

24360

T.C
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SERUM MAGNEZYUM TAYİN
YÖNTEMLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Biyokimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz.Sevdiye ÇAVUŞOĞLU
Danışman Öğretim Üyesi: Yard.Doç.Dr.Şükran KOCAOĞLU

İZMİR-1992

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve yardımlarıyla her zaman destek olan değerli hocam Yard.Doç.Dr.Şükran KOCAOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca , verilerimin istatistiksel analizlerinin yapılmasında ve bilgisayar grafiklerinin çizilmesinde göstermiş oldukları ilgi ve yardımlarından dolayı Dr.Mehmet KUMRU'ya , Uzm.Hüseyin TEL'e ve Arş.Gör.Murat ÇİZMECİOĞLU'na teşekkür ederim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sayfa

B Ö L Ü M I

G İ R İ Ő ve A M A Ç 1

B Ö L Ü M II

G E N E L B İ L G İ L E R 4

II.1. MAGNEZYUMUN ORGANİZMADAKİ DAĞILIMI ve DEPOLARI..... 4

II.2. MAGNEZYUMUN HOMEOSTAZİSİ..... 6

II.2.1. Vücutun Magnezyum Gereksinimi..... 6

II.2.2. Magnezyum Absorbsiyonu ve Atılımı..... 7

II.3. HİPOMAGNEZEMİ..... 8

II.3.1. Organizmaya Giren Magnezyum Miktarının Azalması..... 8

II.3.2. Magnezyumun Yeniden Dağılıma Uğraması..... 9

II.3.3. Aşırı Magnezyum Kayıpları..... 9

II.4. HİPOMAGNEZEMİNİN KLİNİK ÖNEMİ..... 10

II.5. MAGNEZYUM TAYİN YÖNTEMLERİ..... 12

II.5.1. Magnezyum Amonyum Fosfat Yöntemi..... 12

II.5.2.	Spektrofotometrik Yöntemler.....	13
II.5.2.1.	Magnezyumun Çeşitli Boyalarla Kompleks Oluşturmasına Dayanan Yöntemler:.....	13
II.5.2.2.	Enzimatik Spektrofotometrik Yöntemler.....	13
II.5.3.	Kompleksometrik Titrasyon Yöntemleri.....	14
II.5.4.	Fluorometrik Yöntemler.....	14
II.5.5.	Fleym ve Plazma Atomik Emisyon Spektrofotometrik Yöntemler..	15
II.5.6.	Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik Yöntemler.....	15

B Ö L Ü M III

A R A Ç , G E R E Ç ve Y Ö N T E M L E R.....	16	
III.1.	KULLANILAN MADDELER.....	16
III.2.	KULLANILAN ALETLER.....	17
III.3.	KULLANILAN ÇÖZELTİLER.....	17
III.3.1.	Titan Sarısı-1 Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler.....	17
III.3.2.	Titan Sarısı-2 Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler.....	18
III.3.3.	Metil Timol Mavisini Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler.....	19
III.4.	ÇALIŞMA MATERYALİ.....	19
III.5.	YÖNTEMLER.....	19
III.5.1.	Titan Sarısı-1 Yöntemi.....	19
III.5.2.	Titan Sarısı-2 Yöntemi.....	20
III.5.3.	Metil Timol Mavisini Yöntemi.....	21
III.5.4.	Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi Yöntemi.....	21
III.5.4.1.	Atomik Absorbsiyon (Emilim) Spektrofotometresinin Çalışma Prensibi.....	22
III.5.5.	İstatistiksel Değerlendirme.....	23

B Ö L Ü M IV

B U L G U L A R..... 24

B Ö L Ü M V

T A R T I Ş M A ve S O N U Ç..... 34

Ö Z E T..... 42

S U M M A R Y..... 44

K A Y N A K L A R..... 46

Ö Z G E Ç M İ Ş



B Ö L Ü M I

G İ R İ Ő VE A M A Ç

Magnezyum, organizmadaki birçok fizyolojik ve biyokimyasal olaya katılan önemli bir intrasellüler katyondur. Magnezyumun rol aldığı fizyolojik olayları; vücudun gelişmesi, yaraların iyileşmesi, vücut ısısının regülasyonu, nöromüsküler iletim, nöromüsküler aktivite, miyokardın kasılması ve immun yeterlilik olarak sıralayabiliriz(35). Vücuttaki pek çok biyokimyasal tepkimede görev alan 300'den fazla enzimin aktivasyonunda da magnezyumun varlığı gereklidir(5,7,14).

Magnezyum ayrıca ATP'nin yer aldığı tepkimeleri de aktifler. Aslında ATP'nin substrat olarak bulunduğu bütün tepkimelerde gerçek substrat $MgATP^{-2}$ kompleksidir. Magnezyum ATP'nin beta ve gamma fosfatları arasında şelatlanır ve ATP'nin yoğun anyonik karakterini azaltır. Bu şekilde magnezyum, spesifik protein bölgelerine yaklaşabilir ve reversibl bir şekilde bağlanabilir. Böylece nükleotid, nükleik asit, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında önemli roller oynar(48).

Magnezyum, DNA ve ribozomal RNA'nın yapısını regüle ederek, hücre büyümesi ve membran yapısının regülasyonunda da önemli bir rol oynar(5,7).

Vücudumuzdaki birçok iyonun işlevi magnezyum iyonlarının varlığı ile ilişkilidir. İntrasellüler magnezyum, sodyum-potasyum transportunu düzenlemede temel rolü oynayan membrana bağlı Na^+-K^+ -ATPaz'ın aktivasyonu için gerekli bir kofaktördür. Ekstrasellüler magnezyum konsantrasyonları da , vasküler membranlardaki $\text{Mg}^{++}-\text{Ca}^{++}$ transport bölgelerinin regülasyonunu sağlayarak kalsiyum iyonlarının giriş ve çıkışını düzenler(4,5,6,64).

Dietsel magnezyum eksikliği oluşturulan deney hayvanlarında kalp, iskelet kası, karaciğer ve böbrek gibi çeşitli dokular ile eritrosit ve lenfosit gibi kan hücrelerindeki intrasellüler potasyum konsantrasyonlarında azalma olurken, sodyum ve kalsiyum konsantrasyonlarında artışlar olduğu gözlenmiştir(5,77).

Diyabetik komanın insülinle tedavisi, glukoz-insülin infüzyonları veya insülinin neden olduğu hipoglisemi sırasında, insülin aracılığı ile potasyumun ekstrasellüler bölgeden intrasellüler bölgeye geçişi hipokalemi oluşmasına neden olur. Önemli bir intrasellüler katyon olan magnezyumun hücre içine girişi de potasyum gibi olduğundan, bu katyon için de benzer etkilerden bahsedilebilir(61).

Primer hiperparatiroidizm, primer ve sekonder aldosteronizm, hipertroidizm ve antidiüretik hormon sendromunda aşırı üriner magnezyum kayıpları meydana gelir(14,64).

Vücuttaki total magnezyumun yaklaşık % 99'u intrasellüler bölgelerde ve kemiklerde depolanırken, sadece % 1'lik kısmı ekstrasellüler sıvıda yer alır. Bu yüzden serum magnezyum düzeyleri her zaman intrasellüler veya total magnezyum depolarının durumunu yansıtmaz. İntrasellüler serbest magnezyum konsantrasyonlarının tayin edilmesi güç olduğundan, vücudun magnezyum içeriği hakkında bilgi sahibi olmak için serum ve eritrosit magnezyum konsantrasyonları saptanır(7,10,18).

Biyolojik sıvılardaki magnezyum düzeylerinin tayini için çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Bunların başlıcaları ; kompleksometrik titrasyon (33,40), fleym emisyon fotometresi (22,54), atomik absorpsiyon spektrofotometresi (29,75), atomik emisyon spektrofotometresi (56), fluorometrik (30,38,57) ve çeşitli spektrofotometrik yöntemlerdir. Spektrofotometrik teknikler içinde ise enzimatik teknikler (78) ve magnezyumun çeşitli boyalarla renkli kompleksler oluşturmasına dayanan yöntemler (37,42,43,50,60, 63,68,70,73) yer alır.

Magnezyum iyonları ile şelatlanma tepkimelerine girerek renkli komplekslerin oluşturulmasına dayanan spektrofotometrik yöntemlerde , ortamda bulunan başka katyonların interferansları da sözkonusu olabilir(30,78) Oysa , atomik absorpsiyon spektrofotometresi analizlerinde bu tür hatalara yer yoktur.Bununla birlikte atomik absorpsiyon spektrofotometresi klinik laboratuvarlarının çoğu için oldukça pahalı bir tekniktir.

Çalışmamızda, 3 spektrofotometrik yöntem ve bunlara paralel olarak atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile sağlıklı kişilerin serum magnezyum düzeylerini tayin ederek, güvenilir, fazla zaman harcamayı gerektirmeyen ve laboratuvar şartlarımıza en uygun olan yöntemi saptamayı amaçladık.

B Ö L Ü M II

GENEL B İ L G İ L E R

II.1. MAGNEZYUMUN ORGANİZMADAKİ DAĞILIMI VE DEPOLARI

Yetmiş kilogram ağırlığındaki yetişkin bir insanın vücudunda 21-28 gr. kadar magnezyum bulunur. Bunun yaklaşık % 50-60'ı kemiklerde, %20-35'i ise iskelet kasında yer alır. Ayrıca böbrek, karaciğer, kalp ve yumuşak dokularda da daha az miktarlarda bulunur(5,14,35).

Magnezyum intrasellüler bir katyon olup, total vücut magnezyumunun sadece yaklaşık % 1'lik kısmı ekstrasellüler sıvıda yer alır. Serum magnezyumunun yaklaşık %32'si serum proteinlerine bağlıdır. Proteinlere bağlı durumdaki magnezyumun 3/4'ü albumine, geri kalan da globulinlere bağlıdır. Serum magnezyumunun % 55'i serbest iyon, % 13'ü ise kompleksler şeklinde bulunur(35,41). Serumun ultrafiltrasyonu sonunda proteine bağlı magnezyum filtreyi geçemez. Bu durumda ultrafiltrat, serbest magnezyumu yani, kompleks ve iyonize magnezyumu içerir. Proteine bağlı olan magnezyum ile anyonlarla kompleks oluşturmuş magnezyum, fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda rol oynamazlar(7).

İntrasellüler serbest magnezyum konsantrasyonlarının saptanması oldukça güçtür. Bununla birlikte son yıllarda bazı hücre tiplerinde intrasellüler serbest magnezyum konsantrasyonlarının saptanması için bazı yeni teknikler başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Bu teknikler ; spesifik ve duyarlı Mg^{++} mikroelektrotları, ^{31}P Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) ve bazı enzimatik yöntemlerdir. Bu teknikler kullanılarak yapılan çalışmalar sonunda memelilere ait çeşitli hücrelerdeki intrasellüler serbest magnezyum konsantrasyonlarının

1-3 mmol/L. arasında olduğu gösterilmiştir.Sadece insan eritrositlerindeki serbest magnezyum miktarı 0.25-0.67 mmol/L.arasındadır.En yüksek serbest magnezyum konsantrasyonları kalp kası hücrelerinde bulunmuştur.Koyunda 3.1 mmol/L., kobayda ise 2.5-3 mmol/L. arasındadır.Sıçan iskelet kası hücrelerindeki serbest magnezyum konsantrasyonu 1-2.8 mmol/L. arasındadır(4,5, 7). Elektron mikroprobe teknikleri kullanılarak yapılan incelemelerde kalp, iskelet ve vasküler kas hücrelerindeki total hücresel magnezyumun hücre organellerinde dağıldığı ve bu intrasellüler magnezyum düzeylerinin çeşitli bölgelerdeki stimülasyon ve hipoksiye bağlı olarak değişebileceği gösterilmiştir(4).

Ciddi magnezyum eksikliği durumu sözkonusu olduğu zaman kalp kası ve vasküler düz kas gibi farklı birkaç hücre tipi kendi magnezyum içeriklerinin yaklaşık % 50-60'lık kısmını korurlar.Ekstrasellüler magnezyum eksikliğinde, hem iskelet hem de kas magnezyumunun azaldığı gösterilmiştir.Kemik ve kas magnezyum depolarının sadece bir kısmı magnezyum kayıplarının tamponlanması için kullanılabilir(2,7).

İnsanlardaki kemik ve kas magnezyum depoları uzun süreli magnezyum eksikliğini karşılamak için yetersizdirler.Ayrıca kemikteki magnezyum eksikliği kemikleri yumuşatan bir hastalık olan osteomalasi'ye ve kemiklerde artmış bir kırılma eğilimine zemin hazırlayabilir.Kastaki magnezyum eksikliği ise, miyopati'ye yada şiddetli bir kas güçsüzlüğüne neden olabilir ve magnezyum eksikliğinde yorgunluk belirtileri görülür(7,32,45),

Serum magnezyum konsantrasyonu ile diğer dokulara ait magnezyum konsantrasyonları arasında karşılıklı bir ilişki bulunmamıştır.Sadece serum ve barsak sıvısı magnezyum konsantrasyonları arasında karşılıklı bir ilişki olduğu gösterilmiştir.Eritrosit magnezyum konsantrasyonu da diğer dokulardaki magnezyum depoları ile ilişkili değildir.Buna karşılık birçok araştırmada mononükleer kan hücreleri ile kas magnezyum konsantrasyon-

ları arasında karşılıklı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Mononükleer kan hücrelerinin magnezyum içeriği ile diğer dokulardaki magnezyum depolarını karşılaştıran az sayıda yayın olmasına karşın, eldeki bilgiler bazı hastalıklarda bu hücrelerdeki magnezyum tayinlerinin klinikte yararlı olacağını telkin eder(7,35).

