

# Kolelityazisli Olgularda Serum Bakır, Çinko Düzeyleri ve Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

## SERUM COPPER, ZINC LEVELS AND SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IN CHOLELITHIASIS CASES

Ümmühani ÖZEL\*, Ayşe BİLGİHAN\*\*, Mete DOLAPÇI\*\*\*, Mustafa SARYAL\*\*\*\*, Çınar YASTI\*\*\*\*, Nuri Aydın KAMA\*\*\*\*\*

\* Doktora Öğr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

\*\* Doç.Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

\*\*\* Doç.Dr., Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 4. Genel Cerrahi Kliniği, Şef Yard.,

\*\*\*\* Op.Dr., Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 4. Genel Cerrahi Kliniği,

\*\*\*\*\* Doç.Dr., Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 4. Genel Cerrahi Kliniği, Şefi, ANKARA

### Özet

Günümüzde reaktif oksijen türlerinin pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir. Yakın zamandaki çalışmalar reaktif oksijen türlerinin safra taşı oluşumunda etkili olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda cerrahi tedavi uygulanan kolelityazisli olgularda operasyon öncesi ve sonrası 1. günde antioksidan sistemin bir göstergesi olan serum süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi ile serum bakır (Cu) ve çinko (Zn) düzeyleri incelenmiştir.

Sağlıklı bireylere göre serum SOD aktivitelerinin safra taşı bulunan kişilerde anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ ). Kontrol değerleri ile postoperatif 1. gün değerleri ise benzerlik göstermiştir.

Serum Zn değerleri kolelityazisli olgularda sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Yine postoperatif 1. gün serum Zn değerlerinde de kontrollere göre anlamlı bir değişiklik olmamıştır ( $p>0.05$ ).

Kolelityazisli hastalarda sağlıklı kişilere göre Cu düzeyleri yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Postoperatif 1. günde ise Cu düzeyleri sağlıklı bireyler ile benzerlik göstermiştir.

Sağlıklı bireylere göre kolelityazisli olgularda serum antioksidan sistemin bir enzimi olan SOD'un düşük aktivite gösterdiğini ve cerrahi tedavi sonrası ise normal değerlere ulaşabileceğini söyleyebiliriz. Ancak bu enzimin kofaktörleri olan Cu ve Zn düzeyleri ise serumda SOD aktivitesinden farklı değişimler göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kolelityazis, Süperoksit dismutaz, Bakır, Çinko

T Klin Tıp Bilimleri 2001, 21:488-492

### Summary

It is known for long that reactive oxygen species may play an important role in the pathogenesis of many diseases. Early studies have shown that reactive oxygen species affect gallstone formation.

The aim of the present study was to investigate the serum superoxide dismutase (SOD) enzyme activities as a part of the antioxidant system and serum copper (Cu) and zinc (Zn) levels in patient with gallstones.

In these patients, decreased serum superoxide dismutase activities were observed compared to the healthy group ( $p<0.05$ ). The control values were similar to the ones on the first postoperative day after cholecystectomy.

Serum Zn levels in cases of cholelithiasis were not statistically different from the healthy group ( $p>0.05$ ). However, Zn levels did not also changed significantly on the first postoperative day ( $p>0.05$ ).

In cases of cholelithiasis, serum Cu levels were decreased compared to the healthy group ( $p<0.05$ ). The copper levels on the first postoperative day were similar to the ones in the healthy group.

Serum superoxide dismutase activities were restored to the normal values after surgical treatment. However, serum levels of copper and zinc which are the cofactors of superoxide dismutase have shown variations which are not relevant to superoxide dismutase activity.

**Key Words:** Cholelithiasis, Superoxide dismutase, Copper, Zinc

T Klin J Med Sci 2001, 21:488-492

Kolelityazis dünyada çok yaygın olan önemli bir sağlık sorunudur (1). Kolelityazis; klofibrat tedavisi, siroz, diabetes mellitus (2), şişmanlık (3,4) ve gebelik (5) gibi du-

rumlarla yüksek oranda beraberlik göstermektedir.

