

Askorbik Asit'in Serbest Oksijen Radikal Temizleyici Olarak Açık Kalp Cerrahisinde Kullanımı

*Op. Dr. Ergun Salman**, *Dr. Mehmet Bayraktaroğlu**, *Dr. Orhan Veli Doğan**, *Op. Dr. Yavuz Yörükoğlu**, *Doç. Dr. Ertan Yücel**, *Uzm. Dr. Şebnem Kösebalaban***, *Prof. Dr. Nazmi Özer****

* SSK Ankara Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi Kliniği, Ankara

** SSK Ankara Hastanesi Biyokimya Bölümü Ankara

*** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD Başkanı

Bir antioksidan olan askorbik asit (C vitamini) serbest oksijen radikal temizleyici etkisini araştırmak için, kapak cerrahisi planlanan erişkin hastalardan 2 hasta grubu teşkil edildi. Çalışma grubundaki hastalara (Grup I) anestezi indüksiyonu sırasında yüksek doz (15 gr) askorbik asit intravenöz infüzyon şeklinde verildi. Kontrol grubuna (Grup II) askorbik asit verilmedi. Kardiyopulmoner bypass sırasında 28°C sistemik hipotermi, topikal hipotermi, ilk olarak kg'a 10 mg'den daha sonra her 30 dakikada bir kg'a 5 ml'den kristalloid kardiopleji uygulandı. Her iki grubun ortalama aort kros klemp zamanları benzerdi (Grup I:71.8±3.7 dk, Grup II: 73.5±5.2 dk, p<0.05). Aort kros klemp zamanı hiçbir zaman hiçbir hastada 30 dakikanın altında değildi. Biyokimyasal çalışma (laktat, CPK-MB, ürik asit, glutatyon, E vitamini, malondialdehit tayinleri) için kan numuneleri aort kros klemp kaldırıldıktan 1 dk, 5 dk, 15 dk (kalp hızı, kardiyak indeks, sistemik vasküler rezistans, sol entrikül stroke work indeksi) kardiyopulmoner bypassa geçmeden önce ve kardiyopulmoner bypassdan çıktıktan 15 dk, 2 st, 4 st, 6 st, 9 st, 12 st, 24 st sonra yapıldı. Biyokimyasal çalışma sonuçları askorbik asidin serbest oksijen radikal temizleyicisi olarak etkili olduğunu gösterdi. Ancak hemodinamik ölçümler iki grup arasında farklılık göstermedi. Bu durum hemodinamiyi direkt olarak etkileyen dağılımı her 2 grupta uniform olmayan faktörlerin (pulmoner hipertansiyon, pozitif inotropik, preload, afterload düşürücü ilaç kullanımı) varlığına bağlandı.

GKD Cer. Derg. 1994;2:216-220

Use of Ascorbic Acid in Open Heart Surgery as an Oxygen Free Radical Scavenger

In order to investigate oxygen free radical scavenging effect of the ascorbic acid (vitamin C), two groups of patients were formed in whom valve surgery planned. In the study group (Group I) high doses of ascorbic acid (15 gr) were administered via IV route during induction of anesthesia. Control group (Group II) did not receive ascorbic acid. During cardiopulmonary bypass systemic hypothermia (28°C), topical hypothermia, and cold intermittent crystalloid cardioplegia (10 ml/kg initially, then 5 ml/kg repeated every 30 minutes) was applied. Mean aortic cross clamp times were similar (Group I:71.8±3.7 min, Group II:73.5±5.2 min, p<0.05) and never less than 30 minutes. Blood samples for biochemical study (lactate, CPK-MB, uric acid, glutathion, vitamin E, malondialdehyde measurements) were taken 1 min, 5 min, 15 min after declamping of the aorta and 15 min after the termination of cardiopulmonary bypass. Hemodynamic measurements of patients (heart rate, cardiac index, systemic vascular resistance, left ventricular stroke work index) were recorded before cardiopulmonary bypass, 15 min, 2 hr, 4 hr, 6 hr, 9 hr, 12 hr, 24 hr after termination of cardiopulmonary bypass. Results of biochemical analysis supported the effect of ascorbic acid as an oxygen difference between two groups. This is thought to be related to the factors which were non uniformly distributed in both groups (pulmonary hypertension, positive inotropic, preload, afterload reducing medications) directly effecting the hemodynamic condition.