Magnezyum statüsündeki akut değişikliklerin saptanmasında, serum ve eritrosit magnezyum konsantrasyonlarından yararlanılabilir. Çeşitli kardiyovasküler hastalıklı kişiler ile durumu şüpheli ve belirsiz olan vasospastik hastalıklı kişilerin, diabetik ketoasidozlu hastaların tedavisinde serum ve eritrosit magnezyum konsantrasyonu hakkında bilgi sahibi olmak yararlıdır(3,5,7,10,18).

II.2. MAGNEZYUMUN HOMEOSTAZİSİ

Organizmadaki magnezyum dengesi, gıdalarla alınan magnezyumun barsaktan absorpsiyonu ve başlıca böbreklerden olmak üzere vücuttan atılımı ile sağlanır(39).

II.2.1. Vücutun Magnezyum Gereksinimi:

Gıdaların magnezyum içeriği genellikle değişiktir. Deniz ürünleri, et tahıllar, baklagiller, süt, kakao, fındık, fıstık gibi kabuklu yemişler, meyvalar ve yeşil sebzeler magnezyum bakımından zengin gıda maddeleridir(35).

İçilen ve pişirme işleminde kullanılan su da vücut için önemli bir magnezyum kaynağıdır. Vücutun magnezyum ihtiyacının büyük bir kısmı içme sularından karşılanır. Su ile alınan magnezyum, gıdalarla alınan magnezyumdan daha iyi ve süratle absorblanır. Metabolik yararlılığı da daha fazladır(19, 47). Ayrıca sert içme suları, yumuşak içme sularından daha çok magnezyum içeriğine sahip olduğundan, sert suya sahip olan yerleşim bölgelerinde günlük olarak alınan magnezyum miktarı daha fazla olabilir(67).

Magnezyum doğal gıda maddelerinde yaygın bir şekilde bulunmasına rağmen, gıdaların rafinasyonu ve özel işlemlere tabi tutulması sırasında bu elementin büyük bir miktarı kaybolur(48).

National Research Council (NRC)'ın yaşa ve cinsiyete göre önerdiği günlük magnezyum gereksinimleri şöyledir(71).

	<u>Yaş</u>	<u>Magnezyum(mg/gün)</u>
Bebek	0-0.5	50
	0.5-1	70
Çocuk	1-10	150-250
Erkek	11 ve üstü	350-400
Kadın	11 ve üstü	300
Hamilelik		+ 150
Laktasyon		+ 150

Diyetle alınan aşırı kalsiyum, fosfat, protein ve D vitamini magnezyum retansiyonunu bozar. Alkol de vücuttan magnezyum kaybını arttırır. Batı toplumlarının diyetlerinde kalsiyum, protein ve D vitamini bakımından zengin olan gıda maddeleri fazladır ve bu ülkelerde alkol tüketimi de oldukça yüksektir. Bu durumda dünyanın batısında yaşayan toplumların günlük magnezyum gereksinimleri doğululara kıyasla daha fazladır(35,48). Ayrıca, ana-bolizmaları aktif durumda olanlar ile stres altında olanlara daha yüksek miktarlar önerilmiştir(19,28,74).

II.2.2. Magnezyum Absorbsiyonu ve Atılımı:

Normal bir diyetle alınan magnezyumun yaklaşık % 30-60'ı jejunum ve ileumdan absorbe olurken, geri kalanı da absorblanmadan feçesle atılır(35). Magnezyumun barsaklardan absorbsiyonu diyetle alınan miktarıyla ilişkilidir.

Düşük magnezyum içeren bir diyetdeki magnezyumun 3/4'ünden fazlası absorblanabilirken, yüksek magnezyumlu bir diyetle absorbsiyon 1/4'e kadar düşebilir(48).

Böbrekler vücut magnezyum kayıplarını önlemede ve magnezyum dengesini korumada olağanüstü bir yeteneğe sahiptir. Öyle ki, magnezyum

miktarı oldukça düşük olan bir diyetle beslenince idrarla atılan miktar günde sadece 1 mEq kadar olur(48).Diyetle magnezyum alınışı arttığı veya azaldığı zaman, idrarla atılan magnezyum miktarlarında da paralel değişiklikler meydana gelir(7).Böbreklerde magnezyumun % 65'i henle lobundan,% 30'u proksimal tüplerden ve çok az bir kısmı da (%5) distal tüplerden geri emilir.Magnezyumun bu bölgelerden geri emilimi,sodyum ve kalsiyumun geri emilimi ile yakından ilişkilidir(10).Aldosteron ve parathormon da magnezyumun idrarla atılışını etkiler (14).

II.3. HİPOMAGNEZEMİ

Total vücut magnezyumundaki bir azalma magnezyum eksikliği olarak tanımlanır.Magnezyum eksikliğinde genelde hipomagnezemi ortaya çıkarsa da,bazı durumlarda normal,hatta yüksek serum magnezyum konsantrasyonları da sözkonusu olabilir.Eritrosit magnezyum içeriği ise,seruma kıyasla biraz daha yavaş bir şekilde düşer (35,39).

Hipomagnezemi temelde üç mekanizma ile oluşabilir.

II.3.1. Organizmaya Giren Magnezyum Miktarının Azalması :

Organizmaya giren magnezyum miktarının azalması,genelde magnezyumun diyetteki ve içme suyundaki eksikliği ile gastrointestinal hastalıklardan ötürü barsaktan absorpsiyonundaki bir azalma sonucu olur(14,35)

Uzun süren açlıklarda ve düzensiz beslenen kişilerde,gıdalarla magnezyum alınımı önemli ölçüde azalır.Ayrıca içme sularının yumuşak su olduğu bölgelerde yaşayan toplumların suyla aldıkları magnezyum miktarları, günlük magnezyum ihtiyacını karşılamada yetersiz kalabilir (15,16,34,66,67).

Diyetteki magnezyum eksikliği aşırı olduğu zaman,magnezyumun idrar,dışkı ve deri yoluyla olan kayıpları sonucunda ekstrasellüler magnezyum konsantrasyonlarında çarpıcı düşüşler meydana gelebilir(7). Buna ilaveten, eritrositlerde çeşitli harabiyetlere ve anemiye neden olabilecek düzeyde,e-ritrosit magnezyum içeriğinin önemli bir şekilde azaldığı bildirilmiştir(18,21).

Protein_kalori malnütrisyonu ve intestinal malabsorpsiyon durumları da hipomagnezeminin önemli nedenlerindedir.Bu durumlarda serum ve kas magnezyum düzeylerinde önemli düşüşler gözlenmektedir(11,35,55).

II.3.2. Magnezyumun Yeniden Dağılıma Uğraması:

Dolaşımdaki magnezyumun hücre içine kayarak magnezyum kompleksleri oluşturması veya çözünmeyen sabunlar şeklinde depolanması, magnezyumun organizmada yeniden dağılıma uğraması olarak tanımlanır ve akut hipomagnezemiye yol açar. İntravenöz yolla glukoz ve aminoasit verildiğinde, diyabetik ketoasidozun insülinle tedavisi sırasında, glukoz ve aminoasitlerin hücreler tarafından alınışı artarken, beraberinde hücre içine magnezyum kayması da olur. Ağrı veya cerrahi girişim gibi stres yaratan durumlar veya akut pankreatit magnezyumun organizmada yeniden dağılıma uğramasına neden olur. Postparatiroidektomide (Hungry bone sendromu) ise, kemikler tarafından akut magnezyum alımı olduğundan ciddi hipomagnezemi gelişebilir(10).

II.3.3. Aşırı Magnezyum Kayıpları :

Organizmadaki aşırı magnezyum kayıpları iki şekilde ortaya çıkabilir. Bunlar; böbrekler ve böbrek dışı yollardır.

Renal magnezyum kayıpları sonucunda sekonder magnezyum eksikliği gelişebilir. Böbreklerden aşırı miktarlarda magnezyum kaybı intrinsik tübüler bozukluklar (akut ve kronik interstitial nefritler, tübüler nekroz veya bazı ilaçlar v.b.gibi etkenlerle oluşan tübüler harabiyet) veya ekstrarenal faktörler (serum fizyolojik, furosemid ve osmotik ajanlarla sağlanan diürez, digoksin kullanımı, organik asidüri, hipokalemi gibi) nedeniyle olabilir. Hiperkalsiüride daima hipomagnezemi görülür. Çünkü, magnezyumun tübüler reabsorpsiyonu kalsiyum tarafından kompetitif olarak inhibe edilmektedir(10,14,35).

Mide, safra ve pankreas salgılarının ve özellikle aşağı intestinal kanal sıvısının aşırı kaybına yol açan (nasogastrik emme ve intestinal fistül gibi) durumlarda böbrek dışı yollarla gastrointestinal kanaldan ciddi magnezyum kayıpları olur. Nadir olarak aşırı laktasyon, terleme sonucunda da magnezyum kaybı meydana gelebilir(35).

II.4. HİPOMAGNEZEMİNİN KLİNİK ÖNEMİ

Vücutta magnezyum eksikliği tek başına hiçbir semptom oluşturmaz. Magnezyumun eksikliği sonucu organizmadaki iyon dengesinde bozulmalar olur. Hipokalemi, hipokalemi, hipofosfatemi ve hiponatremi ortaya çıkar. Temeldeki klinik belirtiler magnezyum eksikliğinin neden olduğu bu elektrolit düzensizliklerine bağlıdır. Elektrolitlerin diyetle alınımı yeterli olsa dahi, hipomagnezemi durumunda tekrar normal düzeylerine dönmeleri sadece magnezyum tedavisine ve hipomagnezeminin düzeltilmesine bağlıdır(5,35,74,77).

Magnezyum eksikliğinin yol açtığı temel etkiler kalp ve vasküler sistem üzerindedir. İntrasellüler magnezyum ve potasyum konsantrasyonları arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Magnezyum, potasyumun hücre membranından transportu ve intrasellüler potasyum konsantrasyonunun korunmasında önemli bir rol oynayan hücre membranına bağlı $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPaz}$ enzim sisteminin (Na-Pompa) aktivasyonu için gerekli bir kofaktördür. Magnezyum eksikliği kalp ve vasküler düz kas hücrelerinde membrana bağlı $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPaz}$ ve $\text{Ca}^{++}-\text{ATPaz}$ enzim sistemlerinin inhibisyonuna neden olur. Hücre membranının iyonlara geçirgenliği artar. Hücredeki magnezyum ve potasyum konsantrasyonlarında azalma, buna karşılık sodyum ve kalsiyum konsantrasyonunda artış meydana gelir. Gelişen bir dizi olaylar sonucunda kardiyak nekrozlar, atrial ve ventriküler aritmiler ve miyokarda ait iskemik sendromlar ortaya çıkar(3 - 5,15,34,67). Akut miyokard enfarktüsü ve iskemik kalp hastalıklarında, kalp magnezyum düzeylerinin % 12-38 arasında azaldığı saptanmıştır. Kalp magnezyum konsantrasyonundaki azalma ne kadar fazlaysa, miyokarda ait hasar da o kadar fazladır(3,67) Miyokard enfarktüsü geçirmiş bir hastaya, hastaneye gelir gelmez derhal intravenöz olarak bir magnezyum tuzu verilmesi önerilmiştir. Böylece enfarktüs sonrası gelişebilecek olan hipomagnezemi önlenabilir ve aritmiler ile ölüm oranında azalma sağlanabilir(59).

İnsanlardaki epidemiyolojik çalışmalar ve sıçanlardaki deneysel araştırmalar, sert içme sularının kullanılmasının ve diyetle yeterli magnezyum alınmasının arteriyel hipertansiyonu ve atheroskleroza önleyici etkide olduğunu göstermiştir(3,10).

Digital ilaç kullanan kalp hastalarında hipomagnezemi ve aritmi insidansı çok yüksektir. İlaçlara bağlı olarak miyokarttan çok şiddetli magnezyum kayıpları olabilir. Sonuçta aritmiler ve ani kardiyak ölümler meydana gelebilir. Klinikte digitalis-toksik aritmili hastalara $MgSO_4$ tedavisi uygulandığında bu hastaların $MgSO_4$ tedavisine yanıt verdiği ve digitalislere bağlı aritmilerin ortadan kalktığı görülmüştür (14,32,67).

Ekstrasellüler magnezyum, vasküler membranlardaki Mg^{++} - Ca^{++} ve Na^+ - Ca^{++} transport bölgelerinin regülasyonunu sağlayarak kan basıncının, kan akımının ve arteriyel tonüsün düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Ekstrasellüler magnezyum konsantrasyonlarındaki bir azalma hipertansiyona ve koroner vospazma neden olabilir (5,20,28,31).

Son yıllarda hipertansiyon tedavisinde kullanılan diüretikler ile ani kardiyak ölümler arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Diüretikler, sodyumun idrarla atılışını arttırırken, magnezyum ve potasyumün üriner atılımını da büyük ölçüde arttırırlar. Diüretik tedavisi gören kalp hastalarında gelişen hipomagnezemi ve hipokalemi özellikle miyokart enfarktüsünden sonra kardiyak aritmilerin oluşumunda bir artışa neden olur. Bu nedenle kardiyak hastalığı olan kişilerde diüretik ilaçların kullanılmasından kesinlikle kaçınılmalıdır (20, 31,77).

Magnezyum eksikliği; dil, el ve ayakların titremesi, miyoklonik kasılma, konvülsiyonlar, Chvostek's belirtisi, ataksi, nistagmus, karpopedal spazm ve vertigo gibi çeşitli nöromusküler belirtilere ve semptomlara yol açabilir. Hipokalemi ve hipokalseminin de hipomagnezemiye eşlik etmesi bu belirtilerin ortaya çıkışına katkıda bulunur. Latent tetanide magnezyum eksikliği sözkonusudur ve yukarıda saydığımız nöromusküler belirtilerin pekçoğu gözlenir (23,24).