Günümüzde ultrasonografinin tıpta kullanımı sonucu kolelityazis teşhisi kolaylıkla konulabilmektedir (6,7). Safra kanalında ve safra kesesinde bulunan safra taşlarının değerlendirilmesi için kapsamlı laboratuvar ve radyolojik araştırmalar kullanılmaktadır (8).

Son yıllarda safra taşı oluşumunda serbest radikal teorileri gündeme gelmektedir (9). Serbest radikaller; birçok

**Geliş Tarihi:** 29.01.2001

**Yazışma Adresi :** Doktora Öğr. Ümmühani ÖZEL  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biyokimya AD, ANKARA

hastalıkla ilişkili olması ve bu hastalıklara eşlik eden çeşitli komplikasyonların ortaya çıkışında merkezi rol oynaması dolayısıyla son yıllarda araştırmacıların ilgi alanına girmiştir (10). Tedavide safra taşlarının kenodeoksikolik ve ursodeoksikolik asit ile medikal olarak eritilmesi gündeme gelmiş olmasına rağmen tartışılmaktadır. Bu tedavinin amacı safra taşı olan hastalarda azalan total safra tuzu havuzunu arttırarak safra taşının erimesini sağlamaktır (11,12).

Esas tedavi, günümüzde cerrahi yaklaşımdır. Son yıllarda cerrahi tedavi de ikiye ayrılmıştır. Batın açılarak gerçekleştirilen açık kese cerrahisi, laparoskopik cerrahiye yerini bırakmaktadır (13). Bu iki yöntemin birbirine olan üstünlüğü birçok araştırmada incelenmiştir. Özellikle antioksidan sistem ve serbest radikaller yönünden bu iki teknik karşılaştırılmıştır (14).

Diğer taraftan eser elementler, oksijen metabolizması ve dolayısıyla serbest radikal oluşumunda önemli rol oynamaktadır (15). Örneğin, Cu eser element olarak çeşitli oksidazların (SOD, sitokrom oksidaz, dopamin, β-hidroksilaz v.s.) yapılarını tamamlayıcı özelliğe sahiptir (16). Zn ise hücrelerde nükleik asit replikasyonu ve protein sentezi olaylarında, metalloenzimlerin yapısında yer alarak önemli rol oynar (17). Özellikle bu iki elementin antioksidanlardan, Cu-Zn SOD'un yapısında yer alması (18) kolelityazisli olgularda serum SOD, Cu ve Zn değerlerinin hastalığın teşhis ve tedavisinde yol gösterici olabileceğini akla getirmektedir. Yapılan literatür taramalarında bu yönde bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda kolelityazis tanısı konmuş ve laparoskopik cerrahi uygulanmış hastalarda preoperatif dönemde ve postoperatif 1. günde alınan kan örneklerinde SOD, Cu ve Zn düzeylerini tespit ederek, bunları sağlıklı bireylerle karşılaştırmayı amaçladık.

### Gereç ve Yöntem

Yaşları 28 ve 69 arasında değişen (52±16) 15 kişilik sağlıklı bireylerden alınan açlık kan örnekleri kontrol grubunu oluşturmuştur. Kolelityazisli grup ise yaşları 25 ve 74 arasında değişen (51±15) 12 kişiden oluşmuştur. Preoperatif grup kolelityazisli hastaların operasyona alınmadan önceki açlık kanlarıdır. Postoperatif grup ise kolelityazisli hastaların operasyondan 24 saat sonra alınan açlık kanlarından oluşmaktadır.

Venöz kan örnekleri 10 saatlik açlığı takiben steril plastik şırınga ile alınıp deney tüplerine boşaltıldı. Bu kan örnekleri 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1500 g'de 10 dakika santrifuj edildi. Santrifuj sonrası serum örnekleri plastik kapaklı tüplere aktarılarak -20 °C'de biyokimyasal analizlere kadar saklandı.

