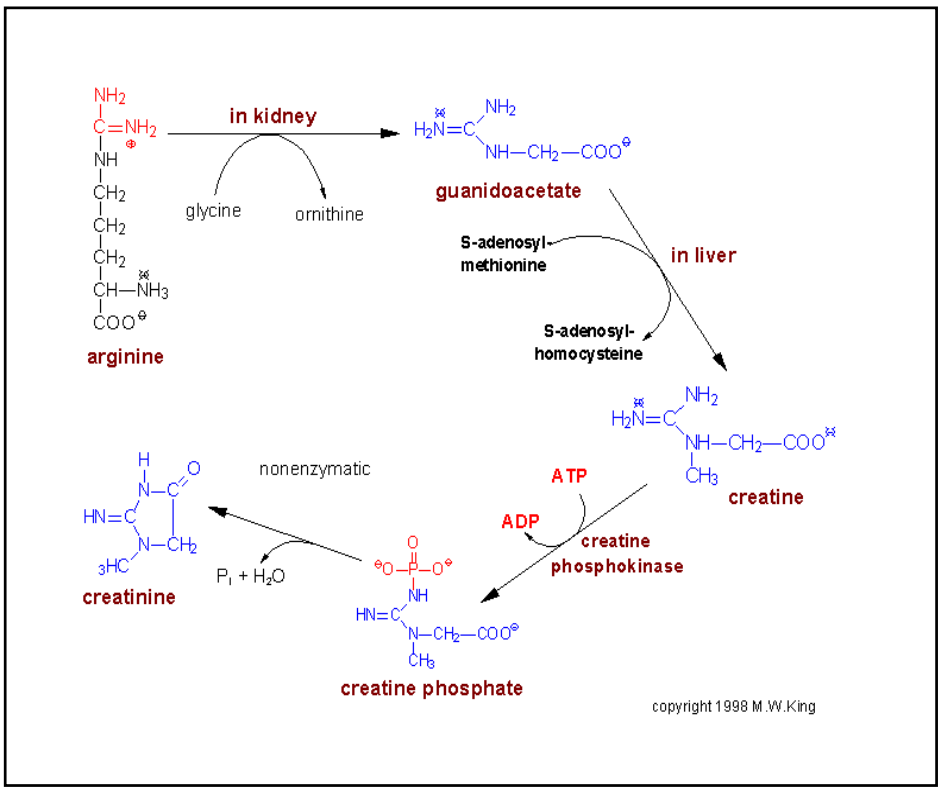
اندازه‌گیری کراتینین(Creatinine)

کراتین ترکیبی است که محصول واکنشهای آنزیماتیک متوالی بر روی اسیدهای آرژینین و گلایسین می‌باشد که در طی دو مرحله و بـه ترتیـب در کلیه و کبد (و پانکراس) سنتز می‌گردد و از طریق جریان خون به بسیاری از سلولها (به ویژه عضله) وارد می‌گردند و در آنجـا تحـت تأثـیر آنزیم کراتین‌کیناز (CK) تبدیل به کراتین فسفات می‌گردد. مقدار کراتین متناسب با وزن عضله (توده عضلانی) بدن مـی‌باشـد. روزانه ۲-۱ درصد کراتین در اثر دهیدراسیون غیرآنزیمی در عضله تبدیل به کراتینین(Creatinine) می‌گردد و تولید آن در هـر فـرد بـا سـرعت ثابت صورت گرفته و میزان آن بستگی به توده عضـلانی دارد. این ترکیب محلول در آب بـوده و به آسانی از کلیه‌ها دفـع می‌شود و برخلاف اوره ، باز جـذب نمی‌شود و نیز تحت تأثیر رژیم غذایی طبیعی قرار نمی‌گیرد (بـه طـور محسـوس) و در غیاب بـیماری کلـیوی مـیزان دفـع آن ثابت می‌باشد .



انـدازه‌گـیری آن ، جهـت اطمیـنان از صـحیح بـودن جمع‌آوری ادرار ۲۴ ساعته کمک‌کننده می‌باشد. یعنی اگر ادرار ۲۴ ساعته کامل باشد میزان کراتینین آن در حد طبیعی gr/24h ۲-۱ مـی‌باشـد.(به عنوان شاخص جمع‌آوری ادرار ۲۴ ساعته). میزان طبیعی کراتینین سرم mg/dl ۱/۳-۰/۶ می‌باشد. مقداری کراتینین در شرایط طبیعی از طریق توبولهای کلیوی ترشح می‌گردد که مقدار آن می‌تواند تحت تأثیر عواملی تغییر نماید.

