

AGNIESZKA NOSZCZYK-NOWAK¹, JACEK GAJEK², URSZULA PASŁAWSKA¹, DOROTA ZYŚKO²,
PIOTR SKRZYPCZAK³, JÓZEF NICPOŃ¹, WALENTYNA MAZUREK², PRZEMYSŁAW RÓŻYCKI¹

Wykorzystanie inwazyjnego badania elektrofizjologicznego do diagnostyki arytmii w przebiegu nadczynności tarczycy na modelu zwierzęcym – doniesienie wstępne

Application of Invasive Electrophysiology Examination to Diagnose of Arrhythmias in Hyperthyroidism on Animal Model – Preliminary Report

¹ Katedra Chorób Wewnętrznych i Pasożytniczych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR we Wrocławiu

² Katedra i Klinika Kardiologii AM we Wrocławiu

³ Katedra i Klinika Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR we Wrocławiu

Streszczenie

Wprowadzenie. Nadczynność tarczycy jest stanem powodującym występowanie zaburzeń rytmu serca. Ich patomechanizm nie jest w pełni poznany. W nadczynności tarczycy u człowieka inwazyjnego badania elektrofizjologicznego nie wykonuje się z powodu ryzyka wyzwolenia groźnych dla życia arytmii.

Cel pracy. Wyjaśnienie mechanizmu powstawania arytmii w przebiegu nadczynności tarczycy oraz wstępnie określenie czasu działania proarytmicznego stanu nadczynności tarczycy.

Materiał i metody. Materiał do badań stanowiły 2 świni rasy Wielka Biała Zwisłoucha. Eksperymentalną nadczynność tarczycy wywołano, podając doustnie L-tyroksynę w dawce 20 µg/kg m.c. Inwazyjne badanie elektrofizjologiczne wykonano czterokrotnie u każdej ze świń: przed wywołaniem nadczynności tarczycy, dwukrotnie w stanie hipertyreozy oraz po 4 tygodniach od zaprzestania podawania hormonów tarczycy.

Wyniki. W stanie doświadczalnej nadczynności tarczycy u świni nastąpiło skrócenie okresu refrakcji przedsionków i komór. U badanego zwierzęcia opisane zmiany czasu refrakcji utrzymywały się w okresie 4 tygodni po zaprzestaniu stosowania hormonów tarczycy. Podczas ostatniego badania wywołano u świni oporne na defibrylację migotania komór. Zaobserwowano wzrost temperatury wewnętrznej ciała oraz zmniejszenie jej dobowych wahań. Wykonane badanie sekcyjne wykazało zwiększenie grubości mięśnia komory prawej i lewej u świni z doświadczalną nadczynnością tarczycy.

Wnioski. Eksperymentalna nadczynność tarczycy powoduje skrócenie okresu refrakcji przedsionków i komór oraz indukuje przerost mięśnia sercowego. Wpływ stanu eksperymentalnej nadczynności tarczycy na występowanie migotania komór wymaga dalszych badań (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 6, 1145–1150).

Słowa kluczowe: badanie elektrofizjologiczne, nadczynność tarczycy, świnia.

Abstract

Background. Hyperthyroidism is a state predisposing to arrhythmias. Their pathomechanism is not fully understood. The invasive electrophysiological examination in hyperthyroidism in human is not carried out due of the risk of triggering potentially fatal arrhythmias.

Objectives. Explanation of the mechanism of arrhythmias in hyperthyroidism and the evaluation of the time-related proarrhythmic properties of hyperthyroidism.

Material and Methods. The study material included two swine of the Wielka Biała Zwisłoucha breed. The experimental hyperthyroidism was produced by administering oral L-thyroxine in dose 20 µg/kg. The invasive electrophysiology examination was carried out 4 times in each swine: before hyperthyroid state, twice during hyperthyroidism and 4 weeks after the administration of thyroid hormones has been stopped.

Results. The atrial and ventricle refraction time was shortened in hyperthyroidism. The changes in ventricular and atrial refractory period persisted for 4 weeks in the experimental animal after the administration of the thyroid hormones has been stopped. During the last study session the programmed ventricular stimulation induced ventricular fibrillation resistant to the therapy. The autopsy revealed the increased thickness of the right and left heart ventricle muscles in swine with the experimental hyperthyroidism. The authors observed the decrease in 24-hour variability of rectal temperature and the higher rectal temperature.

