

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 17, 1979, pp. 721–724

## Lichtempfindlichkeit der Kreatinkinase in Kontrollseren

Von G. Weidemann, R. D. Schmid und L. Reichold

Institut für Klinische Chemie des Klinikums der Stadt Nürnberg

(Eingegangen am 25. Oktober 1978/22. Februar 1979)

Dem Gedenken an Professor Dr. Gábor Szász gewidmet<sup>1)</sup>

**Zusammenfassung:** In den verschiedenen kommerziellen Kontrollseren ist die Kreatinkinase unterschiedlich lichtempfindlich;

In 12 von 22 Kontrollseren, abgefüllt in Reaktionsgefäße und 4 h bei 25°C einer Lichtquelle ausgesetzt, deren Intensität der normalen Laborbeleuchtung entspricht, nimmt die katalytische Konzentration der Kreatinkinase um 25–63% ab. Unter den gleichen Bedingungen ist die Kreatinkinase in Patientenseren stabil. Bei intensiverer Belichtung nimmt die Instabilität der Kreatinkinase in den „lichtempfindlichen Kontrollseren“ zu; bei Sonnenlichtexposition erwies sich die Kreatinkinase in allen untersuchten Kontroll- und Patientenseren als lichtempfindlich. Mercaptoethanol-Zusatz stabilisiert die Kreatinkinase in den „lichtempfindlichen Kontrollseren“. Die Ursache für die unterschiedliche Lichtempfindlichkeit der verschiedenen Kontrollseren ist noch unklar.

### Light sensitivity of creatine kinase in control sera

**Summary:** The light sensitivity of creatine kinase in different control sera was investigated. Control sera were dispensed into reaction vessels, then exposed for 4 h at 25°C to a light source equivalent in intensity to normal laboratory illumination. In 12 out of 22 control sera, the catalytic concentration of the creatine kinase fell by 25–63%. Under the same conditions, in patient sera, creatine kinase is stable. In the “light sensitive” control sera, the instability of the enzyme increased with the intensity of illumination. When exposed to sunlight, creatine kinase was unstable in all the investigated control and patient sera. The addition of mercaptoethanol stabilized the creatine kinase in “light sensitive” control sera. The reason for the different light sensitivity of different control sera is not known.

### Einführung

Die Instabilität der Kreatinkinase in Kontrollseren, auf die Szász (1) bereits 1970 und Hetland & Lund (2) kürzlich erneut hingewiesen haben, ist nach unseren Erfahrungen u.a. auf die unterschiedliche Lichtempfindlichkeit des Enzyms in den verschiedenen Kontrollseren zurückzuführen. Im folgenden wird über den bisher kaum beachteten Einfluß von Licht auf die Kreatinkinase in kommerziellen Kontrollproben sowie in Patientenseren berichtet.

### Material und Methoden

#### Material

Monotest 10 CK NAC aktiviert, Fa. Boehringer Mannheim.

#### Kontrollproben

Ledernorm, Fa. Cyanamid; Kontrollrogen E,-L,-LP, Fa. Behringwerke; Precinorm E, Precinorm U, Fa. Boehringer Mannheim; Validate A,-N, Versatol E, Fa. Gödecke, Europa-

kontrolle I, -II, Fa. Hyland; Enzatrol, Moni-Trol I, -II, Fa. Merz und Dade; Pathonorm H, -L, Seronorm, Fa. Nyegaard; Kontrollserum N, -P, Fa. Roche; Kreatinkinase aus Kaninchenmuskel (126969), Fa. Boehringer Mannheim; Rinderserumalbumin, reinst, Behringwerke.

#### Einwegartikel

Reaktionsgefäße 3810 Fa. Eppendorf; LKB-Proberöhrchen (Polypropylen und Polystyrol), Fa. Greiner; LKB-Küvetten (Acryl), Fa. Sarstedt; Serumcups (Polypropylen), Fa. Gilford.

#### Methoden

Die Kreatinkinase-Bestimmung erfolgte mit dem Analysensystem 3500, Fa. Gilford; Messung bei 25°C und 340 nm; Vorinkubation: 5 min.

#### Präzisionskontrolle der Kreatinkinase-Bestimmung

Präzision in der Serie bei

a) normaler katalytischer Kreatinkinase-Konzentration  
 $n = 20$   
 $\bar{x} = 51 \text{ U/l}$   
 $s = 0,85 \text{ U/l}$   
 $VK = 1,66\%$

<sup>1)</sup> Der zu einem früheren Zeitpunkt vorgesehene Abdruck der Arbeit wurde auf Wunsch der Autoren für dieses spezielle Heft zurückgestellt.