Serum SOD aktivitesi, Sun Y.'in 1988'de tanımladığı (19), ksantin ksantin oksidaz ile süperoksit anyonu (O<sup>2-</sup>) oluşturması ve bu süperoksit anyonun nitro blue tetrazolium (NBT) ile renkli bir bileşik oluşturarak, oluşan bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Hesaplamalar % 50 inhibisyonu 1Ü aktivitenin sağladığı düşünülerek yapıldı. Sonuçlar Ü/ml olarak verildi.

Serumda çinko düzeyleri alev atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile tayin edildi (20,21). Numunelerin serumları ayrılıp 2.5 ml serum üzerine 2.5 ml %20 (w/v) lik TCA ilave edildi. Su banyosunda 90°C'de 15 dakika bekletilerek karışım soğuduktan sonra santrifuj edilerek, süpernatant cihazda çalışıldı.

Bakır düzeyleri ise 1/10 oranında sulandırılan serumlarda alev atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile tayin edildi (20,21).

İstatistiksel analizde, tüm değerler ortalama ± SD olarak belirlendi. Sonuçlar gözönüne alınarak "unpaired student t" testi istatistiksel olarak değerlendirildi.

### Bulgular

Kontrol grubu ve kolelityazisli olgulara ait preoperatif ve postoperatif 1. gün serum SOD aktivite düzeyleri (Ü/ml), Cu (µg/dl) ve Zn (µg/dl) düzeyleri ve istatistiksel sonuçları Tablo 1'de görülmektedir. Cu düzeyleri çalışılırken kontrol grubunun 2'sinde, Zn çalışılırken preoperatif grubun 1'inde serum yetersiz olduğundan ölçüm yapılamamıştır ve tablolardaki n değerleri buna göre verilmiştir.

Kolelityazisli olgularda cerrahi öncesi ölçülen serum SOD aktivite düzeyleri (Ü/ml) kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Kontrol grubuna göre kolelityazisli olguların postoperatif 1. günde serum SOD aktivite düzeylerinde (Ü/ml) anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05). Kolelityazisli olguların preoperatif ve postoperatif 1. günde

**Tablo 1.** Kontrol ve kolelityazisli gruba ait serum SOD, Cu ve Zn düzeyleri

	Kontrol (ort±SD)	Preop (ort±SD)	Postop (ort±SD)
SOD (Ü/ml)	3.09 ±1.4 (n=15)	1.42 ± 1.05* (n=12)	3.56 ± 1.5**,† (n=12)
Cu (ug/dl)	80.26 ± 19.62 (n=13)	106.66 ± 31.20* (n=12)	80.00 ± 20.80**,† (n=12)
Zn (ug/dl)	93.48 ± 34.25 (n=15)	101.18 ± 22.13** (n=11)	88.70 ± 17.97**‡ (n=12)

\* p < 0.05 kontrol ile karşılaştırıldığında,

\*\* p > 0.05 kontrol ile karşılaştırıldığında,

† p < 0.05 preop ile karşılaştırıldığında,

‡ p > 0.05 preop ile karşılaştırıldığında.

serum SOD aktivite düzeyleri (Ü/ml) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Kontrol grubu ile kolelityazisli olguların preoperatif serum Cu ( $\mu\text{g/dl}$ ) düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $p<0.05$ ). Kolelityazisli olguların postoperatif 1. gün Cu ( $\mu\text{g/dl}$ ) düzeylerinde, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p>0.05$ ). Kolelityazisli olguların preoperatif ve postoperatif 1. gün serum Cu ( $\mu\text{g/dl}$ ) düzeyleri karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Kolelityazisli olguların preoperatif serum Zn ( $\mu\text{g/dl}$ ) düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0.05$ ). Aynı şekilde kolelityazisli olguların postoperatif 1. günde serum Zn ( $\mu\text{g/dl}$ ) düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur, fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0.05$ ). Kolelityazisli olguların preoperatif ve postoperatif serum Zn ( $\mu\text{g/dl}$ ) düzeyleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