Conclusions. The experimental hyperthyroidism leads to the shortening atrial and ventricular refractory period and causes left and right ventricular hypertrophy. The impact of experimental hyperthyroidism on the incidence of ventricular fibrillation calls for further research (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 6, 1145–1150).

Key words: invasive electrophysiological study, hyperthyroidism, swine.

Nadczynność tarczycy jest stanem predysponującym do występowania zaburzeń rytmu serca. Najczęściej występują arytmie nadkomorowe, zwłaszcza napady migotania przedsionków. Mogą występować również złożone komorowe zaburzenia rytmu serca przybierające postać „burzy elektrycznej” [1]. Ich patomechanizm nie jest w pełni poznany. W nadczynności tarczycy u człowieka nie wykonuje się inwazyjnego badania elektrofizjologicznego z powodu ryzyka wyzwolenia groźnych dla życia arytmii. Wiadomo, że po zmniejszeniu stężenia hormonów tarczycy zmniejsza się również częstość występowania zaburzeń rytmu. Za przyczynę powodującą częstsze występowanie przedsionkowych zaburzeń rytmu przyjmuje się skrócenie okresu refrakcji mięśnia przedsionków oraz nasilenie jej niejednorodności [2]. Nie wiadomo jednak, czy takie zjawisko występuje również w mięśniu komór oraz czy po normalizacji stężenia hormonów tarczycy zmiany elektrofizjologiczne utrzymują się.

Celem badania była ocena mechanizmu powstawania arytmii w przebiegu eksperymentalnej nadczynności tarczycy oraz określenie czasu działania proarytmicznego stanu nadczynności tarczycy na podstawie inwazyjnego badania elektrofizjologicznego.

Material i metody

Materiał do badań stanowiły dwie świny rasy Wielka Biała Zwisłoucha, wykastrowane samce, pochodzące z tego samego miotu. Doświadczalną nadczynność tarczycy wywołano, podając doustnie L-tyroksynę w postaci preparatu Eltroxin w dawce 20 µg/kg m.c. przez 8 tygodni. Inwazyjne badanie elektrofizjologiczne wykonano czterokrotnie u każdej ze świń. Badanie wstępne wykonano u 12-tygodniowych warchlaków o masie ciała 18 i 20 kg. Następne badania przeprowadzono po 4 i 8 tygodniach podawania L-tyroksyny jednemu z warchlaków. Ostatnie, czwarte badanie wykonano w 4 tygodnie od zaprzestania podawania L-tyroksyny i powrotu stężenia hormonów do sta-

nu prawidłowego. Jednocześnie wykonywano inwazyjne badania elektrofizjologiczne u drugiej świni, która była zwierzęciem kontrolnym. Protokół badania elektrofizjologicznego serca obejmował: oznaczenie czasu refrakcji przedsionków i komór na rytmie własnym, oznaczenie czasu refrakcji przedsionków i komór na 4 częstotliwościach rytmu narzuconego, oznaczenie punktu Wenckebacha oraz czasu powrotu rytmu zatokowego. Elektrode czterobiegunową wprowadzano przez żyłę szyjną wewnętrzną; po uwidocznieniu przebiegu żyły w obrębie mięśnia mostkowo-głowowego, zmodyfikowaną metodą Seldingera, pod kontrolą echokardiografii przezklatkowej oraz potencjałów z wnętrza serca elektrodę umieszczano w prawym przedsionku i prawej komorze. Badanie elektrofizjologiczne przeprowadzono w znieczuleniu ogólnym infuzyjnym pentobarbitem (Vetbutal firmy Biowet, Puławy), po premedykacji ketaminą i azaperonem (Bioketan firmy Vetoquinol + Stresnil firmy Janssen Animal Health BVBA). Po zakończeniu badania podawano doustnie 100 j.m./kg m.c. heparyny niefrakcjonowanej w celu zmniejszenia ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych oraz podskórnie antybiotyk o szerokim zakresie i przedłużonym czasie działania (Shotapen firmy Virbac Sante Animale).

