

Akciğer kanserinde serum ve dokuda eser element değişimlerinin incelenmesi

Özkan DEMİRHAN¹, Ahmet DEMİRKAYA², Ezel ERŞEN², Meltem ERCAN³, Kamil KAYNAK²

¹ Universal Hospitals Group,

² İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı,

³ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul.

ÖZET

Akciğer kanserinde serum ve dokuda eser element değişimlerinin incelenmesi

Çalışmamızda akciğer kanserli olgularda eser elementlerden çinko (Zn) ve bakır (Cu)'ın kanserle ilişkisini incelemeye çalıştık. Primer akciğer kanseri nedeniyle opere edilen 20 hasta çalışmaya dahil edildi. Olguların kanserli ve normal akciğer dokusunda, serumunda (preoperatif, postoperatif birinci ve beşinci gün) Cu, Zn, albumin düzeyleri ölçüldü ve Cu/Zn oranı hesaplandı. Tümör dokusunda Cu düzeyi normal dokuya göre anlamlı olarak yüksek ($p < 0.01$), normal dokuda Zn düzeyi tümörlü dokuya göre anlamlı derecede yüksek ($p < 0.001$), tümörlü dokuda Cu/Zn oranı normal dokuya göre anlamlı derecede yüksek ($p < 0.001$) bulundu. Serum değerleri arasında postoperatif birinci günde Cu, Zn ve albumin düzeylerinde preoperatif döneme göre anlamlı bir düşme ($p < 0.001$), postoperatif birinci günde serum Cu/Zn oranında preoperatif döneme göre anlamlı derecede artma ($p < 0.001$), postoperatif beşinci günde serum albumin düzeylerinde preoperatif döneme göre anlamlı derecede düşme ($p < 0.001$) ve postoperatif beşinci günde serum Cu/Zn oranında postoperatif birinci güne göre anlamlı derecede düşme ($p < 0.01$) saptandı. Sonuç olarak, Cu ve Zn düzeylerinden çok, Cu/Zn oranının kanser araştırması yönünden daha anlamlı bir veri olarak kullanılması uygun olabilir. Cu/Zn oranının azalmasının akciğer kanserli hastalarda diagnostik test olarak değil de bu hastalarda antioksidan savunmanın azaldığının bir göstergesi olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Bakır, çinko, akciğer kanseri, antioksidan kapasite.

SUMMARY

Analysis of the alterations of trace elements in plasma and tissue, in lung cancer

Özkan DEMİRHAN¹, Ahmet DEMİRKAYA², Ezel ERŞEN², Meltem ERCAN³, Kamil KAYNAK²

¹ Universal Hospitals Group, Istanbul, Turkey,

² Department of Chest Surgery, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey,

³ Department of Biophysics, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey.

Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Ahmet DEMİRKAYA, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı, Monoblok 2. Kat 34098 Kocamustafapaşa/Fatih İSTANBUL - TÜRKİYE

e-mail: drdemirkaya@yahoo.com

In our research, we aimed to analyse the relationship between the lung cancer and the zinc (Zn) and the copper (Cu) which are important trace elements for the organisms in cases containing lung cancer. The research included 20 patients who have been operated as a result of primary lung cancer. In the research, the Zn and Cu and Cu/Zn levels in the patient's cancerous and normal lung tissues and serum (pre-operative, post-operative day first and day fifth) were measured (pre-operative, post-operative day first and post-operative day fifth serum albumin levels were also measured). It was found out that the Cu level in the tissue with tumour has been significantly higher than that of the normal tissue ($p < 0.01$); that the Zn level in the normal tissue has been significantly higher than the tissue with tumour ($p < 0.001$) and that the Cu/Zn rate in the tissue with tumour has been significantly higher than the normal tissue ($p < 0.001$). Regarding the serum values, in the post-operative day first, a significant decrease has been viewed in the levels of Cu, Zn and albumin compared to the pre-operative period ($p < 0.001$); in the post-operative day first serum Cu/Zn rate has significantly increased compared to the pre-operative period ($p < 0.001$); in the post-operative day fifth serum albumin levels have significantly decreased compared to the pre-operative period ($p < 0.001$); in the post-operative day fifth, serum Cu/Zn rate has significantly decreased compared to the post-operative day first ($p < 0.01$). As a result of the research we performed, we believe that the Cu/Zn level is a more significant data regarding the research of the cancer than the levels of Zn and Cu. We also believe that the Cu/Zn level in the patients with lung cancer should not be used as a diagnostic test, but rather as an indicator of the weakening of the antioxidant defence in patients.