Deneysel çalışmalar serbest oksijen radikallerinin myokarda iskemik reperfüzyon hasarına neden olduğunu göstermektedir (1,2,3). Zweier ve arkadaşları iskemik myokardın reperfüzyonu ile serbest radikallerin patlama derecesindeki aşırı artışını direkt olarak ölçmüşlerdir (3).

Serbest oksijen radikallerinin sebep olduğu hasarı önlemek için eksojen radikal temizleyicisi üzerinde çalışılmıştır. Bunlardan biri de endojen bir antioksidan olan askorbik asittir. Askorbik asit (Vitamin C) membran içindeki ve ekstrasellüler sıvılardaki lipid peroksidasyonunu önler, geniş dozaj limiti içerisinde toksik etkiye sahip değildir. Operasyon gibi fiziksel stresler plasma askorbik asit seviyesinde düşüşe neden olur. Oral veya parenteral verilen yüksek doz askorbik asit plasma seviyesini geçici olarak normale döndürebilir. Normal seviye stres sona erinceye kadar yüksek dozda askorbik asit verilmesi ile devam ettirilebilir.

Literatürde E vitamini ile birlikte verilen askorbik asidin serbest oksijen radikallerini temizleyici etki gösterdiğini bildiren yayınlar vardır(4,5). Askorbik asidin tek başına nasıl bir etki gösterdiğini saptamak için hem biyokimyasal hem de hemodinamik komponenti olan bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metod

Kapak cerrahisi planlanan (mitral valv replasmanı, aort valv replasmanı, aort ve mitral valv replasmanı, açık mitral komissürotomi, mitral valv replasmanı + triküspit plasti) Class II-III hastaların teşkil ettiği iki hasta grubu oluşturuldu (Tablo I). Aort kros klemp zamanı 30 dakikanın altında olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Tüm hastalara kardiyopulmoner bypas sırasında 28C sistemik hipotermi, topikal hipotermi, ilk önce kilograma 10 mililitreden, daha sonra her 30 dakikada bir kilograma 5 mililitreden kristalloid kardiyopleji uygulandı. Her iki grubun ortalama aort kros klemp zamanları benzerdi (Grup I: 71.8 3.7 dk, Grup II:73.5 5.2 dk, $p<0.05$). Çalışma grubuna anestezi induksiyonu sırasında yüksek doz (15 gr) askorbik asit intravenöz infüzyon şeklinde verildi. Kontrol grubuna askorbik asit verilmedi. Her hastaya radial arter kateteri, termodilüsyon kateteri, sağ atriotomi ile koroner sinüs kateteri konuldu. Biyokimyasal analiz için kan numuneleri aort kros klemp kaldırıldıktan sonra 1., 5. ve 15. dakikalarda eş zamanlı olarak radial arter ve koroner sinüs kateterinden, kardi-

yopulmoner bypasdan çıktından 15 dakika sonra ise sadece radial arter kateterinden alındı. Bu kanların laktat, CPK-MB, ürik asit, glutatyon, E vitamini, malondialdehit seviyelerine bakıldı. Hemodinamik ölçümler – kalp hızı, kardiyak indeks (CI), sistemik vasküler rezistans (SVR), sol ventrikül stroke work indeksi (LVSWI)-kardiyopulmoner bypasa geçmeden önce, kardiyopulmoner bypastan çıktından 15 dk, 2 st, 4 st, 9 st, 12 st, 24 st sonra yapıldı. Sonuçlar ortalama değer \pm SD olarak verildi. İstatistik analizler Student-t testi ile yapıldı.

Bulgular

Çalışma grubundaki 11 hastanın 4'ü, kontrol grubundaki 6 hastanın 3'ü erken postoperatif dönemde pozitif inotropik ihtiyacı gösterdi.