Magnezyum eksikliği ayrıca apati, depresyon, sıkıntı, şaşkınlık, huzursuzluk, korku ve deliryum gibi kişilik değişiklikleriyle de ilişkili olabilir. Kronik stres durumlarında artmış katekolamin sekresyonu intrasellüler magnezyum

kaybına neden olur.Magnezyum eksikliği de katekolaminlerin salgılanışını uyararak strese hassasiyeti arttırır(28,39).

Kronik alkoliklerde (36,45), diyabetli (51,52,72) ve migrenli hastalarda (6,25) da düşük magnezyum değerleri bulunmuştur.

Afrika ve Japonya gibi diyet magnezyumunun yüksek düzeyde olduğu bazı bölgelerde çok düşük migren insidansının görülmesi oldukça ilginçtir.Stres, menstrüasyon, gebelik ve çeşitli diüretiklerin klasik migreni provoke ettiği bilinir.Bütün bu faktörler hipomagnezemi ve/veya magnezyum kaybına da yol açarlar.Magnezyumun, kalsiyum iyonlarının serebral vasküler düz kasın içine girmesini bloke ederek, migren nöbetlerinin başlamasını prodromal fazda engelleyebileceği düşünülmektedir(6).

II.5. MAGNEZYUM TAYİN YÖNTEMLERİ

Biyolojik sıvılardaki magnezyum miktarlarının tayini için çeşitli yöntemler vardır.

II.5.1. Magnezyum Amonyum Fosfat Yöntemi:

Bu yöntem magnezyum tayini için bilinen en eski yöntemdir.Tisdall ve Kramer'in (1921) geliştirdiği bu yöntemde magnezyum, magnezyum pirofosfat şeklinde çöktürülerek gravimetrik veya titrimetrik olarak tayin edilmiştir.Ancak bu teknik oldukça zahmetli olduğundan ve çok uzun zaman aldığından üzerinde bazı modifikasyonlar yapılmıştır.1947 yılında Simonsen ve arkadaşlarının geliştirdiği yeni yöntemde magnezyum,magnezyum amonyum fosfat şeklinde çöktürülmüştür.Çökelekteki fosfatın,molibdivanadat ile tepkimeye girmesi sonucu oluşan sarı renkli molibdivanado fosforik asit bileşiği üzerinden kolorimetrik olarak magnezyum tayini yapılmıştır.Bu yöntemde ortamda bulunan diğer katyonların interferansları sözkonusu değildir(26,76). Oldukça güvenilir sonuçlar elde edilmesine rağmen, oldukça yavaş bir teknik olması ve en azından 6 saatlik bir çalışma süresini gerektirmesi nedeniyle günümüzde klinik laboratuvarlarda kullanılan bir yöntem değildir (33).

II.5.2. Spektrofotometrik Yöntemler:

Spektrofotometrik teknikler içinde, magnezyumun çeşitli boyalarla renkli kompleksler oluşturmasına dayanan yöntemler ve enzimatik teknikler yer alır.

II.5.2.1. Magnezyumun Çeşitli Boyalarla Kompleks Oluşturmasına Dayanan Yöntemler :

Bu gruptaki yöntemlerde titan sarısı (42,44,50), kalmagit (1,65,73), magon sülfanat (Mann ve Yoe boyası) (13,63), ksilidil mavisi-1 (60) ve metil timol mavisi (70) gibi boyamaddeleri kullanılmıştır.

İlk kez 1927 yılında Kalhot adlı araştırmacı tarafından titan sarısı boyası kullanılmıştır. Daha sonra 1956 yılında Mann ve Yoe adlı araştırmacılar magon sülfanat ve ksilidil mavisi-1 boya maddelerini kullanarak magnezyumun kompleks oluşturmasına dayanan yeni spektrofotometrik yöntemler geliştirmişlerdir. 1966 yılında ise Meltcalf adlı araştırmacı tarafından bu kez metil timol mavisi boya maddesi olarak kullanılmıştır. 1971 yılında da Gindler ve Heth, serum magnezyumunun tayininde kalmagit kullanarak yeni bir spektrofotometrik yöntem geliştirmişlerdir (53,60,63,68,76).

Bu yöntemlerde magnezyumun boya maddeleri ile oluşturduğu renkli kompleksler, çeşitli stabilizatör maddeler (nişasta, jelatin, hidrosilamin hidroklorür, gum gatti, polivinil alkol, polivinil pirollidon ve çeşitli deterjan maddeler) yardımıyla stabil duruma getirilir ve 505-690 nm'ler arasında optik dansiteleri ölçülür (1,50,70).

Günümüzde bu yöntemlere ait piyasada bulunan hazır kitler, birçok klinik laboratuvarında manuel olarak veya çeşitli analizörlere uygulanarak kullanılmaktadır (9,12,17,37,60).

II.5.2.2. Enzimatik Spektrofotometrik Yöntemler :

Bu yöntemlerde Mg - ATP kompleksinin aktiflediği heksokinaz, glukoz

6-fosfat dehidrogenaz ve gliserol kindz gibi enzimler kullanılır.Ortamda oluşturulan Mg-ATP kompleksinin, spesifik enzimi aktif hale getirmesiyle başlayan bir dizi enzimatik tepkime sonucunda renkli bir ürün meydana gelir ve bunun optik dansitesi kolorimetrik olarak ölçülür.Enzimatik yöntemler oldukça hassastır.Enzimatik tepkimeler dizisinin başlaması için önce ATP'nin magnezyum ile özgül bir şekilde birleşerek Mg-ATP kompleksini oluşturması gerekir (78).

II.5.3. Kompleksometrik Titrasyon Yöntemleri :

Kompleksometrik titrasyon yöntemleri, serum ve diğer biyolojik sıvılarda çeşitli indikatörlerin varlığında magnezyumun,Etilen Diamin Tetra Asetik asit (EDTA) ile titrasyonu esasına dayanır.Bu yöntemlerde kalmagit , eriokrom siyahı-T ve plazmakorint-B gibi indikatörler kullanılır.EDTA'lı kompleksometrik titrasyonlarda, titrasyon son noktasının gözle belirlenmesi oldukça zordur.Ayrıca bunların analizörlere uygulanması da teknik olarak zahmetli olduğundan, klinik laboratuvarlar için tercih edilen yöntemler değildirler (33,40,76).

II.5.4. Fluorometrik Yöntemler:

Biyolojik sıvılardaki serum magnezyum konsantrasyonlarının saptanmasında fluorometrik yöntemlerden de yararlanır.Flüorometrik yöntemlerin prensibi,magnezyumun çeşitli aromatik organik bileşiklerle kompleks yapmasına ve oluşan bu komplekslerin fluoresans şiddetlerinin ölçülmesine dayanır.Bu yöntemlerde magnezyum ile kompleks oluşturmak için kullanılan boya maddeleri 2,2'-dihidroksiazobenzen (DAB), N-N'-bis salisidin, 2,3-diaminobenzofuran, 8-hidroksi kuinolin-5-sülfonat (8-HQS) ve 2-hidroksi naftaldehid salisilohidrazon (HNASH)'dur (30,57,58).

Fluorometrik magnezyum tayinleri özel otoanalizörler kullanılarak da yapılabilir.Ancak bu yöntemlerde kullanılan bazı çözeltilerin hidrolizi, tepkimelerin düşük selektivitesi ve oluşan komplekslerin stabilitelerinin yüksek olmaması gibi fluoresans ölçümlerini interfere edici faktörler nedeniyle bu yöntemler klinik laboratuvarlarda pek tercih edilmezler (30,38,57,76).

II.5.5. Fleym ve Plazma Atomik Emisyon Spektrofotometrik Yöntemler:

Serum magnezyumunun tayini için fleym ve plazma atomik emisyon spektrofotometresi de kullanılabilir. Ancak serum magnezyum düzeylerinin düşük olması, bunların emisyon şiddetlerinin az olması ve birçok başka iyon tarafından magnezyum emisyonunun bastırılması ölçümleri oldukça güçleştirir (22,54,56,58,76).

II.5.6. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Yöntemler:

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) serum magnezyum tayinlerinde kullanılan yöntemlerden biridir. Klinik laboratuvarlarda bu teknik ile serum magnezyum düzeyleri saptanabilir. Duyarlı, spesifik ve güvenilir bir yöntemdir. Analizler az miktarda örnek kullanılarak yapılabilir. Örneklerin analize hazırlanmaları kolaydır. Serum ve diğer vücut sıvılarının AAS'ne uygulanmadan önce belli oranlarda seyreltilmeleri yeterlidir. Bu yöntemde magnezyum tayini yapılan biyolojik sıvıda bulunan diğer metallerin, magnezyum iyonu üzerinde interfere edici etkileri yoktur. Bütün bu özellikler, AAS'nin serum magnezyum konsantrasyonu tayinleri için son derece uygun bir referans yöntem olmasını sağlar. Pekçok iyi özelliğinin yanısıra, cihazların pahalı olması, otomatik duruma getirilmelerindeki zorluk ve yanıcı gazların kullanılması gibi bu tekniğe ait bazı dezavantajlar da vardır (29,58,75,76).

B Ö L Ü M III

ARAÇ , GEREÇ ve YÖNTEMLER

III.1. KULLANILAN MADDELER

Magnezyum sülfat 7 H₂O (Merck)

Sodyum tungustat 2H₂O (Riedel-de Haën)

Metil kırmızısı (Merck)

Sodyum hidroksit (Merck)

Hidroksilamin hidroklorür (Merck)

Polivinil alkol (PVA) (Hoechst)

Titan sarısı (Merck)

Metil timol mavisi sodyum tuzu (Sigma)

Polivinil pirollidon (PVP) (Sigma)

Sodyum sülfid (Merck)

Sodyum azid (Sigma)

Glisin (Merck)

Etilen glikol-bis (β -amino etil eter)-N,N,N',N' tetra asetik asit
(EGTA) (Sigma)

Sülfürik asit (Merck)

Hidroklorik asit (Merck)

III.2. KULLANILAN ALETLER

Santrifüj (Nüvefuj 615)

Tüp karıştırıcısı (Nüvemix)

Hassas terazi (Sartorius 2442)

Otomatik pipet (Brand)

Magnetik karıştırıcı (Kottermann)

Etüv (Heraeus)

Spektrofotometre (Perkin Elmer Spektrophotometer Coleman 295)

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi (2380 Perkin Elmer)

III.3. KULLANILAN ÇÖZELTİLER

III.3.1. Titan Sarısı-1 Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler:

A.) 0.67 N H_2SO_4 Çözeltisi ($d = 18.2 \text{ gr/ml}$):

18.2 ml H_2SO_4 distile su ile 1000 ml ye tamamlanır.

B.) % 10 sodyum tungstat $2H_2O$ çözeltisi :

10 gr sodyum tungstat tartılır, bir miktar distile suda çözülerek hacmi 100 ml ye tamamlanır.

C.) % 0.05 titan sarısı çözeltisi:

50 mg titan sarısı 100 ml distile suda çözülerek hazırlanır. Çözelti güneş ışığında 30 dk. da bozulur. Koyu renkli şişede ve buzdolabında saklanmalıdır. Her 10 günde bir taze olarak hazırlanıp, kullanılmalıdır.

D.) % 0.05 polivinil alkol çözeltisi:

50 mg polivinil alkol (PVA) 50 ml distile suda, $65^\circ C$ 'lik subanyosu içinde ısıtılarak ve karıştırılarak çözülür. Distile su ile hacmi 100 ml'ye tamamlandıktan sonra süzülür. Buzdolabında saklanır. Çözeltide bulanıklık görülürse kullanılmadan evvel tekrar süzülmalıdır.

E.) 4N NaOH çözeltisi:

160 gr NaOH tartılır, bir miktar distile suda çözülerek hacmi 1000 ml ye tamamlanır.

F.) Standart stok magnezyum çözeltisi:

10.131 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ bir miktar distile suda çözülür. 0.5 ml kloroform ilave edilerek distile su ile hacmi 1000 ml ye tamamlanır. Bu çözeltinin 1 ml si, 1 mg magnezyum içerir.

G.) %10 mg'lık stok magnezyum çözeltisi.

Standart stok magnezyum çözeltisinden 10 ml alınır ve distile suyla 100 ml ye tamamlanır. Deney yapılacağı zaman %10 mg'lık stok magnezyum çözeltisinden 2 ml alınır ve distile su ile 10 ml ye tamamlanarak %2mg'lık magnezyum standart çözeltisi hazırlanır.

III.3.2. Titan Sarısı-2 Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler:

A.) 0.67 N H_2SO_4 çözeltisi

B.) % 10 sodyum tungustat çözeltisi.

C.) % 0.05 titan sarısı çözeltisi.

D.) Standart stok magnezyum çözeltisi.

E.) % 10 mg'lık stok magnezyum çözeltisi.

Yukarıdaki tüm çözeltiler Titan sarısı-1 yönteminde de kullanılan çözeltilerdir.

F.) %2 hidroksilamin hidroklorür çözeltisi:

2 gr hidroksilamin hidroklorür bir miktar distile suda çözüldükten sonra, hacmi 100 ml ye tamamlanır.

G.) Metil kırmızısı çözeltisi:

50 mg metil kırmızısı 50 ml %95'lik etil alkolde çözülür.

H.) 0.1 N NaOH çözeltisi:

4,2 gr NaOH bir miktar distile suda çözüldükten sonra hacmi 1000 ml ye tamamlanır.

I.) % 6 NaOH Çözeltisi :

6 gr NaOH bir miktar distile suda çözüldükten sonra hacmi 100 ml ye tamamlanır.

III.3.3. Metil Timol Mavisi Yöntemi İçin Kullanılan Çözeltiler:

A.) Stok boya çözeltisi:

18 mg metil timol mavisi sodyum tuzu ve 0,6 gr polivinil pirollidon, 10 ml 1N HCl çözeltisi ile karıştırılır. Bu karışım bir miktar distile su ile çözüldükten sonra 100 ml ye tamamlanır.

