

Serum Alüminyum Tayininde "Protein Presipitasyonu" ve "Matriks Değiştirici"lerin Kullanımı

Asuman H. GÜLER*
Melahat DİRİCAN**
Bülent EDİZ***
Kemal ÖZKAN****

ÖZET

Bu çalışmada, standart eğri grafiği (StEG) yöntemi ile alüminyum (Al) tayininde kullanılacak serum örneklerinin hazırlanmasına ilişkin iki tekniğin kıyaslanması amaçlandı. Bunlar: a) Protein presipitasyonu (PP) ve b) Matriks değiştirici (MD)lerin kullanıldığı tekniklerdi. Tüm ölçümler grafit tüplü atomik absorpsiyon spektrofotometri (AAS) cihazında gerçekleştirildi.

PP serum matriks bileşenlerinden ileri gelen interferansı önlediği için "background" düzeltimine gerek kalmadı. Oysa MD'de "background" düzeltimi gerekli idi. Sonuçta; "recovery" daha yüksek, deney içi % CV değerleri ve matriks interferansı daha az bulunduğu için, PP'nun MD tekniğine göre daha duyarlı ve doğru sonuçlar verdiği kanısına varıldı.

* Doç. Dr.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı

** Araş. Gör.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı

*** Araş. Gör.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Biyoistatistik Anabilim Dalı

**** Prof. Dr.; Uludağ Üniv. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı

SUMMARY

The Use of The "Protein Precipitation" and "Matrix Modifier" Techniques in Serum Aluminum Determination

We aimed to compare protein precipitation (PP) and the use of a matrix modifier (MM) technique in serum aluminum (Al) determination, with the "standard curve method". All the measurements were performed on the atomic absorption spectrophotometry (AAS) apparatus with graphite tube.

PP appeared to eliminate interferences arising from the serum matrix and there was no need left for background correction while MM needed. In conclusion, because the recovery was higher, within-run precision values and the matrix interferences were found to be lower, PP was accepted to be the more sensitive and accurate technique than the MM, in serum Al determination.

GİRİŞ

Alüminyum (Al) yeryüzünde en çok bulunan metallere üçüncüsüdür. İnsanlarda Al zehirlenmesi nadir olmakla birlikte böbrek yetmezliği son devresinde olan ve hemodializ uygulanan hastalarda hiperfosfatemiyi önlemek amacıyla çok miktarda Al içeren ilaçlar kullanılmaktadır. Bunun sonucunda ise Al; beyin, kemiklerde ve karaciğerde birikerek, ensefalopati (dializ demansı), vitamin D'ye dirençli osteomalazi ve mikrositik anemi gibi durumlara yol açabilir. Bu nedenlerden dolayı dializ yapılan hastalarda serum Al konsantrasyonunun kontrol altında tutulması önemlidir¹⁻⁴. Al tayininde genellikle AAS kullanılmaktadır. STEG veya St ekleme (ekstrapolasyon) yöntemlerinden birisi ile gerçekleştirilen Al ölçümlerinde doğru ve güvenilir bir sonuç elde etmek için bir çok noktaya dikkat edilmesi gerekir. İşte bunlardan birisi de ölçümü yapılacak örneklerin, deneye hazırlanmasıdır. Örnekte doğrudan ölçüm yapılabileceği gibi, analiz öncesi örneğe bir takım işlemler de uygulanabilir. Biz serum Al miktar belirtiminde en iyi sonucu alabilmek için, ölçüm öncesi örneklerle uygulanan iki tekniği (PP ve MD)⁵⁻⁸ bu çalışmamızda irdelemeye çalıştık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Cihaz: Bütün ölçümler H 1550 tip grafit tüplü AAS cihazında (Rank Hilger, Westwood Margate, Kent CT 9 4JL-England) yapıldı.

Kullanılan Malzeme: Kan örneklerinin alınmasında kırmızı kapaklı "vacutainer" tüpler (lot no. 6430-6 P005, Becton-Dickinson, B.P., No. 37-38241 Meylan Cedex-Fransa) kullanıldı. PP tekniği ile örneklerin hazırlanmasında, serumlar "Röhren" marka (100 x 15 mm No. 55-466, Sarsted-Almanya) polistiren tüplere aktarıldı. Diğer serum örneklerinin saklanması ve standartların hazırlanmasında kullanılan polistiren tüplerin markası ise "Amersham International Limited No. 500, W. Sarsted-Almanya" idi.