### Tartışma ve Sonuç

Uzun yıllardan beri safra taşı oluşum mekanizmaları araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalar taş oluşumunda lipit peroksidasyonunun etkili olduğunu göstermektedir. Biyolojik sistemlerdeki oksijen toksitesinin major mekanizması lipit peroksidasyonudur. Membran fosfolipitlerinin peroksidasyonunun; hücre homeostazisini bozduğu ve hücre ölümüne neden olduğu bilinmektedir (22).

Yapılan çalışmalar, kolesterol safra taşı hastalıklarında, kolesterol monohidrat kristallerinin oluşumunda önce safra kesesi mukozasında akut inflamatuvar değişikliklerin meydana geldiğini göstermektedir. Mukozadaki değişiklikler; akut inflamasyon reaksiyonları (fagositlerin süzülmesi), mukus hipersekresyonu, mukus jelin artması, glandular hiperplazi ve hücre poliferasyonu ile karakterizedir (23).

Safra taşı oluşumunda safra kesesi mukozal inflamasyonu kısmen mukoza çatlaklarına fagositlerin süzülmesi ile gerçekleşir (24). Yüksek konsantrasyonlarda reaktif oksijen metabolitleri fagositlerin aktivasyonu sonucu meydana gelir (25).

Eder ve arkadaşlarının yaptığı çalışma (26), oluşturulan süpersatüre model safrada, reaktif oksijen metabolitlerinin kolesterol kristallerinin oluşumunu arttırdığını göstermektedir. Reaktif oksijen metabolitlerinin arttırdığı kristalizasyona sebep olan mekanizma hidroksil radikalinin başlattığı lipit peroksidasyonu olarak görülmektedir (26).

Tang yaptığı çalışmada (27), safra taşlarının oluşumunu hazırlayan sebepleri araştırmıştır. Bu araştırıcı, eritrosit ve serum SOD aktivitesi, lipit peroksit ve diğer serum ve safra lipit düzeylerini çalışmıştır. Araştırmanın sonunda, serum lipit düzeyleri, safra taşı bulunan hastalarda sağlıklı bireylere göre nispeten farklı bulunmuştur. Lipit düzensizliklerinin, safra taşı hastalığının gelişimine katkıda bulun-

bileceği bildirilmiştir. Ancak kolesterol satürasyonu safra taşı oluşumunda gerekli fakat yeterli değildir (27). Safra taşı oluşumu süpersaturasyon, hızlı nükleasyon ve safra kesesinin dismotilitesi gibi diğer faktörleri de gerektirmektedir (1). Tang, serum SOD düzeylerinde anlamlı bir fark bulamamıştır fakat eritrosit SOD düzeylerinin anlamlı olarak azaldığını saptamıştır (27). Eritrosit süperoksit dismutaz düzeyinin azalması safra taşı hastalığı riskinin arttığının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. SOD, antioksidan savunma sisteminin en önemli enzimlerinden biridir ve serbest radikal süpürücü etki gösterir. Yakın zamanlardaki çalışmalar, eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesinin yaşlanma ve fosfolipit peroksidasyonu ile ters orantılı olduğunu göstermektedir (28-30). Oksijen radikalleri, safra kesesindeki glikoprotein sekresyonunu stimule edebilmektedir. Glikoprotein pronükleasyon için önemlidir ve böylece nükleasyon gelişimi ilerleyebilir (25,31).

