

JANINA CZURYSZKIEWICZ-CYRANA

## Ocena skuteczności łączenia biomateriałów ze sterowaną regeneracją tkanek przyzębia na podstawie piśmiennictwa

### Estimation of Efficiency the Biomaterials Connection with Guided Tissue Regeneration on the Base of the Literature

Zakład Periodontologii Katedry Stomatologii Zachowawczej i Periodontologii PAM w Szczecinie

#### Streszczenie

Choroby przyzębia prowadzą do destrukcji tkanek, przede wszystkim cementu korzeniowego, ozębnej oraz kości wyrostka zębodołowego. Nielezione ubytki kości wyrostka zębodołowego zwykle prowadzą do resorpcji kości wyrostków zębodołowych w szczęcie i/lub w żuchwie i pogłębiania się zmian zapalnych w miękkich tkankach przyzębia. Dużym wyzwaniem dla lekarzy periodontologów jest leczenie utraconych na skutek periodontolizy tkanek przyzębia. W ostatnich latach dzięki rozwojowi badań nad biomateriałami i błonami regeneracyjnymi uzyskali możliwość wykorzystania ich do leczenia ubytków kostnych. Wiele badań dowodzi, że połączenie biomateriałów zapewnia lepsze wyniki kliniczne w porównaniu z zastosowaniem każdego z nich oddzielnie. Istnieją również doniesienia, w których opisuje się łączenie materiałów nie prowadzi do znaczącej poprawy w regeneracji tkanek. W artykule przedstawiono na podstawie piśmiennictwa wyniki badań u zwierząt i ludzi z wykorzystaniem techniki sterowanej regeneracji tkanek i biomateriałów (kość autologiczna, Bio-Oss, DFDBA, DBM), a także białek macicy szkliska i czynników wzrostu w regeneracji tkanek przyzębia. Połączenie jednej lub więcej metod obecnie dostępnych do regeneracji tkanek przyzębia stwarza możliwość uzyskania lepszych wyników klinicznych w porównaniu do zastosowania każdej metody osobno (**Dent. Med. Probl. 2004, 41, 3, 515–520**).

**Słowa kluczowe:** biomateriały, sterowana regeneracja tkanek, kieszonki kostne.

#### Abstract

Periodontitis diseases lead to destruction of tissues, in particular to the destruction of root cementum, periodontal ligament and alveolar bone. The results of the untreated dental bone defects could be alveolar bone resorption in jaw and/or mandibulae and the increasing of inflammable changes in soft tissues periodontium. For doctors, a big defiance is a treatment of destroyed periodontium tissues as result of periodontolisis. Due to investigation development over biomaterials and with regenerative barriers they have got possibility for used to treatments of osseous defects in recent years. Many researches proved that connections of biomaterials assure better clinical results in comparison with using each alone. There are also reports, which show no significant improvement in regeneration of tissues in spite of biomaterials connection. In this article, on the basis of the literature, the authors discuss the results of studies in animals and humans with using the technic guided tissue regeneration and biomaterials (autologous bone, Bio-Oss, DFDBA, DBM) and enamel matrix proteins and growth factors application in periodontal regeneration. The combination of one or more currently available techniques for periodontal regeneration has therefore the potential to enhance clinical results as compared to any of the techniques used alone (**Dent. Med. Probl. 2004, 41, 3, 515–520**).

**Key words:** biomaterials, guided tissue regeneration, infrabony pocket.

Rozwój zmian zapalnych w przyzębiu jako wynik odpowiedzi immunologicznej prowadzi do destrukcji tkanek, przede wszystkim przyczepu nabłonkowego, tkanki łącznej dziąsła, cementu korzeniowego, ozębnej oraz kości wyrostka zębodołowego.

Klinicznie charakteryzuje się to stanem zapalnym dziąsła, obecnością kieszonek przyzębnych i ruchomością zębów. Nielezione ubytki kości wyrostka zębodołowego prowadzą także do pogłębiania się zmian zapalnych w miękkich tkan-

kach przyzębia oraz dalszej resorpcji kości wyrostków zębodołowych w szczęcie i/lub w żuchwie.