Podczas badań gotowy do użycia był defibrylator z impulsem jednofazowym o standardowym zakresie energii 1-360 J.

Temperaturę wewnętrzną ciała mierzono dwukrotnie w ciągu doby (8.00 i 20.00) w prostnicy termometrem elektronicznym. Pomiar wykonywano od dnia zakupu zwierząt, przez 4 tygodnie aklimatyzacji i do ostatniego dnia trwania doświadczenia. Przed każdym badaniem elektrofizjologicznym pobierano krew do: oznaczenia stężenia hormonów tarczycy (TSH, FT₃, FT₄), do badania morfologii (erytrocyty, hemoglobina, hematokryt, leukocyty, trombocyty) i biochemicznego krwi (GOT, GPT, mocznik, kreatynina, Na⁺, K⁺, Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻). Stężenia TSH, FT₃ i FT₄ oznaczono metodą radioimmunologiczną (RIA) za pomocą zestawu firmy CIS bio international (FT₃, FT₄) oraz zestawu firmy BIOSOURCE (TSH). Badanie

morfologii krwi wykonano za pomocą aparatu Animal Blood Cennter abc Vet firmy HoribaABX, badania biochemiczne krwi natomiast aparatami POINTE 180, CHIRON diagnostic 644 oraz Epoll 2. Po zakończeniu doświadczenia wykonano badanie autopsyjne, podczas którego dokonano pomiarów: wielkości lewego i prawego przedsionka, wielkości jam prawej i lewej komory, grubości mięśnia prawej i lewej komory oraz przegrody międzykomorowej, wielkości pierścienia zastawek przedsionkowo-komorowych, wielkości zastawki tętnicy płucnej i aorty.

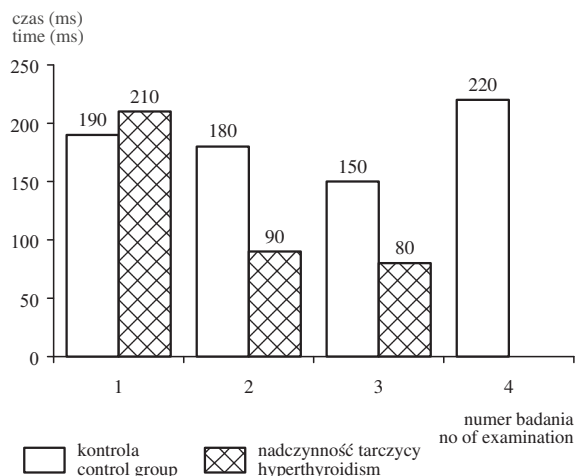
Na wykonanie badania uzyskano zgodę Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach (107/03).

Wyniki

Stan nadczynności tarczycy objawiał się zwiększeniem częstotliwości akcji serca, wzrostem temperatury ciała i zanikiem dobowych jej wahań oraz podwyższonymi stężeniami wolnych frakcji hormonów tarczycy. Wartości badanych wskaźników dla zwierzęcia z nadczynnością tarczycy oraz kontrolnego przedstawiono w tabeli 1.

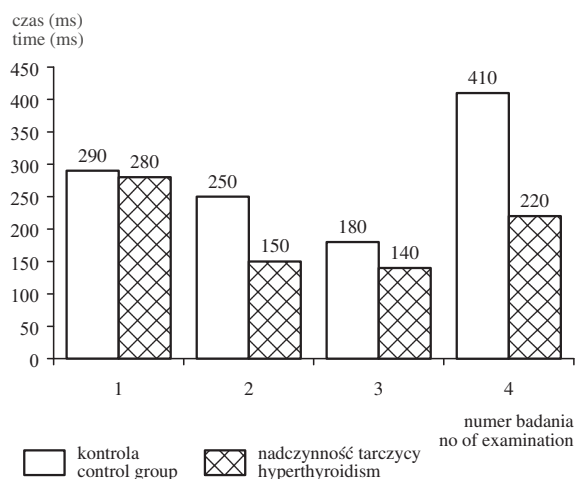
W stanie nadczynności tarczycy nastąpiło skrócenie okresów refrakcji przedsionków i komór w porównaniu z badaniem wstępnym zarówno na rytmie narzuconym, co przedstawiono na rycinach 1 i 2, jak i na rytmie własnym.

