

Monografía



Control del Estrés Oxidativo

 **Narval Pharma, S.A.**

www.narvalpharma.com

www.lexvitae.com

Tfno. 91 709 01 33 / 902 26 26 46

Narval Pharma, S.A. Valle de Tena, 20 | Las Lomas | 28669 Boadilla del Monte | Spain

Tél. +34917090133 | +34902262646 | fax

+34913512955 | narval@narvalpharma.com | www.narvalpharma.com

Nota importante: El aporte de antioxidantes frente a requerimientos, ya sea de forma continuada o en condiciones especiales, debe ser valorado con la mayor exactitud posible.

No se deben recomendar antioxidantes en cantidades no controladas o conocidas por dos motivos básicos: no aportar las cantidades e ingredientes necesarios o exceder, con megadosis el aporte, en la creencia de que altas dosis de determinados componentes serán eficaces; todo lo contrario, los antioxidantes en exceso no sólo no se comportan como tales sino que se convierten en pro-oxidantes.

Está muy difundida la idea de que dosis elevadas de vitamina E y/o vitamina A tienen efecto antioxidante cuando está demostrado científicamente todo lo contrario.

¿QUÉ ES LEX VITAE® ?

Lex Vitae® es un antioxidante intra y extra celular formulado y obtenido a partir de fuentes naturales mediante los más avanzados procedimientos no desnaturalizantes, extrayendo los nutrientes purificados sin sufrir modificación alguna, conservando así las propiedades biológicas de los alimentos de los que son extraídos.

La dosificación de cada uno de los componentes permite administrar dosis perfectamente conocidas y valoradas de cada uno de ellos, cumpliendo estrictamente las normas internacionales de CDR (Cantidad Diaria Recomendada), ANR (Aporte Nutricional Recomendado) y considerando, sobre todo, las Recomendaciones Nutricionales Basadas en los Alimentos (RNBA).

De esta manera se garantiza una dosificación diaria sin que haya riesgo de acumulación orgánica de ninguno de sus componentes. Lex Vitae es el único complejo antioxidante que incluye los tres enzimas recomendados en la terapéutica antioxidante por la Real Academia de Farmacia en su Monografía IV del libro "Bioquímica y Fisiopatología del Estrés Oxidativo".

“Terapia antioxidante: Lógicamente, el tratamiento del estrés oxidativo preocupa a los investigadores. Los ensayos llevados a cabo hasta ahora confirman que su prevención parcial se logra mediante suplemento de antioxidantes como los tocoferoles y el ácido ascórbico, los precursores del glutatión como la N-acetil cisteína o la inducción de enzimas implicados en la eliminación de las especies activas de oxígeno o radicales libres, como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión-S-transferasa. Los antioxidantes pueden actuar, en general, a través de cuatro mecanismos biológicos fundamentales: reduciendo la producción de radicales libres, como los quelantes de los derivados activos del hierro; atrapando directamente los radicales libres, como la glutatión transferasa; interrumpiendo los procesos de peroxidación (vitamina E); reforzando las reservas naturales de defensa antioxidante”

CONTROL DEL ESTRÉS OXIDATIVO

ESTRÉS OXIDATIVO

La vida tal y como la conocemos es dependiente del oxígeno, el exceso de éste o su acumulación en el organismo, lo convierten en un potente tóxico, uno de los elementos más reactivos que existen capaz de alterar las macromoléculas biológicas a través de intermediarios derivados de su reducción incompleta, los Radicales Libres del Oxígeno (RLO). El organismo se defiende mediante agentes antioxidantes, pero en determinadas circunstancias ó con el paso de los años, se produce un desequilibrio prooxidantes / antioxidantes a favor de los primeros, denominado **estrés oxidativo** (EO) (Helmut Sies, 1985).

Los radicales libres actúan alterando las distintas macromoléculas biológicas: polisacáridos (responsables de las reservas energéticas), lípidos de membrana (generalmente ácidos grasos poliinsaturados, responsables de la integridad celular), proteínas (responsables del funcionamiento celular) y ácidos nucleicos (responsables de la división y transmisión del material genético)

Los principales trastornos funcionales de las proteínas son pérdida de actividad catalítica, degeneración intracelular y alteraciones de moléculas adyacentes.