## b) erhöhter katalytischer Kreatinkinase-Konzentration

n = 20  
 $\bar{x}$  = 238 U/l  
s = 1,04 U/l  
VK = 0,44%

## Präzision von Tag zu Tag während der Versuchsdauer

$\bar{x}$  = 128 U/l  
s = 2,3 U/l  
VK = 1,8%

Die Kontrollproben wurden 30 min im Dunkeln bei Raumtemperatur rekonstitutioniert. Die Belichtung der Kontrollproben bzw. Patientenserum erfolgte in Einweg-Reaktionsgefäßen und -küvetten bzw. in den Originalfläschchen vor einem Lichtkasten (24 × 26 cm), bestückt mit drei 40 cm langen Leuchtstoffröhren (15 W, Farbton "Cool-white"), abgedeckt mit einer 0,4 cm dicken Milchglasscheibe. Abstand der Proben zur Lichtquelle: 23 cm entsprechend der Helligkeit eines gut beleuchteten Arbeitsplatzes im Labor = "normale Belichtung". Für erhöhte Lichtintensität wurde der Abstand auf 1 cm verringert = "intensivere Belichtung". Außerdem wurden die Kontroll- und Patientenserum dem Sonnenlicht ausgesetzt = "Sonnenlicht". Die elektrophoretische Trennung der Isoenzyme der Kreatinkinase erfolgte in Agargel nach einer eigenen bisher nicht publizierten Methode.

## Ergebnisse und Diskussion

1. Die Kontrollseren wurden in den Originalfläschchen, bzw. wie die Patientenserum in Reaktionsgefäße abgefüllt, zunächst einer künstlichen Lichtquelle ausgesetzt, deren Intensität der Helligkeit eines gut ausgeleuchteten Arbeitsplatzes im Laboratorium entspricht. Tabelle 1 zeigt die Lichtempfindlichkeit der Kreatinkinase in verschiedenen Kontrollseren nach 4 h "normaler Belichtung". Im Vergleich zu den bei 4 °C und 25 °C dunkel aufbewahrten Kontrollseren findet man bei 4 °C in 11, bei 25 °C in 12 von 22 Kontrollseren eine Abnahme der katalytischen Konzentration der Kreatinkinase von 25% bis 63%. Im folgenden werden die Kontrollseren, bei denen die katalytische Konzentration durch 4 h „normale Belichtung“ um mehr als 25% abnimmt, als „lichtempfindliche Kontrollseren“ bezeichnet. Unter diesen fällt die erhöhte Lichtempfindlichkeit der Kreatinkinase im Precinorm E und Precipath E bei 25 °C gegenüber 4 °C auf.

Die Abnahme der katalytischen Konzentration der Kreatinkinase in Abhängigkeit von der Belichtungs-

Tab. 1. Lichtempfindlichkeit der Kreatinkinase in verschiedenen Kontrollseren. Die Kontrollseren wurden 4 h bei 4 °C und 25 °C im Dunkeln gehalten bzw. der „normalen Belichtung“ ausgesetzt. Jeweils Mittelwert aus Doppelbestimmungen; zur Präzision der Kreatinkinase Bestimmung s. Methodik.

\* im Vergleich zu dem bei entsprechender Temperatur dunkel aufbewahrten Kontrollserum Abnahme der katalytischen Konzentration über 25% = „lichtempfindliches Kontrollserum“.

\*\* keine Angabe von Sollwerten für die N-Acetylcystein-aktivierte Kreatinkinase-Bestimmung.