افـزایش غلظـت کراتینیـن پلاسـما باعـث افزایش ترشح و داروهایی مانند پروبنسید، تری‌متوپریم و سایمتیدین باعث کاهش ترشح کراتینیـن مـی‌گردند و همچنین کاهش GFR (به دلایل مختلف) منجر به افزایش سهم ترشح کراتینین می‌گردد، بنابراین تغییر غلظت آن ممکـن اسـت بازتـاب مناسبی از تغییر GFR نباشد بطوریکه ممکن است حتی میزان GFR به نصف مقدار طبیعی آن کاهش یافته باشد ولی میزان کراتینین همچنان طبیعی باشد (به علت اینکه ترشح آن افزایش می‌یابد). بنابراین میزان کراتینین خون افزایش نمی‌یابد مگـر اینکه نارسایی اساسی در کار کلیه پیش آید. معمولاً در کنار اندازه‌گیری کراتینین، BUN نیز مورد ارزیابی قرار می‌گیرد که نسبت [BUN/Creatinine] بـه عـنوان شاخصـی از عملکـرد کلـیه‌ها و وضعیت متابولیسمی بدن مورد توجه قرار می‌گیرد. محدوده طبیعی [BUN/Creatinine] بیـن ۱۰ –۲۰ مـی‌باشـد. در ازتمـی پـیش کلیوی (Pre-renal) که ممکن است به علت افزایش سنتز اوره یا

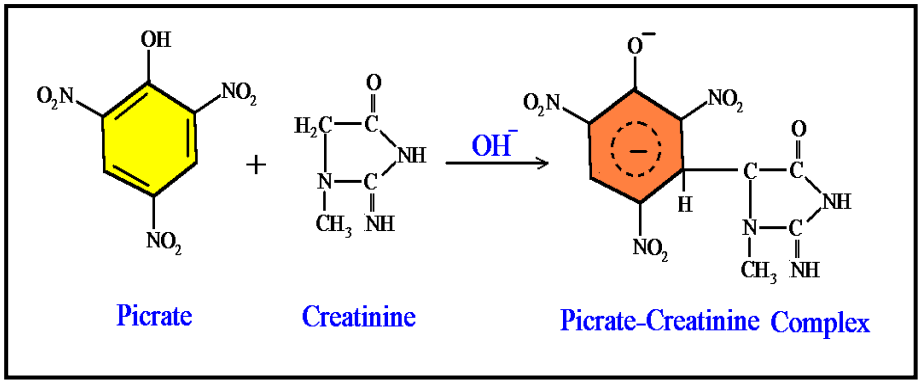
کاهش جریان خون کلیوی (که متعاقب آن جریان ادرار کاهش یافته و باز جذب توبولی اوره افزایش می‌یابد) میزان BUN افزایش یافته و نسبت [BUN/Creatinine] افزایش می‌یابد در این حال غلظت کراتینین تغییر چندانی ندارد چون کراتینین پس از فیلتراسیون باز جذب نمی‌گردد (البته در حالاتی مانند نارسایی قلبی و دیابت بازجذب توبولی کراتینین تا حدودی افزایش می‌یابد). در ازتمی پس کلیوی به علت انسداد مکانیکی، سرعت فیلتراسیون گومرولی GFR کاهش می‌یابد و در این صورت هم BUN و هم کراتینین به یک نسبت تحت تأثیر قرار می‌گیرند، در نتیجه نسبت [BUN/Creatinine] تغییری نمی‌نماید.

در خونریزی از دستگاه گوارش، خون توسط لوله گوارشی (روده‌ها) جذب می‌گردد و در کبد، بسیاری از این ترکیبات کاتابولیزه شده و میزان آمونیاک افزایش می‌یابد که متعاقب آن میزان تولید اوره افزایش یافته و نتیجتاً نسبت [BUN/Creatinine] افزایش می‌یابد. در شرایطی مانند افزایش آب بدن(هیدراسیون)، کاهش مصرف پروتئین و بیماریهای شدید کبدی و ... میزان BUN کاهش یافته و نسبت [BUN/Creatinine] کاهش می‌یابد. درشرایطی که کاهش وزن عضله اتفاق افتاده است میزان تولید کراتینین پایین‌تر از حد طبیعی بوده و [BUN/Creatinine] افزایش می‌یابد.

روشهای آنالیز کراتینین:

- **واکنش ژافه:**

اکثر روشهای متداول برای تعیین کراتین و کراتینین بر اساس واکنش ژافه استوار می‌باشند در این واکنش کراتینین تحت تأثیر یک محلول قلیایی پیکرات قرار گرفته و کمپلکس نارنجی متمایل به قرمز روشنی را ایجاد می‌نماید:



ترکیباتی مانند گلوکز ، پروتئین‌ها ، استو استات ، پیروات و اسید اوریک ، فروکتوز ، اسیدآسکوربیک می‌توانند در این روش تداخل ایجاد نمایند. نیز این روش به تغییرات دما و pH حساس می‌باشد .