La oxidación de los lípidos de membrana tiene como consecuencia alteraciones en la homeostasis celular (1)

Tejidos ricos en lípidos, como el sistema nervioso, pueden sufrir daños citotóxicos que dan lugar a estados neurodegenerativos.

También aparecen proteínas oxidadas (2) en los procesos inflamatorios, isquémicos e hipóxicos así como en la arteriosclerosis y en las alteraciones neuronales, incluso en el desarrollo de las cataratas y diabetes. Además en ciertas carencias nutricionales en los procesos de apoptosis y en pacientes diabéticos, se ha constatado un incremento de la fragmentación de las hebras de ADN (3) que también se observa en los procesos naturales del envejecimiento.

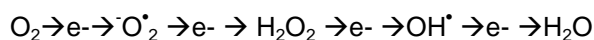
Tenemos aproximadamente cien billones de células en nuestro organismo y se estima que los RLO dañan el ADN de cada una de ellas 10.000 veces por día.

SITUACIONES Y AGENTES QUE INCREMENTAN EL ESTRÉS OXIDATIVO Y MODO DE ACCIÓN

| | |
|--------------------------------|--|
| Edad: a partir de la 3ª década | Disminución de las defensas antioxidantes. Incremento de RLO. |
| Tabaco | Cada inhalación contiene más de un billón de RLO. |
| Alcohol/Drogas | Incremento de RLO / Por inhibición de antioxidantes / Hepatotoxicidad. |
| Obesidad | Importante incremento de Peróxidos Lipídicos / Generan exceso de RLO. |
| Radiaciones Ultravioletas | Alteraciones en el ADN / Generan incremento de RLO sistémicos. |
| Radiaciones Ionizantes | Fisión de macromoléculas / Importante incremento de RLO. |
| Contaminación Ambiental | Incremento de RLO a nivel pulmonar y sistémico. |
| Práctica Deportiva Intensa | Hipoxia / Incremento de RLO. |
| Deficiencia de Antioxidantes | Desequilibrio entre pro y antioxidantes / Aumento de RLO. |
| Desequilibrios Emocionales | Importante incremento de RLO con repercusión orgánica |
| Fármacos Prooxidantes | Incremento de RLO. |

Los RLO se pueden clasificar en:

-RADICALES INORGÁNICOS O PRIMARIOS: se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno. Representan por tanto, distintos estados de reducción del oxígeno.



Tanto el $\overset{\cdot}{O}_2$ (anión superóxido) como el H_2O_2 (peróxido de hidrógeno) pueden generar en presencia de metales de transición, Fe y Cu (muy abundantes en el sistema cardiovascular) el radical OH^\bullet (radical hidroxilo), muy reactivo y quizás el mayor responsable del daño tisular en situación de **estrés oxidativo**, ya que es el iniciador de la cascada de peroxidación lipídica. La oxidación de los lípidos de membrana está asociada a alteraciones de la funcionalidad de la membrana y la de las LDL al desarrollo de arteriosclerosis

El óxido nítrico (NO o NO^\bullet), se considera también un radical primario que además de los daños tisulares que puede causar por si mismo (peroxidación lipídica, modificaciones y fragmentación de ADN, alteraciones en las proteínas) es capaz de generar más RLO y sustancias derivadas con un fuerte poder citotóxico (4).



El NO^\bullet juega un importante papel en el desarrollo de determinadas patologías en sistemas como el cardiovascular y el nervioso.

El $ONOO^\bullet$ es mucho más tóxico, reacciona con el grupo $-SH$ de las proteínas alterando su estructura.

-RADICALES ORGÁNICOS O SECUNDARIOS: se pueden originar por transferencia de un electrón de un radical libre primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de dos radicales secundarios entre sí.

Son muy variados ya que se pueden afectar proteínas, lípidos, polisacáridos y ácidos nucleicos y propagan las reacciones de oxidación rápidamente dentro de la célula.

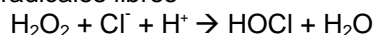
Dependiendo de la macromolécula afectada, y dentro de ella de la región y de su localización intracelular, las alteraciones en la función celular serán muy diferentes.