Kontrollserum	dunkel		belichtet		Sollwert U/l
	4 °C U/l	25 °C U/l	4 °C U/l	25 °C U/l	
Ledernorm 2905-428	18	21	17	18	**
Kontrollserum E 2102	288	293	275	281	297
Kontrollserum L 447 C	52	57	42	43	**
Kontrollserum LP 3202 F	192	207	131*	137*	**
Precinorm E 652	121	122	104	87*	119
Precipath E 628	109	109	76*	40*	107
Precipath E 629	90	87	67*	33*	88
Precinorm U 609	122	129	115	118	117
Precinorm U 722	33	36	30	34	35
Validate A 0433067 B	165	171	112*	124*	162
Validate N 0527087	58	55	41*	39*	53
Versatol E 4 B 842	57	53	58	58	**
Europa-Kontrolle I N O 4	80	76	45*	46*	**
Europa-Kontrolle II P 11	167	150	100*	97*	149
Enzatrol 245	230	225	205	201	217
Moni-Trol I 147 A	75	77	37*	40*	79
Moni-Trol II 51 B	159	169	94*	92*	175
Pathonorm H 12	321	324	226*	240*	**
Pathonorm L 12	52	57	42	43	**
Seronorm 128	127	121	77*	73*	**
Kontrollserum N Roche 1639	128	133	122	117	124
Kontrollserum P Roche 2739	358	365	334	331	379

dauer ist aus Abbildung 1 ersichtlich. Die „lichtempfindliche Kontrollprobe“ *Moni-Trol II* wurde außerdem bei 20°C im Wechsel 30 min der „normalen Belichtung“ ausgesetzt und anschließend 30 min im Dunkeln gehalten. Im Gegensatz zu den in-vitro-Versuchen von *Morin* (3) mit isolierter Kreatinkinase MB in hitzeinaktivierten Humanseren war während der Dunkelperiode in der Kontrollprobe, die ebenfalls Kreatinkinase MB enthält, keine partielle Reaktivierung der Kreatinkinase nachweisbar. Die Kontrollproben wurden in Einwegreaktionsgefäßen bzw. -küvetten aus Polystyrol, Polypropylen und Acryl sowie in den Originalfläschchen belichtet. Hierbei zeigte sich, daß die Art des Kunststoffmaterials keinen Einfluß auf das Ausmaß der Inaktivierung hatte. Erfolgte die Belichtung der Kontrollproben in den Originalfläschchen, nahm die katalytische Konzentration der Kreatinkinase dagegen nicht oder deutlich geringer ab (Tab. 2). Da auch einige

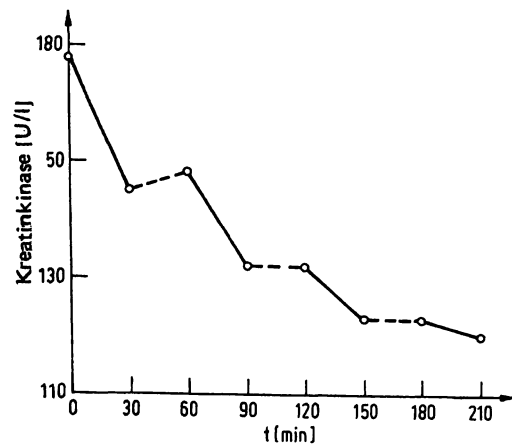


Abb. 2. Einfluß von Hell-Dunkel-Perioden auf die Stabilität der Kreatinkinase in *Moni-Trol II* (51 B). *Moni-Trol II* wurde in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß bei 20°C im Wechsel 30 min der „normalen Belichtung“ ausgesetzt, anschließend 30 min im Dunkeln gehalten. — Belichtung; ---- Dunkelperiode.

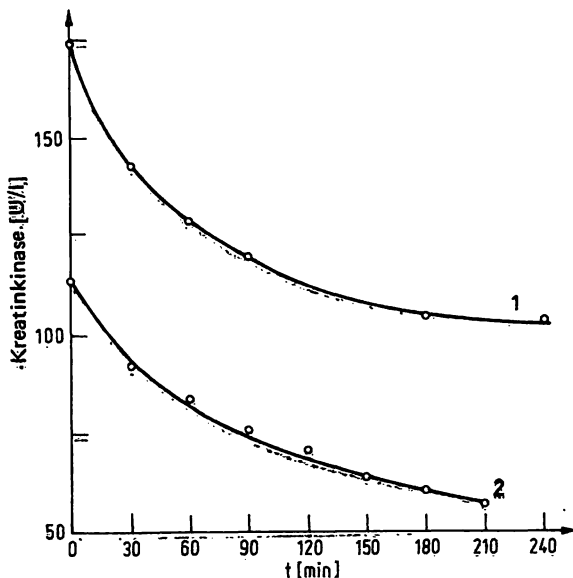


Abb. 1. Abnahme der katalytischen Konzentration der Kreatinkinase bei „normaler Belichtung“ und 25°C in Abhängigkeit von der Zeit. 1 = *Moni-Trol II* (51 B), 2 = *Precipath E* (628).

braun gefärbte Flaschen die Kreatinkinase nicht vollständig vor Inaktivierung durch Licht schützen, ist im Einzelfall zu prüfen, welche Kontrollseren im Dunkeln rekonstituiert werden müssen.

