

KREATİN

Kreatin tüm memelilerin vücudunda glisin, arginin ve metiyonin amino asitlerinden karaciğer, böbrekler ve pankreasta sentezlenen bir amino asit türevidir. Biyosentezden sonra iskelet kaslarına, kalbe, beyne ve diğer dokulara taşınır. Bu dokularda ani enerji ihtiyaçlarını karşılamak için ATP'nin yıkılmasına yardımcı olarak enerji depolayıcı form olan '**kreatin fosfat (fosfokreatin)**'a dönüşür. Kreatin fosfat kasta ve diğer dokularda ADP'den ATP dönüşümünü sağlayan yüksek enerjili bir fosfat bileşiğidir. ATP yoğun kas faaliyetlerinin olduğu beyzbol, futbol, voleybol ve yüzme gibi sporları yapan kişilerde yoğun şekilde kullanılmaktadır. Kreatin, bu ani ve yüksek ATP ihtiyaçlarını karşılayarak sportif performansı arttırmaktadır.

1. Kreatin'e kimler ihtiyaç duyar ?

Kreatin'e en temel düzeyde fazla enerjiye ve yağsız kasa gereksinimi olanlar ihtiyaç duymaktadır. Ayrıca yoğun fiziksel aktivite gerektiren işte çalışanlar, fiziksel stres ve uzun süreli yorgunluğa maruz kalan kişiler ihtiyaç duyabilir.

2. Kreatin Kinaz (CK)

Kreatin kinaz hücrelerde enerji akışı sırasında görev alan Mg^{+2} ile aktive olan transferaz sınıfından bir enzimdir. ATP tarafından kreatin fosfat oluşturmak üzere kreatinin fosforilasyonu katalizler. Genel olarak iskelet kasında yüksek; beyin dokusunda ise düşük derişimlerde bulunmaktadır.

3. Kreatinin

Kreatinin kaslarda enerji deposu olarak rol alan kreatin fosfatın yıkım ürünüdür. Kişinin vücut ve kas kitlesine bağlı olarak sabit hızda üretilir. Bu nedenle kadın ve çocuklara oranla erkeklerde kan seviyesi daha yüksektir. Başlıca atılım yolu böbrekler olduğundan böbreklerin süzme işlevinin değerlendirilmesinde en fazla kullanılan analiz parametresidir. Böbrek işlev kaybının erken dönemlerinde çok hassas bir test değildir. Böbrek işlev bozukluğu kuşkusu olduğu durumlarda, serum kreatinin derişimini ölçümünün dışında kreatinin klerensinin belirlenmesi de gerekmektedir.

4. Deneysel Çalışmalar

Deney 1. Jaffé Yöntemi İle İdrarda Kreatinin Tanımlama Deneyi

Deneyin prensibi: İdrardaki kreatinin, alkali ortamda pikrik asit ile sarı-kırmızı renkli madde oluşturması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı:

- (1) Bir deney tüpüne 5 mL idrar konulur.
- (2) Tüpteki idrar üzerine 2 mL doymuş pikrik asit ve 2 mL %10'luk NaOH çözeltileri eklenip karıştırılır.
- (3) Tüpteki karışımın kırmızı-turuncu renk aldığı gözlenir.

Deney 2. Weyl Yöntemi İle İdrarda Kreatinin Tanımlama Deneyi

Deneyin prensibi: Kreatinin, alkali ortamda sodyum nitroprussiyat ile kırmızı renk oluşturması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı:

- (1) Bir deney tüpüne 10 mL idrar, 1 mL % 5'lik sodyum nitroprussiyat çözeltisi ve 2 mL %10'luk NaOH çözeltisi konularak karıştırılır. Tüpteki karışımın koyu kırmızı renk aldığı gözlenir.
- (2) Tüpteki kırmızı renkli karışıma 2 mL asetik asit eklenip karıştırılır; karışımın renginin kaybolduğu gözlenir.

Deney 3. Alkali Pikrat Yöntemi İle İdrarda Kreatin ve Kreatinin Tayini

3.1. Kreatinin tayini

Deneyin prensibi: Serbest proteinsiz filtrat içindeki kreatinin alkali çözeltide pikrik asit ile tepkimeye girerek koyu kırmızı kreatinin pikrat kompleksini oluşturması esasına dayanmaktadır.

Deneyin yapılışı:

I. Aşama

- (1) 2 tane deney tüpü alınır ve aşağıdaki tabloya göre ilaveler yapılır.