-INTERMEDIARIOS ESTABLES: no son radicales libres pero generan RLO, tienen un fuerte poder oxidante, citotóxico y de propagación del daño tisular en condiciones de desequilibrio oxidativo.

Los intermediarios más significativos son el oxígeno singlete (1O_2), el H_2O_2 , el ácido hipocloroso (HOCl), el $ONOO^\bullet$ y los hidroperóxidos orgánicos (ROOH)

El H_2O_2 puede fácilmente atravesar las membranas celulares y producir más radicales libres en un lugar distinto al de su origen.

El ácido hipocloroso se genera en los neutrófilos por su poder bactericida, pero es capaz de generar más radicales libres



Los ROOH poseen una alta toxicidad, pueden dar lugar a reacciones en cadena en lípidos y proteínas, pudiendo además reaccionar con los ácidos nucleicos (5)

Además existen agentes extracelulares con un fuerte carácter oxidante, prooxidante o generadores de situaciones que faciliten el desequilibrio oxidativo, ante los cuales la mejor defensa es preventiva, no fumar, beber con moderación y dieta equilibrada.

Entre las células que son fuente de RLO tenemos las endoteliales, los neutrófilos, los eosinófilos, los macrófagos y los monocitos. En el interior de la célula se generan principalmente en la cadena respiratoria mitocondrial, el citocromo P-450 microsomal y en determinadas enzimas en las que interviene el oxígeno como sustrato

Por tanto, las membranas y el ADN mitocondrial están predispuestos a la oxidación y tejidos con alto contenido en mitocondrias, como el cardíaco, presentan en caso de **estrés oxidativo** deficiencias en su funcionamiento y regiones con avanzada degeneración tisular así como muerte celular (6).

Los radicales libres se generan de forma natural en el organismo pero pueden dañar las células y los tejidos. Por lo que el propio organismo ha desarrollado un sistema de control y regulación, un sistema de defensa antioxidante.

MECANISMOS DE DEFENSA FRENTE AL ESTRÉS OXIDATIVO

-INTERCEPTADORES: antioxidantes intra y extracelulares que impiden que los RLO ejerzan su acción.

Sistemas enzimáticos: SOD

Catalasa

GSH-Peroxidasas (GSH-Prx.)

No enzimáticos: GSH

Coenzima Q10

Vitamina A

Vitamina C

Vitamina E

Selenio

Polifenoles

Taurina

Zinc

-ELIMINADORES: eliminan las moléculas ya alteradas por los RLO, de no ser así se propaga el daño al resto de los tejidos, puesto que son fuente de radicales secundarios. Por ejemplo las proteasas intracelulares que eliminan proteínas oxidadas.

-REPARADORES: incluyen sistemas que eliminan las partes dañadas en las moléculas en lugar de reemplazarlas por una nueva molécula. Aquí tenemos por ejemplo las enzimas reparadoras del ADN

La **SOD** (7) es una metaloproteína (Cu-Zn-SOD, Mn-SOD) que se encuentra tanto a nivel extra como intracelular, localizándose principalmente en peroxisomas y citosol.

La SOD elimina el $\cdot\text{O}_2^-$ transformándolo en H_2O_2 que a su vez es eliminado por la **catalasa** (8) y la **GSH-Peroxidasa**, (utilizando como cofactor el GSH que es oxidado a GSSG).

Las GSH-Peroxidasas las podemos encontrar en plasma, en los hidroperóxidos lipídicos catalizando la reducción de hidroperóxidos de fosfolípidos, ácidos grasos y peróxido de t-butil; en tracto intestinal reduciendo los hidroperóxidos de la dieta y en el interior de la célula, en citosol y mitocondrias.

El **GSH** (9) es un tripéptido compuesto por glutámico, cisteína (centro activo) y glicina, actúa reaccionando con los grupos sulfidrilo de las proteínas (grupo que reacciona fácilmente con los RLO), con muchos agentes xenobióticos prooxidantes a través de reacciones catalizadas por la GSH S-transferasa y como cofactor de determinadas enzimas eliminadoras de agentes prooxidantes

Su producción intracelular se estimula por la **L-Cisteína** (10) que actúa además, eliminando H_2O_2 , $\cdot\text{O}_2^-$, $\text{OH}\cdot$ y ácido hipocloroso

Coenzima Q10 (11) o ubiquinona elimina los RLO producidos durante la peroxidación lipídica y por medio de esa acción es estabilizante de membranas. Además, interviene como transportadora de los electrones móviles durante la fosforilación y respiración celular que tiene lugar en las mitocondrias.

