolloin laktaattiarvot ovat virheellisiä. Lisäksi laktaattiliuskat ovat suhteellisen kalliita. Ongelmana liuskojen kanssa on myös niiden herkkyys säilytyksessä. Laktaattiliuskat tulee säilyttää tietyssä lämpötilassa ja valolta suojattuna. Tässä tutkielmassa tarkastellaan laktaatin mittausta urheilun kenttäolosuhteissa, ei laboratorioissa, minkä takia laktaattiarvon määrittämistä laboratoriokäyttöisellä laktaattianalysaattorilla ei käsitellä.

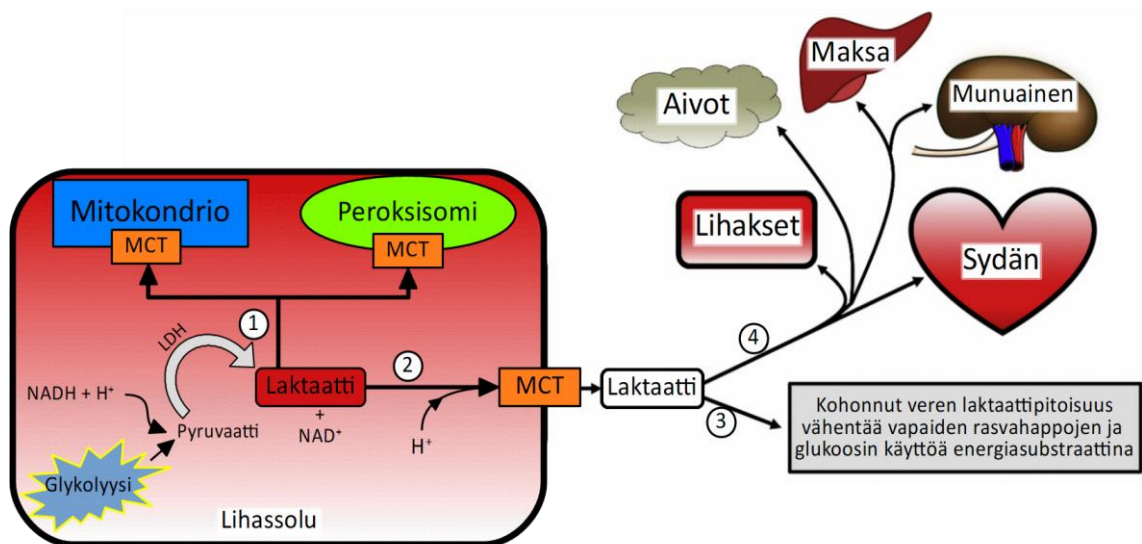
Yllä mainittujen syiden takia olisikin käytännöllisempää mitata laktaattia minimaalisen invasiivisesti tai ei-invasiivisesti biosensorin avulla suoraan kudospaineteestä. Monimikroneulamääritykset sekä täysin ei-invasiivinen käänteis-iontoforeesimääritys ovat lupaavia määrittystekniikoita laktaattimittaukseen. Molemmat määritykset perustuvat entsyymaattisiin reaktioihin yhdistettynä sensorin amperometriseen muuntimeen. Laktaatinmittauksessa on käytetty useita analyttisiä menetelmiä kuten amperometriaa, potentiometriaa, kemiluminesenssia, korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa ja magneettiresonanssispektroskopiaa. Näistä menetelmistä laktaatinmittaukseen käytettävissä biosensoreissa parhaimmaksi on osoittautunut amperometrisen muuntimen käyttö. Muunnin tuottaa sähköisen signaalin biotunnistuksen seurauksena ja amperometrinen muunnin on osoittautunut muihin muuntimiin verrattuna tarkimmaksi ja kustannustehokkaimmaksi. (Bollella ja muut 2019.)

Muuntimen lisäksi sensorin tärkeä osa on biologinen tunnistin, joka vastaa analyytin spesifisestä tunnistuksesta eli sitoo laktaatin sensoriin ja reagoi sen kanssa. Yleisimmin biologisena tunnisteena käytetään laktaattioksidaasia, joskus myös laktaattidehydrogenaasia. Laktaattioksidaasi on entsyymi, joka katalysoi laktaatin hapettumista pyruvaatiksi. Hapettumisessa irronneet vetyionit vastaanottaa sensorista riippuen joko vesimolekyyli tai tietty välittäjä. Vesi pelkistyy vetyperoksidiksi tai välittäjän tapauksessa välittäjä pelkistyy. Molemmat ovat elektroaktiivisia yhdisteitä, jotka voidaan hapettaa tai pelkistää elektrodilla, jolloin riittävän jännitteen vallitessa syntyy sähkövirta, joka on suoraan verrannollinen laktaatin pitoisuuteen näytteessä. (Bollella ja muut 2019; Bonaventura ja muut 2015.)

Laktaattimittarille tärkeimpiä ominaisuuksia ovat riittävä, yhden desimaalin, tarkkuus ja mahdollisimman lyhyt viive mittauksen ja tuloksen saamisen välillä. Viive ei saisi olla muutamaa kymmentä sekuntia pidempi, jotta urheilija pystyy määrittämään laktaattiarvon sujuvasti vetoharjoituksen palautusten välissä. Sensorin pitäisi olla pieni ja mahdollisimman huomaamaton, jottei se häiritse urheilu suoritusta (Bonaventura ja muut 2015). Tässä tutkielmassa avataan laktaatin mittauksen merkitystä kestävyysurheilussa ja käsitellään tulevaisuuden biosensorien potentiaalisimpia määrittymekanismejä. Tutkielma perustuu uusimpiin tutkimustuloksiin bioteknologian ja urheilulääketieteen aloilta.

2 Laktaatti urheilussa

Laktaatinmittaus on urheilussa ja erityisesti kestävyysurheilussa laajalti käytetty menetelmä sekä selvittämään, kuinka kovi elimistö joutuu harjoituksessa tai testissä, että optimoimaan harjoittelun oikeilla tehoalueilla. Jotta voi ymmärtää laktaatinmittauksen merkityksen urheilussa, pitää ymmärtää, miksi elimistössä ylipäänsä muodostuu laktaattia. Ymmärrys laktaatin merkityksestä energia-aineenvaihdunnassa on usein virheellinen. (Hall ja muut 2016). Laktaatin kuvitellaan aiheuttavan lihasten väsymisen kovan urheilusuorituksen aikana. Todellisuudessa näin ei kuitenkaan ole, vaan laktaatti on aineenvaihduntatuote, jota elimistö käyttää energianlähteenä. Laktaattia käytetään energianlähteenä lihaksissa, sydämessä, aivoissa, maksassa ja munuaisissa (Kuva 1).



