

Radicales de Oxígeno

Lilia Degollado Bardales*, Tomás Dector Jiménez[§], Raúl Gonzaga Juárez[‡]

RESUMEN

Durante su metabolismo el O₂ produce radicales que son moléculas sumamente reactivas que pueden actuar como mediadores en la fisiopatología de la muerte celular. Su principal mecanismo de citotoxicidad es la generación de las reacciones en cadena (peroxidación lipídica) en las cuales cualquier célula o estructura celular puede ser blanco (membranas celulares, ácidos nucleicos, proteínas estructurales, etc.). Ante una producción excesiva de radicales de O₂ el organismo cuenta con mecanismos de defensa (SOD, catalasa, peroxidasa, Vitamina C y E, etc.), para prevenir el daño celular. Durante los procesos isquémicos (principalmente en el SNC), se demuestra la asociación de los radicales de O₂ con los eventos fisiopatológicos secundarios que causan muerte celular, por lo que la manipulación adecuada del uso farmacológico de los barredores de radicales de O₂ en un proceso isquemia-anoxia-reperusión puede servir como un coadyuvante en la terapéutica que ayude a limitar la degeneración celular y a mejorar la recuperación funcional.

Palabras clave: Daño celular, Oxígeno, Peroxidación de lípidos, Proceso isquemia-anoxia-reperusión, Radicales libres.

Trabajo realizado en el Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D.F.

*Médico Adscrito al Servicio de Anestesiología. [§]Jefe del Servicio de Anestesiología. [‡]Médico Adscrito al Servicio de Neuroanestesiología. Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. Correspondencia: Raúl Gonzaga Juárez. Nicolás León 1-3-B. Unidad Kennedy, Col. Jardín Balbuena. Deleg. Venustiano Carranza, México, D. F. CP. 15900

SUMMARY OXYGEN RADICALS

During its metabolism, O₂ produces radicals that are highly reactive molecules, that can act as mediators of the pathophysiology of cellular death. Its main mechanism of cytotoxicity is the generation of chain reactions (lipid peroxidation) in which any cell or cellular structure can be the aim (cellular membranes, nucleic acids, structural proteins, etc.). Faced by an excessive production of O₂ radicals, the human body counts on defense mechanisms (SOD, catalase, peroxidase, Vitamin C and E, etc.), in order to prevent cellular damage. During ischemic processes (mainly in CNS), association of O₂ radicals with secondary pathophysiological events that cause cellular death is shown. So appropriate manipulation of the pharmacological usage of O₂ radicals scavengers in an ischemia-anoxia-reperfusion process can work as an adjunct in the therapy that helps to limit cellular degeneration and improve functional recovery.

Key words: cellular death, oxygen, lipid peroxidation, ischemia-anoxia-reperfusion process, free radicals.

A pesar de que el O₂ es indispensable para la vida aeróbica, tiene características tóxicas y su utilización en los procesos metabólicos solo es posible si los organismos cuentan con un sistema de defensa que los proteja de los derivados de O₂ llamados: radical superóxido, peróxido de hidrógeno, hidroxilo y singulete de O₂. Normalmente existe un equilibrio entre los sistemas productores de radicales y la capacidad neutralizante de los sistemas de defensa, pero cuando se rompe éste equilibrio sobreviene la enfermedad. Las defensas intracelulares están constituidas principalmente por las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa¹⁻⁴.

Los radicales de O_2 pueden destruir bacterias, lizar células, iniciar la peroxidación de los lípidos de las membranas, inactivar enzimas y atacar los ácidos nucleicos^{1,5}. Pueden ser mediadores importantes en el daño producido en tejidos y órganos en situaciones patológicas que involucran la inflamación y la isquemia. Paradójicamente, el retorno de O_2 en la reperusión después de la isquemia a un órgano incrementa el daño producido por la falta de O_2 debido a la producción masiva de radicales de éste mismo elemento^{1,3,5-7}. Algunas evidencias de la toxicidad serían las siguientes: a) respirar O_2 al 100% es letal para las ratas en menos de 72 hrs.; b) el Síndrome de isquemia-reperusión que ocurre en la reanimación cardiopulmonar y trasplante de órganos en donde el daño tisular se extiende y agrava precisamente durante la reperusión; etc.^{1,8}. Estos datos han llevado a la conclusión de que la toxicidad del O_2 y sus derivados juegan un papel primordial en las lesiones celulares producidas en una gran variedad de procesos fisiopatológicos^{6,7}.