Bizim çalışmamızda sağlıklı bireylere göre serum SOD aktiviteleri safra taşı bulunan kişilerde anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bu hastalara uygulanan cerrahi tedaviden 1 gün sonra ise SOD aktivitesi sağlıklı kişilerle benzerlik göstermektedir. Safra taşı oluşumunda serbest radikallerin rolünün bulunması ve bu kişilerde oksidatif stresin artışı, antioksidan sistemi de etkileyecektir. Serbest radikallerin enzim inhibisyonu yaptığı bilinmektedir (32). Çoğu hastalıklarda artmış oksidatif stres, azalmış antioksidan aktivite ile birlikte seyretmektedir (33). Kolelityazisli vakalarda azalmış serum SOD aktiviteleri bu görüşlere uygunluk göstermektedir. Postoperatif 1. günde serum SOD aktivitesinin sağlıklı kişilerle benzer düzeylere yükselmesi ise oksidatif stres kaynağı olan safra kesesinin çıkarılmasını takiben antioksidan kapasitenin çok kısa bir sürede regüle olabileceğini düşündürmektedir.

Eser elementler oksijen metabolizmasında ve bu sebeple de serbest radikal oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar (15).

Redoks aktif metallerin bakır ve demir gibi, oksijen derivativesi reaktif türlerin oluşumunu arttırdığı bilinmektedir. Bunların serbest radikal bağımlı hastalıklarda major rol oynadığına inanılmaktadır (34,35). Bununla beraber çinko ve selenyum gibi eser elementlerin her ikisi de ya enzimlerin kofaktörleri olarak ya da tek başlarına serbest radikallere karşı organizmayı korumakta önemli rol oynamaktadırlar (36,37).

Kronik hastalık etiyojisi, temel eser elementlerinden olan bakır ve çinko ile ilişkilidir (38,39). Bakır ve çinko antioksidan enzimlerinden Cu-Zn süperoksit dismutazın regülasyonunda çok önemlidir (18). Bu enzim reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumunun inhibisyonunda önemli rol oynamaktadır (40). Çinkonun antioksidan rolü iki spesifik mekanizma ile açıklanmaktadır. Biri; sülfidril gruplarını oksidasyona karşı korumak diğeri ise geçiş metalleri varlığında hidroksil ve süperoksit iyon radikallerinin oluşumunu önlemektir (41,42).

Mezzeti ve arkadaşlarının (43) yaptıkları çalışmaya göre aşırı bakır serbest radikal oluşumunu katalizlerken, çinko serbest radikal hasarına karşı koruyucudur.

Çalışmamıza göre serum Zn değerleri kolelityazisli olgularda sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Yine operasyon sonrası Zn değerlerinde de anlamlı bir değişiklik olmamıştır ( $p>0,05$ ). Ancak sayısal ortalamalara bakıldığında postoperatif 1. gün Zn düzeyleri, preoperatif değerlerine göre bir azalma göstermektedir. Bu durum doku hasarı olan bölgeye yara iyileşmesindeki etkisinden dolayı Zn göçüne bağlanabilir. Bir çalışmada radyoaktif işaretli Zn'nin yara oluşumundan 24-48 saat sonrasında yara bölgesinde lokalize olduğu ve serum Zn düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (44). Eğer çalışmamızda postoperatif 36. ve 48. saatlerde de Zn düzeylerine bakılırsa benzer sonuçlar bulunabilirdi (45-47).

Halböök ve Hedelin, yaptıkları (48) bir çalışmada cerrahi travma geçiren hastalarda serum bakır ve seruloplazmin düzeylerindeki değişiklikleri araştırmışlar ve çalışmada cerrahi travma sonrası başlangıç olarak serum bakır ve seruloplazmin düzeylerinin azaldığını fakat her iki serum komponentinin de postoperatif 3. günden itibaren hızla arttığını gözlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda kolelityazisli grupta kontrol grubuna göre Cu düzeyleri yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Enfeksiyonlar ve inflamatuvar stres akut faz reaktanı interlökin-1'in etkisiyle serum bakır düzeylerinin artmasına neden olur (6). İnflamasyon ve çeşitli malign hastalıklarda artan serum Cu değerleri öncelikle prooksidan etkisiyle de bu hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır (49). Çalışmamızdaki postoperatif 1. günde ise Cu düzeyleri sağlıklı bireylerle benzerlik göstermektedir. Bu bulgular Greoriadis ve arkadaşlarının çalışması ile uyumlu bulunmuştur. Greoriadis ve arkadaşları çalışmasında kolelityazisli, rektum ve kolon kanserli hastaların preoperatif ve postoperatif Cu düzeylerini araştırmışlardır (49). Sağlıklı kişilere göre kolelityazisli grupta postoperatif 2. güne kadar Cu düzeylerinin azaldığını, postoperatif 2. günden sonra Cu düzeylerinin arttığını saptamışlardır.