La **Vitamina A** (12) interviene en muchos procesos biológicos (visión, expresión de genes, diferenciación celular, inmunidad). Es liposoluble y actuará por tanto, como antioxidante a nivel de las membranas biológicas. Resulta especialmente eficaz frente a la acción del $^1\text{O}_2$ formado por la exposición de la piel a la luz ultravioleta.

La **Vitamina C**. (13) Presente en plasma y abundantes fluidos corporales (humor vítreo, tejidos como la cornea, la retina, vías respiratorias). Regula la síntesis de colágeno, participa en la síntesis de carnitina, favorece la absorción de hierro intestinal y es un importante antioxidante hidrosoluble que reacciona con todo tipo de RLO (especialmente el $\cdot\text{O}_2$) y agentes pro-oxidantes. Interfiere indirectamente la peroxidación lipídica ya que regenera la Vitamina E. Junto con la Vitamina C se encuentra también el GSH (antioxidante hidrosoluble) que tiende a oxidarse lo que se previene gracias a la propia Vitamina C, lo mismo ocurre con el **Ácido Fólico** (14) que en su estado funcional debe ser reducido a la forma tetra-hidrofólico

La **Vitamina E** (15), antioxidante liposoluble de las membranas biológicas y lipoproteínas plasmáticas. Impide la peroxidación lipídica. Protege a la vitamina A y al mismo tiempo requiere del selenio y la Vitamina C.

Ambas vitaminas, C y E, son regeneradas a partir de sus productos primarios de oxidación por el **glutathion**

El **selenio** (16), además de ser ambogénico con la Vitamina E, forma parte del grupo prostético de la GSH-Prx, enzima neutralizadora y eliminadora de RLO. Entra en la cadena alimenticia unido covalentemente a aminoácidos sulfurados como la metionina y se incorpora a las proteínas intracelulares en forma de selenocisteína.

Los **Polifenoles** (17), inhiben la susceptibilidad de las LDL a oxidarse, lo que está unido a una menor incidencia de accidente cardiovascular.

La **Taurina** (18) es un aminoácido derivado del metabolismo de la metionina o la cisteína. Es hidrosoluble y tiene una amplia actividad antioxidante a nivel plasmático, pulmonar y de células inmunológicas.

La **Metionina** es un aminoácido esencial, interviene en la multiplicación y crecimiento celular y participa en la absorción y transporte de antioxidantes como el selenio y el zinc.

El **zinc** (19) como ya hemos visto forma parte de una de las isoformas de la SOD la Cu Zn-SOD, colabora en la estabilización del ADN, ARN y ribosomas. Interviene en la protección y estabilidad de las membranas frente a los RLO.

Existen otros antioxidantes como el ácido úrico, la albúmina, la bilirrubina, transferrina, ceruloplasmina y enzimas involucrados en reacciones redox: DT diaforasa, glutathion reductasa, metionin sulfóxido-reductasa, NADPH-semi-dehidro-ascórbico reductasa que redondean el cuadro para que el desarrollo de las células en un ambiente rico en O_2 sea posible. Como hemos visto los distintos agentes antioxidantes actúan de forma conjunta, están interrelacionados y en muchos casos unos son necesarios para regenerar a otros.

Sin embargo, en determinadas situaciones ó ante determinados agentes se produce un desequilibrio en la balanza prooxidantes / antioxidantes a favor de los primeros, incrementándose el **estrés oxidativo**, lo que conduce a una agresión celular que lleva a daños en los tejidos de los distintos órganos y por tanto a una aceleración de los procesos naturales del envejecimiento.

Uno de estos agentes es el tabaco que contiene más de un billón de radicales libres del oxígeno en cada inhalación. También el exceso de alcohol y el uso de drogas producen una inhibición de antioxidantes generando además cantidades importantes de radicales libres del oxígeno.