Kuva 1 Laktaatin muodostuminen lihassolussa ja kulkeutuminen solujen välillä energia-aineenvaihdunnassa. 1. Solunsisäinen laktaatin kulkureitti, jossa laktaatti kuljetetaan monokarbonsyalaattikuljetusproteiinin (MCT) kautta mitokondrioihin hapettuen siellä tai peroksisomeihin pelkistyneen nikotiiniamidiadeniinidinukleotidin (NADH) uudelleenhapettamiseksi. 2. Laktaatin ja yhden vetyionin kuljetus solusta ulos MCT:n kautta 3. Signaalintiprosessi, jonka avulla vapaan rasvan ja glukoosin hyödyntäminen soluissa säännellään vähäiseksi. 4. Laktaatin hyödyntäminen energianlähteenä sydämessä, aivoissa, munuaisissa, maksassa ja muissa lihassoluissa. LDH=laktaattidehydrogenaasi; NAD⁺=hapettunut nikotiiniamidiadeniinidinukleotidi (Hall ja muut 2016)

Laktaattia muodostuu elimistössä pienissä määrin jatkuvasti energia-aineenvaihdunnan seurauksena. Solujen toiminta vaatii energiaa, mutta solut eivät pysty hyödyntämään ravinnosta saatua energiaa suoraan sellaisenaan, joten energia on ensin sidottava adenosiinitrifosfaatti (ATP) -molekyyleihin useiden monimutkaisten kemiallisten reaktiosarjojen avulla. Levossa ja kevyellä teholla liikkeessa lähes kaikki ATP muodostuu aerobisesti ravintoaineisiin varastoituneen energian ja hapen avulla. Kun

urheillessa teho nousee, lihakset tarvitsevat toimiakseen enemmän energiaa ja ATP:ta pitää muodostaa nopeammin. Tällöin myös happea tarvitaan enemmän. Jokaisen ihmisen hengitys- ja verenkiertoelimistön kapasiteetti on kuitenkin rajallinen, joten urheilusuorituksen tehon tai pituuden kasvaessa osa ATP:sta on tuotettava anaerobisesti (Hall ja muut 2016).

Anaerobisessa aineenvaihdunnassa syntyy aineenvaihduntatuotteena vetyioneja (H^+) ja laktaattia, joista vetyionit ovat solujen toiminnalle haitallisia eikä laktaatti, kuten useissa yhteyksissä virheellisesti ajatellaan. Vetyionien kertyessä elimistöön elimistön happamuus lisääntyy eli pH-pitoisuus laskee. Tätä tilaa kutsutaan metaboliseksi asidoosiksi, jolloin elimistön homeostaasi järkkyy ja soluilla ei ole optimaalinen toimintaympäristö, mikä ilmenee urheilusuorituksen aikana väsymyksenä aiheuttaen lihasten kangistumisen lisäksi esimerkiksi kognitiivisten kykyjen ja tasapainon heikkenemistä, minkä takia suoritustekniikka hajoaa helpommin. (Robergs ja muut 2004)

Suorituskyvyn kannalta keskeistä on, kuinka paljon ATP:ta tuotetaan anaerobisesti, sillä tämä vaikuttaa suoraan myös aineenvaihduntatuotteiden määrään. Matalilla tehoilla laktaatti ja happamuus poistuvat elimistöstä yhtä nopeasti kuin niitä syntyy, mutta tehon noustessa riittävästi niiden kertyminen kiihtyy sitä enemmän, mitä intensiivisemmin ja pidempään liikuntaa jatketaan. Suorituskyvyn raja, jonka ylittämisen jälkeen laktaatin ja happamuuden muodostuminen ylittää niiden poistokyvyn, tunnetaan anaerobisena kynnyksenä. Juuri tämä kynnyks onkin usein keskeinen kestävyysurheilussa silloin, kun mitataan laktaattia. Jo 1970-luvulla Kindermann tutkimusryhmineen (1979) esitteli kynnyksarvojen ja suorituskyvyn arvioimisen yhteyden. Kuitenkin vasta 2010-luvulla kynnysharjoittelu sai suurta näkyvyyttä ja yleistyi huippukestävyysjuoksijoiden keskuudessa, kun kynnysharjoitteluun sekä laktaatin tarkkaan ja toistuvaan seuraamiseen perustuvaa harjoittelua hyödyntäneet norjalaiset Ingebritsenin veljekset alkoivat menestyä yleisurheilun kestromatkoilla (Casado ja muut 2023).

Kynnysharjoittelu perustuu juuri anaerobisen kynnyksen tuntumassa eli noin laktaattiarvoilla 2–4,5 mmol/l tehtyyn intervalliharjoitteluun. Intervalliharjoituksia tehdään määrällisesti paljon, mutta niiden teho ei ole maksimaalinen. Juuri sen takia, että teho ei ole maksimaalinen, elimistö palautuu edellisestä intervalliharjoituksesta suhteellisen nopeasti ja näin ollen harjoituksia voi tehdä kaksikin saman päivän aikana (Casado ja muut 2023). Jotta harjoittelusta on hyötyä, on tärkeää tehdä harjoitukset juuri

oikealla teholla. Erityisen tärkeää on, että yksittäisessä harjoituksessa ei puristeta liian kovaa. Tällöin laktaatinmittauksen merkitys korostuu. Laktaatti on parametri, joka pysyy eri päivinä lähes samoissa arvoissa, toisin kuin esimerkiksi sydämen syke, jossa saattaa olla huomattaviakin vaihteluja eri päivinä tai eri olosuhteissa (Achten ja Jeukendrup 2003). Optimoidakseen harjoittelun laadun ja palautumisen tehokkuuden urheilijat ovat alkaneet suosia laktaattiarvojen säännöllistä seuraamista.

3 Mittaustavat ja biosensorityypit

3.1 Minimaalisesti invasiivinen monimikroneulamääritys

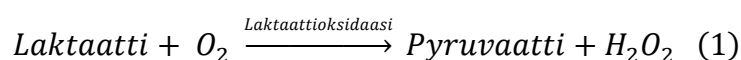
Monimikroneulasensori (engl. microneedle array) tarkoittaa minimaalisesti invasiivista laitetta, joka asetetaan ihon pinnalle niin, että sen pinnalla olevat ohuet mikroneulat lävistävät kivuttomasti ihon marraskeden. Näin mikroneulat ovat yhteydessä kudostesteeseen ja pystyvät reagoimaan kudostesteen sisältämien biomolekyylien kanssa. Monimikroneulamääritystä käytetään perinteisesti lääketieteessä lääkkeiden kuljettamiseen kudostesteeseen ja sitä kautta verenkiertoon. (Donnelly ja muut 2012) Monimikroneulasensori koostuu levystä, jossa on limittäin useita pieniä neuloja. Mikroneulat voivat olla pituudeltaan 50-1200 µm riippuen käyttötarkoituksesta (Bollella ja muut 2019; Donnelly ja muut 2012; Freeman ja muut 2023; Zhong ja muut 2024). Erittäin ohuiden neulojen ansiosta biosensori ei aiheuta juurikaan kipua ja infektoriski on minimaalinen. Sormenpäältä tai korvalehdestä otettuun verinäytteeseen verrattuna monimikroneulasensorin käyttö aiheuttaa huomattavasti vähemmän kudovauriota (Bollella ja muut 2019). Ei-invasiiviseen määrittelyyn verrattuna minimaalisesti invasiiviseen määrittelyyn liittyy kuitenkin pieni riski ihottumasta tai infektiosta.