In Patientenserum, die unter analogen Bedingungen wie die Kontrollproben belichtet wurden, war die Kreatinkinase stabil. Es wurden 86 Proben untersucht, von denen 33 eine katalytische Konzentration der Kreatinkinase von 100–750 U/l enthielten:

x = Ergebnisse der 4 h bei 4°C im Dunkeln aufbewahrten Seren  
 y = Ergebnisse der 4 h bei 25°C belichteten Proben  
 $y = 1,004 x + 0,245 \text{ (U/l)}$   
 $r = 0,999 \text{ } s_{xy} = 5,16$

2. In den „lichtempfindlichen Kontrollseren“ nimmt die Instabilität der Kreatinkinase zu, wenn die Intensität der künstlichen Belichtung erhöht bzw. mit direktem Sonnenlicht belichtet wird (Tab. 3). Außerdem zeigt die Tabelle 3 am Beispiel von *Precinorm U* und *5 Path*

Tab. 2. „Normale Belichtung“ der Kontrollseren bei 25°C in Reaktionsgefäßen aus verschiedenem Kunststoffmaterial sowie in den Originalfläschchen. Jeweils Mittelwert aus Doppelbestimmungen; zur Präzision der Kreatinkinase-Bestimmung s. Methodik.

	Valdate A 0433067 B U/l	Moni-Trol II 51 B U/l	Moni-Trol I 147 B U/l	Precipath E 629 U/l	Europakontrolle II P 11 U/l
<b>Salzwert</b>	162	175	79	88	149
Belichtung in: Polypropylen (Eppendorf)	117	104	44	51	90
Polypropylen (Greiner)	118	106	44	51	96
Polypropylen (Gifford)	124	92	40	53	97
Polystyrol (Greiner)	121	109	43	50	96
Acryl (Sarstedt)	124	103	45	49	97
Originalfläschchen (Farbe)	167 (braun)	158 (braun)	58 (weiß)	74 (braun)	118 (braun)

tientenseren, daß die Kreatinkinase durch *Sonnenlicht*-exposition auch in einer bei „Normalbelichtung“ stabilen Kontrollprobe und, wie bereits von *Thompson* (4) mitgeteilt, in Patientenseren inaktiviert wird.

3. Die Ursache für die Instabilität der Kreatinkinase in Kontrollproben durch Lichteinwirkung ist noch unklar. Wie wir feststellten, wird durch Zusatz von Mercaptoethanol, 30 mmol/l, zu den Kontrollproben vor der „normalen Belichtung“ die Kreatinkinase vor Inaktivierung geschützt (Tab. 4); durch 30 min Inkubation der „lichtempfindlichen Kontrollproben“ mit Mercaptoäthanol *nach* der Belichtung wird die Kreatinkinase nicht mehr reaktiviert. Wie weitere Untersuchungen ergaben, ist gereinigte Kreatinkinase aus

Kaninchenmuskel in Humanseren gelöst lichtempfindlicher als in Rinderserumalbumin. Auffällig hierbei ist, daß die Kreatinkinase in den einzelnen Humanseren unterschiedlich stark inaktiviert wird. Nach elektrophoretischen Untersuchungen der belichteten Kontrollseren sind alle Isoenzyme der Kreatinkinase lichtempfindlich. Möglicherweise enthalten die einzelnen Kontrollseren in unterschiedlicher Konzentration Bestandteile wie SH-gruppenhaltige Substanzen, die die Kreatinkinase stabilisieren. Andererseits kann nicht ausgeschlossen werden, daß Zusätze zu den Kontrollseren die Instabilität der Kreatinkinase bei Lichteinwirkung erhöhen.

Tab. 3. Einfluß der Intensität der Belichtung auf die katalytische Konzentration der Kreatinkinase in Kontroll- und Patientenseren. Die Proben wurden in Eppendorf-Reaktionsgefäßen 4 h bei 20°C verschiedener Lichtintensität ausgesetzt bzw. im Dunkeln gehalten. Jeweils Mittelwert aus Doppelbestimmungen; zur Präzision der Kreatinkinase-Bestimmung s. Methodik.