Key Words: Copper, zinc, lung cancer, antioxidant capacity.

Kansere bağlı ölümlerin en sık sebebi akciğer kanseridir. İnsidanstaki artış ve yüksek mortalite oranları, tedavi ve önlem almada yeni alternatif yöntemlerin gerektiğini göstermektedir. Akciğer kanserinin etyolojisinde pek çok ekzojen ve endojen faktör rol oynamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda oksidatif hasar mekanizmalarının kanser türleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve kanser oluşum mekanizmalarından biri olabileceği tartışılmıştır (1-5).

Oksidatif hasarın kaynağını oluşturan serbest radikallerin oluşumu demir, bakır (Cu), çinko (Zn) gibi geçiş elementlerinin varlığıyla gerçekleşir. Biz bu çalışmamızda, akciğer kanserli olgulardaki Cu ve Zn değişimlerini inceleyerek cerrahi müdahale ve sonrasındaki etkisini araştırdık. Aynı anda tümörlü ve sağlam doku örneklerinde de Cu ve Zn düzeyini tespit ettik. Cu/Zn oranının kanser tespitinde önemli bir gösterge olabileceği yönünde çalışmalar mevcut olduğundan, biz de Cu/Zn oranının teşhis ve tedavi başarısı takibindeki rolünü incelemeyi amaçladık (6).

MATERYAL ve METOD

Kliniğimizde akciğer kanseri oldukları, yapılan klinik ve laboratuvar araştırmalar sonrası kanıtlanmış 20 erkek hasta ile çalışma grubu oluşturuldu. Kadın hastalar, kronik sistemik bir hastalığı olan ve akciğerdeki kanser dokusunun çalışma için yeterli olmadığı hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışma grubundaki tüm hastalara operasyon öncesi; tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı, biyokimyasal inceleme, serum karsinoembriyonik antijen, serum Cu ve Zn seviyesi, seruloplazmin düzeyi, tam idrar tahlili, arter kan gazı ve spirometri tetkikleri yapıldı. Operasyon sonrası birinci ve beşinci günde; tam kan sayımı, albumin, Cu ve Zn ölçümleri tekrar edildi.

Örneklerin Alınması ve Ölçüme Hazırlanması

Hastalardan, postoperatif birinci ve beşinci günde, 5 mL heparinli ve 5 mL heparinsiz olmak üzere kan örnekleri alındı. Cu ve Zn ölçümü için kan örneklerinin serumları ayrıldı. Hastalara ait serumlar ve süpernatantlar ölçüm yapılmaya kadar -25°C 'de tutuldu (7). Tümör rezeksiyonu sonrasında kanserli ve sağlam doku örnekleri ayrı ayrı plastik kap içine konuldu. Doku örnekleri ölçüm hazırlanma işlemleri yapılmaya kadar -25°C 'de korundu.

Kanserli ve sağlam dokulardan alınan yaklaşık 0.5 g doku örneği, dereceli ve ısıya dayanıklı cam tüplerde üzerine yaklaşık 2.5 mL %65'lik nitrik asit ilave edilerek bir saat oda ısısında, yaklaşık iki saat $100-120^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki etüvde erimeye bırakıldı. Etüvden çıkarılan örnekler oda ısısında soğutulduktan sonra üzerlerine 0.5 mL %65'lik perklorik asit ilave edilerek $150-180^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki etüvde iki saat bekletildi. Etüvden çıkarılan örnekler soğutulduktan sonra üzerlerine kör çözelti ilave edilip toplam hacim 5 mL olacak şekilde ölçüme hazır hale getirildi (8).

Bu elementler için, içerisinde 1000 ± 0.002 mg saf element içeren atomik absorpsiyon hazır standart çözeltileri (titrosil-merck) deiyonize su ile 1 L'ye tamamlanarak stok çözeltiler ($1000 \mu\text{g/mL}$) hazırlandı. Bunlar için deiyonize su ile stok çözeltilerden $0.5-1$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ 'lik çalışma standartları elde edildi. Kör çözelti olarak bidistile su kullanıldı.