Monimikroneulateknologiaa hyödyntäviä laktaattibiosensoreita on tutkittu useampia erilaisia (Bollella ja muut 2019; Freeman ja muut 2023; Zhong ja muut 2024). Nämä perustuvat kaikki samaan tapaan lävistää iho monimikroneulalevyn avulla, sekä biosensorin elektrodeilla tapahtuviin hapetus-pelkistymisreaktioihin. Kaikki alla esitellyt eri biosensorityypit käyttävät biologisena tunnistimena laktaatioksidaasientsyymiä. Laktaatioksidaasin käyttö tunnistimena on toistaiseksi ollut toimivin tapa sensorissa, mutta yksi heikkous siihen liittyy. Käyttäessä entsyymejä mikroneulapohjaisten sensorien tunnistuselementtinä tarvitaan välittäjä muuttamaan analyytti-spesifinen vuorovaikutus sähköiseksi signaaliksi (Freeman ja muut 2023). Sensorit voidaan kuitenkin jaotella sen

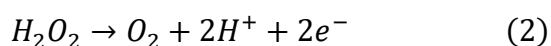
mukaan, millaisia kemiallisia reaktioita hyödyntävät elektronien siirtämiseen elektrodille sitten, kun laktaatti on reagoanut biologisen tunnistimen kanssa. Sensorit jaetaan tämän perusteella ensimmäisen, toisen ja kolmannen sukupolven biosensoreihin.

3.1.1 Ensimmäisen sukupolven biosensorit

Ensimmäisen sukupolven monimikroneulasensori ([Kuva 2](#)) perustuu laktaattioksideasin katalysoimaan laktaatin hapettumisreaktioon pyruvaatiksi, jossa happi pelkistyy mahdollistaen vetyperoksidin (H_2O_2) muodostumisen (1):

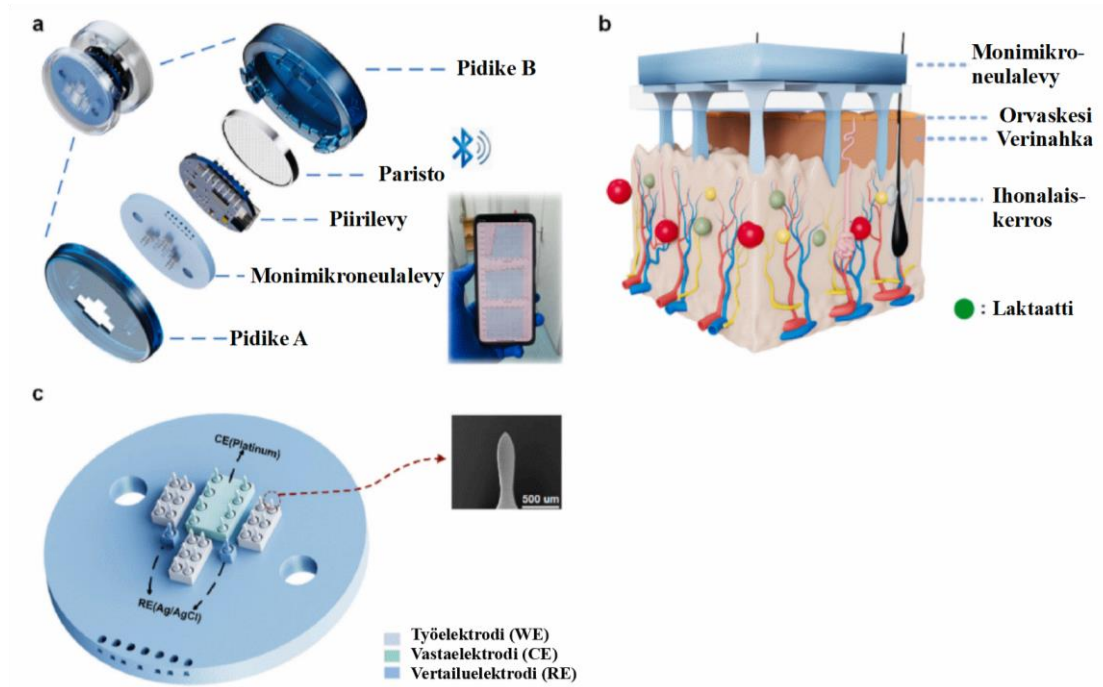


Riittävän jännitteen, 0,6 V, vallitessa vetyperoksidi hapettuu (2) työelektrodilla synnyttäen kennolle sähkövirran ja aiheuttaen sähköisen signaalin, jonka suuruus on suoraan verrannollinen laktaatin konsentraatioon.



Sähkövirran muodostamista varten kennossa käytetään tri-elektrodisysteemiä, jossa on sekä työ- että vastaelektrodina platinaelektrodi, ja vertailuelektrodina hopea-hopeakloridielektrodi. Sähkökemialliset reaktiot tapahtuvat monimikroneulalevyllä. Lisäksi biosensori tarvitsee toimiakseen piirilevyn sekä pariston, ja nämä kaikki voidaan pakata kuorien sisään. Tällöin biosensorista tulee suunnilleen kolikon kokoinen kokonaisuus, joka voidaan asettaa iholle, jossa se on lähes huomaamaton (Zhong ja muut 2024.)

Ongelma ensimmäisen sukupolven biosensorissa on vetyperoksidin hapettuminen työelektrodilla, mihin vaaditaan voimakas sähköisen potentiaali. Tällöin tapahtuu herkästi sivuhapettumisia, koska kudosneste sisältää useita muitakin molekyyliä, jotka hapettuvat matalalla jännitteellä. Tällaisia ovat esimerkiksi askorbiinihappo ja parasetamoli (Freeman ja muut 2023). Sivuhapettumiset aiheuttavat virhettä sähköisen signaalin syntyyn ja vääristää laktaattiarvoa.