Leczenie utraconych na skutek periodontolizy tkanek przyzębia jest dużym wyzwaniem dla lekarzy periodontologów, którzy w ostatnich latach, dzięki rozwojowi badań nad biomateriałami i błonami regeneracyjnymi, uzyskali możliwość ich wykorzystania do leczenia ubytków kostnych. Rozwinęła się technika operacyjna dająca możliwości regeneracji utraconych na skutek procesu zapalnego tkanek przyzębia. Jest to tzw. sterowana regeneracja tkanek (GTR – *Guided Tissue Regeneration*), która ma na celu odtworzenie poprzedniej struktury tkanek przyzębia, a co za tym idzie – także i funkcji przyzębia [1].

Złożoność procesów zachodzących podczas regeneracji przyzębia powoduje, że do odnowy tych tkanek są wykorzystywane różne materiały, które mogą stymulować powstawanie zarówno tkanek zmineralizowanych (cementu korzeniowego i kości wyrostka zębodołowego), jak i niezmineralizowanych (nowy przyczep łącznotkankowy, ozębna).

Biomateriały, dzięki właściwościom osteogenezy, osteoindukcji lub osteokondukcji, powodują powstanie nowej kości. Z licznych biomateriałów, stosowanych w leczeniu kieszonek przyzębnych w artykule zostanie przedstawiona użyteczność niektórych z nich: kości autologicznej pacjenta, kości uzyskanej z banku kostnego (demineralizowanej, liofilizowanej, suszonej kości – DFDBA, *demineralized freeze dried bone allograft*), zdemineralizowanej macierzy kości (DBM – *demineralized bone matrix*) oraz pochodzących od zwierząt (Bio-Oss®).

W metodzie sterowanej regeneracji tkanek (GTR) są wykorzystywane syntetyczne błony regeneracyjne nieresorbowalne i resorbowalne.

Do leczenia ubytków kostnych stosuje się również białka matrycy szkliva (amelogeniny) jako błony biologiczne, a także bogatopłytkową plazmę (PRP – *Platelet Rich Plasma*) z polipeptydowymi czynnikami wzrostu jako środek wspomagający regenerację tkanek.

W ostatnich latach do regeneracji tkanek przyzębia zastosowano kombinację dwóch lub więcej metod. Wiele badań dowodzi, że połączenie biomateriałów z GTR zapewnia lepsze wyniki kliniczne w porównaniu z zastosowaniem obu tych metod oddzielnie [1, 2], chociaż spotyka się również doniesienia, w których mimo zastosowania w leczeniu dwóch materiałów, nie uzyskano znaczącej poprawy w regeneracji tkanek [3–5].

Biomateriały te w sterowanej regeneracji tkanek najpierw doświadczalnie wykorzystywano u zwierząt [3, 4]. Becker et al. [3] w badaniach na psach oceniali materiał kostny – DFDBA w połą-

czeniu z nieresorbowalną błoną politetrafluoroetylenową – PTFE. Grupę kontrolną stanowiły psy, u których wykonano zabieg GTR tylko z błoną. Regeneracja kości w miejscach aplikacji DFDBA+PTFE wyniosła jedynie 75% wysokości uszkodzenia, a w miejscach leczonych samą błoną PTFE 80% wysokości uszkodzenia kości. W badaniu tym biomateriał nie spowodował większej regeneracji kostnej. Podobne wyniki uzyskali Mardas et al. [4], którzy u szczurów badali skuteczność zabiegu GTR z wykorzystaniem zdemineralizowanej kości – DBM z nieresorbowalną błoną PTFE w porównaniu z zastosowaniem samej błony. W mięśniu piersiowym szczurów umieszczali biomateriał oraz błonę PTFE w grupie testowanej, a samą błonę w grupie kontrolnej. W omawianych badaniach połączenie DBM i błony PTFE nie zapewniło dodatkowego wpływu na formowanie się kości.

Wiele biomateriałów służących do regeneracji tkanek przyzębia porównywano w badaniach u ludzi [2, 5–15].