Standartlar, kontrol ve serum örnekleri grafit tüpe 20 µl'lik ayarlanabilir otomatik pipet (Gilson Code No. P 20 H 23600-Fransa) yardımıyla verildi. Her örnek için ayrı "disposable" plastik pipet uçları (Clinipette-Tips, Labora Mannheim GmbH für Labor-Technik) kullanıldı.

Kimyasal Maddeler:

1. Nitrik Asit: "BDH Chemical Ltd.-Prod. No. 10168-İngiltere", bütün araçların ve standartların hazırlanmasında kullanıldı. HNO_3 % 69-70.5, $d = 1.42 \text{ g/cm}^3$ ve Al içeriği % 0.00001'di.

2. $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: Matriks değiştirici olarak kullanılan bu madde "Riedel-de Haen-AG, Hannover/Almanya" firmasının 3127 (819538) no'lu ürünü idi.

3. Triton-X 100: "BDH Chemical Ltd.-Prod. 30632-İngiltere", matriks değiştirici olarak kullanıldı.

Temizlik: Tüm cam malzeme 2 mol/L nitrik asit'te yaklaşık 12 saat bekletildikten sonra, iki kez de-iyonize suya 10 kez batırılarak yıkandı. 37°C 'a kadar ısıtılmış etüvde veya oda ısısında havada kurutuldu. Deneylerin tozsuz ortamda gerçekleştirilmesine dikkat edildi.

Standartlar:

"Titrisol", Al standart çözeltisi (Merck, Prod. No. 9967-Almanya)'nden hazırlandı. Bu çözeltinin Al içeriği: $1.000 \text{ g} + 0.002 \text{ g/AlCl}_3$ suda) idi. Titrisol'ün hepsi distile suyla 1000 ml'e tamamlandı (= Ana Stok Al çözeltisi). Böylece son Al konsantrasyonu 1 mg/ml 'de oldu. Ana Stok Al çözeltisinden önce 15.6 mmol/L (1 ml/L 'de) nitrik asit'le sulandırılarak 10 mg/L 'de "Ara Stok Al çözeltisi", bundan da gene aynı nitrik asitle sulandırılarak 20, 40, 80, 125 ve 250 µg/L 'lik "Al standart çalışma çözeltileri" hazırlandı. Bu standartlarla çizilen eğri, PP tekniğinin uygulandığı yöntemde kullanıldı.

MD tekniğinin uygulandığı yöntemde ise iki değişik standart eğri çizildi. Bunlar: a) Sulu StEG: Yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda ama suda hazırlanan standart çalışma çözeltileri ile çizildi. b) MD'li StEG: 1 mg/ml 'de Al içeren "Ana Stok Al çözeltisi", litrede $2.41 \text{ g Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ve 2 ml Triton-X 100 içeren MD ile sulandırılarak, 20, 40, 80, 125 ve 250 µg/L 'lik standart Al çalışma çözeltileri hazırlandı.

Örneklerin Hazırlanması:

"Vacutainer" tüplere alınan kan örneklerine, oda ısısında pıhtılaştıktan sonra, 1500-2000 devir/dk hız ve 10 dk süreyle santrifüj uygulanarak, serumları ayrıldı. a) PP tekniği^{5,9,10}: 1 ml serum "Rohren" tüpüne konduktan sonra, vorteks (Heidolp-Almanya)'le karıştırılırken 50 µl (15.78 mol/L) nitrik asit eklendi ve 1 dk daha vortekslenildi. Sonra 5 dk süreyle 70°C 'da bekletilen örnek, tekrar 10 sn daha vortekslenerek, 10 dk 1000-1500 devir/dk hızda santrifüj edildi. Süpernatant

alınarak bunda Al tayini yapıldı. b) MD tekniği^{5,6}: MD olarak litrede 2.41 g $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ + 2 ml Triton-X 100 içeren çözelti hazırlandı. Bu çözelti 1:1 oranında serumla karıştırıldıktan sonra örnek hazırlanmış oldu. Çalışılan serum örnekleri antiasit kullanmayan 20 sağlıklı erişkinden ve 40 tane de dializ hastasından elde edildi. AAS cihazına ölçüm için verilen örnek hacmi 10 μ l idi. Tüm örnekler deneyin hemen öncesinde hazırlandılar. Böylece, Al bulaşma riski azaltılmaya çalışıldı.