Biyokimyasal analiz sonuçları Tablo II'de toplu olarak gösterildi. Her bir zaman grubunda her bir lokalizasyondan (arter, koroner sinüs) alınan kanlardaki laktat, CPK-MB, ürik asit, malondialdehit seviyeleri çalışma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü, reduced glutatyon ve E vitamini seviyeleri ise anlamlı olarak yüksekti.

Hemodinamik ölçüm sonuçları Tablo III'de toplu olarak gösterildi. Burada kardiyopulmoner bypastan çıktından 15 dk, 2 st, 4 st, 6 st, 9 st, 12 st ve 24 st sonra yapılan ölçümlerde kalp hızı, CI, SVR, LVSWI açısından her iki grup arasında istatistik olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

Tartışma

İskemi ve reperfüzyon ortamında etkili olan serbest oksijen radikal injürisine karşı myokardı koruyan 2 tip antioksidan vardır.

- 1) *Preventif Antioksidanlar:* Bunlar serbest radikallerin potansiyel kaynaklarını H_2O_2 gibi enert ürünlere çevirirler.
- 2) *Zincir-kıran Antioksidanlar:* Bunlar da serbest radikalleri tutar, peroksidatif hasarı önlerler. Biyolojik sistemlerdeki glutatyon peroksidaz, katalaz, katalaz preventif antioksidanlardır. Süperoksit dismutaz (SOD), askorbik asit, ürik asit, bilirubin, reduced glutatyon ve protein sülfidril grupları ise suda eriyen

Tablo I.

	Hasta Sayısı	Erkek/Kadın	Ortalama Yaş	Ortalama AKZ*
Çalışma Grubu	11	6/5	33 \pm 4.4	71.8 \pm 3.7
Kontrol Grubu	6	2/4	32 \pm 6.8	73.5 \pm 5.2
				$p<0.05$

TABLO II: Biyokimyasal Analiz Sonuçları

PARAMETRELER		Arter-1	Arter-5	Arter-15	CPB	Kor.S.-1	Kor.S.-5	Kor.S.-15
Laktat (mg/dl)	Çalışma Grubu	37.5±2.1	34.9±2.0	42.8±2.8	38.8±2.7	45.0±3.0	40.1±2.5	43.8±3.6
	Kontrol Grubu	53.6±2.9	66.2±2.2	69.1±2.6	73.5±3.0	78.4±2.1	79.3±2.6	80.6±2.4
		p<0.0005	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001
CPK-MB (uL)	Çalışma Grubu	35.6±3.7	36.3±3.6	37.2±3.2	37.2±4.4	33.2±3.5	34.3±4.2	33.8±3.8
	Kontrol Grubu	55.6±2.7	64.5±2.3	75.5±2.2	83.6±2.8	89.3±3.6	90.7±3.2	92.6±4.2
		p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001
Ürik Asit (mg/dl)	Çalışma Grubu	6.2±0.2	6.3±0.2	6.4±0.2	6.2±0.2	6.3±0.2	6.2±0.2	6.2±0.1
	Kontrol Grubu	9.7±0.5	8.9±1.0	9.1±1.0	9.2±1.0	10.2±0.4	8.9±1.0	9.9±0.6
		p<0.0001	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.0001	p<0.05	p<0.0001
Reduced Glutasyon (mg/dl)	Çalışma Grubu	48.5±2.4	48.0±1.9	49.0±2.6	48.8±2.5	49.1±2.3	50.8±2.5	50.2±2.4
	Kontrol Grubu	30.1±2.1	31.4±3.0	28.1±2.3	28.6±2.2	27.0±1.7	28.1±2.5	27.4±1.7
		p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001
E- Vitamini (mg/dl)	Çalışma Grubu	0.76±0.04	0.74±0.04	0.88±0.03	0.70±0.03	0.73±0.03	0.71±0.03	0.65±0.03
	Kontrol Grubu	0.36±0.03	0.37±0.03	0.36±0.03	0.39±0.03	0.40±0.04	0.39±0.04	0.33±0.03
		p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001	p<0.00001
Malondialdehit (mikromol/L)	Çalışma Grubu	3.5±0.3	3.0±0.3	3.2±0.2	3.3±0.2	2.9±0.3	2.9±0.2	2.6±0.2
	Kontrol Grubu	6.0±0.5	7.4±0.6	8.1±0.4	8.3±0.5	8.5±0.5	8.3±0.6	8.7±0.5
		p<0.001	p<0.0001	p<0.0001	p<0.0001	p<0.0001	p<0.0001	p<0.0001