Cu ve Zn, SOD enziminin kofaktörleri olarak çoğu çalışmada SOD aktivitesi ile birlikte değerlendirilmektedir (43). Ancak bizim çalışmamızda Cu ve Zn düzeyleri SOD aktivitesi ile karşılaştırıldığında bir paralellik izlenmemektedir. Nitekim plazma veya serum Cu değerlerinin SOD aktivitesi ile korele gitmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (50). Ancak serum Cu ve Zn düzeyleri, bu metallerin gastrointestinal kanaldan emilimi, dokulara alınımı ve vücuttan atılımı ile düzenlenmektedir (51). Bu yüzden serum değerlerindeki değişiklikler SOD aktivitesi değişikliklerini yansıtmayabilir. Ancak hücre içi çalışmalarda, özellikle eritrosit SOD aktivitesi ile eritrosit Cu ve Zn düzeylerinin uyumlu bulunduğu gösterilmiştir (51).

Sonuç olarak, sağlıklı bireylere göre kolelityazisli kişilerde serum antioksidan sistemin bir üyesi olan SOD aktivitesinin düşük olduğunu ve cerrahi tedavi sonrasında

normal değerlere ulaşabileceğini söyleyebiliriz. Yine bu enzimin kofaktörleri olan Cu ve Zn düzeyleri ise serumda bu enzim aktivitesinden farklı değişimler göstermektedir. Kolelityazis serum Zn düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmazken bakır konsantrasyonları özellikle sağlıklı bireylere göre bu hastalarda yüksek izlenmektedir. Bu bulgular ışığında safra taşı oluşumunda rol oynayan oksidatif stresin, bu hastaların serum SOD ve Cu düzeylerini de etkileyebileceğini söyleyebiliriz.