B.) Stok baz çözeltisi:

2.4 gr sodyum sülfid, 0.1 gr sodyum azid, 750.5 mg glisin ve 95.1 mg EGTA, 23.5 ml 1N NaOH ile karıştırılır. Bu karışım bir miktar distile su ile çözüldükten sonra 100 ml ye tamamlanır.

C.) Çalışma boya çözeltisi:

Stok boya ve stok baz çözeltilerinin eşit hacimde karıştırılmasıyla elde edilir. Deneyden önce taze hazırlanılarak kullanılır.

III.4. ÇALIŞMA MATERYALİ

Deneylerde kullanılan serum örnekleri, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde çalışan sağlıklı kişilerden ve bu fakültenin öğrencilerinden alınan periferel kanlardan sağlanmıştır.

III.5. YÖNTEMLER

III.5.1. Titan Sarısı-1 Yöntemi (44) :

Bu yöntemin prensibi; tungustik asit filtratındaki magnezyumun, alkali ortamda titan sarısı ile kırmızı-turuncu renkli bir kompleks oluşturmasına dayanır. Rengi stabilize etmek için ortama polivinil alkol ilave edilir.

= 20 =

1 ml serum örneği, 10 ml 'lik bir santrifüj tüpüne konur.Üzerine 2 ml distile su eklenir. 1 ml 0.67N H₂SO₄ ve 1 ml % 10 sodyum tungustat çözeltisi ilavesinden sonra karıştırılır. 5 dakika kendi halinde bırakılıp, 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir. Berrak süpernatanttan 2.5 ml alınarak bir deney tüpüne aktarılır.Üzerine 1 ml % 0.05 polivinil alkol çözeltisi ve 0.5 ml % 0.05 titan sarısı çözeltisi eklenerek karıştırılır.Daha sonra yavaşça 1 ml 4N NaOH çözeltisi konur, iyice karıştırılır. Standart olarak % 2 mg 'lık magnezyum standart çözeltisi, kör olarak ise distile su kullanılır. Örnek için yapılan bütün işlemler, kör ve standart için de uygulanır. 5 dakika sonra örnek ve standartın optik dansiteleri köre karşı 550 nm'de spektrofotometrede okunur.

Sonuçların Değerlendirilmesi :

$$\text{Serum magnezyum miktarı (\% mg)} = \frac{\text{Örneğin Optik dansitesi}}{\text{Standartın Optik dansitesi}} \times \text{Standartın konsantrasyonu}$$

III.5.2. Titan Sarısı-2 Yöntemi (42) :

Bu yöntemin prensibi,diğer titan sarısı yönteminin aynıdır.Rengi stabilize etmek için ortama hidroksilamin hidroklorür ilave edilir.

1 ml serum örneği 10 ml 'lik bir santrifüj tüpüne konur.Üzerine 2 ml distile su eklenir. 1 ml 0.67 N H₂SO₄ ve 1 ml % 10 sodyum tungustat çözeltisi ilavesinden sonra karıştırılır. 5 dakika kendi halinde bırakılıp, 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilir. Berrak süpernatanttan 1.5 ml alınarak 5 ml 'lik bir balon jojeye aktarılır.Üzerine 1 damla metil kırmızısı indikatör çözeltisinden damlatılır.Oluşan kırmızı renk sarıya dönünceye kadar 0.1 N NaOH çözeltisi ilave edilir. Daha sonra 0.5 ml % 2 hidroksilamin hidroklorür çözeltisi ve 0.5 ml % 0.05 titan sarısı çözeltisi eklenip karıştırılır.Derhal 1 ml % 6 NaOH çözeltisi ilave edilir ve distile su ile 5 ml ye tamamlanarak iyice karıştırılır.Standart olarak % 2 mg 'lık magnezyum standart çözeltisi, kör olarak ise distile su kullanılır ve örnekle aynı işlemlere tabi tutulurlar.

Örnek ve standartın optik dansiteleri, 5 dakika sonra köre karşı 546 nm'de spektrofotometrede okunur.

Sonuçların Değerlendirilmesi:

$$\text{Serum Magnezyum Miktarı (\% mg)} = \frac{\text{Örneğin Optik Dansitesi}}{\text{Standartın Optik Dansitesi}} \times \text{Standartın Konsantrasyonu}$$

III.5.3. Metil Timol Mavisi Yöntemi (70) :

Bu yöntemin prensibi; serum örneğindeki magnezyumun alkali ortamda metil timol mavisi ile mavi-mor renkli bir kompleks oluşturmasına dayanır. Rengi stabilize etmek için polivinil pirollidon çözeltisi kullanılır.

Deneye başlamadan önce stok boya ve stok baz çözeltisinden eşit miktarlarda alınarak çalışma boya çözeltisi hazırlanır. 3 deney tüpü alınır. Birinciye 50 μ l serum, ikinciye 50 μ l % 2 mg lık magnezyum standart çözeltisi, üçüncüye ise 50 μ l distile su konur. Her üç tüpe de 2'şer ml taze hazırlanmış çalışma boya çözeltisinden eklenip karıştırılır. Örnek ve standartın optik dansitesi köre karşı 585 nm de spektrofotometrede okunur.

Sonuçların Değerlendirilmesi :

$$\text{Serum Magnezyum Miktarı (\% mg)} = \frac{\text{Örneğin Optik Dansitesi}}{\text{Standartın Optik Dansitesi}} \times \text{Standartın Konsantrasyon}$$

III.5.4. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi Yöntemi (29 , 75) :

Bu yöntemde otomatik bir pipet yardımıyla hassas bir şekilde alınan 50 μ l lik serum örnekleri, 2.5 ml deiyonize su ile dilüe edilir.(51 misli). AAS'de 285.2 nm dalga boyunda, serum magnezyum değerleri ppm olarak okunur.

Sonuçların Değerlendirilmesi:

$$\text{Serum Magnezyum Miktarı (\% mg)} = \text{okunan değer} \times 51 \times 0.1$$

III.5.4.1. Atomik Absorpsiyon (Emilim) Spektrofotometresinin
Çalışma Prensipleri :

Örnek olarak alınan bir çözeltinin büyük bir kısmını oluşturan kararlı (temel) durumdaki atomlar, radyasyon absorpsiyonu yaparak uyarılmış hale geçebilirler. Uyarılmış haldeki atomlar Yaklaşık 10^{-8} saniye sonra absorbladıkları bu enerjiyi kaybederek tekrar kararlı hale dönerler. AAS ile çözeltide kararlı halde bulunan atomların absorbladığı (emdiği) belli dalga boyundaki elektromanyetik radyasyon ölçülür. AAS'nde emilme ışığının elde edilebilmesi için, analizi yapılacak olan metale özgü karakteristik ışınlar yayan bir katot lambası bulunur. Katot lambası, analizi yapılacak örnekteki tuzu oluşturan katyonun metalik şeklinden yapılmış olduğu için, yayılan ışınlar örnekteki atomlar tarafından absorblanabilen ışınlardır. Bu nedenle , her metal analizinde metale özgü olan uygun bir lamba kullanılması gerekir. Analizlenecek metali içeren örnek çözelti kapiller bir boru yardımıyla atomlaştırıcı kısma çekilir. Atomlaştırma işleminin alev varlığında gerçekleşmesi klasik olarak bilinen yoldur. Grafit fırınların varlığında ise örnek çözeltideki metalin mikrolitre düzeyindeki miktar tayini mümkün olur. Atomlaştırıcının yüksek ısısında çözücü buharlaşarak örnekteki tuzlar açığa çıkar. Daha sonra tuzlar metal atomlarına ayrılırlar. Oyuk katot lambası denilen ışık kaynağından yayılan ışınların bir kısmı, ışık yolundan geçerken, aynı elementin kararlı haldeki bu metal atomları tarafından absorblandığı için, ışığın şiddeti azalır. Atomlaştırıcıdan geçen ışığın şiddetindeki azalma (absorbansın artması) metal konsantrasyonu ile orantılıdır. Absorblanmamış haldeki ışınların gücü, belli bir dalga boyunda iken; ışık sinyalinin radyasyon gücüyle orantılı olarak elektrik akımına çevrilmesiyle kaydedicide kaydedilir (69).

Vücut sıvılarında çok düşük konsantrasyonlarda bulunan yada bulunabilen bakır, çinko, demir, kobalt, manganez, krom, bizmut, nikel, lityum, talyum, kurşun, civa, alüminyum, sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi metaller AAS ile ppm düzeylerinde saptanabilirler (79).

III.5.5. İstatistiksel Değerlendirme :

Sonuçların istatistiksel analizleri,hazır paket programlar kullanılarak bilgisayar ile yapılmıştır.



B Ö L Ü M IV

B U L G U L A R

Titan Sarısı-1 (TS-1) , Titan Sarısı-2 (TS-2) , Metil Timol Mavisi (MT) ve Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile saptanan serum magnezyum değerleri sırasıyla Tablo 1 , 2 , 3 ve 4'de sunulmuştur.

Analizler , yaş ortalamaları 33.24 \pm 9.44 olan 26'sı kadın , 28'i erkek olmak üzere 54 sağlıklı kişiden alınan kan örneklerinde yapılmıştır.

4 yönteme göre saptanan ortalama serum magnezyum değerleri ise Tablo 5'de verilmiştir.

TS-1 Yöntemi kullanılarak elde edilen ortalama serum magnezyum konsantrasyonu % 2.08 \pm 0.02 mg , TS-2 Yöntemi kullanılarak elde edilen ortalama serum magnezyum konsantrasyonu % 1.97 \pm 0.02 mg ve MT Yöntemi kullanılarak elde edilen ortalama serum magnezyum konsantrasyonu % 1.93 \pm 0.02 mg olarak bulunmuştur. Referans yöntem olarak kabul ettiğimiz AAS ile elde edilen ortalama serum magnezyum konsantrasyonu ise % 1.95 \pm 0.02 mg olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Şekil 1 , 2 ve 3'de sırasıyla TS-1, TS-2 ve MT yöntemlerinin, AAS yöntemi ile karşılaştırılmasına ilişkin istatistiksel bilgiler ile regresyon grafikleri sunulmuştur.

AAS Yöntemiyle diğ er yöntemler karşı laştırıldı ğ ı zaman korelasyon katsayıları sırasıyla;TS-1 Yönteminde ($r = 0.549$) , TS-2 Yönteminde ($r = 0.635$) ve MT Yönteminde ($r = 0.716$) olarak bulunmuştur.



Tablo.1.T S-1 yöntemiyle elde edilen serum magnezyum değerleri :

<u>No</u>	<u>ADI - SOYADI</u>	<u>YASI</u>	<u>CINSİYETİ</u>	<u>SERUM MAGNEZYUM (% mg)</u>
1	S.Ç	23	K	1.89
2	M.B	37	E	2.28
3	S.K	41	K	1.83
4	A.Ö	44	E	2.23
5	F.K	24	K	2.10
6	V.E	32	E	2.12
7	E.A	48	E	2.18
8	M.Y	38	E	2.11
9	E.A	30	E	2.20
10	S.Ç	32	K	2.08
11	E.Y	32	E	2.47
12	C.Y	38	E	2.20
13	A.Y	38	E	1.95
14	Ö.G	35	E	2.00
15	Ö.A	48	E	2.00
16	M.K	36	K	2.09
17	F.T	50	K	2.08
18	Ü.E	43	K	2.12
19	N.A	35	K	1.96
20	N.I	30	E	2.00
21	M.I	28	K	2.05
22	Y.P	40	K	1.92
23	H.E	30	E	2.18
24	A.A	40	E	2.09
25	I.K	43	E	1.96
26	S.E	34	K	2.13
27	T.Ç	23	K	1.92
28	G.Ö	48	E	2.16
29	I.T	36	K	2.20
30	A.A	39	E	2.30
31	G.H	21	K	1.91
32	R.Ö	38	K	2.22
33	S.K	20	K	1.90
34	I.F	24	E	2.02
35	T.G	48	E	2.05
36	A.A	30	K	2.05
37	R.V	38	K	2.30
38	E.F	34	E	2.12
39	Ü.A	40	K	2.03
40	G.K	22	K	2.05
41	H.M	27	E	2.00
42	S.S	24	K	2.17
43	J.K	43	K	2.15
44	L.E	20	K	2.10
45	I.A	41	E	2.15
46	S.K	51	E	2.20
47	C.E	24	E	2.18
48	E.F	20	K	1.90
49	Y.A	22	E	2.00
50	I.S	24	K	2.00
51	E.P	21	E	2.10
52	B.K	20	K	2.04
53	E.K	27	E	2.11
54	S.M	21	E	2.02

Ort±S.S:2.08±0.12

Ort±S.H:2.08±0.02

Tablo.2.T S-2 yöntemiyle elde edilen serum magnezyum değerleri:

<u>No</u>	<u>ADI - SOYADI</u>	<u>YASI</u>	<u>CINSİYETİ</u>	<u>SERUM MAGNEZYUM (% mg)</u>
1	S.Ç	23	K	1.72
2	M.B	37	E	2.09
3	S.K	41	K	1.72
4	A.Ö	44	E	2.27
5	F.K	24	K	2.03
6	V.E	32	E	2.05
7	E.A	48	E	2.09
8	M.Y	38	E	2.00
9	E.A	30	E	2.11
10	S.Ç	32	K	1.84
11	E.Y	32	E	2.26
12	C.Y	38	E	2.13
13	A.Y	38	E	1.82
14	Ö.G	35	E	1.85
15	Ö.A	48	E	1.88
16	M.K	36	K	2.06
17	F.T	50	K	1.90
18	Ü.E	43	K	2.03
19	N.A	35	K	1.80
20	N.İ	30	E	1.97
21	M.İ	28	K	1.96
22	Y.P	40	K	1.82
23	H.E	30	E	2.11
24	A.A	40	E	2.05
25	I.K	43	E	1.84
26	S.E	34	K	2.00
27	T.Ç	23	K	1.88
28	G.Ö	48	E	2.05
29	İ.T	36	K	2.13
30	A.A	39	E	2.18
31	G.H	21	K	1.86
32	R.Ö	38	K	2.23
33	S.K	20	K	1.86
34	İ.F	24	E	1.90
35	T.G	48	E	1.95
36	A.A	30	K	1.85
37	R.V	38	K	2.24
38	E.F	34	E	1.92
39	Ü.A	40	K	1.95
40	G.K	22	K	1.80
41	H.M	27	E	1.89
42	S.S	24	K	2.08
43	J.K	43	K	2.08
44	L.E	20	K	2.00
45	İ.A	41	E	1.93
46	S.K	51	E	2.13
47	C.E	24	E	2.08
48	E.F	20	K	1.80
49	Y.A	22	E	1.93
50	İ.S	24	K	1.86
51	E.P	21	E	2.00
52	B.K	20	K	1.89
53	E.K	27	E	2.03
54	S.M	21	E	1.86

Ort±S.S:1.97±0.14

Ort±S.H:1.97±0.02

Tablo.3.M T. yöntemiyle elde edilen serum magnezyum değerleri:

No	ADI - SOYADI	YASI	CINSIYETI	SERUM MAGNEZYUM (% mg)
1	S.Ç	23	K	1.78
2	M.B	37	E	2.20
3	S.K	41	K	1.74
4	A.Ö	44	E	2.25
5	F.K	24	K	1.88
6	V.E	32	E	1.97
7	E.A	48	E	2.04
8	M.Y	38	E	2.00
9	E.A	30	E	2.11
10	S.Ç	32	K	1.90
11	E.Y	32	E	1.94
12	C.Y	38	E	2.11
13	A.Y	38	E	1.63
14	Ö.G	35	E	1.74
15	Ö.A	48	E	1.97
16	M.K	36	K	1.97
17	F.T	50	K	2.00
18	Ü.E	43	K	2.00
19	N.A	35	K	1.73
20	N.I	30	E	1.88
21	M.I	28	K	1.89
22	Y.P	40	K	1.82
23	H.E	30	E	2.05
24	A.A	40	E	2.02
25	I.K	43	E	1.88
26	S.E	34	K	1.90
27	T.Ç	23	K	1.94
28	G.Ö	48	E	2.00
29	I.T	36	K	2.08
30	A.A	39	E	2.21
31	G.H	21	K	1.86
32	R.Ö	38	K	2.21
33	S.K	20	K	1.76
34	I.F	24	E	1.70
35	T.G	48	E	1.89
36	A.A	30	K	1.86
37	R.V	38	K	2.16
38	E.F	34	E	2.01
39	Ü.A	40	K	1.81
40	G.K	22	K	1.81
41	H.M	27	E	1.83
42	S.S	24	K	2.10
43	J.K	43	K	2.05
44	L.E	20	K	1.97
45	I.A	41	E	1.96
46	S.K	51	E	2.21
47	C.E	24	E	2.02
48	E.F	20	K	1.73
49	Y.A	22	E	1.76
50	I.S	24	K	1.78
51	E.P	21	E	1.87
52	B.K	20	K	1.82
53	E.K	27	E	1.83
54	S.M	21	E	1.89

Ort±S.S:1.93±0.15
Ort±S.H:1.93±0.02

Tablo.4.A A S. yöntemiyle elde edilen serum magnezyum değerleri :

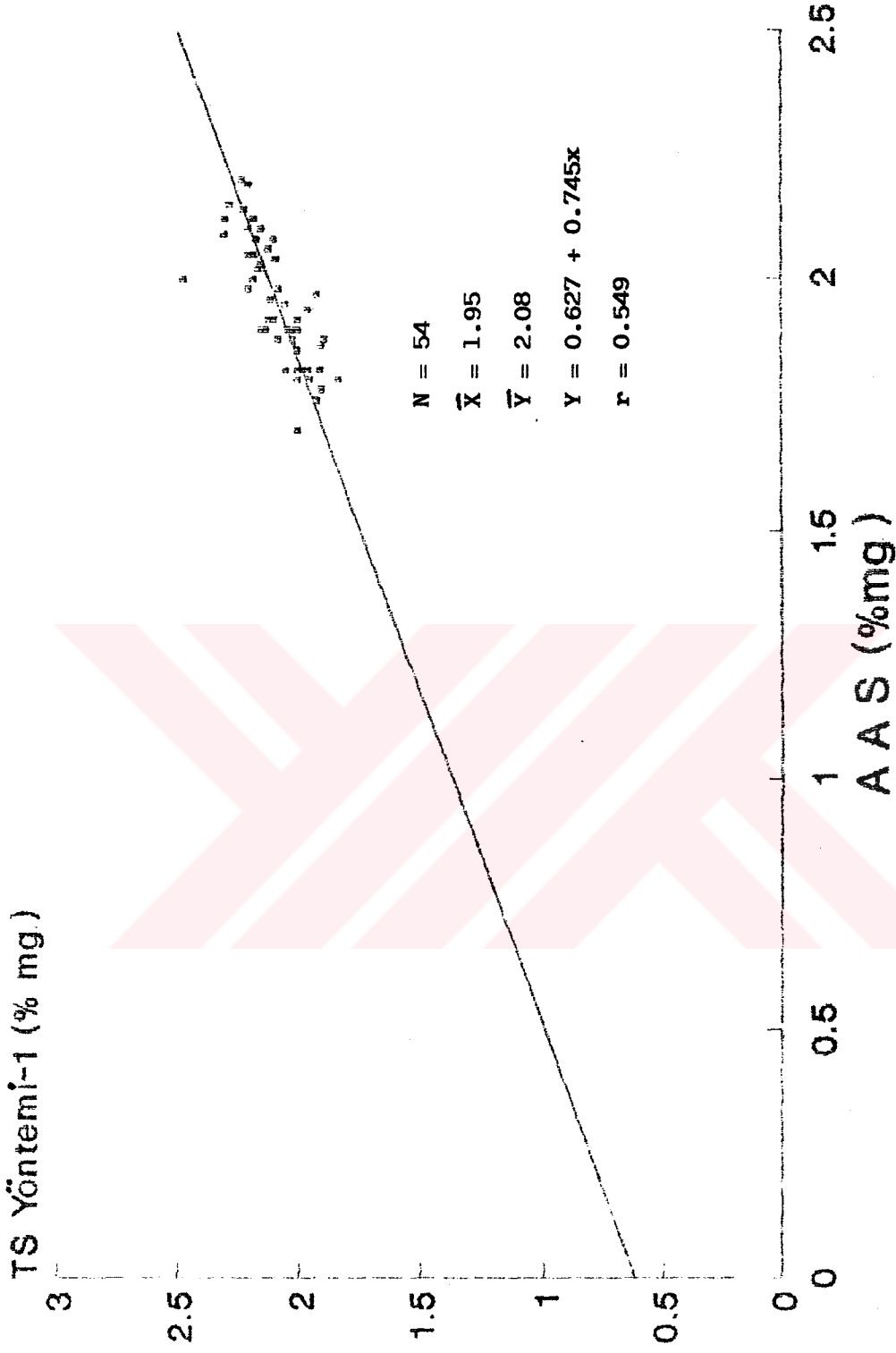
<u>No</u>	<u>ADI - SOYADI</u>	<u>YASI</u>	<u>CINSIYETI</u>	<u>SERUM MAGNEZYUM (% mg)</u>
1	S.Ç	23	K	1.88
2	M.B	37	E	2.15
3	S.K	41	K	1.80
4	A.Ö	44	E	2.20
5	F.K	24	K	2.04
6	V.E	32	E	1.92
7	E.A	48	E	2.12
8	M.Y	38	E	1.96
9	E.A	30	E	2.19
10	S.Ç	32	K	1.88
11	E.Y	32	E	2.00
12	C.Y	38	E	2.05
13	A.Y	38	E	1.80
14	Ö.G	35	E	1.70
15	Ö.A	48	E	1.92
16	M.K	36	K	2.04
17	F.T	50	K	1.98
18	Ü.E	43	K	2.06
19	N.A	35	K	1.82
20	N.İ	30	E	1.86
21	M.İ	28	K	1.82
22	Y.P	40	K	1.76
23	H.E	30	E	2.00
24	A.A	40	E	2.04
25	I.K	43	E	1.94
26	S.E	34	K	1.90
27	T.Ç	23	K	1.97
28	G.Ö	48	E	2.02
29	İ.T	36	K	1.98
30	A.A	39	E	2.12
31	G.H	21	K	1.82
32	R.Ö	38	K	2.14
33	S.K	20	K	1.87
34	İ.F	24	E	1.87
35	T.G	48	E	1.82
36	A.A	30	K	1.95
37	R.V	38	K	2.09
38	E.F	34	E	2.06
39	Ü.A	40	K	1.90
40	G.K	22	K	1.82
41	H.M	27	E	1.90
42	S.S	24	K	2.08
43	J.K	43	K	2.10
44	L.E	20	K	1.92
45	İ.A	41	E	1.90
46	S.K	51	E	2.10
47	C.E	24	E	2.05
48	E.F	20	K	1.78
49	Y.A	22	E	1.80
50	İ.S	24	K	1.82
51	E.P	21	E	2.08
52	B.K	20	K	1.90
53	E.K	27	E	2.03
54	S.M	21	E	1.88

Ort±S.S : 1.95±0.13

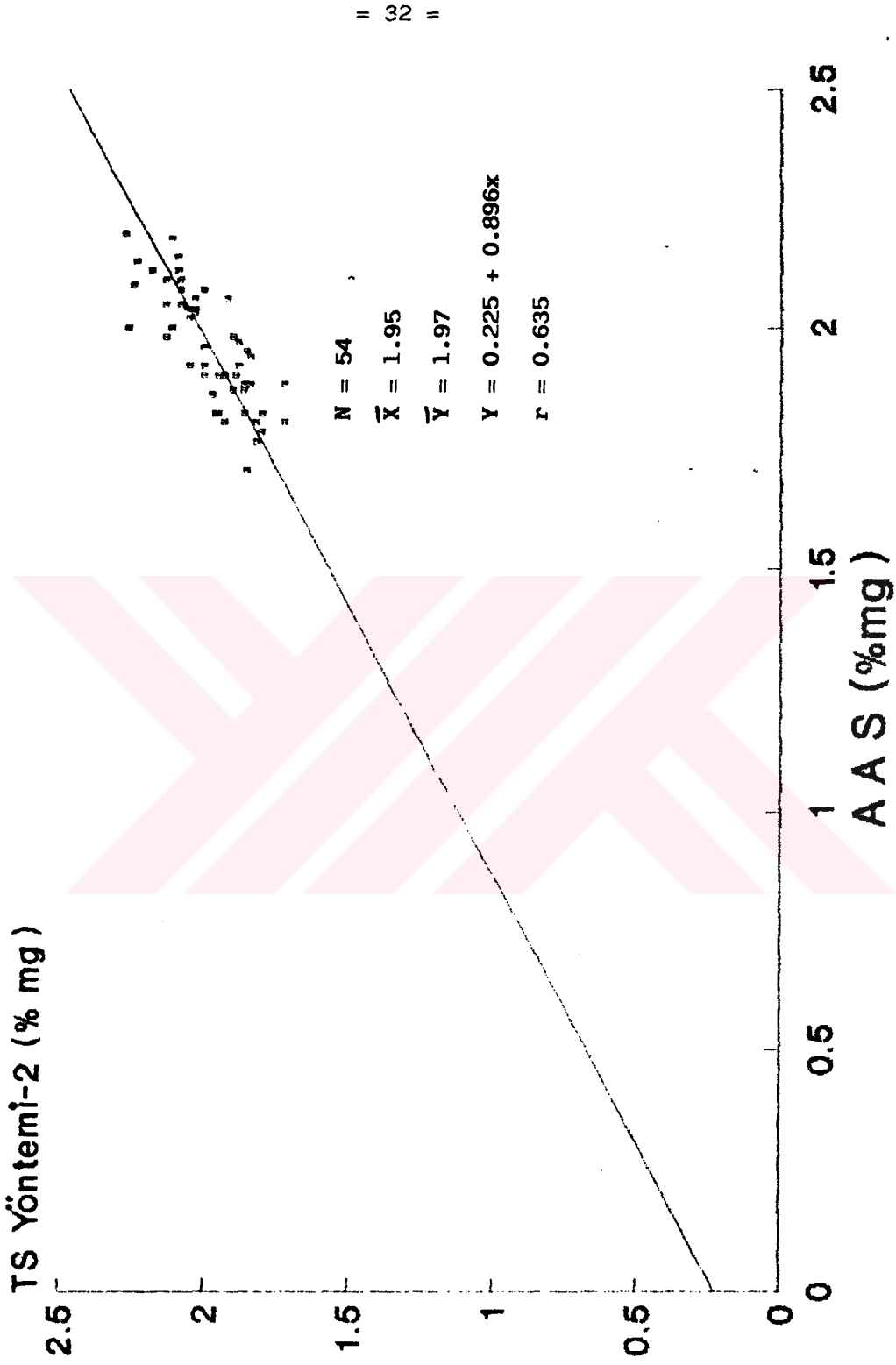
Ort±S.H.: 1.95±0.02

Tablo 5. Her 4 yonteme göre saptanan ortalama serum magnezyum değerleri(%mg):