Kuva 2 Ensimmäisen sukupolven biosensorin rakenne a) Räjähdytyskuva rakenteesta ja osista b) Lämpileikkaus sensorin neurojen lävistäessä ihon marraskeden c) Monimikroneulalevy ja elektrodit (muokattu kuvasta Zhong ja muut, 2024)

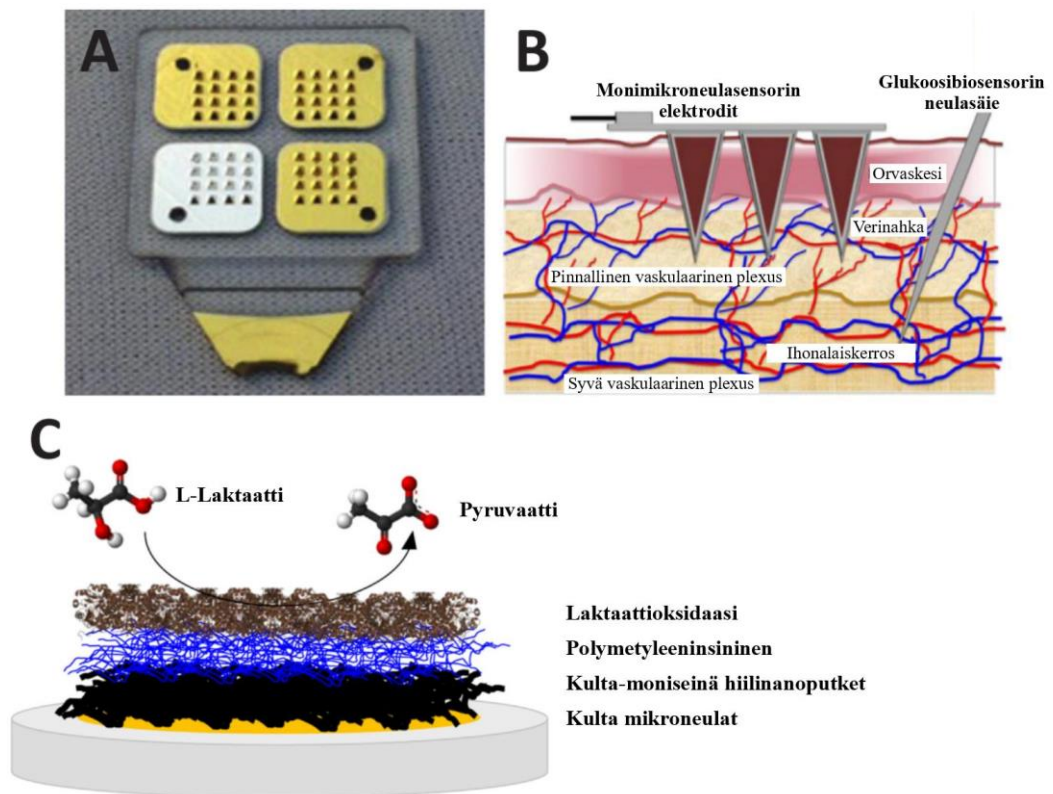
3.1.2 Toisen sukupolven biosensorit

Bollella tutkimusryhmineen (2019) kehitti ja testasi *in vitro* toisen sukupolven monimikroneulasensoria. Toisen sukupolven sensoreissa hapen sijaan pelkistetään välittäjä, jotta laktaatti voi hapettua pyruvaatiksi. Välittäjä tulee olla sellainen aine, joka hapettuu helposti, mutta välittäjä ei kuitenkaan saa reagoida näytteen molekyylin kanssa. Tämän tutkimuksen sensorissa välittäjänä käytettiin metyleenisinistä. Välittäjää käyttäessä laktaatin hapettumisreaktiossa ei synny lainkaan vetyperoksidia. Tällöin elektrodilla tarvitaan matalampi jännite kuin vetyperoksidin hapettumiseen, jolloin hapettuminen on spesifimpää niin, että vain metyleenisininen hapettuu. Välittäjää käyttäessä tapahtuu siis vähemmän sivuhapettumisia, jolloin laktaattiarvo on tarkempi ja virhemarginaali pienempi.

Kyseisessä sensorissa (Kuva 3) (Bollella ja muut 2019) käytettiin polykarbonaatista valmistettuja ja kullalla (työelektrodi) tai hopealla päällystettyjä mikroneuloja, jotka on funktionalisoitu moniseinäisillä hiilinanoputkilla (engl. multiwalled carbon nanotubes), mikä parantaa elektrodin elektroaktiivista pinta-alaa ja sähköistä siirtonopeutta. Tämän kerroksen päälle on polymerisoitu välittäjä metyleenisininen. Välittäjän päälle immobilisoidaan vielä laktaattioksidaasi. Elektrodin geometria mahdollistaa suuremman virran ja nopeamman molekyylin kulkeutumisen elektrodin pinnalle verrattuna

tasapintaiseen elektrodiin. Välittäjän välittämä elektronikuljetus tapahtuu näiden neurojen pinnoilla, synnyttäen sensorissa sähköisen signaalin, joka on suoraan verrannollinen laktaattiarvoon.

Sensorin toimivuutta arvioitiin vain *in vitro* sekä ihmisen seerumissa sekä keinotekoisessa kudostesteissä. Keinotekoisessa kudostesteissä biosensorin suorituskyky ja herkkyys olivat parempia verrattuna ihmisen seerumiin, jossa määritettyihin arvoihin tuli virhettä biologisen likaantumisen seurauksena, mutta tulokset olivat kuitenkin riittävän hyviä osoittamaan sensorin potentiaalinen reaaliaikaisessa ja jatkuvassa laktaatin mittauksessa urheilukäytössä. Sensorin tarkkaan suunniteltu geometria yhdistettynä välittäjän ominaisuuksiin mahdollisti, että laktaattiarvot saatiin mitatuksi vain 0,15 V jännitteellä. Matala jännite minimoi sivuhapettumiset ja mahdollistaa tarkimmat tulokset. (Bollella ja muut 2019)



Kuva 3 Toisen sukupolven laktaattibiosensorin rakenne ja toimintaperiaate. a) Monimikroneulalevy b) Monimikroneulasensorin neurojen sijoittuminen iholle verrattuna perinteisen glukoosibiosensorin yhteen neulaan poikkileikkauksena c) Kultaelektrodi, jonka pinnalla on välittäjä ja laktaattioksidasi (muokattu kuvasta Bollella ja muut, 2019)

3.1.3 Kolmannen sukupolven biosensorit

Ensimmäisen ja toisen sukupolven biosensorit vaativat toimiakseen hapetus-pelkistysreaktiot, jotta sensorin elektrodille saadaan vapaita elektroneja. Hapetus-pelkistysreaktiot perustuvat useimmiten laktaattioksidaasin katalysoimaan laktaatin hapettumisreaktioon. Kolmannen sukupolven biosensorin idea onkin, että tällaisia hapetus-pelkistysreaktioita ja laktaattioksidaasia ei tarvita, vaan elektronit kuljetetaan suoraan tietyltä entsyymiltä mikroneulojen elektrodeille. Näin päästään myös eroon tietyissä pitoisuuksissa ihmiselle myrkyllisestä välittäjästä, metyleeninsinisestä, jota käytetään toisen sukupolven monimikroneulasensorissa. Freeman tutkimusryhmineen (2023) kehitti kolmannen sukupolven laktaattibiosensorin, jossa elektronienkuljettajaentsyymi immobilisoitiin mikroneulan pinnalle. Entsyyminä käytettiin lactazyme-entsyymiä.