#### KAYNAKLAR

- Carey MC. Pathogenesis of gallstones. *Am J Surg* 1993;165 (4): 410-9.
- Bateson MC. Fortnightly review. Gallbladder disease. *BMJ* 1999; 26: 318 (7200): 1745-8.
- Rimm AA, Werner LH, Yserloo BV, Bernstein RA. Relationship of obesity and disease in 73,532 weight-conscious women. *Public Health Rep* 1975; 90 (1): 44-54.
- Maclure KM, Hayes KC, Colditz GA, Stampfer MJ, Speizer FE, Willett WC. Weight, diet and the risk of symptomatic gallstones in middle-aged women. *N Engl J Med* 1989; 312 (9): 563-9.
- Oral contraceptives and gallbladder disease. Royal College of General Practitioners' oral contraception study. *Lancet* 1982; 2 (8305): 957-9.
- Heaton KW, Braddon FE, Mountford RA, Hughes AO, Emmett PM. Symptomatic and silent gall stones in the community. *Gut* 1991; 32 (3): 316-20.
- Attili AF, Carulli N, Roda E, Barbara B, Capocaccia L, Menotti A, et al. Epidemiology of gallstone disease in Italy: prevalence data of the Multicentre Italian Study on Cholelithiasis. *Am J Epidemiol* 1995; 141 (2): 158-65.
- Ahmed A, Cheung RC, Keffe EB. Management of gallstones and their complications. *Am Fam Phys* 2000; 61: 1673.
- Sipos P, Gamal EM, Blazovics A, Metzger P, Miko I, Furka I. Free radical reactions in the gallbladder. *Acta Chir Hung* 1997; 36 (1-4): 329-30.
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90 (17): 7915-22.
- Schoenfield LJ, Lachin JM. Chenodiol (chenodeoxycholic acid) for dissolution of gallstones: the National Cooperative Gallstone Study. A controlled trial of efficacy and safety. *Ann Intern Med* 1981; 95 (3): 257-82.
- Broughton G 2d, Tseng A, Fitzgibbons R Jr, Tyndall S, Stanislav G, Rongone EL. The prevention of cholelithiasis with infused sodium chenodeoxycholate in the prairie dog (*Cynomys ludovicianus*). *Comp Biochem Physiol A* 1991; 99 (4): 609-13.
- Lam CM, Murray FE, Cuschieri A. Increased cholecystectomy rate after the introduction of laparoscopic cholecystectomy in Scotland. *Gut* 1996; 38 (2): 282-4.
- Olakowski M, Lampe P, Mekle H, Stefanski L. Changes in activity of antioxidant enzymes in the early period after classical and laparoscopic cholecystectomy. *Wiad Lek* 1997; 50 Su 1 Pt 1: 213-7.
- Coudray C, Rachidi S, Favier A. Effect of zinc on superoxide-dependent hydroxyl radical production in vitro. *Biol Trace Elem Res* 1993; 38 (3): 273-87.
- Milne DB. Trace Elements. In: Burtis CA, Ashwood ER, ed. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Company 1999: 1029-55.
- Alcock NW. Trace Elements. In: Kaplan LA, Pesce AJ, ed. *Clinical Chemistry*. St Louis, Missouri: A Times Company. 1996: 745-58.