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde ölçümü yapılacak her bir element için özel dalga boyunda ışık veren "hallow cathod lamp (HCL)" ile uygun slit aralığı, hava-asetilen gaz karışımı ve "background (BCG)" modları seçildi. Bu şekilde ölçüme hazır hale getirilen atomik absorpsiyon spektrofotometresinde blank ve ölçümü yapılacak element için konsantrasyonlarının ölçümü yapıldı. Bu işlemler Cu ve Zn için ayrı ayrı yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Serum ve doku Cu, Zn, Cu/Zn oranının değerlendirilmelerinde veriler SPSS (for windows) 10.0 istatistik paket programında değerlendirildi. Karşılaştırmalarda eşlendirilmiş dizilerde t-testi (paired t-test) uygulandı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların yaşları 43-70 yaş arasındaydı ve yaş ortalaması 57.8 yıldır. Hastaların histolojik dağılımında; 10 hastada skuamöz hücreli, yedi hastada adenokanser, bir hastada büyük hücreli, bir hastada küçük hücreli ve bir hastada mukoepidermoid kanser tespit edilmiştir. Toplam dokuz pnömonektomi, bir bilobektomi ve 10 lobektomi operasyonu yapılmıştır. Hastaların evreleri; iki hasta evre III B, altı hasta evre III A, yedi hasta evre II B, iki hasta evre II A, iki hasta evre I B ve bir hasta evre I A olarak bulunmuştur.

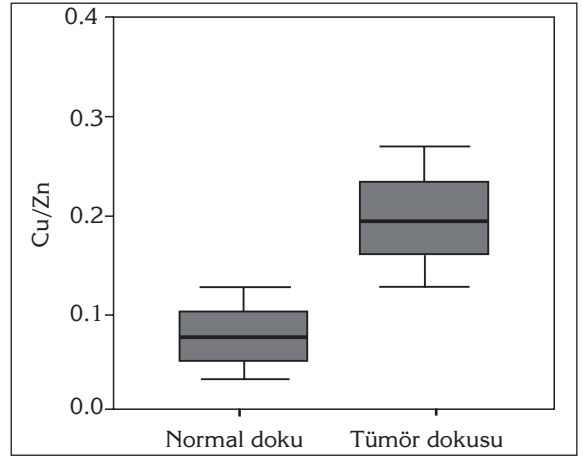
Tümör dokusunda Cu düzeyi normal dokuya göre anlamlı derecede daha fazladır ($p < 0.01$). Normal dokuda Zn düzeyi, tümör dokusuna göre anlamlı derecede daha fazladır ($p < 0.001$) (Tablo 1). Tümör dokusunda Cu/Zn oranı normal dokuya göre anlamlı derecede daha fazladır ($p < 0.001$) (Şekil 1).

Postoperatif birinci günde serum Cu, Zn ve albumin değerleri preoperatif döneme göre anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0.001$). Postoperatif bir-

Tablo 1. Normal ve tümörlü akciğer dokusunda Cu, Zn düzeyleri ve Cu/Zn oranı*.

	Normal doku	Tümör dokusu	p
Cu ($\mu\text{g/g}$ doku)	2.36 ± 1.15	3.79 ± 1.20	0.003
Zn ($\mu\text{g/g}$ doku)	33.97 ± 15.72	19.80 ± 5.21	0.001
Cu/Zn	0.09 ± 0.06	0.19 ± 0.04	0.001

* Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 1. Normal akciğer dokusu ve tümörlü dokuda Cu/Zn oranı.

Tablo 2. Preoperatif ve postoperatif birinci gün serum Cu, Zn, albumin düzeyleri ve Cu/Zn oranı*.