Freeman tutkimusryhmineen (2023) testasi laktaattibiosensorin toimivuutta pienellä vapaaehtoisten koeryhmällä *in vivo* ja tulokset olivat pääosin lupaavia. Kolmannen sukupolven laktaattibiosensorin tuloksia verrattiin verinäytteistä mitattuihin laktaattiarvoihin. Viidestä eri henkilöllä toteutetusta testistä kahdessa saatiin erittäin yhtäläisiä tuloksia sekä kudospainosta biosensorilla mitattujen ja verestä perinteisellä tavalla määritettyjen arvojen välillä. Kahdessa muussa tulosten vastaavuus oli hyvällä tasolla, mutta yhdessä testissä tulokset eivät vastanneet toisiaan. Selkeänä heikkoutena laajempaan käyttöön Freemanin ja tutkimusryhmänsä tutkimuksessa kehittämässä laktaattibiosensorissa oli epäkäytännöllisyys. Nykyisessä muodossaan laitteen käyttö vaatii monien sähköjohtojen kiinnittämistä mitattavan henkilön ja laitteiston välille, minkä takia laite ei sovellu päivittäiseen käyttöön. Elektronisten komponenttien minimalisointi sekä laitteen yhdistäminen langattoman yhteyden avulla ovat kehitteillä, jolloin biosensorista saataisiin soveltuva laktaatin mittaukseen urheilijoiden harjoitusarjessa.

Kolmannen sukupolven sensorin yksi ehdoton etu on sen toimiminen todella matalilla jännitteillä, vain 0,2 V, mikä minimoi sivuhapettumiset ja parantaa laitteen spesifisyyttä ja tarkkuutta (Freeman ja muut 2023).

3.2 Ei-invasiivinen käänteis-iontoforeesimääritys

Iontoforeesi tarkoittaa pienen, spesifin sähkövirran kohdistamista iholle. Sähkövirta ohjaa kudospainon varautuneita molekyyliä niiden varauksen perusteella joko katodia

tai anodia kohti. Iontoforeesia käytetään esimerkiksi lääkeaineiden annosteluun paikallisesti. (Leboulanger ja muut 2004.)

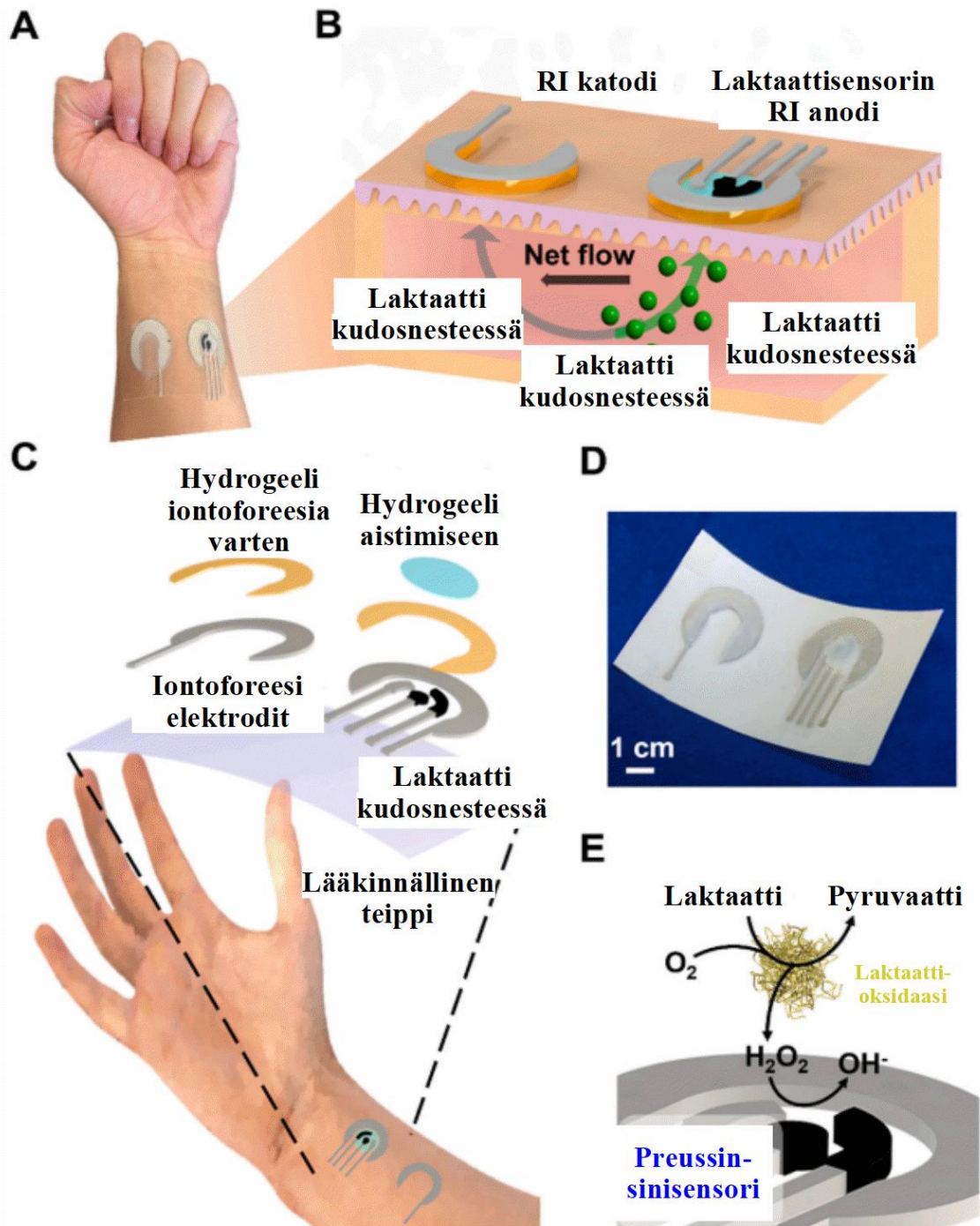
Käänteis-iontoforeesi (engl. reverse iontophoresis, RI) tarkoittaa puolestaan molekyylien kuljettamista päinvastaiseen suuntaan kuin iontoforeesissa eli molekyyliä uutetaan ihon läpi ihon pinnalle, ulos kehosta. Tämän takia menetelmä sopii hyvin analyyttisiin tarkoituksiin ja aineiden pitoisuuksin mittaamiseen elimistössä. RI perustuu sekä elektroosmoosiin että elektromigraatioon, joiden seurauksena positiivisesti varautuneet molekyylit (kationit) sekä neutraalit molekyylit liikkuvat katodia kohti ja negatiivisesti varautuneet molekyylit (anionit) anodia kohti. (De La Paz ja muut 2023; Leboulanger ja muut 2004.)