Kontrol Serum Örnekleri:

"Kontrol" olarak iki serum havuzu hazırlandı. 1) Normal havuz: Normal, sağlıklı 20 erişkinden elde edilen serumlar karıştırılarak bu birer ml'lik kısımlara ayrıldı. Ağızları parafilm'le kapatıldı. Çalışılacağı güne kadar - 20°C'da, derin dondurucuda saklandı. 2) Yüksek kontrol serum havuzu ise, dializ gören 40 hastadan elde edildi. Normal kontroller gibi saklandı. Her çalışmada deneyin güvenilirliğini göstermek amacıyla bir yüksek, bir normal kontrol çalışılarak, değerlendirildi.

İŞLEM:

Ölçüm öncesi AAS cihazı aşağıda belirtilen şekilde hazırlandı. Dalga boyu: 308.5 nm, "slit" açıklığı: 110 μ m, katot lambası akım hızı: 7 L/dk, soğutma suyu akış hızı: 2 L/dk. Güç kaynağı programı ise; kurutma 35 sn-135°C, küllendirme: 40 sn-1400°C, bekleme: 5 sn, atomizasyon: 5 sn-2800°C, bekleme 30 sn.

Örneklerin çalışılması: Hazırlanan standartlar, kontrol ve serum örneklerinden her seferinde 10 μ l grafit tübe verildi. Her örnek üç kez çalışılarak, absorbanslarının ortalaması alındı. Bu ortalama absorbans değerlerinin eşdeğer oldukları Al konsantrasyonları StEG'nden belirlendi. MD tekniği ile saptanan sonuçlar dilüsyon faktörü 2 ile çarpılarak, düzeltim yapıldı. Yaklaşık her 7-8 ölçümden sonra cihaz bir kez boş olarak çalıştırıldı. Böylece "memory effect" önlenmek istendi.

Yöntem çalışmaları: Her serum örneği (n = 20) ve kontrol serumları iki değişik teknikte hazırlanarak çalışıldı. PP tekniği uygulananlarda absorbanslar "nitrik asit'li StEG'nden okundu. MD tekniği uygulanan yöntemde elde edilen absorbanslar ise iki değişik StEG'nden (sulu ve MD'li) okunarak belirlendi. Sonra, elde edilen sonuçlar istatistiksel yöntemlerle kıyaslandılar.

BULGULAR

20 serum örneğinde, PP ve MD tekniği uygulandıktan sonra ölçülen Al ortalama değerleri Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo: I - Aynı Serum Örneklerine PP ve MD Tekniği Uygulandıktan Sonra Elde Edilen Al Ortalama Değerleri ve Birbirleriyle Kıyaslanmaları

Serum Al ($\mu\text{g/L}$)	Yöntemler			P	P'	P''
	PP	MD				
	n = 20	Sulu StEG (n=20)	MD'li StEG (n=20)			
Değerleri	$\bar{X} \pm \text{SS,SH}$ 39 + 8.4,1.88	$\bar{X} \pm \text{SS,SH}$ 77.5 + 13.95,3.12	$\bar{X} \pm \text{SS,SH}$ 67.8 + 11.67,2.61	<0.001	<0.001	<0.05

P: PP ile MD (sulu StEG'nden okunan sonuçlar) arasındaki farkın istatistiksel önemlilik derecesi
P': PP ve MD (MD'li StEG'nden okunan sonuçlar) arasındaki farkın istatistiksel önemlilik derecesi
P'': MD tekniği ile çalışıldığında, sulu ve MD'li StEG'lerinden okunan değerlerin ortalamaları arasındaki farkın istatistiksel önemlilik derecesi

"Recovery" Çalışmaları: PP ve MD tekniği uygulandıktan sonra yapılan ölçümlerin doğruluk derecesini (accuracy) irdelemek amacıyla, normal ve yüksek Al konsantrasyonlu serum havuzlarında bir dizi "recovery" çalışması yapıldı. İki yöntemde de her seferinde örneğe Al içeriği 10 mg/L olan standart'tan 5 μL eklendi. Böylece her eklemede Al içeriği 25 $\mu\text{g/L}$ artırılmış oldu (Tablo: II).

