Faculty of Biological Science and Technology
Zoology and Botanical Department
Practical Animal Physiology

اندازه گیری میزان کراتینین پلاسما
(Plasma Creatinine Measurement)

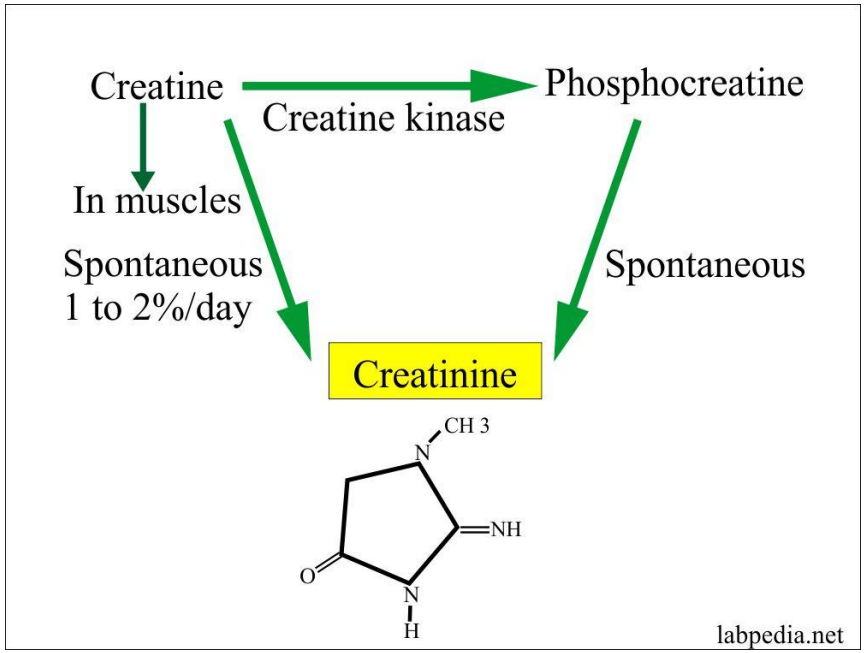
By: Shirin Kashfi

Ph.D in Animal Development

Sh.kashfi@staf.ui.ac.ir

کراتینین چیست؟

- کراتینین محصول تجزیه کراتین و فسفوکراتین است که تقریباً به طور کامل در ماهیچه ها یافت می شود
- کراتین از منبع مواد غذایی تامین می شود و می تواند از اسیدآمینه های گلیسین، آرژنین و متیونین نیز ساخته شود. ساخت کراتین به طور عمده در کلیه و کبد صورت می گیرد، اما ممکن است تا حدی در سایر اندام ها هم انجام شود. کراتین توسط خون به ماهیچه ها حمل می شود (کراتین ۰/۵٪ از وزن کل ماهیچه ها را تشکیل می دهد) و توسط آنزیم کراتین کیناز به فسفو کراتین تبدیل می شود. فسفو کراتین مولکولی است که فسفات پرانرژی را به منظور تولید ATP در بافت ماهیچه ای ذخیره می کند
- تبدیل کراتین و فسفو کراتین به کراتینین در ماهیچه ها به صورت غیر آنزیمی انجام می گیرد
- مقدار تولید روزانه کراتینین بستگی به توده ماهیچه ای بدن دارد