Käänteis-iontoforeesiin perustuva laktaattibiosensorisi olisi ainutlaatuinen siinä, että se olisi täysin ei-invasiivinen. Näin ollen laktaattiarvon määrittämiseksi ei tarvitse rikkoa ihoa. Haasteena on kuitenkin mittauksessa iholle kohdistettava sähkökenttä, joka voi ärsyttää ihoa ja aiheuttaa ihottumaa. 2000-luvun alussa kehitetyn RI-pohjaisen glukooisensorin käytössä ihoärsytys oli ongelma, joka yhdessä muiden laitteeseen liittyvien käyttöhaasteiden summana johti laitteen poistumiseen markkinoilta vuonna 2007 (Giri ja muut 2017).

De la Paz (2023) tutkimusryhmineen kehitti RI-pohjaisen laktaattibiosensorilaastarin, joka kiinnitetään käsivarteen ([Kuva 4](#)). Laite on kooltaan pieni, joten sen käyttö on miellyttävää eikä se häiritsisi urheiluharjoittelussa. Tämä laastari rakennettiin haavateipin päälle, ja se koostui kahdesta iontoforeettisesta elektrodista, kahdesta hydrogeelimuunnoksesta (agaroosi ja polyvinyylialkoholi) sekä laktaattioksideasipohjaisesta sensoriosasta.

Laastaribiosensorin toimivuutta testattiin vain levossa olevilla henkilöillä ja tutkimuksessa käsiteltiin lähtökohtaisesti laktaattibiosensorilaastarin potentiaalia terveydenhuollon käytössä (De La Paz ja muut 2023). RI-pohjainen laktaattibiosensori herättää kuitenkin lupauksia, että sitä voisi käyttää urheilumaailmassakin. Se vaatisi kuitenkin jatkotutkimuksia ja tuotteen tarkempaa kehittämistä kyseiseen käyttötarkoitukseen, sillä toistaiseksi isoin haaste liittyy reaaliaikaisuuteen. Tutkimuksessa (De La Paz ja muut 2023) toteutetussa *in vivo* mittauksessa laktaatin uuttamiseen kudoksenesteestä kului aikaa 10 minuuttia, jolloin mittaus ei ole reaaliaikaista.

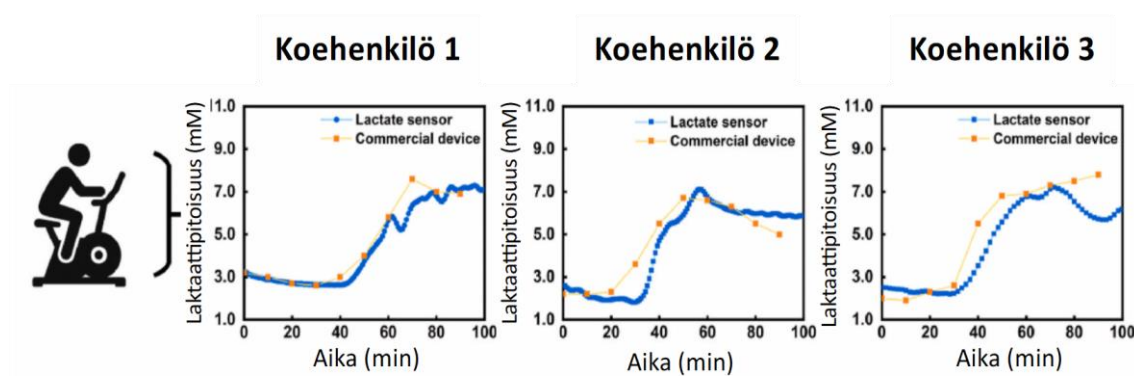
Reaaliaikaisuus olisi välttämätön ominaisuus urheilukäytössä, missä ei ole hyötyä, jos laktaattiarvon saaminen kestää useita minuutteja mittaushetkestä.



Kuva 4 Ei-invasiivinen käänteis-iontoforeesipohjainen laastari, joka sisältää laktaattibiosensorin a) Havainnollistava kuva biosensorilaastarista käsivarressa b) Käänteis-iontoforeesin mekanismi laktaatin uuttamiseen kudosteesta. Laktaatti kulkeutuu anodia kohti, missä varsinainen laktaattibiosensori sijaitsee c) Räjätyskuva biosensorilaastarin yksittäisistä osista d) Hahmotelma biosensorilaastarista ennen sen asettamista iholle e) Entsyymireaktio, johon laktaatin määrittäminen perustuu. RI=käänteis-iontoforeesi (De La Paz ja muut 2023, muokattu)

4 Tulevaisuus ja kaupalliset näkymät

Kudosnesteestä laktaattia mittaavat biosensorit voivat tarjota merkittäviä etuja kestävyysurheilussa, jossa suorituskyvyn ja palautumisen tarkka seuranta on keskeistä. Jo nykypäivänä laktaatinseurantaan perustuvalla harjoittelulla ollaan saavutettu huimia tuloksia (Casado ja muut 2023; Dobashi ja muut 2023). Reaaliaikainen laktaattimittaus auttaisi urheilijoita ja valmentajia optimoimaan harjoittelun intensiteettiä, mikä tukee suorituskyvyn kehitystä ja nopeampaa palautumista. Kudosnesteestä mittaavat laktaattibiosensorit ovat osoittaneet jo lupaavia tuloksia tutkimuksissa ([Kuva 5](#)).



Kuva 4 Kudosnesteestä mittaavan ensimmäisen sukupolven monimikroneulasensorin ja tällä hetkellä markkinoilla olevan verestä laktaattia mittaavan laktaattimittarin vertailu. (Zhong ja muut 2024, muokattu)

4.1 Edut

Kudosnesteestä mittaavien laktaattimittarien etu olisi niiden minimaalisesti invasiivinen tai ei-invasiivinen luonne. Tämä minimoi kivun ja kudonvaurion syntymisen sekä infektoriskin. Sensorin käyttö laktaattiliuskoja hyödyntävään perinteiseen mittariin verrattuna on myös yksinkertaisuus, kun mittari ei koostu erikseen piirilevyn sisältävästä osasta, laktaattiliuskoista ja lisäksi vielä näytettä varten tarvitaan pistolansetti. Sensori koostuisi vain yhdestä kompaktista osasta, mikä kiinnitettäisiin iholle ja se kulkisi siinä urheilijan mukana harjoituksen ajan.