Tablo: II - PP ve MD Teknikleri ile Normal ve Yüksek Al İçerikli Serum Havuzlarında Elde Edilen "Recovery" Değerleri

Eklenen Al (mg/L)	PPTekniği				MDTekniği			
	Normal serum havuzu		Yüksek serum havuzu		Normal serum havuzu		Yüksek serum havuzu	
	Ölçülen Al($\mu\text{g/L}$)	"Recovery" (%)	Ölçülen Al($\mu\text{g/L}$)	"Recovery" (%)	Ölçülen Al($\mu\text{g/L}$)	"Recovery" (%)	Ölçülen Al($\mu\text{g/L}$)	"Recovery" (%)
-	40	-	91	-	26	-	70	-
25	63	96	117	101	41	81	91	96
50	92	102	147	99	68	89	112	93
75	127	111	174	105	91	90	137	94

İnterferans ve "Background" Etkileri:

"Background" etkisini görmek için her iki yöntemde de, döteryum lambalı ve lambasız ölçümler yapıldı. PP tekniği uygulandığında, serumda ençok interferansa yol açan proteinler ortamdan uzaklaştırdığı için, "background" düzeltilmesine gerek olmadığı görüldü. MD'li yöntemde ise, döteryumla düzeltim, absorban değerlerinde azalmaya yol açtı. Bu serumda bulunan maddelerin interferans yaptığını gösteriyordu. Ama, döteryumlu çalışılınca, sistemin dengeye gelmesi için "slit" açıklığını çok miktarda genişletmek gerekiyordu. Bunun ise, ölçümün güve-

nilirliğini azalttığı düşünüldü. Sonuçta, "background" düzeltimi yapmadan PP teknikli yöntemle daha güvenilir ölçüm yapıldığı kanısına varıldı.

Tekrarlanabilirlik (isabet derecesi, "precision"):

Deney içi tekrarlanabilirlik: Normal ve yüksek Al içerikli serum havuzlarında PP tekniği ile aynı örnek bir günde 10 kez, gene aynı örnek bir günde 20 kez çalıştırılarak, n = 10, 10 ve 20 için deney içi varyasyon katsayıları (% CV) belirlendi. Gene aynı örnek 10 gün süreyle, günde bir kez çalışılmak suretiyle, normal ve yüksek havuzlarda PP yöntemine ait "deneyler arası % CV değerleri saptandı (Tablo: III). MD'li yöntemde ise normal havuzda, n = 10 ve 20 için deney içi % CV değerleri belirlendi (Tablo: IV).

Tablo: III - PP'li Yöntemde Normal ve Yüksek Al İçerikli Havuzlarda Saptanan Deney İçi ve Deneyler Arası % CV Değerleri

n	Tekrarlanabilirlik											
	Deney İçi			Deneyler Arası								
	Normal havuz			Yüksek havuz			Normal havuz			Yüksek havuz		
	\bar{X}	SS	% CV	\bar{X}	SS	% CV	\bar{X}	SS	% CV	\bar{X}	SS	% CV
10	39.9	2.42	6.09	89.7	3.65	4.06	44.5	3.6	8.09	95	4.27	4.49
10	40.2	2.66	6.62	91.1	2.47	2.71						
20	40.1	2.48	6.19	90.4	3.12	3.45						

Tablo: IV - MD'li Yöntemde Normal Havuzda Elde Edilen Deney İçi % CV Değerleri

n	Deney İçi Tekrarlanabilirlik					
	\bar{X}	A	% CV	\bar{X}	A'	% CV
10	83.7	16.75	20.01	72.9	14.23	19.52
10	71.5	6.87	9.61	62.7	5.23	8.34
20	77.5	13.95	18.0	67.8	11.67	17.2