Arter-1; Aort kros klemp kaldırıldıktan 1 dakika sonra alınan arter kanı

Arter-5; Aort kros klemp kaldırıldıktan 5 dakika sonra alınan arter kanı

Arter-15; Aort kros klemp kaldırıldıktan 15 dakika sonra alınan arter kanı

CPB; Kardiyopulmoner bypasta çıktıktan 15 dakika sonra alınan arter kanı

Kor.S.-1; Aort kros klemp kaldırıldıktan 1 dakika sonra alınan koroner sinüs kanı

Kor.S.-5; Aort kros klemp kaldırıldıktan 5 dakika sonra alınan koroner sinüs kanı

Kor.S.-15; Aort kros klemp kaldırıldıktan 1 dakika sonra alınan koroner sinüs kanı

eriyen zincir-kıran antioksidandır(8,9).

Kalp ve karaciğerin selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz aktiviteleri birbirine benzerdir. SOD vücutta ağırlıklı olarak karaciğerde bulunmaktadır. Vücut SOD aktivitesinin %27'si kalp kasındadır. Vücut katalaz aktivitesinin kalp kasına serbest radikalleri detoksifiye etmede karaciğer kadar tehiz değildir; reperfüzyon injürisine daha hassastır(10).

Guarnieri ve arkadaşları hipoksinin myokardial glutatyon peroksidaz ve SOD aktivitelerini azalttığını, bunun reoksijenasyon sonrası en az 60 dk devam ettiğini tespit etmişlerdir(11). Das ve arkadaşları da SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin iskemi sonrası azaldığını saptamışlardır(12). Reperfüzyon sırasında hücrel savunma mekanizmaları iskemi ve hipoksi tarafından sınırlandırıldığı için myokardial serbest radikal injürisi agra ve olabilmektedir.

Myokardial serbest radikal injürisini önlemek için ideal antioksidan hem suda hem de yağda erir olmalıdır. Böyle bir antioksidan hem yağlı hem de sulu kompartmanlara kolayca diffüze olur, lipid peroksidasyonunu önler.

Askorbik asitin (C vitamini) efektif bir suda erir antioksidan olduğu öne sürülmektedir(6,13). Askorbik asit, alfa-tocopherol (E vitamini) ve Troloxun (E vitamininin suda eriyen analogu) serbest radikallerle parsiyel oksidasyonu sonucu oluşan tocopheroxyl ve Trolox radikalleri tekrar alfa-tocopherol ve Trolox radikalleri tekrar alfa-tocopherol ve Trolox çevirebilir. Böylece membran serbest radikaller hasara yol açabildikleri lipid fazdan nisbetinert olan sulu fazla taşınmış olurlar(5,13).

Vücutta serbest oksijen radikal injürisi şu şekilde gelişmektedir: oksijene bir elektorn eklenmesiyle oluşan süperoksit anyonu ile oksijene üç elektron eklenmesi ile oluşan hidroksil radikalın