DEFINICION Y NATURALEZA DE LOS RADICALES

Se llama radical a cualquier especie atómica o molecular que tenga un electrón o más no apareados en su órbita externa^{1,2,4,8-10}. Los pares de electrones de cada órbita tienen un giro o rotación sobre su eje opuesto entre sí (antiparalelo). El giro electrónico es un vector que representa el campo magnético inducido por la traslación, de tal manera que un par de electrones con giro opuesto anulan recíprocamente su campo magnético. Un aporte de energía química, luminosa o térmica puede recuperar éste acoplamiento electrónico, dando lugar a la formación de un radical que tendrá un momento magnético neto igual al del electrón no apareado (figura 1)^{1,2,8,9}.

Los radicales son por lo general muy reactivos y buscan con avidez completar su par electrónico. Esto puede lograrse mediante una reacción entre dos ra-

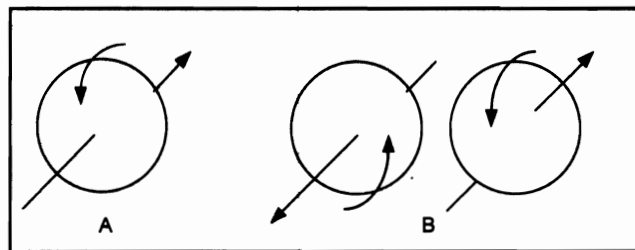


Figura 1. A. Un par de electrones de la misma órbita dan giro opuesto y vectores magnéticos antiparalelos. B. Un electrón no apareado

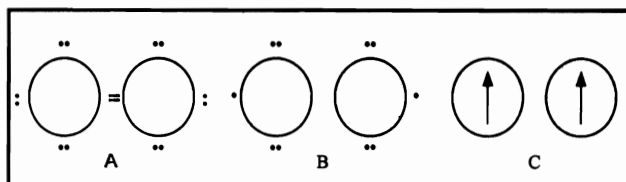
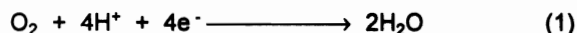


Figura 2. Estructura electrónica del O_2 molecular. A. Representación convencional. B. Representación real en la que aparece un electrón no apareado por cada átomo de O_2 (birradical). C. Representación de vectores magnéticos de los electrones no apareados del O_2 (nótese que son paralelos).

dicales, con lo cual ambos dejan de serlo, o bien, sustrayendo un electrón de otra molécula, la cual se convierte entonces en un radical. Este último mecanismo puede dar lugar a reacciones en cadena, o sea, la propagación del fenómeno inicial^{1,2,8,9,11}.

El O_2 molecular es fundamentalmente un birradical, ya que tiene dos electrones no apareados en su última órbita, ambos con el mismo giro (paralelo). Esto impide que capte dos electrones simultáneamente en las reacciones en las que interviene puesto que un donador de un par de electrones cede necesariamente un par antiparalelo. Por ésta razón, el O_2 sólo puede intervenir en reacciones univalentes y aceptar los electrones de uno en uno. Por la misma razón, muchas enzimas del tipo de las oxidasas y de las oxigenasas contienen metales de transición, en el sitio activo ya que pueden aceptar y donar electrones únicos (figura 2)^{1,2,11}.

La mayor parte del O_2 utilizado por el organismo humano es reducido a agua por la acción del complejo citocromo oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial, según la siguiente reacción global^{1,2,4,5,8,10,11}:



En realidad esta reacción se lleva a cabo en cuatro pasos univalentes como se muestra en la figura 3,^{1,2,5,10-12}.