A: Sulu SEG'nden okunan değerlerden elde edilen veriler

A': MD'li SEG'nden elde edilen veriler

Duyarlılık (sensitivite)¹¹: PP'lu yöntemde n = 20 "duyarlılık sınırı" (LOD, limit of detection) 4 µg/L, "ölçüm sınırı" (LOQ, limit of quantitation) ise 16 µg/L olarak bulundu. PP'lu yöntemde kullanılan nitrik asit'li standart eğri ve MD'li yöntemde kullanılan sulu ve MD'li standart eğri'lerin ortalama "eğim" değerleri (= mA ÷ µg/L), doğru denklemleri ve birbirleri ile korrelasyonları Tablo: V'de belirtilmiştir. Standart eğrilerin eğimlerinde günlük ufak değişimler gözlemlendi. Yöntemin duyarlılığını gösteren bu değişimleri cihaza ilişkin örneğin; grafit tübün eskimesi, şehir elektrik voltajında ki değişimler gibi nedenlerle ortaya çıktığı düşünüldü.

Tablo: V - Standart Eğri Eğimleri ve Birbirleri ile Korrelasyonları

Eğrinin Cinsi	n	Eğim (= mA ÷ µg/L)			y
		Ortalama	SS	SH	
1. Nitrik asit'li	13	0.72	0.04	0.01	= 2.04 + 1.406X
2. Sulu	7	0.68	0.04	0.02	= 2.47 + 1.291X
3. MD'li	6	0.63	0.02	0.01	= 0.408 + 1.508X
Kıyaslanan Eğriler		y			r
1-2		51.123 - 0.164X			- 0.265
1-3		49.876 - 0.161X			- 0.235
2-3		50.115 + 0.355X			0.318

Doğruluk derecesi (Accuracy):

Doğrusallık (lineerite): Nitrik asit'li, sulu ve MD'li olarak çizilen standart eğriler sırasıyla 0'dan 125, 250 ve 125 µg/L değerlerine kadar doğrusaldı. Standart eğrilerin hergün aynı doğrusalılıkta oldukları saptandı.

TARTIŞMA

Serum Al tayininde ölçüm yapılacak örneğin hazırlanması önemlidir. Bu araştırmada, serumda Al tayini ve seruma uygulanabilecek iki ön işlem incelenip, kıyaslanmaya çalışılmıştır. Bunlar MD ve PP teknikleridir. Genel olarak her ikisinin de bazı iyi ve kötü yönleri vardır. Örneğin; seruma eklenen herhangi bir MD, atomizasyon esnasında, Al sinyallerinin gözükmesini hızlandırır, ama serumdan ileri gelen matriks interferanslarını engellemez¹². Bu nedenle "background" düzeltimi gerekli olur veya "standart ekleme" (ekstrapolasyon) yöntemi ile Al miktar belirtimi yapılması gerekir. Bu yöntemde örnek matriksi kendi standardı olarak bulunduğu için, matriks interferans sorunu ortadan kalkmaktadır. Ama ekstrapolasyon "StEG yöntemi"ne kıyasla son derece zor ve uzun zaman alan bir yöntemdir. Gene MD'lerin eklenmesi ile standart eğrilerin doğrusalığında 200 µg/L Al konsantrasyonlarına kadar bir artış olduğundan söz edilmektedir¹³. Ama doğrusalığı artıran esas faktör, grafit fırına eklenen "ısı stabilize edici bir platform" dur. Platform ve kimyasal MD'ler birlikte en iyi etkiyi gösterirler ve doğrusalığı 600 µg/L konsantrasyonuna kadar arttırırlar. Bizim cihazımızda böyle bir platform olmadığı için bu etkiden yararlanmak olası değildir. MD ile birlikte kullanılan Triton-X 100 maddesi ise grafit tüpte kalıntı oluşumunu, dolayısıyla "memory effect"i azaltmaktadır¹⁴.