Serum düzeyleri	Preoperatif	Postoperatif birinci gün	p
Cu ($\mu\text{g/dL}$)	121.59 ± 17.15	94.63 ± 12.82	0.000
Zn ($\mu\text{g/dL}$)	48.63 ± 12.61	32.65 ± 11.25	0.000
Cu/Zn	2.61 ± 0.54	3.20 ± 1.08	0.037
Albumin (g/dL)	4.28 ± 0.39	3.25 ± 0.54	0.000

* Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

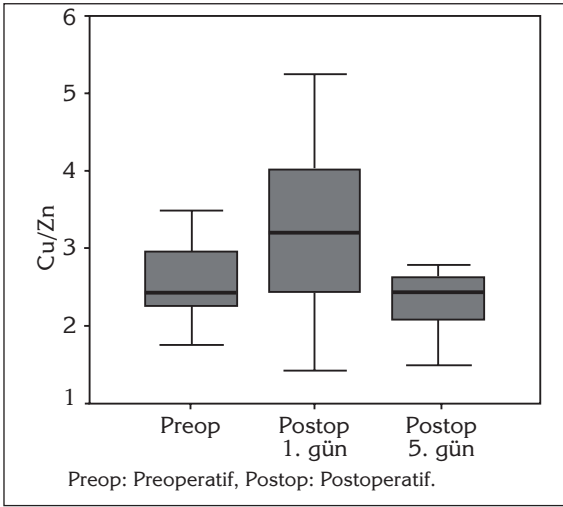
inci günde serum Cu/Zn oranı preoperatif döneme göre anlamlı derecede artmıştır ($p < 0.001$) (Tablo 2). Postoperatif beşinci günde serum albumin değerleri preoperatif döneme göre anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0.001$).

Preoperatif ve postoperatif beşinci günde serum Cu, Zn düzeyleri ve Cu/Zn oranı arasında istatis-

Tablo 3. Preoperatif ve postoperatif beşinci gün serum Cu, Zn, albumin düzeyleri ve Cu/Zn oranı*.

Serum düzeyleri	Preoperatif	Postoperatif beşinci gün	p
Cu (µg/dL)	121.59 ± 17.15	112.23 ± 22.43	0.244
Zn (µg/dL)	48.63 ± 12.61	49.19 ± 13.97	0.884
Cu/Zn	2.61 ± 0.54	2.41 ± 0.61	0.178
Albumin (g/dL)	4.28 ± 0.39	3.36 ± 0.35	0.000

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

**Şekil 2. Preoperatif, postoperatif birinci ve beşinci günlerde serum Cu/Zn oranı.****Tablo 4. Postoperatif birinci ve postoperatif beşinci gün serum Cu, Zn, albumin düzeyleri ve Cu/Zn oranı*.**

Serum düzeyleri	Preoperatif	Postoperatif beşinci gün	p
Cu (µg/dL)	94.63 ± 12.82	112.23 ± 22.43	0.020
Zn (µg/dL)	32.65 ± 11.25	49.19 ± 13.97	0.002
Cu/Zn	3.20 ± 1.08	2.41 ± 0.61	0.008
Albumin (g/dL)	3.25 ± 0.54	3.36 ± 0.35	0.466

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

tiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi (Tablo 3). Postoperatif beşinci günde serum Cu ve Zn düzeyleri postoperatif birinci güne göre anlamlı derecede artmıştır (sırasıyla; $p < 0.05$, $p < 0.01$). Postoperatif beşinci günde serum

Cu/Zn oranı postoperatif birinci güne göre anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0.01$) (Şekil 2). Albumin düzeyleri incelendiğinde postoperatif birinci ve beşinci gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 4).

TARTIŞMA

Eser elementlerle ilgili yapılmış çalışmalar bu elementlerin karsinogenik etkilerini de kapsamaktadır. Bu araştırmaların büyük bir çoğunluğunu çevresel değişikliklerin etkisinde olan akciğerlerle ilgili çalışmalar oluşturmaktadır (9,10). Çevresel kirlenmeye bağlı olarak akciğer dokusundaki eser element düzeylerindeki değişikliklerin tespit edilmesi, akciğer kanserindeki gelişimin tespit ve takip edilebilmesinde önemli bir bilgi kaynağıdır (11).