TABLOIII; Hemodinamik ölçüm sonuçları

		CPB							
		Öncesi	Kardiyopulmoner Bypass Sonrası						
			15 dk	2 st	4 st	6 st	9 st	12 st	24 st
HR	Çalışma Grubu	93 ± 4	102±5	108±6	92 ± 4	86 ±5	85 ± 7	84 ±6	90±8
	Kontrol Grubu	85± 5	100 ± 8	99±5	100± 8	106±4	93± 5	92 ± 6	85±5
		p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05
CI	Çalışma Grubu	1.82±0.15	3.30±0.16	3.05±0.44	3.38±0.31	3.10±0.12	3.12±0.32	3.32±0.29	2.44±0.11
	Kontrol Grubu	1.85±0.16	3.52±0.32	3.17±0.24	2.88±0.09	2.94±0.15	2.42±0.26	2.46±0.16	2.42±0.19
		p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05
SVR	Çalışma Grubu	2710±42	847 ± 88	1497±269	1396±303	1293±198	1248±189	1213±148	1354±171
	Kontrol Grubu	2229±329	796±146	1223±69	1213±151	1116±89	1299±121	1328±112	1335±104
		p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05
LVSWI	Çalışma Grubu	12.2±3.2	25.2±7.0	28.5±2.5	37.2 ± 2.6	35.5 ± 3.5	34.2 ± 3.3	36.5±2.7	31.7± 3.5
	Kontrol Grubu	16.7±2.8	24.2±5.1	29.2±8.3	26.4±4.7	25.5±4.2	24.8±5.1	29.4±6.5	27.2±5.8
		p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05	p>0.05

CPB; Kardiyopulmoner bypas**HR; Kalp hızı (atım sayısı/dk)****CI; Kardiyak indeks (lt/dk/m²)****SVR; Sistemik vasküler rezistans (dyne. sn. cm⁻⁵)****LVSWI; Sol ventrikül stroke work indeks (g. m/m²)**

çevreden elektron çekebilme yani okside edebilme kapasiteleri vardır. Eğer bu maddeler hücre içinde bulunan antioksidan maddelerin detoksifiye etme kapasitelerini aşan miktarlarda olurlarsa oksidatif stres yaratırlar. Bu oksidatif stres tüm hücre elemanlarına özellikle lipidler, membran lipidleri, membran proteinleri, iyonik homeostazisi sağlayan proteinleri, iyonik homeostazisi sağlayan proteinlere zarar verir. Serbest radikallerin potansiyel kaynakları mitokondri, xanthine oksidaz, prostaglandin biyosentezi, fagositik hücre infiltrasyonudur.

Serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif stresin global sonucu irreversible hücre nekrozudur(14).

Süperoksit anyonunun univalent redüksiyonu ile oluşan hidrojen peroksidin metabolizmasında iki önemli enzim vardır. Biri myokarda çok az miktarda bulunan katalaz, diğeri miyokard cytosolüsde önemli miktarda bulunan glutatyon peroksidaz. Heksoz monofosfat şantı glukoz 6 fosfat oksidasyonu yolu ile NADPH oluşturur. NADPH glutatyon redüktazı aktive ederek reduced glutatyon (GSH) oluşumunu sağlar. Reduced glutatyon da glutatyon peroksidaz tarafından oxidized glutatyon (GSSH) çevrilir. Bu zincir ile oksidatif strese neden olan peroksitlerin miktarı azaltılmış olur. Burada ortaya çıkan glutatyon hücrel oksidatif olaylar hakkında bilgi veren önemli markerlardan biridir. Dokudaki ya da koroner dolaşımdaki

glutatyon miktarının artması hücrelerin oksidatif stresden korunduğunun bir göstergesidir(15).

Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden en çok etkilenen hücre elemanları membran lipidleridir. Oksidatif atak özellikle polyansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu ile kendisini gösterir. Lipid peroksidasyonu sonucu lipid radikalleri oluşur. Bu radikaller biraraya gelerek konjuge diene'leri yaparlar. Devam eden oksidasyonla bu diene'ler de parçalanır, malondialdehit bu zincir sırasında bir ara ürün olarak oluşur. Bu nedenle malondialdehit düzeyi oksidatif polyansatüre yağ asitleri (PUFA) hasarını bir göstergesi olarak kabul edilir. Malondialdehit miktarının artması hasarı gösterir(16).

Hücre zarında oluşan hasardan dolayı hücre zarında bazı moleküllerin geçişine karşı var olan bariyer ortadan kalkar. Bu durum CPK-MB gibi bazı enzimler hücre dışına çıkar. Kanda CPK-MB düzeyinin artması da hücre hasarını gösterir.