Kaupallisesta näkökulmasta biosensoreiden potentiaali on ehdottomasti niiden helppokäyttöisyydessä. Lisäksi mahdollisuus yhdistää biosensorit älylaitteisiin, kuten urheilukelloihin ja puhelinosoittimiin. Laitteiden avulla kerätty data voisi auttaa urheilijoita ja valmentajia seuraamaan pitkäaikaisia kehitystrendejä ja mukauttamaan harjoitusohjelmia yksilöllisten tarpeiden mukaan.

Biosensoreilla on kasvava markkinapotentiaali myös valmennusryhmille ja urheiluseuroille, jotka hyötyisivät analytiikasta ja reaaliaikaisesta seurannasta. Erityisesti huippu-urheiluun keskittyvät organisaatiot voivat olla valmiita investoimaan suuriakin summia analyysilaitteisiin. Lisäksi laajemmassa kuvassa ihmiset ovat entistä kiinnostuneempia seuraamaan oman elimistönsä toimintaa ja keräämään siitä dataa esimerkiksi erilaisten urheilukellojen ja älysormusten avulla, joten myös muille fysiologisia ominaisuuksia mittaaville laitteille voisi olla kysyntää nyky-yhteiskunnassa.

Langattoman laktaattibiosensorin voisikin tulevaisuudessa yhdistää laajempiin mittausjärjestelmiin, jotka mittaavat yhtäaikaisesti laktaatin lisäksi muita suorituskyvyn ja palautumisen kannalta tärkeitä tekijöitä, kuten glukoosia ja elektrolyyttitasoja. Tekoäly tai vastaava analyysimenetelmä, mahdollistaa suurienkin tietomäärien käsittelyn ja yksilöllisten analyysien teon. Näin urheilija saisi seurattua helposti ja monipuolisesti suorituskykyyn ja palautumiseen vaikuttavia muuttujia.

4.2 Haasteet

Isoin haaste, joka liittyy kudostesteistä laktaattia mittaavien biosensorien kehittämiseen, on viive, joka syntyy, kun laktaattia mitataan kudostesteistä. Laktaatin määrittäminen kudostesteistä aiheuttaa viiveen sensorissa biomarkkerin havaitsemisessa verrattuna verinäytteisiin, mikä aiheuttaa ongelmia sensorin käyttämisessä urheilijan arjessa, jossa laktaattiarvo pitäisi saada määritettyä noin yhden minuutin kuluessa harjoituksen keskellä intervallien välisen palautumisajan aikana (Zhong ja muut 2024). Käänteis-iontoforesibiosensorilla määritetyt laktaattiarvot eivät olleet reaaliaikaisia, koska kudostäytteen keräämiseen ihon läpi meni 10 minuuttia (De La Paz ja muut 2023).

Se, pystyisikö tätä viivettä lyhentämään riittävästi, vaatii vielä lisätutkimusta. Jos halutaan mitata biomarkkeria juuri kudostesteistä, on tällä hetkellä se tehtävä sitä kautta, että sensori kalibroidaan veren avulla, mikä aiheuttaa viiveen. On myös epäselvää, kuinka vertailukelpoisia veren ja kudostestien laktaattiarvot ovat. Laktaatin siirtyminen verestä kudostesteeseen tapahtuu pääasiassa passiivisen diffuusion avulla, minkä takia laktaattiarvot ovat yhteydessä toisiinsa, mutta molekyylien kulkeutuminen aiheuttaa kuitenkin jonkinlaisen aikaviiveen verrattuna suoriin verinäytteisiin (Ming ja muut 2022). Muun muassa Dobashi tutkimusryhmineen (2023) pyrki selvittämään tätä yhteyttä eläinkokeiden avulla saaden tuloksiksi, että laktaattipitoisuus veressä ja kudostesteissä

ovat selkeästi yhteydessä urheilusuorituksen aikana, mutta ei enää suorituksen jälkeen elimistön palautuessa rasituksesta.

Myös mittaustarkkuuteen liittyy omat haasteensa, joita pyritään minimoimaan muun muassa vaikuttamalla jännitteen suuruuteen, mikä vaaditaan kennossa muodostuvan sähkövirran syntymiseen, ja näin minimoimaan tulosta väärentävät sivuhapettumiset. Biosensorin kalibrointi on keskeistä luotettavien ja tarkkojen tulosten saamiseksi. Miten kalibrointi toteutetaan ja miten kalibroinnissa osataan ottaa huomioon olosuhteen vaihtelut, ovat myös biosensoriin liittyviä haasteita.

Siihen, miten sensoria käytännössä käytettäisiin, liittyy vielä avoimia kysymyksiä. Olisi urheilijalle optimaalisinta, jos laktaattibiosensorin paikalleen asettaminen ja käyttö olisi vastaavanlaista kuin glukoosibiosensorin. Sensorin tulisi olla helppo asettaa iholle ja vaihtaa uuteen. Olisi kätevää, jos laktaattiarvot saisi luettua suoraan älypuhelimelta.

5 Yhteenveto

Vaikka laktaatin merkitystä ja syntytapoja elimistön energia-aineenvaihdunnassa ei vielä kukaan ymmärretä täysin, laktaatinmittauksen kehitys on ja tulee olemaan keskeinen osa kestävyysurheilun tulevaisuutta. Urheilumaailmassa on ymmärretty laktaatin mittaukseen perustuvan harjoittelun hyödyt ja laktaatinmittaus testien yhteydessä on lähes välttämätöntä huipulle tähtäävän urheilijan uralla.

Urheilupiireissä pyritään jatkuvasti optimoimaan entistä paremmaksi harjoitusohjelma, harjoitusolosuhteet, välineet ja urheilijan palautuminen harjoituksista. Kilpailu huipulla on erittäin kovaa ja pienet asiat ratkaisevat. Tämän takia urheilijat, valmentajat ja yhteistyökumppanit ovat valmiita investoimaan entistä helppokäyttöisempiin ja luotettavampiin analyysilaitteisiin, jos niiden avulla on mahdollista saada hyötyä urheilijan kehittymiselle.

Mikään tässä tutkielmassa käsitellyistä neljästä sensorityypistä ei vielä nouse toisia paremmaksi, vaan kaikki vaativat jatkotutkimusta ja tuotekehitystä. Monimikroneulalaktaattibiosensoreihin liittyy haasteita sivuhapettumisien hillinnässä ja kaikkia sensoreita ei ole edes kokeiltu vielä *in vivo*.