Kontroll- bzw. Patientenserum	„normale Belichtung“ U/l	„intensive Belichtung“ U/l	„Sonnenlicht“ U/l	dunkel U/l
Moni-Trol II 51 B	97	85	49	171
Precipath E 629	50	24	7	88
Precinorm U 609	115	110	95	118
Pat. Nr. 1	124	118	80	123
Pat. Nr. 2	293	289	176	291
Pat. Nr. 3	23	23	14	24
Pat. Nr. 4	397	382	282	391
Pat. Nr. 5	213	182	148	213

Tab. 4. Stabilität der Kreatinkinase in Kontrollseren im Dunkeln bzw. bei „normaler Belichtung“ in Gegenwart von Mercaptoethanol. Die Seren wurden ohne und mit Zusatz von 30 mmol/l Mercaptoethanol 4 h bei 25°C der „normalen Belichtung“ ausgesetzt bzw. im Dunkeln gehalten. Jeweils Mittelwert aus Doppelbestimmungen; zur Präzision der Kreatinkinase-Bestimmung s. Methodik.

Kontrollserum	dunkel + Mercaptoethanol U/l	dunkel U/l	„normale Belichtung“ U/l	„normale Belichtung“ + Mercaptoethanol U/l
Moni-Trol II 51B	176	208	103	215
Precipath E 629	87	89	50	89
Kontrollserum Roche P 2739	375	375	319	366

### Addendum

Ähnliche Ergebnisse wie in der vorliegenden Arbeit wurden kürzlich von *B. Perry et al.* in einer Publikation „Effect of Light and Temperature on the Stability of Creatine Kinase in Human Sera and Controls“ in *Clin. Chem.* 25 (4) 625–628 (1979) mitgeteilt.