18. Cousins RJ. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc : special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev* 1985; 65 (2): 238-309.
19. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34 (3): 497-500.
20. Cetinkaya N, Cetinkaya D, Yuce M. Serum copper, zinc levels and copper. Zinc ratio in healthy women and women with gynecological tumors. *Biol Trace Elem Res* 1988; 18 : 29-38.
21. Unicam Atomic Absorption Spectrometry Methods Manual; Unicam Limited, United Kingdom, 1994.
22. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320 (6): 365-76.
23. Lee SP, Scott AJ. The evolution of morphologic changes in the gallbladder before stone formation in mice fed a cholesterol-cholic acid diet. *Am J Pathol* 1982; 108 (1): 1-8.
24. Nash S, Stafford J, Madara JL. Effects of polymorphonuclear leukocyte transmigration on the barrier function of cultured intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest* 1987; 80 (4): 1104-13.
25. Hale WB, Turner B, LaMont JT. Oxygen radicals stimulate guinea pig gallbladder glycoprotein secretion in vitro. *Am J Physiol* 1987; 253: G627-630.
26. Eder MI, Miquel JF, Jongst D, Paumgartner G, von Ritter C. Reactive oxygen metabolites promote cholesterol crystal formation in model bile: role of lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1996; 20 (5):743-9.
27. Tang WH. Serum and bile lipid levels in patients with and without gallstones. *J Gastroenterol* 1996, 31 (6): 823-7.
28. Choe M, Jackson C, Yu BP. Lipid peroxidation contributes to age-related membrane rigidity. *Free Radic Biol Med* 1995; 18 (6): 977-84.
29. Ernster L, Dallner G. Biochemical physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271 (1):195-204.
30. Zhang JR, Andrus PK, Hall ED. Age-related phospholipid hydroperoxide levels in gerbil brain measured by HPLC-chemiluminescence and their relation to hydroxyl radical stress. *Brain Res* 1994; 639 (2): 275-82.
31. Lichtenberg D, Ragimova S, Peled Y, Halpern Z. Phospholipid peroxidation as a factor in gallstone pathogenesis. *FEBS Lett* 1988; 228 (1): 179-81.
32. Yavuzer S. Serbest Oksijen Radikallerinde Karşı Savunma Sistemleri, Hücre İİ Oksidan Stres ve Hücre Hasarı, Tıpta Temel Bilimler Kolu, Sonbahar Okulu 93, Kızılcahamam 1993: 69.
33. Taylor CG, Bettger WJ, Bray TM. Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. *J Nutr* 1988; 118 (5): 613-21.
34. Boucher F, Pucheu S, Coudray C, Favier A, de Leiris J. Evidence of cytosolic iron release during post-ischaemic reperfusion of isolated rat hearts. Influence on spin-trapping experiments with DMPO. *FEBS Lett* 1992; 302 (3): 261-4.
35. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984; 219 (1): 1-14.
36. Coudray C, Faure P, Rachidi S, Jeunet A, Richard MJ, Roussel AM, Favier A, et al. Hydroxyl radical formation and lipid peroxidation enhancement by chromium. In vitro study. *Biol Trace Elem Res* 1992; 32: 161-70.
37. Takahash K, Newleuger PE, Cohen HJ. Glutathione peroxidase protein. Absence in selenium deficient states and correlation with enzymatic activity. *J Clin Invest* 1986; 77:1402-4.
38. Kok FJ, Van Duijn CM, Hofman A, Van der Voet GB, De Wolff FA, Paays CH, Valkenburg HA. Serum copper and zinc and the risk of death from cancer and cardiovascular disease. *Am J Epidemiol* 1988; 128 (2):352-9.
39. Massie H, Colacico J, Aello V. Changes with age in copper and ceruloplasmin in serum from humans and C57BL/6J mice. *Age Aging* 1979; 2 : 97-101.
40. Bankson DD, Kestin M, Rifai N. Role of free radicals in cancer and atherosclerosis. *Clin Lab Med* 1993; 13 (2): 463-80.
41. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244 (22):6049-55.
42. Bray TM, Bettger WJ. The physiological role of zinc as an antioxidant. *Free Radic Biol Med* 1990, 8 (3):281-91.
43. Mezzetti A, Pierdomenico SD, Constantini F, Romano F, De Ceresa D, Cuccurullo F, Imbataro T, Riario-Sforza G, et al. Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative disease. *Free Radic Biol Med* 1998; 25 (6), 676-81.
44. Savlov Ed, Strain Wh, Heugin F. Radio zinc studies in experimental wound healing. *J Surg Res* 1962; 2:209-12.
45. Henkin R, Meret S, Jacobs J. Steroid dependent changes in copper and zinc metabolism. *J Clin Invest* 1969; 48:43-7.
46. Flynn A, Pories WJ, Strain WH, et al. Rapid serum-zinc depletion associated with corticosteroid therapy. *Lancet* 1971; 2 (7735):1169-72.
47. Yunice AA, Czerwinski AW, Lindemann RD. Influence of synthetic corticosteroids on plasma zinc and copper levels in humans. *Am J Med Sci* 1981; 282 (2): 68-74.
48. Hallbook T, Hedelin H. Changes in serum copper and ceruloplasmin concentration induced by surgical trauma. *Acta Chir Scand* 1980; 146 (6): 371-3.
49. Greoriadis G, Apostolidis NS, Romanos AN, Paradellis TP. Postoperative changes in serum copper value. *Surger, Gynecology & Obstetrics* 1982; 154: 217-21.
50. Schmuck A, Roussel AM, Arnaud J, Ducros V, Favier A, Franco A. Analyzed dietary intakes, plasma concentrations of zinc, copper, selenium and related antioxidant enzyme activities in hospitalized elderly women. *J Am Coll Nutr* 1996; 15 (5) : 462-8.
51. Milne DB, Johnson PE, Klevay LM, Sandstead HH. Effect of copper intake on balance absorption and status indices of copper in men. *Nut Res* 1990; 10 : 975.