El excesivo consumo de grasas genera peróxidos lipídicos, uno de los principales elementos con capacidad de desarrollar arteriosclerosis.

Está demostrado que la contaminación ambiental provoca una importante formación de radicales libres del oxígeno.

Un apartado especial merecen las radiaciones ionizantes y ultravioletas, que producen importantes daños en el material genético.

Así mismo, el sobreesfuerzo en la práctica deportiva lleva a la hipoxia tisular con importante producción de radicales libres del oxígeno.

Y por su puesto, la deficiencia de antioxidantes genera una acumulación de radicales que aceleran los procesos naturales del envejecimiento.

A partir de la 3ª década de la vida se produce una disminución de las defensas antioxidantes incrementándose los radicales libres del oxígeno independientemente de las variables individuales genéticas y de las condiciones medio ambientales, nutricionales e higiénico dietéticas a que nuestro organismo es sometido se hace necesario un aporte de antioxidantes para neutralizar esa acumulación de radicales libres del oxígeno.

Muchos de los antioxidantes que hemos visto no son sintetizados por el organismo y debemos obtenerlos a través de la dieta, pero nuestros hábitos alimenticios no aportan ó nuestras comidas no contienen, frecuentemente, la cantidad requerida.

Todos los componentes de **Lex Vitae** han sido contrastados científicamente para neutralizar la actividad perjudicial de los RLO.

La obtención de productos naturales que aporten soluciones a problemáticas complejas de la salud, es uno de los objetivos más apasionantes de este siglo. **Lex Vitae** es una realidad en el nuevo concepto de los nutracéuticos, aportando los nutrientes vitales necesarios para el control de los procesos naturales del envejecimiento.

Composición por cápsula:

| | |
|-------------------------------------|--------------------------------|
| Extracto de Melón: | 15 mg. |
| SOD | 14000 UI / gr. de materia seca |
| Catalasa | 5000 UI / gr. de materia seca |
| GSSG | 105,82 µg / 100 g |
| GSH | 24,22 µg / 100 g |
| Coenzima Q10 | 10,08 mg. / 100g. |
| Levadura de Cerveza: | 10 mg |
| Selenio | 20 µg |
| Extracto de Uva rico en Polifenoles | 15 mg |
| Glutati6n (GS) | 25 mg |
| L-Metionina | 75 mg |
| Taurina | 75 mg |
| L-Cisteina | 105 mg |
| Vitamina C | 60 mg |
| Vitamina E | 10 mg |
| Ácido Fólico | 150 µg |
| Zinc | 15 mg |
| Vitamina A | 800 µg |

Modo de empleo

Ingerir con agua una cápsula diaria de **Lex Vitae**.

Nota: Lex Vitae carece de efectos secundarios y contraindicaciones.

Esta específicamente diseñado para una toma diaria. Es importante tener en cuenta que incrementar la dosis de **Lex Vitae** no mejora la eficacia. Todo compuesto que contenga vitaminas, minerales y aminoácidos, debe ser tomado sin incurrir en excesos.

GLOSARIO

Apoptosis: Muerte celular programada.

Catalasa: Enzima peroxidasa.

CoQ10: Coenzima Q₁₀ o ubiquinona.

GSH: Glutación reducido.

GSH-Prx: Glutación peroxidasa, familia de enzimas que degradan el H₂O₂ y los peróxidos de ácidos grasos polinsaturados.

GSSG: Glutación oxidado

H₂O₂: Radical libre, peróxido de Hidrógeno o agua oxigenada.

Mitocondria: Organoide intracelular responsable de la respiración celular y la formación de energía.

NO[•] Oxido nítrico. Radical libre sintetizado específicamente en la célula para cumplir una función determinada, pero que puede convertirse fácilmente en tóxico

O₂^{-•}: Radical libre, anión superóxido. Produce peroxidación de los lípidos de membrana celular.

¹O₂: Radical libre, oxígeno singlete.

OH[•]: Radical libre, radical hidroxilo. Inicia la cascada de peroxidación de los lípidos de membrana celular.