کراتین + ATP ⟶ فسفو کراتین + ADP

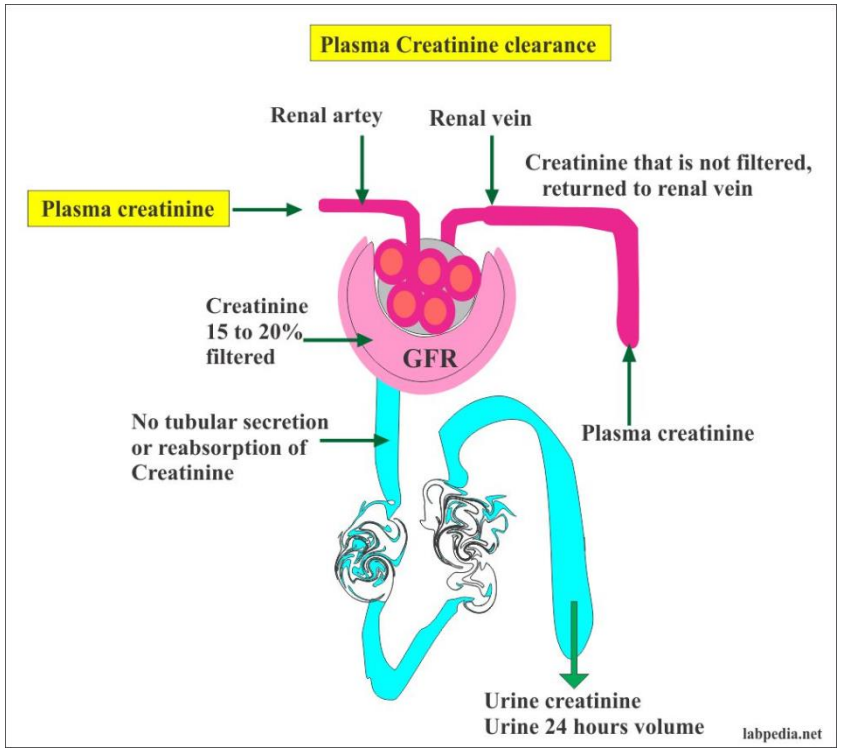
در زمان در دسترس بودن انرژی

کراتین + ATP ⟵ فسفو کراتین + ADP

در زمان نیاز به انرژی

دفع کراتینین

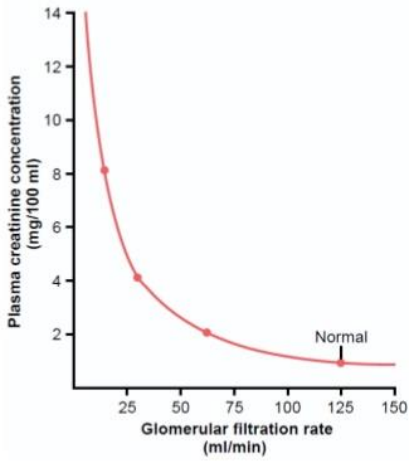
- کراتینین توسط گلومرول های کلیوی فیلتر می شود و وارد فضای کپسول بومن می شود؛ ولی بازجذب و متابولیزه شدن در توبول های کلیوی ندارد. بنابراین میزان کراتینین دفع شده در دقیقه در ادرار برابر با مقدار کراتینین فیلتر شده و در فضای کپسول بومن می شود
- هر گونه ناهنجاری در کلیه منجر به افزایش میزان کراتینین سرم می شود



اهمیت اندازه گیری غلظت کراتینین

- بررسی میزان غلظت کراتینین در سرم و ادرار معیار مهمی برای ارزیابی کارکرد کلیه است
- کراتینین توسط فیلتراسیون گلومرولی از جریان خون برداشت می شود و به طور فعال هم به داخل توبول های پروگزیمال ترشح می شود ولی بدون بازجذب قابل ملاحظه ای در توبول های کلیوی از طریق ادرار دفع می شود. از طرفی ترشح کراتینین تحت تأثیر متابولیسم پروتئین یا سایر فاکتورهای خارجی نیست؛ بنابراین اندازه گیری میزان کراتینین سرم بهترین معیار برای اندازه گیری نرخ فیلتراسیون گلومرولی (glomerular filtration rate (GFR)) است
- هرگونه اشکالی در فیلتراسیون گلومرولی به وجود آید ، منجر به افزایش مقدار کراتینین در خون می شود
- کراتینین پارامتر بسیار حساستر و اختصاصی تری برای ارزیابی کارکرد کلیه ها و بیماری های کلیوی نسبت به اوره است و غلظت سرمی کراتینین متناسب با اندازه توده ماهیچه ای هر فرد است
- اندازه گیری میزان کراتینین برای ارزیابی اثرات دیابت یا فشار خون بر کلیه ها توصیه می شود
- برای تشخیص زودهنگام بیماری های کلیوی مناسب نیست

- Approximate relationship between GFR and plasma creatinine concentration.
- Decreasing GFR by 50 per cent will increase plasma creatinine to twice normal if creatinine production by the body remains constant.



میزان طبیعی کراتینین در سرم و ادرار و عوامل موثر بر تغییر آن

- **غلظت کراتینین در سرم:**
  - آقایان: 0.8-1.3 mg/dl
  - خانم ها: 0.6-1.2 mg/dl

- **غلظت کراتینین در ادرار:**
  - در ادرار بیشتر از سرم است
  - آقایان: 2 g/24hours
  - خانم ها: 1.6 g/24hours

افزایش میزان کراتینین:

- عوامل پیش کلیوی
  - کاهش میزان آب و نمک بدن در اثر استفراغ، اسهال، دیابت کنترل نشده، عرق کردن یا مصرف بیش از اندازه داروهای ادرار آور، برخی بیماری های ماهیچه ای، مشکلات قلبی
- عوامل کلیوی
  - آسیب به گلومرول ها، توبول های یا جریان خون کلیه
- عوامل پس کلیوی
  - وجود تومور در پروستات یا میزنای یا وجود سنگ در میزنای یا مثانه

کاهش میزان کراتینین:

- آتروفی ماهیچه ها، بیماری های کبدی شدید و پیشرفته، تغذیه ناکافی

- اندازه گیری روزانه میزان کراتینین در پلاسما و ادرار برای برآورد میزان GFR لازم است

مواد و وسایل مورد نیاز

- پلاسما
- تری کلرو استیک اسید (trichloro acetic acid (TSA)) ده درصد
- کیت اندازه گیری میزان کراتینین به روش جافی (ژافه)
- لوله آزمایش
- جا لوله ای
- سمپلر مناسب
- چسب کاغذی
- پیپت سرنگی مناسب
- سانتریفوژ
- بن ماری (bain marie)
- دماسنج
- اسپکتروفتومتر