Shuichi ve arkadaşları otopsi ile elde ettikleri dokularda eser element düzeyini inceledikleri çalışmalarında, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kanserli dokuda Cu düzeyinin arttığını, Zn düzeyinin azaldığını tespit etmişlerdir (12). Poukkula ve arkadaşları akciğer kanseri ve değişik kanser türleri ile yaptıkları çalışmalarında, serum Cu düzeyinin arttığını, Zn düzeyinin azaldığını ifade etmişlerdir. Bu dokuların histopatolojik olarak sınıflandırılması sonucunda küçük hücreli akciğer kanserli dokudaki Zn düzeyinin diğer hücre tiplerine göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (13). Diğer bir çalışmada Cu ve Zn düzeyinin DNA tamir kapasitesine olan etkileri araştırılmış ve yüksek diyet Cu oranı ve yüksek diyet Zn oranı gruplarında DNA tamir kapasitesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (14). Mahabir ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada diyetle alınan belirli miktarda Cu ve Zn'nun akciğer kanseri riskini azalttığını ortaya koymuşlardır. Literatürlerde yapılan çalışmaların pek çoğu kanserli hastalar ile kontrol grubu arasındaki eser element düzeylerinin değişimini incelemeye yöneliktir (15-19).

Çalışma programımızı hastanın bireysel eser element düzeylerinin incelenmesi üzerine oluşturduk. Bu nedenle akciğer kanserli olgularımızın doku ve serumlarındaki eser element düzeylerinin bireysel değişimini inceledik.

Akciğer kanserli hastalardan cerrahi müdahale sırasında alınan kanserli ve sağlam akciğer dokusunda Cu ve Zn düzeylerini ölçtük. Kanserli dokudaki Cu düzeyinin istatistiksel olarak an-

lamlı derecede arttığını ($p < 0.01$), Zn düzeyinin ise azaldığını tespit ettik. Elde ettiğimiz sonuçlar literatür bilgileri ile uyum göstermektedir. Sonuçlarımız Cu ve Zn düzeyindeki bu değişimin antioksidan savunma sistemini olumsuz yönde etkilediği yönündedir.

Eser elementlerin akciğer kanseri ve diğer kanser türleri arasındaki ilişkileri üzerine birçok çalışma yapılmış, serum Cu ve Zn düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler tespit edilmiştir (15-19). Yapılan çalışmalarda cerrahi müdahale sonrası uzun dönem takibe ait eser element değişimleri incelenmemiştir. Preoperatif serum Cu düzeyi, postoperatif birinci günün Cu düzeyine göre yüksek saptanırken, postoperatif beşinci gün ile arasında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilemedi. Zn düzeyinde cerrahi müdahale öncesi ve postoperatif beşinci gün arasında anlamlı bir değişim bulunamazken, postoperatif birinci günde istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı bir azalma tespit edildi.

Akciğer kanserli olgularda serumda artan Cu düzeyi birçok araştırmacı tarafından kabul edilmiş bir bilgidir (13,16,18,20). Cu korporal ve metabolik düzensizlik yaratarak kansere neden olur. Kanser hastalarında serum Cu ve seruloplazmin düzeylerinin arttığı yönünde çalışmalar vardır (13,20). Bununla birlikte serum Zn düzeyi ile ilgili farklı görüşler olduğu için bu konu halen tartışma düzeyindedir. Yapılan bazı çalışmalarda akciğer kanserli hastaların düşük serum Zn düzeyinin, akciğer kanseri olmayan hastalardan daha düşük olmadığı gösterilmiştir. Bu sebeple düşük serum Zn düzeyinin prognostik bir önemi olmadığı savunulmuştur (13,20). Kanserli hastalarda serumda azalmış Zn düzeyinin hiper çinkoüri nedeniyle idrarda Zn kaybına bağlı olduğu belirtilmiştir (21). Ancak kanserli hastalarda serum Zn düzeyindeki azalmanın prognozu kötü yönde etkilediğine dair çalışmalar vardır (20). Aynı zamanda Zn düzeyinde azalmanın tümör büyümesini geciktirdiği ve bu nedenle Zn eksikliğinin faydalı olabileceği de savunulmaktadır (22). Bu görüşün aksine Zn'nun koruyucu etkisinin antimetastatik tedavide kullanılmasının faydalı olabileceği yönünde ifadeler mevcuttur (23).

Yapılan çalışmalarda Zn düzeyinin, tümör rezeksiyonu sonrası normal düzeye geldiği fakat non-rezektabl tümörlü hastalarda serum Zn düzeyinin düşük olarak kaldığı tespit edilmiştir (24).