Yukna et al. [6] uzyskali regenerację tkanek przyzębia po zastosowaniu preparatu ABM/P-15, który jest połączeniem naturalnej nieorganicznej macierzy hydroksyapatytowej pochodzenia bydłowego z syntetycznym, wiążącym komórki polipeptydem P-15. Preparat ten umieszczono w pionowym ubytku kostnym przy górnym bocznym lewym siekaczu. Po 6 miesiącach wykonano badanie histopatologiczne korzenia zęba wraz z otaczającymi tkankami. Stwierdzono w nim wytworzenie się nowego cementu korzeniowego i nowych włókien ozębnej oraz regenerację kości na cząsteczkach ABM/P-15. Uzyskano ponadto odnowę przyczepu łącznotkankowego o 2 mm (9–7 mm), zmniejszenie głębokości kieszonki przyzębnej z 5 do 3 mm. Nie zmieniła się recesja dziąsła, która pozostała na poziomie 4 mm. Nie odnotowano resorpcji korzenia zęba ani ankylozy.

Orsini et al. [7] porównywali leczenie kieszonek przyzębnych z zastosowaniem kości autologicznej i siarczanu wapnia (Capset®) w grupie badanej oraz kości autologicznej i błony bioresorbowalnej Bio-Gide® w grupie kontrolnej. W obu grupach po 6 miesiącach zanotowano poprawę parametrów klinicznych, a wyniki w obu grupach były zbliżone (tab. 1). Średnie zmniejszenie głębokości kieszonek przyzębnych wynosiło 4,42 mm (55%) – grupa badana i 4,33 mm (56%) – grupa kontrolna. Podobnie kształtowały się wartości dotyczące średniego uzysku przyczepu łącznotkankowego, który wyniósł 3,58 mm dla miejsc w grupie badanej, a w kieszonkach w grupie kontrolnej 3,57 mm. Podobne obserwacje prowadzili także Camelo et al. [2]. Leczyli ubytki kostne w przyzębiu z zastosowaniem materiału Bio-Oss w połączeniu z kola-

genową błoną bioresorbującą Bio-Gide u 2 pacjentów (grupa badana) oraz materiału Bio-Oss u 2 pacjentów (grupa kontrolna). Przeprowadzono kontrolne badania kliniczne wraz z oceną histopatologiczną zęba i otaczających tkanek. Znacząco klinicznie poprawę uzyskano w obu grupach. Badanie histologiczne ujawniło utworzenie nowego cementu korzeniowego z zakotwiczonymi włóknami kolagenowymi i uformowaną nową kością na powierzchni cząsteczek biomateriału Bio-Oss. Bardziej znaczący efekt regeneracji zanotowano w grupie leczonej Bio-Oss w połączeniu z błoną Bio-Gide. W grupie badanej u pierwszego pacjenta zanotowano odtworzenie nowego cementu na przestrzeni 7,0 mm (co stanowiło 100% głębokości ubytku kostnego), odnowę kości wyrostka zębodołowego żuchwy na wysokość 5,3 mm (25,7% regeneracji kości) i 40,5% – włókien ozębnej. U drugiego pacjenta uzyskano odtworzenie nowego cementu na przestrzeni 7,6 mm (100% głębokości kieszonki kostnej), odnowę kości wyrostka zębodołowego szczęki na wysokość 4,5 mm (5,2% regeneracji kości) i 63,4% odnowy włókien ozębnej. W grupie kontrolnej u pierwszego pacjenta uzyskano odtworzenie nowego cementu na przestrzeni 5,2 mm (69% głębokości ubytku kostnego), odnowę kości wyrostka zębodołowego szczęki na wysokość 4,8 mm (24,9% regeneracji kości) oraz 48,9% odnowy włókien ozębnej. U drugiego pacjenta zanotowano odtworzenie nowego cementu na przestrzeni 5,1 mm (85% głębokości kieszonki kostnej), odnowę kości wyrostka zębodołowego żuchwy na wysokość 4,2 mm (31,6% regeneracji kości) i 40,5% odnowy włókien ozębnej. Podobne badania przeprowadzili Nevins et al. [8], stosując u 2 pacjentów w grupie badanej: Bio-Oss Collagen® w połączeniu z błoną Bio-Gide, a w grupie kontrolnej u 2 pacjentów biomateriał Bio-Oss. Po 9 miesiącach uzyskano zmniejszenie głębokości kieszonki przyzębnych w grupie badanej o 6 mm i „uzysk” poziomu przyczepu łącznotkankowego w pierwszym przypadku wynoszący 6 mm, a w drugim 3 mm. W grupie kontrolnej zanotowano zmniejszenie głębokości kieszonki przyzębnych o 5 mm w pierwszym przypadku i o 6 mm w drugim. Uzysk poziomu przyczepu łącznotkankowego wynosił odpowiednio 5 i 7 mm. Wyniki badań histopatologicznych w obu grupach wykazały uformowany nowy przyczep łącznotkankowy i regenerację tkanek przyzębia. Banach i Dembowska [9] również stosowały technikę GTR z użyciem kombinacji błony bioresorbowalnej Bio-Gide i biomateriału Bio-Oss w chirurgicznym leczeniu ubytków tkanek przyzębia. Po roku od zabiegów stwierdziły redukcję głębokości kieszonki przyzębnych (GK) o 44,8%, średni „uzysk” przyczepu łącznotkankowego (CAL) o 37,9% oraz