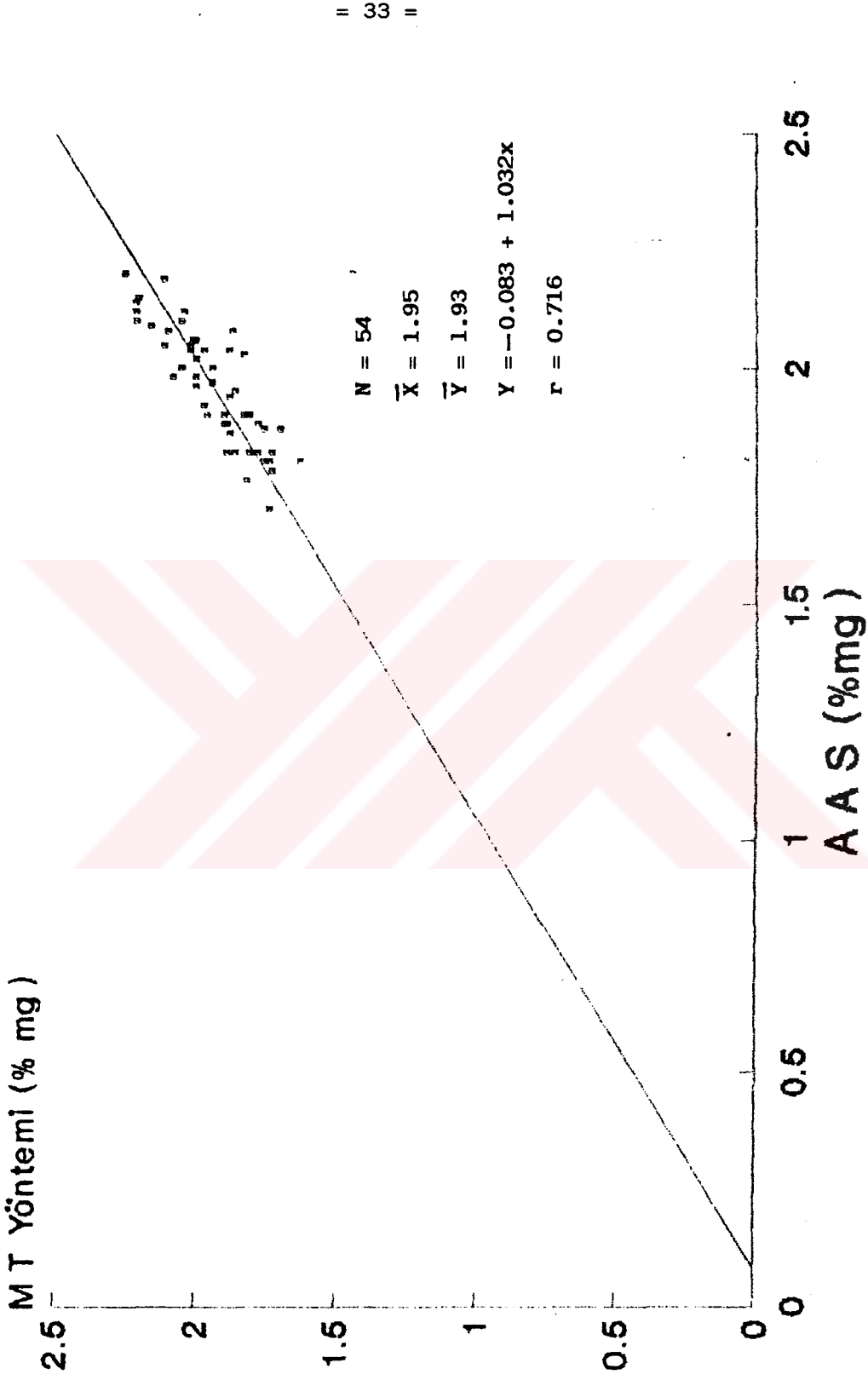
	TS -1	TS -2	MT	AAS
Ort \pm S.H.	2.08 \pm 0.02	1.97 \pm 0.02	1.93 \pm 0.02	1.95 \pm 0.02



Şekil 1. Serum magnezyum tayininde TS-1 ve AAS değerlerine ilişkin regresyon eğrisi.



Şekil 2. Serum magnezyum tayininde TS-2 ve AAS değerlerine ilişkin regresyon eğrisi.



Şekil 3. Serum magnezyum tayininde MT ve AAS değerlerine ilişkin regresyon eğrisi.

B Ö L Ü M V

T A R T I Ş M A ve S O N U Ç

Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi elemanları ve öğrencilerinden alınan kanlardan elde edilen serumlar kullanıldı. Çalışmaya katılan 54 sağlıklı gönüllüden (26'sı kadın 28'i erkek) sabah saat 9.00-10.00 arasında 5'er ml kan alındı.

Kol veninden alınan kanlar yarım saat bekletilerek pıhtılaşmaları sağlandı ve 3000 rpm 'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı.

Eritrosit magnezyum konsantrasyonu, serum magnezyum konsantrasyonunun yaklaşık 3 katıdır. Kan örnekleri pıhtılaştıktan sonra hemen santrifüj edilip eritrositler ve diğer kan hücreleri çöktürülerek serum elde edilmelidir (49).

Elde edilen serum örneklerinden hemen çalışılmayanlar +4 °C de saklandı.

Serum magnezyumu oda ısısında 24 saat veya bir hafta, +4 °C'de ve -15 °C'de ise daha uzun bir süre stabil olarak kalır (27,50).

Kuvvetli hemolizli serumlarla yapılan analizlerde yüksek serum magnezyum değerleri elde edilir (50). Bu yüzden hemolizli serum örnekleri deneye alınmadı.

Lipemik serumların, magnezyum tayinlerinde olumsuz bir etkisinin olmamasına rağmen (50) kan örnekleri sabahları aç karnına alındı ve berrak serumlar çalışma materyali olarak kullanıldı.

Magnezyum tayinlerinde kullanılan cam malzemelerdeki ağır metaller ve iz elementlerden gelebilecek kontaminasyonlar da hatalı sonuçlara neden olabilir. Bu nedenle denemelerde kullanılacak olan cam malzemelerin temizliğinde 6N HNO₃ veya kromik asit kullanılması ve deiyonize su ile durulanması önerilmiştir (26,50).

Analizlerde kullanılan cam malzemeler kromik asit ile yıkandı ve durulama suyu olarak deiyonize su kullanıldı.

Daha ileri tekniklerden mahrum olan pekçok laboratuvarında serum magnezyum konsantrasyonlarının saptanmasında spektrofotometrik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bazı laboratuvarlarda piyasadaki hazır ticari kitler kullanılmakta, bazılarında ise çözeltiler laboratuvar şartlarında hazırlanmakta ve denemeler yapılmaktadır.

Titan Sarısı yöntemi serum magnezyum tayinlerinde kullanılan ilk spektrofotometrik yöntemlerden birisidir. Zamanla üzerinde bazı modifikasyonlar yapılmıştır. Bu yöntemlerde oluşan renkli kompleksin stabilitesi önemlidir.

Güvenilir bir yöntem olan Titan Sarısı yöntemi, çalışmamızdaki alternatif yöntemlerden birini oluşturdu. İki farklı stabilizatör madde kullanılarak bu yöntemi kendi içinde de değerlendirdik. Daha yeni bir magnezyum tayin yöntemi olan Metil Timol Mavisî yöntemi ise çalışmamızdaki diğer alternatif yöntem oldu. Stabilizatör madde olarak polivinil alkol kullanılan Titan Sarısı Yöntemi (TS-1), stabilizatör madde olarak hidroksilamin hidroklorür kullanılan Titan Sarısı yöntemi (TS-2) ve Metil Timol Mavisî yöntemi kullanılarak elde edilen serum magnezyum değerleri ile Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi kullanılarak elde edilen değerler karşılaştırıldı.

Titan Sarısı-1 yöntemi kullanılarak elde edilen serum magnezyum

değerleri Tablo 1'de toplanmıştır. Tablo 2'de Titan Sarısı-2 yöntemiyle ve Tablo 3'de de Metil Timol Mavisi yöntemiyle elde edilen serum magnezyum değerleri toplu olarak verilmiştir. Tablo 4'de ise aynı serum örneklerinin Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi kullanılarak elde edilen magnezyum değerleri toplanmıştır.

Referans yöntem olarak kabul ettiğimiz Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile elde edilen bulgulara en yakın değerler, Titan Sarısı-2 ve Metil Timol Mavisi yöntemleri kullanılarak elde edilen değerlerdir (Tablo 2,3,4).

Tablo 1'de görüldüğü üzere, Titan Sarısı-1 yöntemi kullanılarak elde edilen değerler, çalışmamızdaki en yüksek serum magnezyum değerlerini vermiştir.

Titan Sarısı yöntemlerinde serum proteinleri çöktürülerek ortamdaki uzaklaştırıldıktan sonra magnezyum tayini yapılır. Proteinlerin çöktürülmesinde sodyum tungustat veya triklor asetik asit kullanılabilir (8,42,50,62,68). Triklor asetik asit kullanılarak proteinlerin çöktürülmesi sırasında, triklor asetik asit de proteinlerle birlikte serumdan uzaklaştığı için ortamın alkaliliğini arttırır. Sodyum tungustat ile proteinleri çöktürmeden önce ortama H_2SO_4 eklenmesinin çökme işlemini kolaylaştığı bildirilmiştir (42).

Titan Sarısı yöntemlerinde H_2SO_4 -sodyum tungustat sistemi kullanılarak proteinler çöktürüldü ve berrak bir çözelti elde edildi.

Proteinlerin çöktürülmesinden sonra filtratta kalabilecek olan eser miktardaki proteinden dolayı biraz bulanıklık olsa bile, alkali ilavesinden sonra bulanıklık ortadan kalkar ve sonuçlar üzerinde olumsuz etkiye neden olmaz (8,50).

Titan Sarısı yöntemlerinde kullanılan titan sarısı çözeltisinin tazeliği önemlidir. Bu çözelti eskidikçe, oluşan renkli kompleksin renk şiddetinde azalma meydana gelir. Bu nedenle kalibrasyon eğrisinin sık sık yenilenmesi gereklidir (26).

Biz, serum magnezyumu konsantrasyonlarının saptanmasında sonuçları kalibrasyon eğrisinden değil, birçok araştırmacı (8,27,44,62,68) gibi hesap yoluyla değerlendirdik.

Titan sarısı çözeltisi kahverengi şişede ve buzdolabında bir/birkaç hafta saklanabilir (27,42,44,62). Ayrıca % 37 formaldehit ilavesinden sonra oda ısısında 12 gün, buzdolabında ise 1 ay süreyle stabil olarak kalır (50).

Analizlerde kullandığımız % 0.05'lik titan sarısı çözeltisi 10 günde bir taze olarak hazırlandı ve kahverengi şişe içinde buzdolabında saklandı.

Titan Sarısı Yöntemlerinde oluşan renkli kompleksin optik dansitesi ile temperatur arasında da karşılıklı bir ilişki vardır. Renkli kompleksin optik dansitesi temperatur ile paralel bir şekilde artar (27,42). Bu yöntem için en uygun çalışma temperaturünün 25°C olduğu bildirilmiştir (42).

Titan Sarısı yönteminde kullanılan stabilizatör maddeler, titan sarısının alkali ortamda oluşan kolloidal $Mg(OH)_2$ partikülleri tarafından adsorbe edilmesini sağlayan bir dispersiyon ortamı oluşturur (50,68).

Titan Sarısı -1 Yönteminde stabilizatör madde olarak kullanılan polivinil alkol çözeltisinin hazırlanması zaman alıcı ve zordur. Ancak, Titan Sarısı-2 Yönteminde stabilizatör madde olarak kullanılan hidroksilamin hidroklorür'e kıyasla daha uygun bir stabilizatördür (50).

Polivinil alkol çözeltisi oda ısısında veya buzdolabında saklanabilir (8,44). Ayrıca, bu çözeltiye timol kristallerinin veya % 37 formaldehit'in eklenmesi, çözeltinin oda ısısında 1 sene süreyle bozulmadan saklanabilmesini sağlar (50,68).

Hidroksilamin hidroklorür çözeltisinin hazırlanması daha kolaydır. Ancak bu stabilizatör maddenin, oluşan renkli kompleksi ortamda stabil halde tutma becerisinin, ortamın ısısına bağlı olarak değişmesi önemli bir dezavantajdır. Örneğin, laboratuvar ısısının 25°C'den yüksek olduğu günlerde, ortamda çözünür halde bulunması gereken kompleksler partiküller halinde çökmüşlerdir.

Titan Sarısı Yönteminde turuncu renkli bir kompleksin oluşabilmesi için ortamın alkali olması gereklidir. Kompleks oluşumu ortama eklenen alkali konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir. Ortamda bulunan alkali konsantrasyonunun artışıyla paralel olarak çözeltinin optik dansitesi de artar. Bu nedenle deneylerde NaOH çözeltilerinin ilavesi çok dikkatli yapılmalıdır (27,42).

Stabilizatör olarak polivinil alkolün kullanıldığı Titan Sarısı-1 yönteminde ortama ilave edilen alkali 4N NaOH'dir. Oldukça konsantre bir çözelti olduğu için, koyu renkli bir kompleks oluşur. Bu yöntemde, örneklerin optik dansiteleri 550 nm.'de okundu. Titan Sarısı-2 yönteminde ise ortama ilave edilen alkali çözelti % 6 NaOH'dir. Bu nedenle örneklerde oluşan komplekslerin rengi daha açıktır. Bu yöntem kullanılarak elde edilen renkli komplekslerin optik dansiteleri ise 546 nm'de okundu.

Titan Sarısı yöntemlerinde oluşan renkli komplekslerin renk şiddeti 5 dakika ile 1 saat arasında stabil olarak kalır.

Alkali çözelti olarak ortama 4N NaOH çözeltisi yerine 2N LiOH çözeltisinin eklenmesiyle oluşan renkli kompleksin 24 saat stabil kaldığı bildirilmiştir (68).

Çalışmamızda kullandığımız serum magnezyum konsantrasyonu tayin yöntemlerinden birisi de Metil Timol Mavisi yöntemidir. Bu yöntem diğer iki Titan Sarısı yöntemine göre daha yeni ve daha pratik bir yöntemdir.