Ancak Vasehus ve arkadaşları postoperatif dönemde serum Zn düzeyinin akut olarak azaldığını ve birkaç gün içerisinde preoperatif düzeye ulaştığını göstermişlerdir (24). Yaptığımız çalışma Vasehus ve arkadaşlarının çalışmalarıyla aynı yöndedir. Postoperatif dönemde serum Zn düzeyindeki anlamlı azalmanın sebebinin albumin düzeyindeki azalma ile açıklanması mümkündür. Cerrahi müdahale sırasında hastaya uygulanan plazma hacim artırıcılardan (plasma volume expander) dolayı damar içi ozmotik-onkotik basıncın değişmesi yeni bir dengenin oluşmasını gerektirmektedir. Bu sebeple damar içi ozmotik basıncı düzenleyen en önemli protein olan albumin düzeyinde azalma görülür (25,26).

Cerrahi müdahale sırasında oluşan serbest radikallerin, antioksidanlar tarafından temizlenmesine ihtiyaç duyulmaktadır. En güçlü antioksidan savunma sistemi olan SOD görevini yapabilmesi için yeterli miktarda Zn iyonuna ihtiyaç duymaktadır. SOD enziminde; Zn enzimin stabilize olmasını sağlarken, Cu enzimin aktivitesinden sorumludur (27,28). Kısacası, enzimin aktive olabilmesi için ortamda yeterli Zn iyonu bulunmalıdır. Müdahale sonrası azalan serum Zn seviyesi, SOD enziminin aktivitesini azaltabilir ve buna bağlı olarak serum Cu düzeyinde artışa neden olabilir (29,30).

Çalışmaların bazılarında serum Cu/Zn oranının, serum Cu ve Zn düzeylerinin belirlenmesinden daha önemli bir değer olduğu savunulmaktadır (6). Çalışmamızda akciğer kanserli hastaların tümör dokusundaki Cu/Zn oranının, sağlam dokuya oranla istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olarak arttığını tespit ettik ($p < 0.001$). Serum Cu/Zn oranının preoperatif ve postoperatif beşinci günde değişmediğini, fakat postoperatif birinci günde preoperatif ve postoperatif beşinci güne kıyaslandığında anlamlı bir artış gösterdiğini gözledik. Gerek dokuda, gerekse serumda artan Cu/Zn oranının bozulmuş bir antioksidan savunmayı ifade edebileceği görüşündeyiz. Bazı araştırmacılar sağlıklı bireylerde ve kanserli hastaların erken evrelerinde serum Cu/Zn oranının değişmediğini ancak ileri evrelerde serum Cu/Zn oranında anlamlı bir artış gözlemlendiğini ifade etmişlerdir (31). Diez ve arkadaşları serum Cu/Zn oranının akciğer kanserinden şüphelenilen hastalarda diagnostik test olarak kullanılabileceğini savunmuşlardır (6). Ancak Cu/Zn oranının, bi-