radiologicznie odnowę kości wyrostka zębodołowego o 53,5% (tab. 1).

Trejo et al. [5] wykorzystali do leczenia przyzębnych ubytków kostnych kość DFDBA z błoną resorbowalną Guidor® w grupie badanej, a w grupie kontrolnej zastosowano tylko błonę Guidor. Obydwie procedury chirurgiczne spowodowały poprawę parametrów klinicznych po 6 i 12 miesiącach (tab. 1). W grupie badanej po 6 miesiącach głębokość kieszonki przyzębnych (GK) zmniejszyła się o 3,6 mm, a uzysk kliniczny przyczepu łącznotkankowego (CAL) wyniósł 2,7 mm. W grupie kontrolnej głębokość kieszonki przyzębnych zmniejszyła się o 4,0 mm, a uzysk przyczepu łącznotkankowego wyniósł 3,1 mm. Po 12 miesiącach zmiany wynosiły odpowiednio w grupie badanej GK 3,3 mm, CAL 2,3 mm, a w grupie kontrolnej GK 4,1 mm, CAL 3,2 mm. Recesja dziąsła w obu grupach wyniosła  $\leq 1,0$  mm. W badaniu tym nie wykazano istotnych różnic między zastosowanymi metodami leczenia. Po 12 miesiącach autorzy wykonali ponowny zabieg chirurgiczny w celu sprawdzenia stopnia regeneracji ubytków kostnych [5]. W grupie badanej uzyskano 3,72 mm odnowy kości wyrostka zębodołowego. W grupie kontrolnej regeneracja była większa i wyniosła 4,85 mm. Wyniki regeneracji nie były znacząco lepsze po dodaniu DFDBA do zabiegu sterowanej regeneracji tkanek.

Camargo et al. [1] do kombinacji bioresorbowalnej błony zaporowej Atrisorb® i biomateriału Bio-Oss jako czynnik wspomagający regenerację dodali bogatopłytkową plazmę z polipeptydowymi czynnikami wzrostu (PRP). Grupę badaną stanowili pacjenci z 13 dwuściennymi i 5 trójściennymi ubytkami kostnymi pionowymi, u których w leczeniu zastosowano połączenie PRP + Bio-Oss + Atrisorb, a w grupie kontrolnej wyłącznie błonę Atrisorb w 11 ubytkach dwuściennych i 7 trójściennych (tab. 1). Łączenie metod spowodowało istotnie większą regenerację tkanek przyzębia niż użycie samej błony. Wypełnienie defektu nową kością w grupie PRP/Bio-Oss/Atrisorb mieściło się w przedziale 4,66–4,78 mm, a w grupie kontrolnej odpowiednio 2,26–2,31 mm.

W ostatnich latach do leczenia ubytków kostnych wyrostków zębodołowych szczęki i żuchwy wykorzystuje się białka matrycy szklawa w preparacie Emdogain®, które biorą udział w tworzeniu cementu korzeniowego, kości i ozębnej. Ciekawych obserwacji dokonali Yukna et al. [10], badając histologicznie pobrany od 10 pacjentów materiał zębów wraz z otaczającymi tkankami po 6 miesiącach od zabiegu z wykorzystaniem preparatu Emdogain. W 3 preparatach ujawniono całkowitą regenerację cementu, kości wyrostka zębodołowego i włókien ozębnej, w innych 3 odtworzył