Jeszcze po 4 tygodniach od zaprzestania podawania hormonów tarczycy świni doświadczalnej okres refrakcji przedsionków i komór był krótszy w stosunku do badania wyjściowego. Podczas badania wywołano u tego zwierzęcia migotanie ko-



Ryc. 1. Okres refrakcji przedsionka na rytmie własnym

Fig. 1. Atrial refractory period on sinus rhythm



Ryc. 2. Okres refrakcji komory na rytmie własnym

Fig. 2. Ventricular refractory period on sinus rhythm

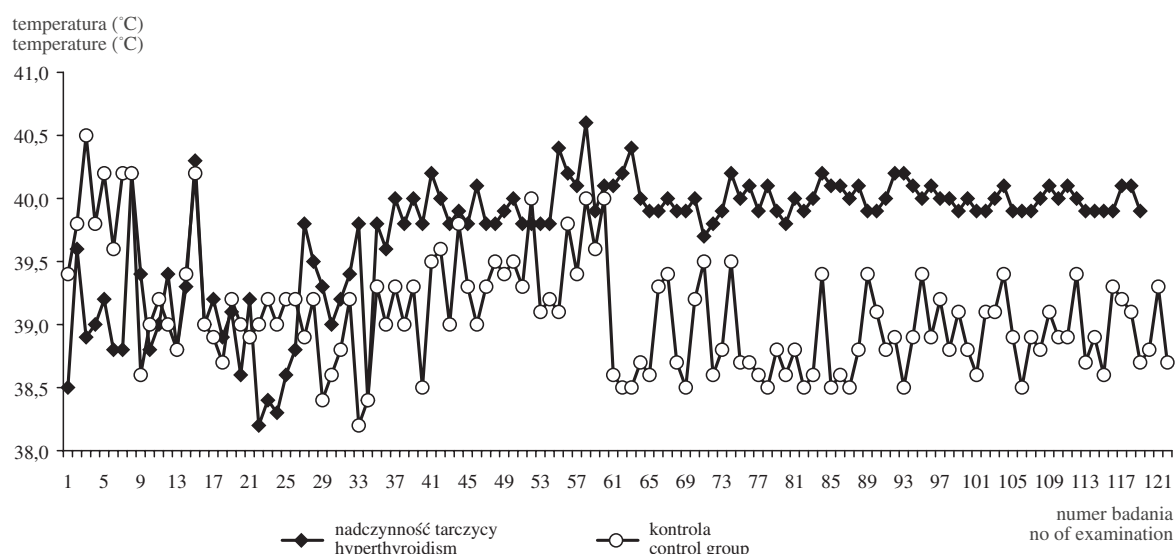
Tabela 1. Częstość rytmu serca i poziom FT₃ i FT₄ w kolejnych badaniach

Table 1. Heart rate and FT₃ i FT₄ level in other examination session

	HR/min (N)	HR/min (K)	FT ₃ (pmol/l) (N)	FT ₃ (pmol/l) (K)	FT ₄ (pmol/l) (N)	FT ₄ (pmol/l) (K)
Badanie wstępne (Preliminary research)	96	102	6,57	5,13	13,76	14,47
Po 4 tyg. podawania L-tyroksyny (4 weeks after the admini- stration of L-tyroxin)	133	94	9,69	4,38	52,77	8,37
Po 8 tyg. podawania L-tyroksyny (8 weeks after the admini- stration of L-tyroxin)	140	86	17,69	5,42	105,87	9,47
Po 4 tyg. od zaprzestania podawania L-tyroksyny (4 weeks the administration of L-tyroxin has been stopped)	90	60	8,86	6,12	26,21	11,21

N – świni z indukowaną nadczynnością tarczycy
K – świni kontrolna

N – swine with hyperthyroidism.
K – control.



Ryc. 3. Temperatura wewnętrzna ciała

Fig. 3. Rectal body temperature

mór odporne na defibrylację, które doprowadziło do jego śmierci.