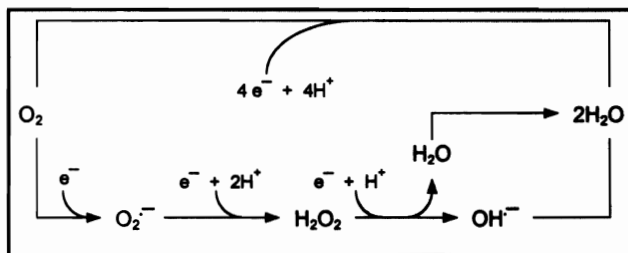


Figura 3. Sistema Citocromo oxidasa mitocondrial

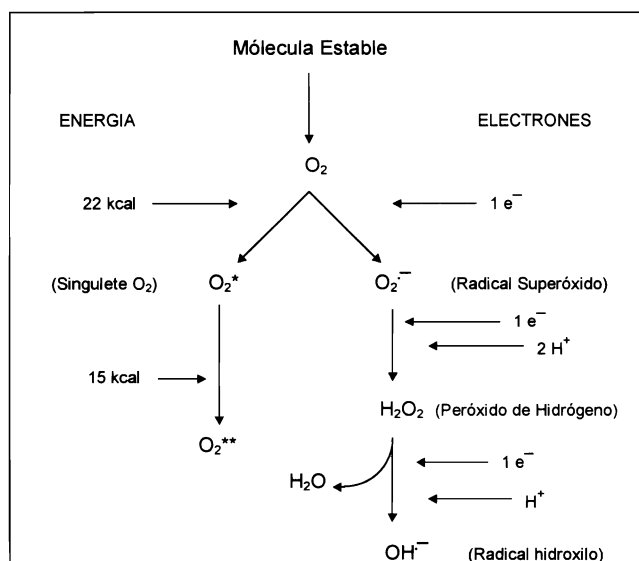


Figura 4. Cambios que puede sufrir el O_2 molecular estable por reducciones univalentes sucesivas o por captación de energía

Cuando una molécula de O_2 acepta un electrón, se convierte en un radical con carga negativa, el anión superóxido. Este se representa con el signo de la carga aniónica y un punto que indica que se trata de un radical ($O_2^{\bullet-}$)^{1,2,10,11}. El segundo producto, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) de la reacción 2, no es realmente un radical, pero su importancia radica en que por captación de un electrón y de un protón puede dar lugar a la formación de una molécula de agua y un radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$)^{1,2,4,10,11,13}.

El O_2 molecular puede absorber energía (22 Kcal/mol) y convertirse en una molécula sumamente reactiva, el singlete de O_2 , representado gráficamente como O_2^* . Por la absorción de otras 15 kcal/mol, éste singlete puede convertirse en otro representado gráficamente como O_2^{**} , cuya vida es efímera y se convierte rápidamente en singlete O_2^* ^{1,2,8,10}.

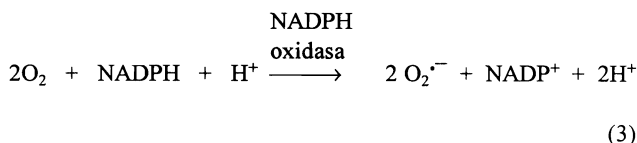
Como se puede notar en la formación de los singletes no hay adición de electrones, sino que se trata realmente de redistribución de los mismos en la última órbita⁴.

En la figura 4 se resumen las diferentes modificaciones que puede sufrir el O_2 para dar especies moleculares que son verdaderos radicales o que, en el curso de su metabolismo dan origen a radicales.

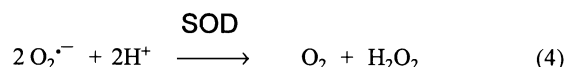
ANION SUPEROXIDO

Una pequeña proporción del O_2 utilizado en la respiración escapa como superóxido (1-2%)^{5,10}. Quizá la fuente más importante en la producción de radi-

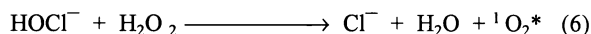
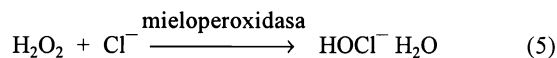
cales superóxido *in vivo* sea el aumento súbito del consumo de O_2 de las células fagocitarias activadas por contacto con partículas extrañas^{1,2,8}. En la membrana citoplásmica de éstas células se encuentra un complejo enzimático denominado NADPH oxidasa que cataliza la reacción 1 de la figura 4^{1,2,8,10,11-12}.



La presencia de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en el citoplasma del fagocito produce la siguiente reacción^{1,2,4,5,10-12}:



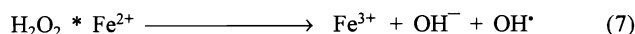
Los fagocitos contienen también una mieloperoxidasa, que utiliza el poder oxidativo del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que al ponerse en contacto con halógenos, o hipo halogenos sobre todo el cloro, produce cloramina ($HOCl$) la cual tiene potente acción bactericida. Además, el peróxido de hidrógeno también puede reaccionar con anión hipocloruro (producido en el fagocito) para generar singlete de O_2 , como lo observamos en las siguientes reacciones^{1,2,8,11}:



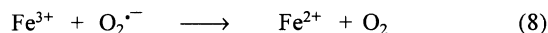
Como se puede ver en las reacciones 3 a 6, el aumento de O_2 en la descarga respiratoria de los fagocitos está destinado a producir una gran cantidad de metabolitos del O_2 , como el radical anión superóxido, peróxido de hidrógeno y singlete de O_2 , que tienen el poder bactericida, aún cuando no todos sean propiamente radicales.