zim yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlarla diagnostik test olarak değil antioksidan savunmanın azaldığının bir göstergesi olarak kullanılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; akciğer kanserli hastalarda bozulmuş immün sistemin ve antioksidan savunmanın desteklenmesi için cerrahi tedavi, adjuvan kemoterapi veya radyoterapinin yanında Zn tedavisinin de eklenebileceği ve hastalığın prognozunu takibinde de Cu/Zn oranının kullanılabilirliğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Barış İ. Asbestozis and Erionite Related Chest Disease. Ankara: 1987: 63-76.
2. Cross CE, Halliwell BB, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-45.
3. Corrocher R, Casaril M, Bellisola G, et al. Severe impairment of antioxidant system in human heptoma. *Cancer* 1986; 58: 1658-62.
4. Martilla RJ, Røytta M, Lorentz H, et al. Oxygen toxicity protecting enzymes in the human brain. *J Neural Transm* 1988; 74: 87-95.
5. McCord JM. Human disease, free radicas and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-7.
6. Diez M, Cerdan FJ, Arroyo M, et al. Use of the copper/zinc ratio in the diagnosis of lung cancer. *Cancer* 1989; 63: 726-30.
7. Brown A, Taylor A. Applications of aslotted quartz tube and flame atomic-absorbtion spectrometry to the analys of biological samples. *Analyst* 1985; 110: 579-82.
8. İspir T, Kepekçi Y, Tamer L, et al. Copper, zinc and magnesium in serum and tissues from patients with carcinoma of breast, stomach and colon. *Trace Elements Electrollyts* 1995; 12: 113-5.
9. Sakula A. Ramazzini's de morbis artificum and occupational lung disease. *Br J Dis Chest* 1983; 77: 349-61.
10. Morgan WKC, Seaton A. *Occupational Lung Diseases*. Philadelphia: Saunders, 1975: 391.
11. Nemery B. Metal toxicity and respiratory tract. *Eur Respir J* 1990; 3: 202-19.
12. Shuichi A, Kazuo T, Susumu O, et al. Metal concentrations in lung tissue subjects suffeing from lung cancer. *Int Archives Occupational Environmental Health* 1991; 63: 193-7.
13. Poukkula A, Hakala M, Huhti E. Serum copper, zinc and ceruloplasmin concentrations in patient with lung cancer. *Respiration* 1987; 51: 272-6.
14. Mahabir S, Forman MR, Barerra SL, et al. Joint effects of dietary trace metals and DNA repair capacity in lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2756-62.
15. Mahabir S, Spitz MR, Barrera SL, et al. Dietary zinc, copper and selenium, and risk of lung cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1108-15.
16. Andwers GS. *Studies of plasma zinc, copper, caeruloplasmin, and growth hormone. With special reference to carcinoma of bronchus.* *J Clin Pathology* 1979; 32: 325-33.
17. Beeley JM, Darke CS, Owen G, Cooper RD. Serum zinc, bronchiectasis, and bronchial carcinoma. *Thorax* 1974; 29: 21-5.
18. Davidoff GN, Votaw ML, Coon WW, et al. Elevations in serum copper, erythrocytic copper, and ceruloplasmin concentrations in smokers. *Am J Clin Pathology* 1978; 70: 790-2.
19. Fisher GL, Byers VS, Shifrine M, et al. Copper and zinc levels in serum from human patients with sarcomas. *Cancer* 1976; 37: 356-63.
20. Martin-Lagos F, Navarro Alarcon M, Terres-Martos C, et al. Serum copper and zinc concentrations in serum from patients with cancer and cardiovascular disease. *Science Total Environment* 1997; 204: 27-35.
21. Allen JI, Bell E, Boosalis MG, et al. Association between urinary zinc excretion and lymphocyte dysfunction in patients with lung cancer. *Am J Med* 1985; 79: 209-15.
22. Minkel DT, Dolhun PJ, Calhoun BL, et al. Zinc deficiency and growth of Ehrlich ascites tumor. *Cancer Res* 1979; 39: 2451-6.
23. Timar J, Raso E, Paku S, et al. Oral administration of a trace element preparation and zinc inhibit liver metastasis of 3LL-HH murine tumor cells. *Int J Mol Med* 1998; 2: 105-8.
24. Vasehus PM, Andersen LI. Changes in serum zinc and serum albumin after operation for bronchogenic carcinoma. *Scand J Thor Cardiovasc Surg* 1987; 21: 53-5.
25. Freyburger G, Dubrevil M, Boisseau MR, et al. Rheological properties of commonly used plasma substitutes during preoperative normovolemic acute haemodilution. *Br J* 1996; 76: 519-25.
26. Önal ÖB. Epidural anestezi öncesi uygulanan hidroksetil nişasta ve modifiye sıvı jelatin solüsyonlarının kan reolojisi, plazma onkotik basınç ve serum osmolalitesi üzerine etkileri. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık tezi, İstanbul 2001.
27. Acarsoy A. İnsan sağlığında çinkonun önemi. *TÜBİTAK, Bilim Teknik Dergisi* 1996; 12: 56.
28. Kidd MT, Ferket PR, Qureshi MA. Zinc metabolism with special reference to its role in immunity. *Worl's Poultry Science Journal* 1996; 52: 308-25.
29. Broun A, Dugdill S, Wyatt M, Mantk D. Serum total antioksidant status during vascular surgery. *Biochem Soc Trans* 1998; 26: 27.
30. Edmee C, Loises, Vincent A.M, Duurkens, Wim B.M. Geritsen and Fred J.L.M. Haus. Oxidative stress after lung resection therapy. A Pilot Study. *Chest* 2000; 117: 999-1003.
31. Ma EL, Jiang ZM. Ion-exchange chromatography in simultaneous determination of serum, copper and zinc levels in patients with cancer of digestive tract. *Chim Med J Eng* 1993; 106: 118-21.