**Tabela 1.** Poprawa wskaźników klinicznych głębokości kieszonek przyzębnych (GK) i poziom przyczepu łącznotkankowego (CAL) po zastosowaniu różnych metod regeneracji tkanek przyzębia  
**Table 1.** Improvement of clinical parameters: periodontal pocket depth (PD) and clinical attachment level (CAL) after application of different methods of periodontal regeneration

Piśmiennictwo (References)	Porównywane materiały w leczeniu kieszzonek przyzębnych (Comparison of materials in treatment of periodontal pockets)	Pomiary wyjściowe (Measurement preoperative)		Pomiary po 6 miesiącach (Measurement after 6 month)		Pomiary po 12 miesiącach (Measurement after 12 month)	
		GK (PD) mm	CAL mm	GK (PD) mm	CAL mm	GK (PD) mm	CAL mm
Banach, Dembowska [9]	Bio-Oss + błona Bio-Gide	4.6	5.7		4.3	2.5	3.5
Sculean [11]	badana	11,3 ± 1,8 11,4 ± 2,2	12,1± 2,0 13,3 ± 2,3	5,6 ± 1,3 5,6 ± 1,3	9,1 ±1,5 10,1 ± 1,5	bd. bd.	bd. bd.
	kontrolna						
Trejo [5]	badana	7,34 ± 1,42	8,10 ±1,46	3,70 ± 0,77	5,37 ± 1,47	3,87 ± 0,79	5,70 ± 1,46
	kontrolna	7,93 ± 0,90	8,46 ± 1,62	3,94 ± 0,88	5,35 ± 1,25	3,80 ± 0,72	5,19 ± 1,43
Orsini [7]	badana	8,0 ± 1,28	8,83 ± 0,91 bd.	3,58 ± 0,51 p = 0,0022	5,25 ± 0,75 p = 0,0022	bd.	bd.
	kontrolna	7,75 ± 0,96	8,58 ± 1,31	3,41 ± 0,51 p = 0,0022	5,0 ± 0,85 p = 0,0022	bd.	bd.
Camargo [1]	badana	7,76–7,87	bd.	2,83– 2,89	bd.	bd.	bd.
	kontrolna	7,67–7,78	bd.	4,13– 4,16	bd.	bd.	bd.
Pietruska [12]	badana	7,8 ± 1,22	9,3 ±1,32	bd.	bd.	3,4 ± 0,9	5,8 ±1,16
	kontrolna	8,0 ± 2,22	9,8 ± 3,01	bd.	bd.	4,0 ± 2,2	6,8 ± 3,74

bd.– brak danych.

bd.– missing data.

się nowy przyczep łącznotkankowy (*new attachment*), natomiast w 4 preparatach stwierdzono wytworzenie się długiego przyczepu nabłonkowego. Autorzy nie stwierdzili resorpcji korzenia zębów ani ankylozy. Natomiast Sculean et al. [11] leczyli pionowe ubytki kostne występujące przy zębach przeznaczonych do ekstrakcji, w jednej grupie preparatem Emdogain, a w drugiej grupie stosowali bioresorbowalną błonę Resolut. Po 6 miesiącach dokonywali pomiarów głębokości kieszonek przyzębnych i poziomu przyczepu łącznotkankowego oraz przeprowadzili analizę histologiczną tkanek przyzębia. W grupie leczonej białkami matrycy szkliva odnotowali 2,6 mm ( $\pm 1$  mm) odnowę nowego przyczepu łącznotkankowego z nowym cementem i zakotwiczonymi włóknami kolagenowymi oraz regenerację kości wyrostka zębodołowego wynoszącą 0,9 mm ( $\pm 1$  mm), chociaż formowanie nowego przyczepu łącznotkankowego nie zawsze szło w parze z regeneracją kości. W grupie pacjentów, u których zastosowano tylko

błonę Resolut uzyskano 2,4 mm ( $\pm 1$  mm) nowego przyczepu łącznotkankowego oraz 2,1 mm ( $\pm 1$  mm) nowej kości wyrostka zębodołowego. W obu grupach nowo powstały cement korzeniowy miał przeważnie charakter komórkowy.