RADICAL HIDROXILO

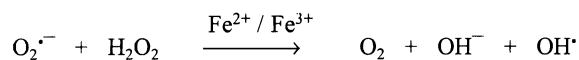
El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) formado en la reacción 4, a pesar de no ser en sí un radical, tiene una importancia vital, ya que en presencia de los metales de transición Cu^+ o Fe^{2+} da lugar a la reacción de Fenton con la producción de radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$)^{1,2,4,11,14}:



Por otro lado, el radical anión superóxido alimenta la producción de Fe^{2+} y por lo tanto, la reacción de Fenton, por medio de la siguiente reacción:^{1,2,4,11,14}



El conjunto de reacciones descritas, o sea, la dismutación del radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) que produce peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual, a su vez se descompone en el radical hidroxilo (OH^*) con intervención del Fe^{2+} y regeneración de este último por medio del radical anión superóxido (OH^*), constituyendo el ciclo de Haber Weiss^{1,2,4,11,14}:



La coexistencia del radical anión superóxido y del peróxido de hidrógeno en medio biológico que inevitablemente contiene hierro, es muy peligrosa, ya que el radical hidroxilo formado es un oxidante en extremo reactivo que interacciona con casi todas las moléculas que se encuentran en los organismos, a velocidades sólo limitadas por su difusión^{1,2,4,11,14}.

SINGULETE DE OXIGENO

Como el singulete de oxígeno (O_2^*) no tiene electrones no apareados, no constituye realmente un radical de O_2 , pero por su gran reactividad e intervención en muchas reacciones en las que participa el O_2 molecular se incluye aquí^{1,2,8,11}.

Se forma sobre todo, cuando algunos pigmentos biológicos se iluminan en presencia de O_2 , por ejemplo: clorofila, retina, flavinas y porfirinas. Tiene una gran capacidad oxidante frente a muchas moléculas biológicas, sobre todo lípidos de las membranas. Además, tiende a formarse en grandes cantidades en tejidos y órganos sometidos a reacciones terapéuticas^{1,8}.

SISTEMAS DE DEFENSA CONTRA RADICALES

Como en el organismo la producción de radicales libres es continua, existen mecanismos de defensa que impiden su formación o los neutralizan una vez formados, para evitar sus efectos tóxicos. La neutra-

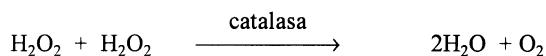
lización de los radicales libres se lleva a cabo a varios niveles.^{1,2}

Primer nivel. Consiste en recuperar el O_2 intracelular y evitar así que sea transformado en superóxido, esto lo logra con una gran eficacia el Sistema Citocromo Oxidasa que origina más del 90% de la reducción del O_2 en el organismo^{1,2,4,8,10-12}.

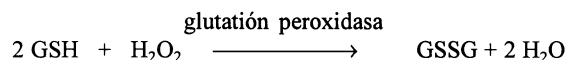
Segundo nivel. Ocurre en ciertas células del organismo, en donde el superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) puede ser neutralizado al reaccionar con el óxido nítrico (NO)^{1,2,4,9,11,15,16}.

Tercer nivel. Constituye la presencia de enzimas especializadas, la superóxido dismutasa (SOD), que son metaloenzimas que catalizan la dismutación del radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) evitando así su reacción con el peróxido de hidrógeno y la formación del radical hidroxilo (OH^*). Existen varias formas de SOD dependiendo del metal que contienen. La forma citoplasmática contiene un átomo de Cu^{+2} y uno de Zn^{+2} en su sitio activo. El átomo de Cu^{+2} es reducido a Cu^+ y reoxidado a Cu^{+2} durante un ciclo catalítico. La otra enzima es mitocondrial y posee Mn^{+3} en su sitio activo. Además, las bacterias también tienen una SOD que contiene Mn^{+3} en su sitio activo, lo que refuerza la teoría del origen simbiótico de la mitocondria^{1,2,4,5,10-12,14,15}.