Peroxidación de lípidos de membrana: Causa principal del daño tisular

Radical libre: Especie química cargada o no que tiene en su estructura un electrón desapareado. Reacciona rápidamente con otras moléculas, iniciando así reacciones en cadena en busca de una configuración más estable y menos reactiva. Causan daños biológicos generalmente por procesos oxidativos.

RLO: Radicales libres del oxígeno.

SOD: Enzima, superóxido dismutasa.

Xenobiótico: Sustancia orgánica extraña al organismo.

BIBLIOGRAFIA:

1. BRUCKDORFER KR. Non-enzymatic oxidation of lipids and lipoproteins: The role of metals and nitric oxide. *Curr Op Lipidol* 1993; 4: 238-243

2. STADTMAN ER. Protein oxidation and aging *Science* 1992; 257:1220-1224.

STADTMAN ER, OLIVER CN. Metal-catalyzed oxidation of proteins. Physiological consequences. *J Biol Chem* 1991; 266: 2005-2008.

ROCHE E, ROMERO ALVIRA D. Estrés oxidativo y degradación de proteínas. *Med Clin* 1994; 103: 189-196.

3. AMES BN, SHIGENAGA MK, HAGEN TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-7922.

4. ROSEN GM, POU S, RAMOS CL, COHEN MS, BRITIGAN BE. Free radicals and phagocytic cells. *FASEB J* 1995; 9:200-209.

LASKIN JD, HECK DE, LASKIN DL. Multifunctional role of nitric oxide in inflammation. *Trends Endocrinol Metab* 1994; 9: 377-382.

5. NAISH-BYFIELD S, DEAN RT. Antioxidants and the influence of free radical damage to proteins on proteolysis in and around mammalian cells. En *Current trends in the study of intracellular protein degradation. II* (Knecht E, Grisolia S, eds). University of Basque Country: Springer International, 1989; 361-375.

6. LUFT R. The development of mitochondrial medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 8731-8738.

7. BORS W, CZAPSKI G, SARAN M. An expanded function for superoxido dismutase. *Free Radic Res Commun* 1991; 12-13 Pt 1: 411-417.

8. JANSSEN YMW, VAN HOUTEN B, BORM PJA, MOSSMAN BT. Biology of disease. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab Invest* 1993; 69: 261-274.

9. CRYSTAL RG, RAMÓN JR, EDS. GSH system. *Glutation: Eje de la defensa antioxidante*. Amsterdam: Excerpta Médica, 1992.

10. AROUMA OI, HALLIWELL B, HOEY BM, BUTLER J. Antioxidant action of N-Acetyl Cysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide and hypochlorous acid. *Free Rad Biol. Med.* 1989; 6: 593-597.
11. SUGIYAMA S, KITAZAWA M, OZAWA T et al. Antioxidative effect of coenzyme Q10. *Experientia* 1980; 36: 1002-1003
12. OLSON JA. Vitamin A, Retinoids and carotenoids. En *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8^o ed (Shils ME Olson JA, Shike M, eds). Philadelphia: Lea & Febiger, 1994, 287-307.
13. JACOB RA. Vitamin C. En *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8^o ed. (Shils ME, Olson JA, Shike M, eds.). Philadelphia: Lea & Febiger, 1994; 432-448
14. TITLE LM, CUMMING PM, GIDDENS K, GENEST JJ, NASSAR BD. Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 36 (3) 758-65; 2000 Sep.
15. FARREL PM, ROBERTS RJ. Vitamin E. En *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8^o ed (Shils ME, Olson JA, Shike M, eds). Philadelphia: Lea & Febiger, 1994, 326-341.
16. STADTMAN TC. Selenium Biochemistry. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 111-127.
17. FRANKEL EN, KANNER J, GERMAN JB, PARKS E, KINSELLA JE. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 1993; 20: 341 (8843): 454-457.
18. HAYES KC, TRAUTWEIN EA. Taurine. En *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8^o ed (Shils ME Olson JA, Shike M, eds). Philadelphia: Lea & Febiger, 1994; 477-485.
19. KING JC, KEEN CL. Zinc. En *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8^o ed (Shils ME Olson JA, Shike M, eds). Philadelphia: Lea & Febiger, 1994, 214-230