Pietruska [12] porównywała leczenie ubytków kostnych w przyzębiu z zastosowaniem połączenia Bio-Oss/Bio-Gide w jednej grupie pacjentów oraz białek matrycy szkliva w drugiej grupie (grupa kontrolna). Średnie wartości głębokości kieszonek przyzębnych (GK) i poziomu przyczepu łącznotkankowego (CAL) po 12 miesiącach w obu grupach znacząco się poprawiły (tab. 1). Podobnie kształtowały się średnie wartości parametrów radiologicznych ubytków kostnych.

Konieczne jest zatem dalsze prowadzenie badań nad skutecznością łączenia różnych metod regeneracji tkanek przyzębia, bowiem efektywne leczenie pozwala na zachowanie własnych zębów i rekonstrukcję narządu żucia.

## Piśmiennictwo

- [1] CAMARGO P. M., LEKOVIC V., WEINLAENDER M., VASILIC N., MADZAREVIC M., KENNEY E. B.: Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J. Periodont. Res.* 2002, 37, 300–306.
- [2] CAMELO M., NEVINS M. L., SCHENK R., SIMION M., RASPERINI G., LYNCH S. E., NEVINS M.: Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss and Bio-Gide. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 1998, 18, 321–331.
- [3] BECKER W., SCHECK R., HIGUCHI K., LEKHOLM U., BECKER B.: Variations in bone regeneration adjacent to implants augmented with barrier membranes alone or with demineralized freeze-dried bone or autologous grafts: a study in dogs. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants* 1995, 10, 143–154.
- [4] MARDAS N., KOSTOPOULOS L., STAVROPOULOS A., KARRING T.: Osteogenesis by guided tissue regeneration and demineralized bone matrix. *J. Clin. Periodontol.* 2003, 30, 176–183.
- [5] TREJO P., WELTMAN R., CAFFESSE R.: Treatment of intraosseous defect with bioabsorbable barriers alone or in combination with decalcified freeze-dried bone allograft: a randomized clinical trial. *J. Periodontol.* 2000, 71, 1852–1861.
- [6] YUKNA R. A., SALINAS T. J., CARR R. F.: Periodontal regeneration following use ABM/ P-15: a case report. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 2002, 22, 146–155.
- [7] ORSINI M., ORSINI G., BENLLOCH D., ARANDA J. J., LAZARO P., SANZ M., DE-LUCA M., PIATTELLI A.: Comparison of calcium sulfate and autogenous bone graft to bioabsorbable membranes plus autogenous bone graft in the treatment of intrabony periodontal defects: a split mouth study. *J. Periodontol.* 2001, 72, 296–302.
- [8] NEVINS M. L., CAMELO M., LYNCH S., SCHENK R., NEVINS M.: Evaluation of periodontal regeneration following grafting intrabony defects with Bio-Oss collagen: a human histologic report. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 2003, 23, 9–17.
- [9] BANACH J., DEMBOWSKA E.: Kliniczno-radiologiczna ocena sterowanej regeneracji tkanek z użyciem kolagenowych błon resorbowalnych. *Magazyn Stomat.* 1997, 7, 10, 12–16.
- [10] YUKNA R. A., MELLONIG J. T.: Histologic evaluation of periodontal healing in humans following regenerative therapy with enamel matrix derivative. A 10-case series. *J. Periodontol.* 2000, 71, 752–759.
- [11] SCULEAN A., DONOS N., WINDISH P., BRECX M., GERA I., REICH E., KARRING T.: Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. *J. Periodontal. Res.* 1999, 34, 310–322.
- [12] PIETRUSKA M.: Kliniczna i radiologiczna ocena wybranych technik regeneracyjnych w leczeniu przyzębnych ubytków kostnych. *Quintessence. Periodontologia – Implanty* 2002, tom 1, 41–45.



**Adres do korespondencji:**

Janina Czuryśzkiewicz-Cyryna  
Zakład Periodontologii Katedry Stomatologii Zachowawczej i Periodontologii PAM  
ul. Powstańców Wielkopolskich 72B  
70-111 Szczecin

Praca wpłynęła do Redakcji: 13.05.2004 r.

Po recenzji: 27.05.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 16.06.2004 r.

Received: 13.05.2004

Revised: 27.05.2004

Accepted: 16.06.2004