Cuarto nivel. Se lleva a cabo mediante enzimas específicas tales como las catalasas y las peroxidases. Cuando existen elevadas concentraciones de H_2O_2 , la catalasa (se encuentra en los peroxisomas) juega un papel importante en su neutralización ya que cataliza la siguiente dismutación^{1,2,4,10-12}:



A bajas concentraciones, las peroxidadas (enzimas citoplasmáticas que contienen Se), catalizan la reducción H_2O_2 por diversos donadores de protones. El H_2O_2 reacciona con glutatión reducido (GSH) dando lugar a glutatión oxidado (GSSG) y agua, reacción catalizada por la glutatión peroxidasa^{1,2,4,10-12}:



Por otro lado, la glutatión reductasa convierte al GSSG en glutatión reducido (GSH) con intervención de NADPH, impidiendo así que se agoten las reservas de GSH. La enzima glutatión peroxidasa también interviene en la neutralización de los peróxidos de los lípidos, previniendo la peroxidación en cadena^{1,2,4,10-12}:

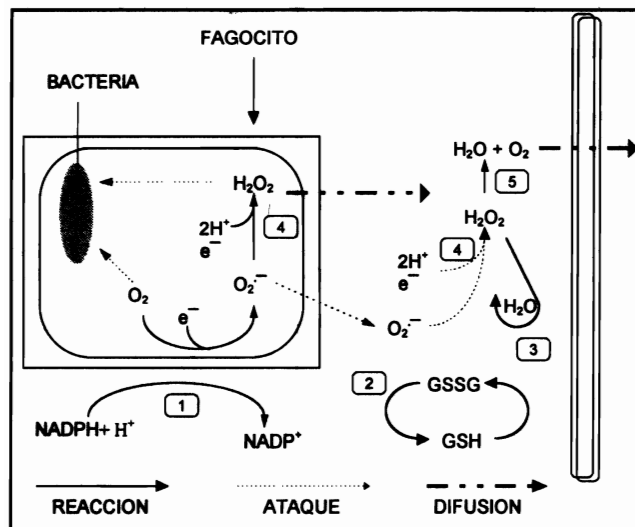
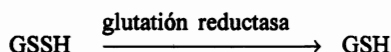


Figura 5. Formación de radicales de O_2 bactericidas en el interior de la célula fagocitaria y mecanismos de protección citoplásmica. Nótese que la membrana celular. 1. NADPHoxidasas. 2. Glutación reductasa. 3. Glutación peroxidasa. 4. Superóxido dismutasa y 5. Catalasa.



Quinto nivel. La peroxidación de los lípidos es el único sistema capaz de neutralizar al radical hidroxilo ($OH^{\cdot}$). Ahora bien, la formación del radical hidroxilo se ve enlentecida si el hierro se mantiene fijado a la transferrina^{1,2,4,10-12}.

Sexto nivel. En el organismo existen excelentes agentes antioxidantes no enzimáticos tal como la vitamina E o algunos tocoferoles, que por su hidrofobicidad se encuentran en las membranas biológicas donde su protección es particularmente efectiva. La Vitamina E donando un protón convierte los aniones superóxido ($O_2^{\cdot -}$) e hidroxilo ($OH^{\cdot}$), así como, los radicales peroxilo y alcóxido de los lípidos en formas menos reactivas^{1,2,4,6,12,17-21}.

Séptimo nivel. Constituido por la reparación; la mayor parte de las moléculas del organismo sufren un recambio constante, por lo que son periódicamente reemplazadas con excepción de algunos tejidos como Sistema Nervioso Central (SNC); por ejemplo en el caso del material genético en el SNC los radicales libres de oxígeno pueden producir ruptura en las cadenas de DNA y aún mutagénesis, aunque en otras partes del organismo existen mecanismos enzimáticos que permiten preservar la información genética intacta¹. Además, por otro lado, la cisteína y la cisteamina actúan promoviendo la formación de GSH, la cerulo-