Çözeltiler (mL)	1.tüp	2.tüp
I. örnek (1/40 oranında seyreltilmiş idrar)	0.5	-

II. örnek (1/20 oranında seyreltilmiş idrar)	-	1
Distile su	17.5	17
Sodyum tungstat	1	1
0.7 N H₂SO₄	1	1

(2) Tüpler iyice çalkalanır ve süzülür.

(3) Süzüntüler I. süzüntü ve II. süzüntü olarak etiketlenen tüplere alınır.

(4) Aşağıdaki tabloya göre ilaveler yapılır.

Çözeltiler (mL)	1.tüp	2.tüp
I. süzüntü	5	-
II. süzüntü	-	5
Pikrik asit	2.5	2.5
NaOH	0.5	0.5

10-15 dk bekletilir ve 520 nm'de % T
(transmittans) değerleri ölçülür.

II. Aşama:

Standart kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

(1) 6 tane deney tüpü alınır ve aşağıdaki tabloya göre ilaveler yapılır.

Çözeltiler (mL)	Kör	Std 1 (2 mg)	Std 2 (4 mg)	Std 3 (6 mg)	Std 4 (8 mg)	Std 5 (10 mg)
Distile su	5	4	3	2	1	-
Seyreltik kreatinin (mg/100 mL)	-	1	2	3	4	5
Pikrik asit	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
NaOH	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

(2) 10-15 dk bekletilir ve 520 nm'de % T (transmittans) değerleri ölçülür.

(3) Okunan değerler yarı logaritmik kağıda % T'ye karşı mg/100 mL derişim değerlerine karşı grafiğe geçirilir. Bu grafikten I. örneğ ve II. örneğe karşılık gelen mg Kreatinin değerleri bulunur.

Not: Seyreltmelerden gelen farklılığı önlemek için grafikten bulunan kreatinin miktarları I. örneğ için 1/10 ile II. örneğ için 1/20 ile çarpılır. Böylece her iki örneğ için değer 1/400'e modifiye edilmiş olur.

3.2. Kreatin Tayini

Deneyin prensibi: İdrardaki kreatin, asidik pH'de ısıtılırsa kreatinine dönüşmektedir. Bu deneyden elde edilen değerlerin bir önceki deneyden elde edilen verilerden çıkarılması ile idrardaki mg kreatin değerine geçilir.

Deneyin yapılışı:

(1) İki ayrı deney tüpü alınır ve aşağıdaki tabloya göre ilaveler yapılır.

Çözeltiler (mL)	1.tüp	2.tüp
I. süzüntü	5	-
II. süzüntü	-	5
Pikrik asit	2.5	2.5
Tüpler 1 saat kaynar su banyosunda bekletilir ve soğuk su altında soğutulur.		
NaOH (mL)	0.5	0.5
Oda sıcaklığında 15 dk beklenir ve 520 nm'de % T değerleri okunur.		

(2) Okunan değerler yarı logaritmik kağıda % T'ye karşı mg/100 mL derişim değerlerine karşı grafiğe geçirilir. Bu grafikten I. örneğ ve II. örneğe karşılık gelen mg Kreatin'in değerleri bulunur ve aşağıdaki formüle göre ayrı ayrı hesaplanarak idrardaki kreatin miktarı hesaplanır.

$$\text{mg Kreatin: (Toplam kreatinin -kreatinin) x 1.16}$$

Not:

(1) Toplam kreatinin 2. deneydeki değerlere, kreatinin 1. deneydeki değerlere karşılık gelmektedir.

(2) Grafikten bulunan kreatinin miktarları I. örnek için 1/10 ile II. örnek için 1/20 ile çarpmayı unutmayınız !

Çözeltiler

Pikrik asit çözeltisi: 1.175 g pikrik asit distile suda çözünüp 100 mL'ye tamamlanır.

Stok kreatinin standardı: 0.05 g kreatinin 0.1 N HCl içinde çözülür ve 50 mL'ye tamamlanır (Koruyucu olarak birkaç damla toluen konulabilir).

Seyreltik kreatinin çözeltisi: 1 mL stok standart 0.1 N HCl ile 100 mL'ye tamamlanır.

% 10'luk sodyum tungstat çözeltisi: 1 g sodyum tungstat 10 mL suda çözülür.

% 5'lik sodyum nitroprussiyat çözeltisi: 5 g sodyum nitroprussiyat 100 mL suda çözülür.

KAYNAKLAR

- (1) www.mustafaaltinisik.org.uk
- (2) www.firat.edu.tr
- (3) www.saglikpark.com
- (4) www.patienthealth.com
- (5) <http://chienlab.wikispaces.com>
- (6) Prof. Dr. Fahrünnisa Pamuk, Biyokimya Kitabı
- (7) Marmara Üniversitesi Biyokimya II Laboratuvar Föyü