Częstotliwość rytmu serca u świni z wywołaną eksperymentalnie nadczynnością tarczycy była większa niż u świni kontrolnej. Obniżyła się w ciągu 4 tygodni od zaprzestania podawania L-tyroksyny ze 140/min do 90/min. Mimo znacznego zmniejszenia częstotliwości akcji serca u świni z nadczynnością tarczycy, była ona jednak większa niż u świni kontrolnej, u której częstotliwość rytmu serca podczas ostatniego badania elektrofizjologicznego wynosiła 60/min.

U świni z nadczynnością tarczycy, w porównaniu ze świnią kontrolną, stwierdzono wyraźny wzrost temperatury wewnętrznej ciała oraz znaczne zmniejszenie jej dobowych wahań, co przedstawiono na rycinie 3.

Wskaźniki morfologii krwi (WBC średnio $11,6 \cdot 10^9/l$, RBC średnio $4,94 \cdot 10^{12}/l$, Hb średnio 7,8 mmol/l, Ht średnio 0,35 l/l), podstawowych oznaczeń biochemicznych (GOT średnio 67 U/l, GPT 27 U/l, mocznik 4,9 mmol/l, kreatynina średnio 171,0 $\mu\text{mol/l}$) oraz jonogramu (Na^+ średnio 146,0 mmol/l, K^+ średnio 4,05 mmol/l, Cl^- średnio 108 mmol/l, Mg^{2+} 1,04 mmol/l, Ca^{2+} średnio 2,6 mmol/l) były prawidłowe i porównywalne dla obu zwierząt podczas całego czasu trwania doświadczenia.

Wykonane u obu zwierząt badania sekcyjne wykazały, że wymiar zewnętrzny serca był większy u świni z eksperymentalną nadczynnością tarczycy, chociaż masa ciała w chwili śmierci była o 10 kg mniejsza niż zwierzęcia kontrolnego. U świni z nadczynnością tarczycy zaobserwowano wyraźne zmiany zwyrodnieniowe obu zastawek przedsionkowo-komorowych oraz pogrubienie ni-



Ryc. 4. Obraz zmian zwyrodnieniowych na zastawce mitralnej

Fig. 4. The picture of degeneration of mitral valve

ci ścięgniętych (ryc. 4). Stwierdzono zwiększenie grubości mięśnia ściany komory prawej i lewej u świni z doświadczalną nadczynnością tarczycy; grubość mięśnia komory prawej u świni kontrolnej wynosiła 6 mm, u świni doświadczalnej 10 mm, grubość mięśnia komory lewej u świni kontrolnej wynosiła 19 mm, u świni doświadczalnej 26 mm. Wielkość światła komór serca u obu zwierząt była zbliżona.

Omówienie

Stan nadczynności tarczycy charakteryzuje się wzmożeniem metabolizmu komórek i tkanek całego organizmu. W odniesieniu do mięśnia sercowego i układu bodźcoprzewodzącego serca nadczynność tarczycy przejawia się skróceniem potencjału

czynnościowego, zwłaszcza jego fazy 2 i 3. Przyspieszenie powolnej spoczynkowej depolaryzacji jest przyczyną występowania jednego z głównych objawów nadczynności tarczycy, jaką jest tachykardia zatokowa [3].

Zmiana właściwości elektrofizjologicznych kardiomiocytów w następstwie nadczynności tarczycy jest wynikiem wpływu nadmiaru hormonów tarczycy na ekspresję i funkcję kanałów błonowych tych komórek. Pod wpływem hormonów tarczycy następuje wzrost gęstości receptorów β_1 -adrenergicznych przez zwiększoną ekspresję genów i wzrost ilości mRNA dla tych receptorów [4]. Rezultatem tego jest zwiększenie wrażliwości kardiomiocytów na aminy katecholowe i stymulację współczulną. Stężenie katecholamin we krwi jest niezmienione, a nawet obniża się w nadczynności tarczycy. Dodatkowo dochodzi do zmian w funkcjonowaniu kanałów jonowych. Następuje stopniowy wzrost aktywacji inaktywowanych kanałów sodowych [5]. Powoduje to zmiany czynności kanałów potasowych i wapniowych [6]. Zwiększa się także przezbłonowy napływ wapnia do kardiomiocytów, co jest związane ze wzrostem ekspresji genu dla Ca^{++} ATP-azy. Podstawą mechanizmu tego zjawiska jest zmiana transkrypcji genów pod wpływem T_4 . Tachykardia u pacjentów z nadczynnością tarczycy jest wypadkową zwiększenia tempa rozkurczowej depolaryzacji i skrócenia się potencjału czynnościowego w komórkach węzła zatokowego. Skłonność do rozwoju migotania przedsionków może być zależna od skrócenia okresu refrakcji w komórkach przedsionka. Skrócenie czasu trwania potencjału czynnościowego jest jednoznaczne ze skróceniem okresu refrakcji komórki. Zależność ta nie musi dotyczyć jednak całej tkanki; pomimo krótszej refrakcji poszczególnych komórek mogą być istotne procesy odpowiedzialne za zwiększenie niejednorodności refrakcji (tj. zwiększenie jej dyspersji). W odniesieniu do mięśnia komór może się to przejawiać względnym lub bezwzględnym wydłużeniem odstępu QT w elektrokardiogramie powierzchniowym [7].