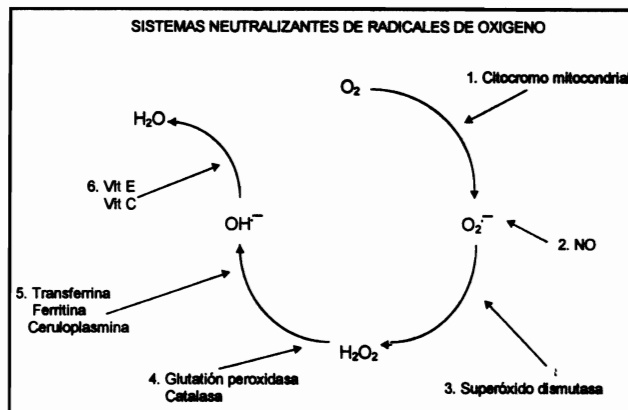


Figura 6. Sistemas neutralizantes de Radicales de Oxígeno. 1. Captación del O_2 molecular. 2. Neutralización de $O_2^{\cdot -}$. 3. Degradación del O_2 . 4. Neutralización de H_2O_2 . 5. Captación de Hierro. 6. Neutralización de la peroxidación de lípidos.

plasmina participa quelando el hierro y la Vitamina C neutralizando radicales hidroxilo ($OH^{\cdot}$)^{1,2,10,12,21}.

En la figura 6 se resume como la neutralización de los radicales de O_2 se puede realizar a varios niveles.

FISIOPATOLOGIA E IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS

Las lesiones del cerebro y médula espinal son una causa importante de incapacidad y morbi-mortalidad. Sin embargo, en la actualidad la terapéutica está limitada y encaminada a la etiología de la lesión, más que a cambiar el conocimiento en la patogénesis de la disfunción celular en SNC. La lesión neuronal es causada por dos mecanismos: el primario (trauma *per se*) y el secundario (daño celular por trastornos bioquímicos). La lesión secundaria puede tener una mayor contribución en el desarrollo de la degeneración y/o muerte neuronal^{7,10,18}. Esta lesión secundaria es iniciada por la lesión primaria y continuada por cambios celulares debidos a la interrupción en el suministro de energéticos a las neuronas las cuales al no contar con glucosa y oxígeno echan mano de las reservas de glucógeno que son escasas y de la vía anaeróbica para producir ATP; sin embargo, esto no es suficiente, lo que hace que las bombas dependientes de energía dejen de funcionar y alteren el equilibrio iónico de la neurona, en donde el evento más importante es la entrada de Ca^{++} al interior de la neurona, ya que éste es el factor que desencadena varias vías metabólicas que causan lesión neuronal como: a) el Ca^{++} activa la vía de la fosfolipasa, en la que se crean superóxidos ($O_2^{\cdot -}$) que por sí solos son tóxicos para las células y son metabolitos intermedios

en la síntesis de tromboxanos A_2 , prostaglandinas y leucotrienos causando mayor daño a la zona isquémica; b) activa la vía de la hipoxantina-oxidasa, la cual libera hierro de la ferritina, que causa ruptura de las cadenas de DNA; c) se desencadenan también a través del Ca^{++} las nucleótidas, que directamente destruyen los ácidos nucleicos de la neurona; d) el Ca^{++} libera de las terminales neurotransmisores como glutamato y aspartato que son directamente tóxicos para las células nerviosas. Pero tan grave como lo planteado anteriormente es el restablecimiento de la circulación a una zona previamente isquémica y en donde la reintroducción de O_2 provoca una explosión de radicales de $O_2^{1,2,3,5,8,11,13,22}$.

Obviamente, la recuperación funcional pudiera ser facilitada por una terapia que interrumpa los procesos moleculares incluidos en la degeneración secundaria. Este concepto de secundaria o "autodestructiva" como factor de lesión proporciona las bases teóricas para la evaluación de un sinnúmero de intervenciones farmacológicas en la lesión de SNC.

Reportes recientes sugieren que los radicales de O_2 juegan un papel de llave en ésta cascada bioquímica por varias razones, por ejemplo: las membranas celulares pueden ser atacadas por los radicales hidroxilo ($OH^{\bullet}$) formando más radicales como el peroxilo ($ROO^{\bullet}$) y el acoxilo ($RO^{\bullet}$) que estimulan reacciones en cadena al sustraer átomos de hidrógeno de otros lípidos (Peroxidación de lípidos)^{1,2,4,5,7,8,10,22}.