Tässä tutkielmassa käsitellyistä biosensorityypeistä minimaalisesti invasiivisista ensimmäisen sukupolven monimikroneulasensori osoitti toimivuutta *in vivo* testeissä,

mutta tarvitsi toimiakseen korkeimman jännitteen (0,6V), minkä seurauksena tuloksissa voi esiintyä virheellisyttä. Toisen sukupolven sensori toimi pienimmällä jännitteellä (0,15 V), jolloin sivuhapettumista tapahtuu vähiten. Sensoria ei ole kuitenkaan testattu vielä *in vivo*. Kolmannen sukupolven sensori toimi myös pienellä jännitteellä (0,2 V) ja ositti pienellä koeryhmällä tehdyissä *in vivo* kokeissa lupaavia tuloksia. Tällä hetkellä sensori on kuitenkin langallinen ja näin ollen epäkäytännöllinen käytössä. (Bollega ja muut 2019; Freeman ja muut 2023; Zhong ja muut 2024). Ei-invasiivinen käänteis-iontoforeesiin pohjautuva biosensori puolestaan ei ole toistaiseksi reaaliaikainen, mikä on este sensorin käytölle harjoituksen aikana, vaikka toistaiseksi saadut tulokset ovatkin olleet oikeansuuntaisia. Sensorin käyttöä ei ole kuitenkaan testattu kuin levossa olevilla henkilöillä, mikä jättää kysymyksiä, miten sensori reagoi laktaattiarvojen nopeaan nousuun urheilusuorituksen aikana. (De La Paz ja muut 2023.)

Vaikka nykyiset biosensorit ovat lupaavia, vielä on ratkaistavana useita kysymyksiä. Suurin kysymys ja haaste muodostuu sen ympärille, onko ylipäänsä mahdollista mitata laktaatin pitoisuutta kudospainosta reaaliaikaisesti ja jos on, mitä laktaatin pitoisuus kudospainossa kertoo lihasten happamuudesta kyseisellä ajanhetkellä. Osa tutkielmassa käytetyistä lähdeartikkeleista tarjosivat vastauksia tähän, mutta täysin selkeää ja johdonmukaista selitystä laktaatin käyttäytymisestä kudospainossa ei osattu vielä selittää. Lisäksi ratkaistavaa riittää käyttömukavuuteen vaikuttavissa tekijöissä, kuten minkä kokoinen biosensori on, kuinka usein ja miten se pitää vaihtaa. Myös kaupallistaminen tulisi vaatimaan tutkimusta ja kehitystä, jotta laktaattisensorien tuottaminen olisi kustannuksellisesti järkevää ja niille löytyisi riittävän laaja kuluttajaryhmä.

Reaaliaikainen laktaattimittausbiosensori voisi olla osana mahdollistamassa entistä tehokkaampaa, kivuttomampaa ja tarkempaa seuranta urheilijan harjoittelussa ja palautumisessa. Biosensorin avulla saatavien tietojen myötä kokonaiskuva urheilijan kuormittuneisuustilasta ja suorituskyvystä laajenisi ja tarkentuisi, minkä avulla harjoittelua voidaan hienosäätää entistä tehokkaammaksi ja yksilön tarpeet tarkoin huomioon ottavaksi, milloin todennäköisyys urheilijan kehittymiselle kasvaisi huomattavasti.

6 Lähteet

- Achten, J. & Jeukendrup, A. E. (2003) Heart Rate Monitoring: Applications and Limitations. *Sports Medicine* **33**:517–538.
- Bollella, P., Sharma, S., Cass, A. & Antiochia, R. (2019) Microneedle-based biosensor for minimally-invasive lactate detection. *BIOSENSORS & BIOELECTRONICS* **123**:152–159.
- Bonaventura, J. M., Sharpe, K., Knight, E., Fuller, K. L., Tanner, R. K. & Gore, C. J. (2015) Reliability and accuracy of six hand-held blood lactate analysers. *J Sports Sci Med* **14**:203–214.
- Casado, A., Foster, C., Bakken, M. & Tjelta, L. I. (2023) Does Lactate-Guided Threshold Interval Training within a High-Volume Low-Intensity Approach Represent the “Next Step” in the Evolution of Distance Running Training? *IJERPH* **20**:3782.
- De La Paz, E., Saha, T., Del Caño, R., Seker, S., Kshirsagar, N. & Wang, J. (2023) Non-invasive monitoring of interstitial fluid lactate through an epidermal iontophoretic device. *Talanta* **254**:124122.
- Dobashi, S., Funabashi, D., Sameshima, K., Tsuruoka, N. & Matsui, T. (2023, lokakuuta 25) Exercise intensity-dependent lactate elevation in skin interstitial fluid and its long-lasting effect. *Physiology*.
- Donnelly, R. F., Singh, T. R. R., Garland, M. J., Migalska, K., Majithiya, R., McCrudden, C. M., ... Woolfson, A. D. (2012) Hydrogel-Forming Microneedle Arrays for Enhanced Transdermal Drug Delivery. *Adv Funct Materials* **22**:4879–4890.
- Freeman, D. M. E., Ming, D. K., Wilson, R., Herzog, P. L., Schulz, C., Felice, A. K. G., ... Cass, A. E. G. (2023) Continuous Measurement of Lactate Concentration in

- Human Subjects through Direct Electron Transfer from Enzymes to Microneedle Electrodes. *ACS Sens* **8**:1639–1647.
- Giri, T. K., Chakrabarty, S. & Ghosh, B. (2017) Transdermal reverse iontophoresis: A novel technique for therapeutic drug monitoring. *Journal of Controlled Release* **246**:30–38.
- Hall, M. M., Rajasekaran, S., Thomsen, T. W. & Peterson, A. R. (2016) Lactate: Friend or Foe. *PM&R* **8**.
- Kindermann, W., Simon, G. & Keul, J. (1979) The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. *Europ J Appl Physiol* **42**:25–34.
- Leboulanger, B., Guy, R. H. & Delgado-Charro, M. B. (2004) Reverse iontophoresis for non-invasive transdermal monitoring. *Physiol Meas* **25**:R35–R50.
- Ming, D. K., Jangam, S., Gowers, S. A. N., Wilson, R., Freeman, D. M. E., Boutelle, M. G., ... Holmes, A. H. (2022) Real-time continuous measurement of lactate through a minimally invasive microneedle patch: A phase I clinical study. *BMJ Innov* **8**:87–94.
- Robergs, R. A., Ghiasvand, F. & Parker, D. (2004) Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **287**:R502–R516.
- Zhong, G., Liu, Q., Wang, Q., Qiu, H., Li, H. & Xu, T. (2024) Fully integrated microneedle biosensor array for wearable multiplexed fitness biomarkers monitoring. *Biosens Bioelectron* **265**:116697.