Metil Timol Mavisi yöntemi ilk kez 1966 yılında Metcalfe adlı araştırmacı tarafından bulunmuştur. Bu yöntemde, pH=10.8 deki amonyum-amonyum klorür tamponunun varlığındaki magnezyumun, metil timol mavisi ile oluşturduğu renkli kompleksin optik dansitesi 610 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (53).

Zaman içinde yöntem üzerinde bazı modifikasyonlar yapılarak oldukça pratik hale getirilmiştir. Böylece, laboratuvarında hazırlanan çözeltiler veya hazır ticari kitler kullanılarak, küçük miktarlardaki örneklerde serum magnezyum değerleri hızlı ve güvenilir bir şekilde saptanabilir (70).

Metil Timol Mavisi yönteminde serum proteinlerinin çöktürülerek ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Serum proteinlerinin varlığı sonuçları etkilemez. Bu yöntemde mavi-mor renkli bir kompleks oluşur. Kompleksin stabil durumda kalmasını sağlamak için kullanılan stabilizatör madde polivinil pirollidondur. Oluşan rengin optik dansitesi 585 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür. Renk yarım saat kadar stabil olarak kalır (70).

Bu yöntemde kullandığımız stok boya ve stok baz çözeltilerinin +4 °C'deki dayanma sürelerinin 15-20 gün kadar olduğunu ve bu süreyi geçince çözeltilerde tortular oluştuğunu gözledik. Bu nedenle her iki çözelti de 15 günde bir yeniden hazırlandı. Çalışma çözeltisi ise, deneme öncesinde stok boya ve stok baz çözeltilerinden eşit hacimlerde alınarak taze olarak hazırlandı.

Stok baz çözeltisi içinde yer alan sodyum sülfid antioksidan özellik gösterir, sodyum azid koruyucu etkiye sahiptir, EGTA ise kalsiyum iyonları ile şelat yaparak bu elementin interfere edici etkisini ortadan kaldırır.

Metil Timol Mavisi Yöntemi, kolay, fazla zaman almayan ve güvenilir bir yöntemdir. Ayrıca duyarlı bir yöntem olduğu için otoanalizörlere de kolayca uygulanabilir (76).

Serum magnezyum konsantrasyonlarının tayininde klinik laboratuvarlar için çok uygun olan bir yöntem de , hassas, spesifik, güvenilir ve zaman almayan bir teknik olması bakımından Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi yöntemidir.

AAS'nde 285.2 nm dalga boyunda, magnezyuma özgü karakteristik absorblanabilen ışınlar yayan bir magnezyum katot lambası kullanılır. Böylece diğer metallere interfere edici etkileri kesin bir şekilde önlenmiş olur. Analizlerin yapılabilmesi için mikrolitre düzeyindeki serum veya diğer vücut sıvılarının deiyonize suyla seyreltilmesi yeterlidir. Bu şekilde seyreltilerek hazırlanan 200-250 örnekdeki magnezyum konsantrasyonu tayinleri bir saat gibi kısa bir sürede yapılabilir. Bu yöntemde aletin temizliğine ve kör olarak kullanılan deiyonize suda herhangi bir magnezyum kirliliği olmamasına özen gösterilmelidir (29,76).

Bütün bu iyi özelliklerine karşın pahalı bir cihaz oluşu nedeniyle kullanım alanı çok yaygın değildir.

Normal Serum Magnezyum konsantrasyonları dünyanın değişik bölgelerinde yerleşmiş olan toplumlarda farklılık gösterebilir. Serum magnezyum konsantrasyonu diyetteki magnezyum miktarı ile yakından ilişkilidir. Bu element pek çok gıda maddesinde bulunur. Ancak birçok toplumda beslenme alışkanlıkları farklılıklar gösterir. Batı toplumlarında rafine edilmiş ve bazı özel işlemlere tabi tutulmuş gıda maddelerinin aşırı tüketilmesi ve doğal gıdalara yeterince yer verilmemesi , magnezyumun besinlerle alınışını kısıtlar. Buna karşılık dünyanın doğusunda yaşayan toplumların diyetleri magnezyum bakımından oldukça zengin olduğu için , bu toplumdaki ortalama serum magnezyum konsantrasyonları batılılardan daha yüksektir (6,35,48,71).

Ayrıca, serum magnezyum konsantrasyonları tayin yöntemlerinin türüne göre de ufak farklılıklar gösterebilir (27,30,40,58,63).

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi yöntemi ile saptanan normal serum magnezyum konsantrasyon sınırı % 1.44-2.64^{mg} gibi geniş sınırlar arasında kabul edilir (39).

Denemelerimizde , referans yöntem olarak kabul ettiğimiz AAS ile diğer üç spektrofotometrik yöntemden elde ettiğimiz serum magnezyum konsantrasyonlarını karşılaştırdık.

Titan Sarısı-1 Yöntemi kullanılarak tayin edilen serum magnezyum konsantrasyonlarının ortalaması % 2.08 \pm 0.02 mg , Titan sarısı-2 Yöntemi kullanılarak tayin edilen serum magnezyum konsantrasyonlarının ortalaması % 1.97 \pm 0.02 mg , Metil Timol Mavisi Yöntemi kullanılarak tayin edilen serum magnezyum konsantrasyonlarının ortalaması ise % 1.93 \pm 0.02 mg olarak bulunmuştur (Tablo 1,2,3). Referans yöntem olarak kabul ettiğimiz Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile tayin edilen serum magnezyum konsantrasyonlarının

ortalaması da % 1.95±0.02 mg olarak bulunmuştur (Tablo 4).

Her 4 yöntem ile elde ettiğimiz sonuçlar literatür değerlerine uygunluk göstermektedir. Titan Sarısı-2 ve Metil Timol Mavisi Yöntemlerinin, AAS'ye oldukça yakın sonuçlar verdiği görülmektedir. Titan Sarısı-1 Yöntemiyle elde ettiğimiz sonuçlar ise, çalışmamızda diğer 3 spektrofotometrik yöntem arasında en yüksek değerleri vermiştir. TS-1 Yönteminde oluşan kompleksin renk şiddetinin oldukça koyu olması bunun nedeni olabilir.

AAS Yöntemi serum magnezyum konsantrasyonlarının saptanmasında en güvenilir yöntemdir. Çalışmamızda , AAS Yöntemiyle diğer yöntemler arasındaki korelasyon katsayısı TS-1 Yönteminde ($r=0.549$) , TS-2 Yönteminde ($r=0.635$) ve MT Yönteminde ($r=0.716$) olarak bulunmuştur. Yöntemler içinde en yakın korelasyonun AAS ile MT yöntemleri arasında olduğu görülmektedir. Bununla birlikte , AAS ile TS yöntemleri arasındaki korelasyonun daha düşük bulunması bu yöntemlerin daha az güvenilir olduğu sonucunu vermez. Birçok kaynakta TS yöntemlerinin AAS yöntemine göre daha yüksek sonuçlar verdiği bildirilmiştir (27,42,58,68).

Metil Timol Mavisi Yöntemi, Titan Sarısı Yöntemlerine göre daha yenidir. Kullanılan çözeltilerin kolay hazırlanabilmesi , analizler için az miktarlardaki serum örneklerinin yeterli olması ve herhangi bir ön işlem gerekmeden kısa zamanda ölçümlerin yapılabilmesi bu yöntemin güvenilir ve uygun bir yöntem olduğunu düşündürür. Bu çalışmada , özellikle AAS bulunmayan klinik laboratuvarlar ve araştırmaya yönelik küçük laboratuvarlar için bu yöntemin çok pratik bir analiz tekniği olarak kullanılabileceğini ortaya koyduk.

Ö Z E T

Magnezyum organizmadaki birçok fizyolojik ve biyokimyasal olaya katılan önemli bir intrasellüler katyondur. Vücut dokuları , vücut sıvıları ve kan hücrelerinde bulunan magnezyum , birçok hayati fonksiyonun devamında direkt veya dolaylı yollardan etkilidir. Vücudun gelişmesi , protein sentezi , nöromusküler aktivite , kalp kasılması immun yeterlilik ve ruhsal dengenin sağlanmasında magnezyum iyonlarının varlığı gereklidir.

Vücut magnezyum düzeyi hakkında bilgi edinmek için serum magnezyumunun ölçülmesi en tercih edilen yoldur. Bu çalışmada 4 yöntem kullanarak 54 sağlıklı kişinin serum magnezyum konsantrasyonlarını saptadık. Bunlar, Titan Sarısı-1 (TS-1) , Titan Sarısı-2 (TS-2) , Metil Timol Mavisi (MT) ve Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) yöntemleridir. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi, magnezyum ölçümleri için oldukça hassas olmakla birlikte pahalı olması nedeniyle bazı laboratuvarlarda bulunmaz. Bu çalışmanın amacı , 3 spektrofotometrik yöntem arasından AAS kadar hassas , fazla zaman almayan ve kolaylıkla uygulanabilen bir yöntem geliştirmektir.

Bu çalışmada , TS-1 , TS-2 ve MT yöntemleri ile elde ettiğimiz ortalama serum magnezyum değerleri sırasıyla , % 2.08 ± 0.02 mg , % 1.97 ± 0.02 mg ve % 1.93 ± 0.02 mg iken AAS ile elde edilen ortalama serum magnezyum konsantrasyonu % 1.95 ± 0.02 mg olarak bulundu. AAS ile diğer yöntemler arasındaki korelasyon katsayıları , TS-1 yönteminde ($r=0.549$) , TS-2 yönteminde ($r=0.635$) ve MT yönteminde ($r=0.716$) 'dır.

Her 4 yöntemle saptadığımız bulgular yayınlarla uygunluk göstermektedir. Ayrıca 3 spektrofotometrik yöntem ile saptadığımız bulgular alternatif yöntemimiz olan AAS yöntemi ile saptadığımız bulgulara yakındır.

Sonuç olarak , serum magnezyum tayinlerinde AAS yerine TS-1 , TS-2 ve MT yöntemlerinin güvenilir bir şekilde kullanılabilirliğini söyleyebiliriz. Bu 3 spektrofotometrik yöntem arasında MT yöntemi , çözeltilerinin kolay hazırlanması , fazla zaman almaması, çok düşük bir serum örneğinde analizlerin mümkün olması ve hazır kit çözeltilerinin kullanımına olanak sağlaması gibi avantajlara sahip olduğu için tercih edilen bir yöntem olmalıdır.

S U M M A R Y

Magnesium is an intracellular cation that takes place in many important physiological and biochemical reactions of the living organism. Magnesium which is present in body tissues, body fluids and blood cells is directly or indirectly effective on maintenance of certain life functions. The presence of magnesium ions is necessary for body development, protein synthesis, neuromuscular activities, contraction of heart muscle, immunological sufficiency and for obtainin mental balance.

The most preferred way for getting information about the body magnesium level is the measurement of the serum magnesium level. In this study, serum magnesium levels of 54 healthy individuals were determined by the use of 4 different methods. These were, Titan Yellow-1 (TS-1) , Titan Yellow-2 (TS-2) , Methyl Thymol Blue (MT) and Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) methods. Although Atomic Absorption Method is quite sensitive for magnesium analysis, it is not found in some laboratories because of its high price. The purpose of this study was to improve a method among the 3 spectrophotometric methods mentioned, which is quick simple and as sensitive as the AAS method.

In this study, the average serum magnesium levels obtained by TS-1 , TS-2 and MT methods were found to be 2.08 ± 0.02 mg., 1.97 ± 0.02 mg. and 1.93 ± 0.02 mg. , respectively. Whereas the average serum magnesium concentration was found to be 1.95 ± 0.02 mg. by the AAS method. The correlation coefficients between AAS and TS-1 , TS-2 and MT methods were found to be $(r=0.549)$, $(r=0.635)$ and $(r=0.716)$, respectively.

The results of the study by using the 4 different methods seem to be compatible with the results given in related literature. It was also found that the results obtained by using the 3 spectrophotometric methods were similar to the results of the AAS which was chosen as the alternative method in this study.

As a result , it can be stated that TS-1 , TS-2 and MT methods can be confidentially used instead of AAS in serum magnesium analysis. Among the 3 spectrophotometric methods, MT method should preferred because of the advantages like the simplicity in preparing its working solutions , its rapidity , being possible to work with very small amount of serum samples and giving the opportunity to work with ready-made kit solutions.

K A Y N A K L A R

1. Abernethy, M.H., Fowler, R.T., "Micellar improvement of the calmagite compleximetric measurement of magnesium in plasma", Clin. Chem. , 28 , 3, (1982) 520 -522.
2. Alfrey, A.C., Miller, N.L., Butkus, D., "Evaluation of body magnesium stores " , J.Lab.Clin.Med., 84, 2, (1974) , 153-162.
3. Altura, B.M., Altura, B.T., "New perspectives on the role of magnesium in the pathophysiology of the cardiovascular system.I.Clinical Aspects", Magnesium 4, (1985) , 226-244.
4. Altura, B.M., Altura, B.T., " New perspectives on the role of magnesium in the pathophysiology of the cardiovascular system.II.Experimental Aspects" , Magnesium , 4, (1985) , 245-271.
5. Altura , B.M., Altura, B.T., " Magnesium, electrolyte transport and coronary vascular tone" , Drugs 28(Suppl.1) , (1984) , 120-142.
6. Altura , B.M. , "Calcium antagonist properties of magnesium: Implications for antimigraine actions" , Magnesium 4 , (1985) , 169-175.
7. Altura, B.T., Durlach , J., Seelig , M.S. , Magnesium in Cellular Processes and Medicine, 4.th International Symposium on Magnesium, Blacksburg. Va. , July 23 28 ,(1985), Karger Basel (Switzerland) , (1987), s, 1-3, 27, 44, 68, 72, 73.
8. Annino, J.S., "Magnesium Method " , Clinical Chemistry : Principles and Procedures, 4th Ed. , Boston , Little Brown and Comp., (1964), s, 207-211.