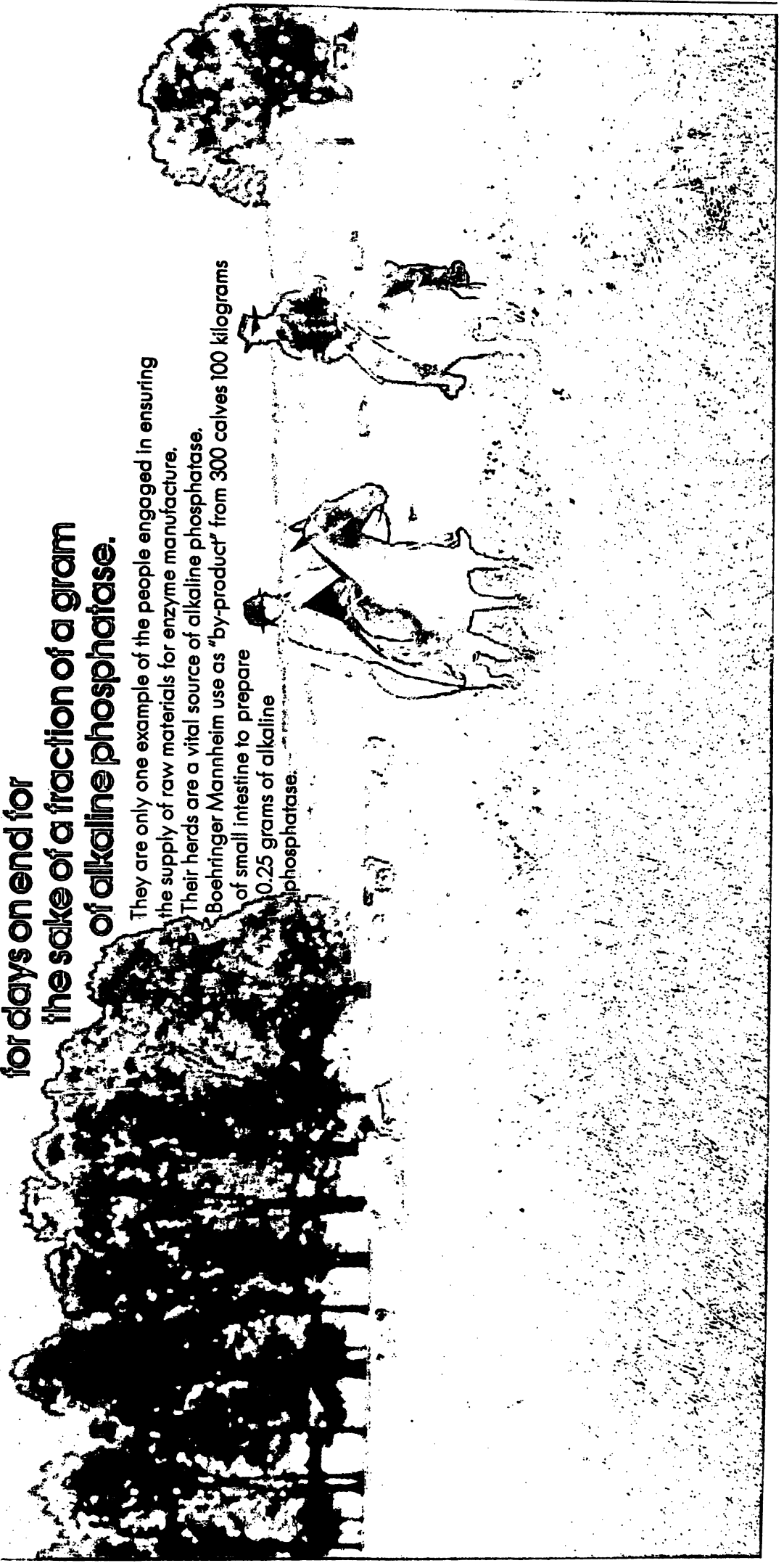
### Literatur

1. Szasz, G. (1970), diese Z. 8, 208–211
2. Hetland, O. & Lund, P. K., (1977), *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 37, 563–566
3. Morin, L. G. (1977), *Clin. Chem.* 23, 646–652
4. Thomson, W. H. S. (1969), *Clin. Chim. Acta* 23, 105–120

Stadt Nürnberg – Klinikum –  
Dr. G. Weidemann  
Institut für Klinische Chemie  
Postfach  
8500 Nürnberg 15

**These gauchos are often on horseback  
for days on end for  
the sake of a fraction of a gram  
of alkaline phosphatase.**

They are only one example of the people engaged in ensuring the supply of raw materials for enzyme manufacture. Their herds are a vital source of alkaline phosphatase. Boehringer Mannheim use as "by-product" from 300 calves 100 kilograms of small intestine to prepare 0.25 grams of alkaline phosphatase.



**VIEWEG****W  
DE  
G****Walter de Gruyter  
Berlin · New York**

Eberhard Hofmann  
**Funktionelle Bio-  
chemie des Menschen**

Band 1 und Band 2  
1979. 642 S. mit 109 Abb. 11 x 18 (Reihe Wissenschaft).  
Gbd. 38,- DM

Das Buch faßt das derzeitige Wissen um die vielfältigen biochemischen Vorgänge im menschlichen Organismus zusammen. Es stellt die Biochemie unter funktionellen Gesichtspunkten dar und verknüpft dabei den klassischen Stoff der Physiologischen Chemie wie Blut, Körperflüssigkeiten, Hormone, Ernährung u. a. mit den modernsten Erkenntnissen der Molekularbiologie zu einem interdisziplinären Werk.

Ausführliche Informationen erhalten Sie in Ihrer Buchhandlung oder Schreiben Sie an den Verlag (Postfach 5829, 6200 Wiesbaden 1).

Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH Braunschweig/Wiesbaden

**Vitamin B<sub>12</sub>**  
**Proceedings of the  
Third European Symposium  
on Vitamin B<sub>12</sub>**

Editors  
B. Zagalak, W. Friedrich

1979. 17 cm × 24 cm.  
Approx. 1100 pages. Hardcover.  
Approx. DM 190,-; \$ 112.00  
ISBN 3 11 007668 3

Price is subject to change

**W  
DE  
G****Walter de Gruyter  
Berlin · New York**

**G. Kahl** (Editor)

**Biochemistry  
of Wounded Plant Tissues**

Edited by Dr. Günter Kahl, Professor for Botany, Department of Biology, Johann Wolfgang Goethe University of Frankfurt am Main.

1978. 17 cm x 24 cm. 684 pages. Hardcover DM 180.00  
ISBN 311 006801 X

This volume comprises original studies and survey articles by competent scientists from world-famous laboratories. It offers an overview of the present state of knowledge as regards the biochemistry and molecular biology of wound processes and woundhealing mechanisms as based on model systems from the plant kingdom. Extensive bibliographies of most recent literature are appended to each article, making the volume a rich source of information.

Prices are subject to change without notice