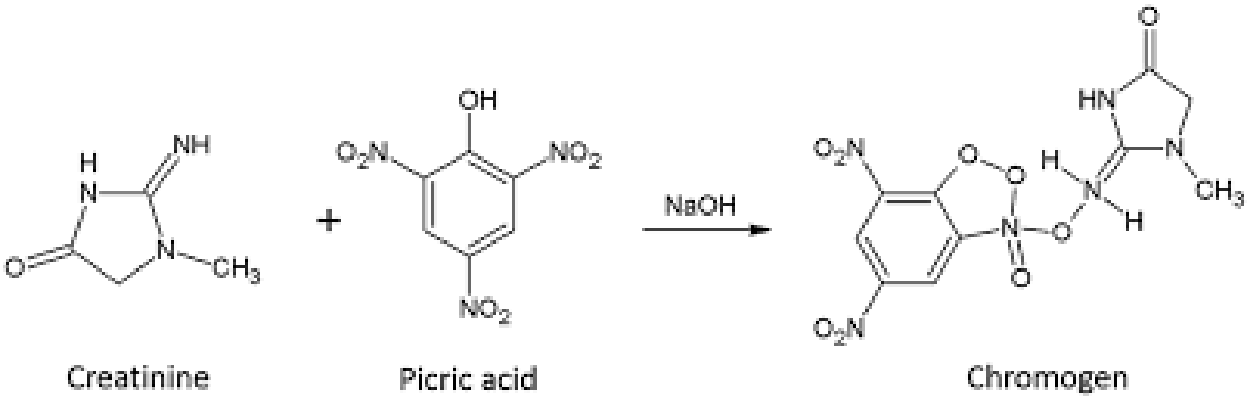
کیت اندازه گیری کراتینین دارای سه معرف است:

- معرف ۱: محلول هیدروکسید سدیم و دی سدیم فسفات (این مواد برای قلیایی کردن محیط به کار می روند)
- معرف ۲: اسید پیکریک
- معرف ۳: محلول استاندارد کراتینین با غلظت ۲ mg/dl
- با مخلوط کردن معرف ۱ و ۲ به نسبت مساوی، معرف کاری (working reagent) تهیه می شود

دستگاه بن ماری

اندازه گیری میزان کراتینین : اصول و روش

- روش های اندازه گیری میزان کراتینین:
  - روش غیر آنزیمی (Jaffe method)
  - روش آنزیمی
- هر دو روش بر مبنای فتومتری طراحی شده اند
- روش غیر آنزیمی بر اساس واکنش ژافه (Jaffe reaction) است. در این حالت کراتینین با یون پیکرات در یک محیط قلیایی واکنش داده و کمپلکس قرمز- نارنجی رنگی تولید می شود. پس از آن میزان جذب نوری کمپلکس رنگی تولید شده در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج معینی خوانده می شود و با جذب نوری استاندارد کراتینین با غلظت معلوم که در همان شرایط تهیه شده، مقایسه می شود
- روش ژافه یک روش غیر اختصاصی است زیرا ترکیبات زیادی از جمله پروتئین ها، اسید آسکوربیک، استون و کتو استون ها می توانند در واکنش جافی شرکت کنند و موجب افزایش کاذب میزان کراتینین سرم شوند؛ بنابراین حذف پروتئین ها از پلاسما یا سرم مرحله مهمی در تعیین میزان کراتینین پلاسمایی/ سرمی است



روش کار

- ابتدا برای حذف پروتئین های پلاسما، در یک لوله آزمایش ۰/۵ میلی لیتر از پلاسما را با ۰/۵ میلی لیتر TCA ده درصد مخلوط کنید و یک ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد (یخچال) قرار دهید
- سپس آن را در ۷۰۰۰-۵۰۰۰ g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ کرده و مایع رویی را با دقت در یک لوله آزمایش جدید جمع آوری کنید (پلاسما بدون پروتئین باید شفاف باشد)
- برای تهیه معرف کاری، معرف ۱ را با معرف ۲ به نسبت ۱:۱ مخلوط کنید (این محلول باید تازه تهیه شود)
- سه لوله آزمایش را با عناوین بلانک، نمونه و استاندارد برچسب بزنید
- از آب مقطر به عنوان بلانک استفاده می شود
- در هر لوله آزمایش مقادیر زیر را پیپت کنید (این مقادیر بر اساس اندازه کووت مورد استفاده و مقدار نمونه در دسترس می تواند تغییر کند)

	Blank	Sample (plasma)	Standard
Working reagent (µl)	1000	1000	1000
standard(µl)	0	0	100
Plasma (µl)	0	100	0
Distilled water (µl)	100	0	0

روش کار

- محتویات لوله ها را مخلوط کرده و دو دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار دهید
- پس از این مدت، محتویات لوله ها را به کووت منتقل کرده و جذب نوری نمونه و استاندارد را در مقابل بلانک و در طول موج ۵۰۵ نانومتر قرائت کنید

محاسبه مقدار کراتینین نمونه مجهول

- الف) استفاده از منحنی استاندارد
- ب) استفاده از فرمول زیر:

$$C_{CT}\ (mg/dl) = \frac{OD_T \times C_S}{OD_S}$$

healbeat
Take Care Your Kidney!!!!
Thank You!!!!