Bu bilgilerin ışığında sonuçlarımızı irdelersek çalışma grubunda ürik asidin düşük çıkması askorbik asidin adenin nükleotidlerin degradasyonunu azaltıcı etkisini göstermektedir(17). E vitamini düzeyinin artması C vitaminin E vitaminin parsiyel oksidasyonu sonucu oluşan tocopheroxyl radikalleri tekrar E vitaminine çevirici etkisindedir. Çalışma grubunda CPK-MB düzeyinin kontrol grubuna göre düşük olması bu grupta hücre hasarının kontrol grubuna göre az olduğunu ifade

etmektedir. Çalışma grubunda malondialdehitin azalması, İreduced glutatyonunu artması askorbik asidin serbest oksijen radikal temizleyici etkisinin bir sonucudur.

Askorbik asidin bir serbest oksijen radikal temizleyici olduğunu gösteren biyokimyasal çalışmayı hemodinamik çalışma desteklemedi. Biz bunu hemodinamiyi direkt olarak etkileyen, dağılımı her iki grupta uniform olmayan pulmoner hipertansiyon, pozitif inotropik, preload, afterload düşürücü ilaç kullanımına bağladık.

Kaynaklar

1. Jolly SR, Kane WJ, Baillie MB, et al: Canine myocardial reperfusion injury: its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res* 54:277-85, 1984.
2. Romaschin AD, Rebezykan I, Wilson CJ, Mickle DAG: Conjugated dienes in ischemic and reperfused myocardium; an in vivo chemical signature of oxygen free radical-mediated injury. *J Mol Cell Cardiol* 19:289-302, 1987.
3. Zweier JL, Flaherty JT, Weisfeldt ML: Direct measurement of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:1404-7, 1987.
4. Mickle DAG, Ren-Ke L, Weisel RD et al: Myocardial salvage with Trolox and Ascorbic acid for an acute evolving infarction. *Ann Thorac Surg* 47:553-7, 1989.
5. Barclay LRC, Locke SJ, MacNeil JM: Autoxidation in micelles. Synergism of vitamin C with lipid-soluble vitamin E and water-soluble Trolox. *Can J Chem* 63:366-74, 1985.
6. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KV, et al: The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total radical trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta*. 924:408-19, 1987.
7. Stocker R, Yamamoto Y, Mc Donagh AF, Glazer AN, Ames BN: Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 235:1043-6, 1987.
8. Burton CW, Joyce A, Ingold KV: Is vitamin E the only lipid soluble, chain breaking antioxidant in human blood plasma and erythrocyte membranes? *Arch Biochem Biophys* 221:285-90, 1983.
9. Choeseeman KH, Collings M, Proudfoot K, et al: Studies on lipid peroxidation in normal and tumour tissues. The Novikoff rat liver tumour. *Biochem J* 285:507-14, 1986.
10. Doroshow JH, Locker GY, Myers CE: Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive radicals. *J Clin Invest* 65:128-35, 1980.
11. Guarnieri C, Flamigni F, Caldarera CM: Role of oxygen in the cellular damage induced by reoxygenation of hypoxic heart. *J Mol Cell Cardiol* 12:797-808, 1980.
12. Das DK, Engelman RM, Rousou JA, et al: Pathophysiology of superoxide radical as a potential mediator of reperfusion injury in the pig heart. *Basic Res Cardiol* 81:155-66, 1986.
13. Doba T, Burton GW, Ingold KV: Antioxidant and co-oxidant activity of vitamin C or a water-soluble vitamin E analogue, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipid liposomes. *Biochim Biophys Acta* 835:298-303, 1985.
14. Simpson PJ, Lucchesi BR: Informative review. Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 110:13-30, 1987.
15. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, et al: Oxygen free radicals and myocardial damage; Protective role of Thiol-containing agents. *Am J Med* 91:95-105 (suppl 3C), 1991.
16. Janeiro DR, Burghardt B. Cardiac membrane Vitamin E and malondialdehyde levels in heart muscle of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Lipids*. 24:33-38, 1989.
17. Barta E, Pechan I, Cornak V, et al: Protective effective of alpha-tocopherol and L-ascorbic acid against the ischemic-reperfusion injury in patients during open-heart surgery. *Bratisl Lek Listy*. 92:174-83, 1991.