PP tekniğinde matriks interferansına yol açan, seruma ait diğer faktörler ortamdaki uzaklaştırılmış olur. Matriks interferansının azalması sonucu, "background" düzeltimine gerek kalmaz. Ölçüm esnasında, protein içeren örneğin yanması ve kömürleştirilmesi ile grafit tüpte kalıntılar meydana gelir. PP ile proteinler uzaklaştırılacağı için, oluşan kalıntı miktarı azalacaktır. Aynı sonuç, örneğin sulandırılması ile de elde edilir^{15,16}. Buna bağlı olarak örneklerin tüpe verilmesinden önce tüpü temizlemeye gerek kalmaz. Ayrıca örneğin kurutulması ve kömürleştirilmesi için gerekli zaman süresi kısalmıştır. Bunlar sonuçta ölçüm zamanını kısaltan etkenlerdir. PP tekniğinin en büyük avantajların bir diğeri ise St eklemeye kıyasla çok daha basit bir yöntem olan "StEG" yönteminde kullanılabilmesidir⁵. PP tekniğinin dezavantajları ise şöyle sıralanabilir: Serumda Al dialize olmayan plazma bileşenlerine örneğin proteinlere bağlı bulunmaktadır. PP ile Al'un bir kısmı da çökebilir ve sonuçlar gerçektekenden daha düşük bulunabilir.

Deneyiçi tekrarlanabilirlik değerleri, bir deneyin cihaza ve ölçüm esnasındaki diğer etkenlere ilişkin stabilitesini gösteren faktördür. Bizim sonuçlarımız PP tekniği kullanıldığında isabet derecesinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu ise bu teknikte ölçümün daha güvenilir olması demektir. Örnekte bulunan Al içeriğinin artması isabet derecesini arttırır. Kaynaklarda da normal veya düşük Al içerikli havuzlarda % CV değeri daha yüksek (yaklaşık % 10 civarında) bulunurken, yüksek havuzlarda deney içi isabet derecesinin arttığından (% 1-6 arası) söz edilmektedir^{17,18}. Bizim bulgularımız bu değerlere uyumludur.

Standart eğrilerin eğimi bir deneyin duyarlılığını, lineeritesi ise doğruluk derecesini (accuracy) gösterir. Çalışmamızda St eğrilerin eğimlerinde ufak günlük değişimler gözlenmesine karşın, örneklerle birlikte çalışılan normal ve yüksek kontrol serum havuz değerleri, standartlarla paralel değişim gösterdiği için, her çalışmada yeni StEG çizildiği sürece, sonuçların doğru olduğu kabul edilmiştir.

Çeşitli kaynaklarda normal sağlıklı erişkinlerde ortalama Al düzeyleri 6-55 µg/L arasında belirtilmektedir^{6-8,19-21}. Bu değerlerle, bizim PP tekniği ile saptadıklarımız daha çok uyumludur. MD tekniği ile saptanan değerler oldukça yüksek ve üremik, dializ gören hastaların Al değerlerine yakındır.

Sonuç olarak; PP tekniği MD'ye kıyasla daha fazla serum örneği gerektirmesine karşın, matriks interferansını önleyen ve "background" düzeltimine gerek bırakmayan "memory effect" in az olduğu bir yöntemdir. Buna bağlı olarak, grafit tüpün temizlenmesi pek fazla gerekmez. Bu nedenle de hem kısa sürede daha çok örnek çalışılabilir, hem de tüpün eskimesi, harcanan gaz miktarı daha az olacağından daha ekonomiktir. Kaynak verileri ile kıyaslandığında, PP tekniği ile saptanan ortalama serum Al değerleri daha uyumludur. PP tekniğinin en büyük avantajı ise StEG yöntemine uygun olmasıdır. Serum veya tam kan bir kez proteinsizleştirilince, Al'a ek olarak bu süzüntüde başka eser elementler de çalışıla-

bilir. PP tekniği genellikle tüm biyolojik örneklerde eser metal ölçümünde uygulanabilecek bir tekniktir ve bunun uygulandığı yöntemler rutin laboratuarlarda kolayca standardlaştırılabilir.