Obserwowane powszechnie zaburzenia rytmu serca w nadczynności tarczycy dotyczą zwykle przedsionków. Poza tachykardią zatokową licznie występują przedwczesne pobudzenia przedsionkowe oraz napadowe i utrwalone migotanie przedsionków. U chorych na nadczynność tarczycy stwierdzano nasilenie automatyzmu ektopicznego w miocytach żył płucnych i połączeń przedsionkowo-płucnych [8].

Wpływ nadczynności tarczycy na czynność skurczową pojedynczego kardiomiocyta jest wypadkową wielu złożonych procesów. Dotyczy to bezpośredniego wpływu hormonów tarczycy na

błonowo-jądrowe przetwarzanie sygnału w odniesieniu do wytwarzania białek aparatu kurczliwego (zwiększenie ekspresji genu dla łańcucha ciężkiego α miozyny), zmian wrażliwości białek kurczliwych na jony wapnia oraz zwiększenia dostępności jonów wapnia w cytoplazmie. Zmienia się ponadto reaktywność kardiomiocytów na aminy katecholowe oraz hormony troficzne (np. insulinę), co jest związane z wpływami błonowymi i jądrowymi [9]. Stan nadczynności tarczycy wpływa na hemodynamikę ogólnoustrojową. W nadczynności tarczycy stwierdza się zmniejszony opór obwodowy, krążenie hiperkinetyczne ze zwiększoną objętością minutową, zwiększenie kurczliwości miokardium. Elektrofizjologiczny skutek ewentualnego przerostu kardiomiocytów w tych warunkach nie świadczy jeszcze o potencjalnym wpływie proarytmicznym nadczynności tarczycy, co jednak nie musi odnosić się do zmian w podścielisku (przedziale pozamiocytowym). W przebiegu nadczynności tarczycy może nastąpić wapnienie kardiomiocytów [10]. Opisano również zmiany martwicze w przebiegu długotrwałego skurczu niezmiennych naczyń wieńcowych. W stanie nadczynności tarczycy opisywano rozwój zastoinowej niewydolności serca u chorych, w tym u dzieci, bez wcześniejszej organicznej choroby serca. Na modelu zwierzęcym uzyskano rozwój niewydolności serca po jednorazowym podaniu T_4 [11].

Bezpośrednie porównywanie okresów refrakcji komór i przedsionków u tego samego zwierzęcia w okresie rozwojowym zwykle nie jest możliwe. W czasie wzrastania zwierzęcia następuje wydłużenie obu wartości, co należy tłumaczyć zarówno powiększaniem się wymiarów serca, zwiększaniem zawartości przedziału pozamiocytowego, jak i zmniejszaniem częstotliwości rytmu serca. Badane zwierzęta pochodziły z jednego miotu, a wyjściowe okresy refrakcji komór i przedsionków były bardzo podobne. Obserwowane w kolejnych badaniach różnice należy zatem przypisać bezpośredniemu oddziaływaniu stanu nadczynności tarczycy na właściwości elektrofizjologiczne kardiomiocytów.