به منظور افزایش ویژگی، اصلاحات زیر را می‌توان در روش ژافه (واکنش ژافه) اعمال کرد:

۱) می‌توان از **معرف لوید(Loyd) یا سیلیکات آلومینیوم** برای جداسازی کراتینین از سایر ترکیبات رنگزا استفاده نمود. در محیط اسیدی کراتینین جذب معرف لوید می‌شود، سپس در محلول قلیایی حل می‌گردد و پس از آن با استفاده از واکنش ژافه مقدار تعیین می‌گردد. این روش به عنوان **روش مرجع** اندازه‌گیری کراتینین محسوب می‌گردد.

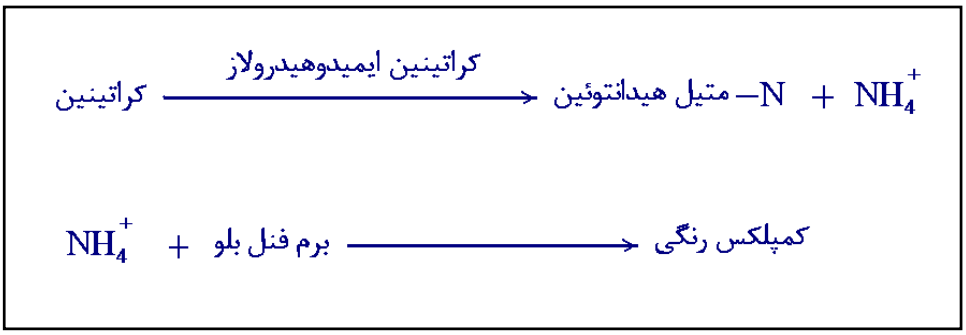
۲) استفاده از **آنزیم باکتریایی کراتینیناز:** در این روش تغییر شدت رنگ واکنش پیکرات ، قبل و بعد از تجزیه کراتینین توسط آنزیم باکتریایی ، مورد سنجش (توسط روش فوق) قرار می‌گیرد.

۳) استفاده از **رزین‌های تعویض کاتیون:** توسط این رزین‌ها کراتینین جداسازی گردیده و در مرحله بعد می‌توان از واکنش ژافه استفاده نمود و یا مقدار آن را مستقیماً در طول موج ۲۳۴ nm (طیف UV) اندازه‌گیری نمود.

۴) **روش pH دوتایی ژافه:** در این روش میزان جذب مخلوط واکنش در دو pH مختلف اندازه‌گیری می‌شود. یکبار در pH قلیایی میزان جذب سنجیده می‌شود و سپس در مرحله بعد محیط را با افزودن استیک اسید، اسیدی می‌نماییم. اسیدی شدن باعث از بین رفتن رنگ ایجاد شده توسط کراتینین می‌شود، در حالیکه رنگ حاصل از مواد تداخل‌کننده از بین نمی‌رود و در این حالت نیز میزان رنگ را اندازه‌گیری می‌نماییم. اختلاف دو جذب ثبت شده متناسب با مقدار غلظت کراتینین در نمونه خواهد بود.

- **واکنش‌های آنزیمی:**

این روش معمولاً در آنالیزرها مورد استفاده قرار می‌گیرد، اساس این روش ، واکنش کراتینین با آنزیم کراتینین آمیدوهیدرولاز و ایجاد N-متیل هیدانتوئین و یون آمونیوم می‌باشد که در مرحله بعد آمونیوم با معرف **برموفنل‌بلو** ایجاد رنگ آبی می‌نماید، برای حذف تداخل مربوط به آمونیاک (آمونیوم) موجود در نمونه بیمار از شاهدی استفاده می‌گردد که حاوی تمامی عناصر نمونه بیمار بوده ولی فاقد آنزیم کراتینین ایمیدوهیدرولاز می‌باشد.



توجه: در روش شیمیایی دیگری از معرف **۳ و ۵- دی نیترو اسیدبنزوئیک** استفاده میشود. از این روش به خصوص به هنگام استفاده از نوار معرف (strip) جهت اندازه‌گیری کراتینین استفاده میشود.

محدوده طبیعی مقدار کراتینین mg/dl ۱/۳-۰/۶ می‌باشد.

- **اندازه‌گیری مقدار کراتین :**

اگر نمونه سرم را اسیدی نماییم و حرارت دهیم ، کراتین به کراتینین تبدیل می‌شود. با محاسبه تفاضل مقادیر کراتینین قبل و بعد از تبدیل کراتین به کراتینین، مقدار کراتین بدست می‌آید.