KAYNAKLAR

1. ALFREY, A.C., HEGG, A., CRASWELL, P.: Metabolism and toxicity of aluminum in renal failure. *Am. J. Clin. Nutr.* 33:1509-16, 1980.
2. WARD, M.K., FEEST, T.G., ELLIS, H.A.: Osteomalacic dialysis osteodystrophy: Evidence for a water-borne aetiological agent, probably aluminum. *Lancet* 1:841-5, 1978.
3. PARKINSON, I.S., WARD, M.K., KERR, D.N.S.: Dialysis encephalopathy, bone disease and anaemia: The aluminum intoxication syndrome during haemodialysis. *J. Clin. Pathol.*, 34:1285-94, 1981.
4. WILLS, M.R., SAVORY, J.: Aluminum poisoning: Dialysis encephalopathy, osteomalacia and anaemia. *Lancet* 2:29-34, 1983.
5. BROWN, S., BERTHOLF, R.L., WILLS, M.R., SAVORY, J.: Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of aluminum in serum with a new technique for protein precipitation. *Clin. Chem.*, 30/7:1216-8, 1984.
6. BETTINELLI, M., BARONI, U., FONTANA, F., POISETTI, P.: Evaluation of the L'vov platform and matrix modification for the determination of aluminum in serum. *Analyst*, 110:19-22, 1985.
7. CORNELIS, R., SCHUTYSER, P.: Analytical problems related to Al-determination in body fluids, water and dialysate. *Contr. Nephrol.*, 38:1-11, 1984.
8. FRECH, W., CEDERGREN, A., CEDERBERG, C., VESSMAN, J.: Evaluation of some critical factors affecting determination of aluminum in blood, plasma or serum by electrothermal atomic absorption spectroscopy. *Clin. Chem.*, 28/11:2259-63, 1982.
9. JULSHAMN, K., ANDERSEN, K.J., WILLASSEN, Y., BRAEKKAN, O.R.: A routine method for the determination of aluminum in human tissue samples using standard addition and graphite furnace atomic absorption spectrophotometry. *Anal. Biochem.*, 88:552-9, 1978.
10. ALLAIN, P., MAURAS, Y., KHATCHDOURIAN, F.: Determination of aluminum in hemodialysis concentrates by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.*, 56:1196-8, 1984.
11. MacDOUGGALL, D., CRUMMETT, W.B.: Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. *Anal. Chem.*, 52:2242-9, 1980.

12. LEUNG, F.Y., HENDERSON, A.R.: Improved determination of aluminum in serum and urine with use of a stabilized temperature platform furnace. *Clin. Chem.*, 28/10:2139-43, 1982.
13. SLAVIN, W., CARNRICK, G.R., MANNING, D.C.: Magnesium nitrate as a matrix modifier in the stabilized temperature platform furnace. *Anal. Chem.*, 54:621-4, 1984.
14. KAEHNY, W.D., HEGG, A.P., ALFREY, A.C.: Gastrointestinal absorption of aluminum from aluminum-containing antacids. *N. Engl. J. Med.*, 296:1389-90, 1977.
15. ALDERMAN, F.R., GITEMAN, H.J.: Improved electrothermal determination of aluminum in serum by atomic absorption spectroscopy. *Clin. Chem.* 26/2:258-60, 1980.
16. GORSKY, J.E., DIETZ, A.A.: Determination of aluminum in biological samples by atomic absorption spectrophotometry with graphite furnace. *Clin. Chem.*, 24/9:1485-90, 1978.
17. BERTHOLF, R.L., BROWN, S., RENOE, S., RENOE, B.W., WILLS, M.R., SAVORY, J.: Improved determination of aluminum in serum by electrothermal atomic absorption spectrophotometry. *Clin. Chem.*, 29/6:1087-9, 1983.
18. VERSIECK, J., CORNELLIS, R.: Normal levels of trace elements in human blood plasma or serum. *Anal. Chim. Acta* 116:217-54, 1980.
19. BURATTI, M., CARAVELLI, G., CALZAFERRI, G., COLOMBI, A.: Determination of aluminum in body fluids by solvent extraction and atomic absorption spectroscopy with electrothermal atomization. *Clin. Chim. Acta*, 141:253-9, 1984.
20. VAN DER VOET, G.B., HAAS, J.M., WOLF, F.A.: Monitoring of aluminum in whole blood, plasma, serum and water by a single procedure using flameless atomic absorption spectrophotometry. *J. Anal. Toxicol.*, 9:97-100, 1985.
21. LEUNG, F.Y., HENDERSON, A.R.: Quality-control sera for routine determination of aluminum by electrothermal atomic absorption spectroscopy. *Clin. Chem.*, 29/11:1966-8, 1983.

Doç. Dr. Asuman H. GÜLER
U.Ü. Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Görükle 16059 - BURSA