Opisane zmiany właściwości elektrofizjologicznych nie wpłynęły w badaniu własnym na nasilenie potencjału arytmogennego u świni z nadczynnością tarczycy, z wyjątkiem ostatniego badania EPS, gdy wyindukowano migotanie komór. Poza indywidualną wrażliwością osobniczą, należy brać pod uwagę to, że badanie wykonano w okresie rozwojowym, a więc u zwierząt młodych. Opisywane w medycynie człowieka zależności, np. migotania przedsionków od występowania nadczynności tarczycy, dotyczą zwykle chorych w średnim i starszym wieku, podczas gdy nawet u osób bez istotnej patologii serca (nadc-

śnienie tętnicze, choroba wieńcowa) są możliwe zmiany inwolucyjne dotyczące zwłaszcza podście-liska łącznotkanowego – istotne dla podtrzymania arytmii [12]. Wpływ stanu eksperymentalnej nad-czynności tarczycy na występowanie migotania komór wymaga dalszych badań.

Z dotychczasowych badań wynika, że: w sta-nie doświadczalnej nadczynności tarczycy u świni

nastąpiło skrócenie okresu refrakcji zarówno przedsionków, jak i komór. Opisane zmiany u zwierzęcia z wywołaną nadczynnością tarczycy utrzymywały się w jeszcze 4 tygodnie po zaprze-staniu podawania hormonów tarczycy. Stosowanie hormonów tarczycy indukowało przerost mięśnia obu komór serca.

Piśmiennictwo

- [1] **Presti CF, Hart RG:** Thyrotoxicosis, atrial fibrillation, and embolism, revisited. *Am Heart J* 1989, 117, 996–997.
- [2] **Komiya N, Isomoto S, Nakao K, Hayano M, Yano K:** Electrophysiological abnormalities of atria muscle in patients with paroxysmal atrial fibrillation associated with hyperthyroidism. *Clin Endocrinol* 2002, 56, 39–44.
- [3] **Franklyn JA, Gammage MD:** Thyroid hormones and the heart: biology and clinical implications of hyperthyroidism and its treatment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2000, 7, 275–300.
- [4] **Bahouth SW:** Thyroid hormones transcriptionally regulate the β_1 -adrenergic receptor gene in cultured ventricular myocyte. *J Biol Chem* 1991, 266, 15863–15869.
- [5] **Dudley SC, Baumgarten CM:** Bursting of cardiac sodium channels after acute exposure to 3,5,3'-triiodo-L-thyronine. *Circ Res* 1993, 73, 301–313.
- [6] **Shimoni Y, Severson DL:** Thyroid status and potassium currents in rat ventricular myocyte. *Am J Physiol* 1995, 268, 576–583.
- [7] **Colzani RM, Emdin M, Conforti F, Passino C, Scarlattini M, Iervasi G:** Hyperthyroidism is associated with lengthening of ventricular repolarization. *Clin Endocrinol* 2001, 55, 27–32.
- [8] **Chen YC, Chen SA, Chen YJ, Chang MS, Chan P, Lin CI:** Effects of thyroid hormone on the arrhythmogenic activity of pulmonary and cardiomyocytes. *J Am Coll Cardiol* 2002, 39, 366–372.
- [9] **Dillmann WH:** Thyroid hormones and the heart: Basic mechanistic and clinical issues. *Thyroid Today* 1996, 1, 1–5.
- [10] **Madej JA, Rotkiewicz T, Nozdryn-Płonicki Z:** Patologia szczegółowa zwierząt. Wydawnictwo UWM, Olsztyn 2000, 142.
- [11] **Braunwald E, Zipes DP, Libby P:** Heart disease. A textbook of cardiovascular medicine, 6th ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia 2001, 2157.
- [12] **Zyśko D, Gajek J:** Tarczycza a choroby układu krążenia. *Pol Merk Lek* 2004, 95, 411–414.

Adres do korespondencji:

Agnieszka Noszczyk-Nowak
Katedra Chorób Wewnętrznych i Pasożytniczych AR
Pl. Grunwaldzki 47
50-366 Wrocław
e-mail: agnieszka@poczta.onet.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 21.03.2005 r.
Po recenzji: 29.04.2005 r.
Zaakceptowano do druku: 13.05.2005 r.

Received: 21.03.2005
Revised: 29.04.2005
Accepted: 13.05.2005