Por otro lado, aunque el organismo cuenta con enzimas (SOD, glutatión peroxidasa, catalasa) que neutralizan a los radicales de O_2 , en el SNC es pobre la actividad de catalasa y sólo cuenta con cantidades moderadas de SOD y de glutatión peroxidasa pero en cambio es rico en hierro (probablemente sea el iniciador de la formación de radicales de O_2), lo que favorece que en presencia de metales de transición (Fe^{2+} y Cu^{+2}) se formen especies extremadamente ávidas de oxidación y virtualmente cada molécula en la célula puede ser blanco^{1,2,5,8,10}; cabe hacer notar que en el cerebro existen concentraciones elevadas de Vitamina C en la materia gris y blanca siendo éste un antioxidante, pero en presencia de metales de transición produce grandes cantidades de radicales^{10,2}.

Tomando en cuenta lo anterior, estos datos no clínicos serían suficientes para revisar cuidadosamente el papel que juegan los radicales de oxígeno en los procesos fisiopatológicos de la lesión neuronal durante el fenómeno de isquemia-anoxia-reperfusión. Pero es necesario una documentación y entendimiento riguroso para obtener un efecto inequívoco en las intervenciones terapéuticas en estudios experimentales antes de hacer estudios en humanos que resulten apropiados.

El evitar la formación de radicales de oxígeno con la adecuada manipulación de los barredores de éstos radicales tiene que ser contemplado en una terapéutica efectiva en la lesión del cerebro y de la médula espinal.

REFERENCIAS

1. Huberman A. Biología de los Radicales de Oxígeno. En: Díaz-Zagoya DC, Hicks-Gómez JJ: Bioquímica. México. Ed. Interamericana-Mc Graw Hill. 1995. Pag. 715-723.
2. Net A, Mancobo J, Benito S. Shock y fallo multiorgánico. Ed. Springer-Verlag Ibérica. Barcelona 1992.
3. Odeh M. The role of reperfusion-induced injury in the pathogenesis of the Crush Syndrome. *N Engl J Med*, 1991; 324:1417-1422.
4. Donald EF. Multiple System Organ Failure. St. Louis Missouri. The CV Mosby Company. 1994.
5. Daval JL, Ghersi-Egea JF, Oillet J, Koziel V. A simple method for evaluation of superoxide radical production in neural cells under various culture conditions: application to hypoxia. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 1995; 15:71-77.
6. Flaherty JT, Weisfeldt ML. Reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*, 1988; 5: 409-419.
7. Hall ED, Braughler JM. Central nervous system trauma and stroke. II Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med.*, 1989; 6:303-313.
8. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. II Involvement in human disease. *Mayo Clin Proc*, 1988; 63:390-408.
9. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312:159-163.
10. Ikeda Y, Donlin ML. The molecular basis of brain injury and brain edema: The role of oxygen free radicals. *Neurosurgery*, 1990;27:1-11.
11. Royston D. Free radicals. *Anaesthesia*, 1988;43:315-320.
12. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Bioquímica de Harper. México, D. F. Ed. El Manual Moderno, S. A. de C. V. 1994.
13. Jewett SL, Eddy LJ, Hochstein P. Is the autooxidation of catecholamines involved in ischemia-reperfusion injury?. *Free Radic Biol Med*, 1989;6:185-188.
14. Kontos HA, Wei EP. Superoxide production in experimental brain injury. *J Neurosurg* 1988; 64:803-807.
15. Park KW, Dai HB, Lowenstein E, Darvish A, Sellke FW. Oxygen-derived free radicals mediate isoflurane-induced vasoconstriction of rabbit coronary resistance arteries. *Anesth Analg* 1995; 80:1163-1167.
16. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994;120:227-237.
17. Adams JD, Wang B. Vitamin E uptake into the brain and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine toxicity. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14:362-363.
18. Hall ED, Yonkers AP, Andrus PK, Cox JW, Anderson DK. Biochemistry and pharmacology of lipid antioxidants in acute brain and spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992; 9 (s2):s425-s442.
19. Iwasa K, Ikata T, Fukuzawa K. Protective effect of vitamin E on spinal cord injury by compression and concurrent lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1989;6:599-606.
20. Barsacchi R, Coassin M, Malorino M, Pelosi G, Simonelli C, Ursini F. Increased ultra weak chemiluminescence emission from rat heart at postischemic reoxygenation: protective role of vitamin E. *Free Radic Biol Med* 1989;6:573-579.
21. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun* 1990;9:1-32.
22. Wityk RJ, Stern BJ. Ischemic stroke: Today and tomorrow. *Crit Care Med* 1994;22:1278-1293.