9. Barbour, H.M., Davidson, W., "Studies on measurement of plasma magnesium: Application of the magon dye method to the "Monarch" Centrifugal Analyzer"; Clin.Chem., 34, 10, (1988) , 2103-2105.
10. Berkelhammer , C., Bear, R.A., " A clinical approach to common electrolyte problems: Hypomagnesemia" , Can.Med.Assoc.J., 132 , (1985) , 360-368.
11. Booth, C.C., Babauris, N., Hanna, S., Mac Intyre , I., " Incidence of hypo - magnesemia in intestinal malabsorption" , Brit.Med.Jour., 20, (1963), 141-145.
12. Bossche, H.V., Wieme, R.J., " Use of the Mann and Yoe Dye for automated determination of magnesium in biological fluids " , Clin.Chim.Acta., 14, (1966) , 112-115.
13. Burcar, P.J., Boyle, A.J., Masher, R.E., "Spectrophotometric determination of magnesium in blood serum using Magon " , Clin.Chem., 10, 11, (1964), 1028-1038.
14. Burch, G.E., Gilles, T.D., "The importance of magnesium deficiency in cardiovascular disease" , Amer.Heart.Jour., 94, 5, (1977), 649-657 .
15. Chipperfield, B., Chipperfield, J.R., "Differences in metal content of the heart muscle in death from ischemic heart disease" , Amer, Heart. Jour. , 95 , 6 , , (1987) , 732-737 .
16. Chipperfield , B. , Chipperfield , J.R., "Heart muscle magnesium , potassium and zinc concentrations after sudden death from heart disease", The Lancet , (1973) , 293-295.
17. Datta, P., Graham , G.A., "Colorimetric measurement of serum magnesium with an IL micro centrifugal analyzer" , Clin.Chim.Acta., 151, (1985), 85-90.
18. Deuster, P.A., Trostmann, U.H., Bernier, L.L., Dolev, E., "Indirect vs direct measurement of magnesium and zinc in erythrocytes", Clin.Chem. , 33, 4 , (1987) , 529-532.
19. Durlach, J., Bara, M., "Magnesium level in drinking water and cardiovascular risk factor: A hypothesis" , Magnesium 4 , (1985) , 5-15.

20. Dyckner, T., Wester, P.O., "Effect of magnesium on blood pressure" , Brit. Med. Jour., 286, (1983) , 1847-1849.
21. Elin, R.J., Alling , D.W., "Survival of normal and magnesium deficient erythrocytes in rats: Effect of magnesium deficient diet vs. splenectomy", J. Lab. Clin. Med., 91, 4, (1978) , 666-672.
22. Fawcett , J.K. , Wynn , V., "The determination of magnesium in biological materials by flame photometry" , J. Clin. Pathol., 14, (1961), 403-405.
23. Fernandes , J.S., Pereira , T. , Carvarha , J., et al. , "Therapeutic effect of a magnesium salt in patients suffering from mitral valvular prolapse and Latent Tetany." Magnesium 4 , (1985) , 283-290 .
24. Galland , L., "Impaired essential fatty acid metabolism in Latent Tetany", Magnesium 4 , (1985) , 333-338 .
25. Gelmers , H.J., "Calcium channel blockers in the treatment of migraine " , Am. J. Cardiol., 55 , (1985) , 139B-143B.
26. Heaton, F.W., "Determination of magnesium by the titan yellow and ammonium phosphate methods" , J. Clin. Path. , 13 , (1960) , 358-360.
27. Henry, R.J., "Determination of magnesium" , Clinical Chemistry : Principles and Technics , London , Harper and Row , (1964) , s, 381-386.
28. Hernotte , J.G., "Type A behavior and magnesium metabolism" , Magnesium 50, (1986) , 201.
29. Hurst, R.E., "High precision high speed analysis for calcium and magnesium in serum and urine" , Clin. Chim. Acta., 45 , (1973) , 105-107.
30. Ioannou , P.C. Konstantianos , D.G., "Fluorometric determination of magnesium in serum with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde salicyloylhydrazone" , Clin. Chem., 35, 7 , (1989) , 1492-1496.
31. Irving, G.W. , Goldblith , S.A., LaMothe, W.E., et al., "Magnesium deficiency and hypertension" , Nutrition Reviews , 42, 6, (1984) , 235-236 .

32. Iseri, L.T. , Freed , J. , Bures, A.R., "Magnesium deficiency and cardiac disorders" , Amer.Jour.Med. , 58 , (1975), 837-847.
33. Jackson , S.H., Brown , F., "Simultaneous determination of calcium and magnesium of serum by a single chelometric titration" , Clin. Chem., 10,2, (1964) , 159-169.
34. Johnson , C.J., Peterson, D.P., Smith , E.K., "Myocardial tissue concentrations of magnesium and potassium in men dying suddenly from ischemic heart disease" , Amer.Jour.Clin.Nutr., 32 , (1979) , 967-970.
35. Juan, D., "Clinical review : The clinical importance of hypomagnesemia " , Surgery 91 , 5 , (1982) , 510-517.
36. Kalbfleisch , J.M., Lindeman , R.D. , Ginn, H.E., Smith, W.O., "Effects of ethanol administration on urinary excretion of magnesium and other electrolytes in alcoholic and normal subjects", Jour. Clin. Invest. , 42,9, (1963) , 1471-1475.
37. Kisner, H.J., Koch, T.R., Knoblock, E.C., "Determination of serum and urine magnesium with a centrifugal analyzer" , Clin.Chem., 29,12, (1983), 2120-2121.
38. Klein, B., Oklander, M., "The automated fluorometric determination of serum magnesium" , Clin.Chem., 13,1, (1967) , 26-35.
39. Kocaoğlu , Ş. , Karan , A., "Magnezyum eksikliği" , Yeni Tıp Dergisi, 6,3, (1989) , 1-7.
40. Kovacks , G.S. , Tarnoky , K.E., "A simple and rapid method for the simultaneous determination of calcium and magnesium from the same sample of blood serum" , J.Clin.Path., 13, (1960) , 160-162.
41. Kroll , M.H., Elin, R.J., "Relationship between magnesium and protein concentrations in serum" , Clin.Chem., 31,2, (1985) , 244-246.

42. Kunkel,H.O., Pearson,P.B.,Schweigert,B.S.,"The photoelectric determination of magnesium in body fluids" , Jour.Lab.Clin.Med.,32 , (1947) ,1027-1033.
43. Lamkin , E.G., Williams,M.B.,"Spectrophotometric determination of calcium and magnesium in blood serum with Arsenazo and EGTA" , Anal.Chem.,37, 8 , (1965) , 1029-1031.
44. Levinson , S.A.,MacFate , R.P., Clinical Laboratory Diagnosis , 7th Ed., Philadelphia ,Iea and Febiger , (1969) , s,471,472.
45. Lim,P., Jacob,E., "Magnesium status of alcoholic patients" , Metabolism 21, 11, (1972) ,1045-1051.
46. Luoma,H.,Aromaa,A.,Helminen,S.,et al., "Risk of myocardial infarction in Finnish Men in relation to fluoride , magnesium and calcium concentration in drinking water" , Acta.Med.Scand. , 213 , (1983) , 171-176.
47. Marier, J.R. , Neri,L.C., "Quantifying the role of magnesium in the inter-relationship between human mortality / morbidity and water hardness", Magnesium 4 , (1985) , 53-59.
48. Martin , W.D.,Peter,A.M., Victor , W.R.,Gramner , D.K.,Harper's review of biochemistry, Middle East Edition , 20.th Ed.,Beirut,Lebanon.(1985),s,653.
49. Martin,B.J.,McGregor, C.W., "Measurement of serum magnesium. Effect of delay in separation from erythrocytes" , Clin.Chem.,32,3,(1986),564.
50. Martinek , R.G.,Berry,R.E., "Micromethod for the estimation of magnesium in biologic fluids" , Clin.Chim.Acta.,10,(1964),363-374.
51. Mather,H.M.,Nisbet,J.A., Burton,G.H.,et al. , "Hypomagnesemia in diabetes" Clin.Chim.Acta.,95 , (1979) , 235-242.
52. McMullen,J.K., "Asystole and hypomagnesemia during recovery from diabetic ketoacidosis" , Brit.Med.Jour., (1977) , 690.
53. Metcalfe,J. , "Methylthymol blue as a reagent for the spectrophotometric determination of magnesium" , Analyst , 90 , (1965) , 409-412.

54. Montgomery,R.D., "The estimation of magnesium in small biological samples by flame spectrophotometry" , J.Clin Path.,14 , (1961) , 400-402.
55. Nichols,B.L.,Alvarado , J.,Hazlewood,C.F.,Viteri,F., "Magnesium supplementation in protein-calorie malnutrition" , Amer.Jour.Clin.Nutr.,31 , (1978), 176-188.
56. Nixon,D.E.,Mayer , T.P., Johnson , P.,et al.,"Routine measurement of calcium magnesium ,copper,zinc and iron in urine and serum by inductively coupled plasma emission spectroscopy" , Clin.Chem.,32,9, (1986),1660-1665.
57. Pesce , M.A.,Bodourian,S.H.,Hills,L.P., "Fluorometric measurement of serum magnesium with a centrifugal analyzer" , Clin.Chim.Acta.,136,(1984),137-144.
58. Pruden,E.L.,Meier,R.,Plaut,D., "Comparison of serum magnesium values by photometric, fluorometric , atomic absorption and flame emission methods" Clin.Chem., 12 , 9 , (1966) , 613-619 .
59. Rasmussen ,H.S.,Norregard,P.,Lindenege , O., "Intravenous magnesium in acute myocardial infarction" , The Lancet , 1 , (1986) , 234-236.
60. Ratge , D., Kohse, K.P.,Wisser,H., "Measurement of magnesium in serum and urine with a random access analyzer by use of a modified xylidyl blue-1 procedure" , Clin.Chim.Acta., 159 , (1986) , 197-203.
61. Ratzmann , G.W., "On the insulin effect on the magnesium homeostasis" , Exp.Clin.Endocrinol. , 86,2,(1985), 141-145.
62. Rice, E.W., Principles and Methods of Clinical Chemistry , Publ.Thomas,C.C., Springfield , Illinois , U.S.A. , (1960) , s, 189,190.
63. Rice, E.W.,Lapara,Z., "Rapid ultramicrospectrophotometric determination of magnesium" , Clin.Chim.Acta., 10 , (1964) , 360-364.
64. Rude, R.K.,Adams , J.S., Ryzen,E., et al., "Low serum concentrations of 1,25-dihydroxyvitamin D in human magnesium deficiency" , Jour.Clin. Endocrinol.Metab., 61,5, (1985) , 933-940.

65. Savory ,J., Margery,K.S.,Shipe,J.R., et al., "Stabilization of the calmagite reagent for automated measurement of magnesium in serum and urine",Clin.Chem.,31,4 , (1985) , 487,488.
66. Schroeder ,H.A., Brattleboro,W., "Relation between mortality from cardiovascular disease and treated water supplies" , J.A.M.A. , 172, 17 , (1960) , 1902-1908.
67. Seeling,M.S.,Heggveit,A., "Magnesium interrelationships in ischemic heart disease: a review" , Amer.Jour.Clin.Nutr. , (1974) , 59-79.
68. Sky _Peck,H.H., "A method for determination of magnesium in serum and urine" , Clin.Chem. , 10 , 5 , (1964) , 391-398.
69. Şener,B., Orbey, M.T., Temizer,A. , Modern Analiz Yöntemleri, Seldem Ofset, Ankara , (1968) , s,120-132.
70. Thuvasethakul,P., Wajjmalku,W., "Serum magnesium determined by use of methyltymol blue" , Clin.Chem., 33, 4, (1987), 614,615.
71. Tietz,N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, Third Edition, Ph.D.W. Saunders Company , (1987) , s, 522.
72. Vanroelen,W.F., Van Gaol,L.F., Van Rooy,P.E., De Leeuw,I.H., "Serum and erythrocyte magnesium levels in type I and type II diabetics" Acta.Diabetol.Lat., 22 , (1985) , 185-190.
73. West,P., "Rapid measurement of serum magnesium with a kit" Clin.Chem., 30, 8, (1984), 1427.
74. Whang,R., "Routine serum magnesium determination: A continuing unrecognized need" , Magnesium 6, (1987), 1-4.
75. White,W.L., Erihson,M.M., Stevens,S., Chemistry for the Clinical Labora - tory, 4th Ed.,The C.V.Mosby Company Saint Louis, (1976) , s, 209.

76. Wills,M.R., Sunderman,F.W., Savory,J., Methods for the estimation of serum magnesium in clinical laboratories" , Magnesium 5,(1986) , 317-327.
77. Wills,M.R., "Magnesium and potassium inter-relationship in cardiac disorders" , Drugs, 31 (Suppl.4) , (1986) , 121-131.
78. Wimmer,M.C., Artiss,J.D., Zak,B., "A Kinetic colorimetric procedure for quantifying magnesium in serum" , Clin.Chem., 32 , 4, (1986) , 629-632.
79. Yenson,M., Klinik Biyokimya Laboratuvar alışmaları, Beta Basım Yayım Dağıtım A.ř., Geliřtirilmiř 6.Baskı, İstanbul , (1986) , 5,68.



Ö Z G E Ç M İ Ş

1968 yılında Bulgaristan'da doğdum. İlk ve orta öğretimimi tamamladıktan sonra 1985 yılında E.Ü.Eczacılık Fakültesi'ne girdim. 1989 yılında mezun oldum. 1990 yılında E.Ü.Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans çalışmalarına başladım. 1992 yılında aynı anabilim dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen Biyokimya Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Bekarım.