

KINGA BELOWSKA-BIEŃ¹, ZYGMUNT ZDROJEWICZ²

Phthalates – Structure, Activity, Clinical Meaning

Ftalany – budowa, działanie, znaczenie kliniczne

¹ Klinika Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego AM we Wrocławiu

² Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami AM we Wrocławiu

Streszczenie

Ftalany są czynnikami toksycznymi wobec procesów rozwoju i rozmnażania u zwierząt. Są powszechnie używane jako plastyfikatory w produkcji materiałów opartych na PCV i środków medycznych: opakowań preparatów krwi, urządzeń do hemodializy, zgłębników nosowo-żołądkowych i innych. Podejrzewa się, że ftalany zakłócają funkcję układu wewnątrzwydzielniczego, szczególnie przez efekt estrogenopodobny. Ekspozycja na ftalany samców szczurów w czasie życia płodowego powoduje zmiany w obrębie jąder analogiczne do zespołu dysgenetycznego u ludzi. Ftalany powodują spadek stężenia insuliny i kortyzonu w surowicy krwi oraz zawartości glikogenu w wątrobie, a także wzrost stężenia glukozy we krwi oraz T3 i T4 w surowicy. Suplementacja witaminy E zapobiega szkodliwym efektom indukowanym przez ftalany u samic szczurów (*Adv Clin Exp Med* 2006, 15, 4, 677–681).

Słowa kluczowe: ftalany.

Abstract

Phthalates are developmental and reproductive toxicants in animals. They are widely used as plasticizers in the manufacture of PVC-based materials and medical devices: blood bags, hemodialysis tubing, nasogastric feeding tubes, and others. Phthalates are suspected to disrupt the endocrine system, especially through estrogenic effects. Fetal exposure of male rats to some phthalates induces testicular changes similar to testicular dysgenesis syndrome in humans. Phthalates induce decrease in serum insulin, cortisol and liver glycogen and increase in blood glucose, serum T3 and T4. Vitamin E administration prevents phthalate-induced harmful effects in female rats (*Adv Clin Exp Med* 2006, 15, 4, 677–681).

Key words: phthalates.

Ftalany są solami i estrami kwasu ftalowego stosowanymi do produkcji żywic ftalanowo-glicerynowych (głiftali), które są podstawą procesu produkcji lakierów i farb ftalowych, klejów (np. syntetycznej gumy arabskiej) oraz laminatów [1]. Ftalany są powszechnie wykorzystywane przy produkcji plastików, substancji ułatwiających smarowanie, rozpuszczalników, a także w kosmetykach (m.in. dezodorantach, lakierach do paznokci, perfumach, szamponach) oraz foliach do pakowania żywności i zabawkach dla dzieci. Ftalany dodawane do plastików z polichlorkiem winylu (PVC) czynią je bardziej miękkimi i elastycznymi.

Ftalany mogą uwalniać się z produktów, do których były dodawane, stanowiąc źródło skażenia środowiska naturalnego, a szczególnie środowiska wodnego [2–3]. Niektóre ftalany (EDCSs) znajdujące się w przedmiotach codziennego użyt-

ku uznaje się za związki zaburzające działanie hormonów (*endocrine disrupting compounds*).

Ftalany bazują na bezwodniku kwasu ftalowego i innych typach alkoholi (od butanolu do tridekanolu), które różnią się liczbą atomów węgla w łańcuchu. Najczęściej stosuje się ftalan di-2-etyloheksyloxy, dioktyloxy (DEHP, DOP), a także ftalan diizononyloxy (DINP), diizodecyloxy (DIDP), diizobutyloxy (DIBP), di-n-butyloxy (DBP) oraz benzobutyloxy (BBP) [4]. Ftalany zawierające najmniejszą liczbę atomów węgla uważa się za najważniejsze EDCSs.

Badania nad rolą ftalanów prowadzi się przede wszystkim na modelach zwierzęcych. Znaczną część badań poświęcono ftalanom jako czynnikom zanieczyszczającym środowisko naturalne i problemom ich biodegradacji oraz kumulacji w organizmach żyjących w wodzie. Ten zakres doświad-

czeń zdominowali badacze japońscy. Nieliczne wnioski dotyczące wpływu ftalanów na ludzki organizm wynikają z analizy wskaźników łatwo podlegających ocenie u osobników narażonych na minimalne dawki ftalanów pochodzących z przedmiotów codziennego użytku lub sprzętu medycznego. Celem tej pracy jest przedstawienie wyników wybranych badań z ostatnich lat.

Uważa się, że EDCSs stosunkowo łatwo ulegają biodegradacji, ale niektóre badania świadczą o tym, że ich zawartość może być duża nawet w wodach wypuszczanych z oczyszczalni ścieków [5]. Szczególnie duże stężenia ma ftalan di-n-butyłowy, di-izo-butyłowy i dioktyłowy.

Badania na modelu zwierzęcym wykazały, że doustne przyjmowanie DEHP ma niekorzystny wpływ na funkcje rozrodcze, ale jeszcze większą toksyczność ma DEHP przyjmowany w postaci inhalacji [6].

Siła działania ftalanów jako EDCSs zależy od ich powinowactwa do receptorów estrogenowych i androgenowych. Wykazano, że zmiana aktywności tych receptorów zależy od długości łańcucha węglowego danego ftalanu [7].

Ftalan di-n-butyłowy (DBP) jest powszechnie występującym związkiem zanieczyszczającym środowisko. Jego głównym metabolitem jest ftalan mono-butyłowy, którego obecność stwierdzano również w tkankach ludzkich. DBP jest uważany za jeden z najważniejszych czynników odpowiedzialnych za zmniejszanie się liczby płazów na świecie. Wykazano, że DBP w bardzo małych dawkach (0,1; 0,5; 1,0; 5,0 i 10,0 ppm DBP) powoduje u zwierząt znaczące nieprawidłowości w rozwoju wewnętrznych narządów płciowych (brak gonad, niedorozwój nasieniowodów, zmniejszenie liczby komórek płciowych, wakuolizacja cytoplazmy komórek Sertolego, nacieki limfocytów, ścięczenie błon podstawnych) [8].

DEHP jest szeroko rozpowszechniony w środowisku, a obciążenie człowieka wynika także z jego powszechnego użycia w medycynie (opakowania preparatów krwi, worki z płynami dializacyjnymi, zgłębniki żołądkowe, wenflony) [9]. Długotrwała ekspozycja na DEHP powoduje u szczurów wzrost stężenia LH, testosteronu i 17-beta estradiolu o ponad 50%, a także zwiększa proliferację komórek Leydiga o 40–60%. DEHP zaburza rozwój męskiego układu rozrodczego u szczurów [10]. Pod jego wpływem dochodzi do zahamowania rozwoju wewnętrznych narządów rozrodczych, prawdopodobnie jednak nie jest to działanie związane z hamowaniem aktywności 5-alfa reduktazy. Sugeruje się, że podobnie jak DEHP mogą działać DEHA i DINP, które mają zbliżoną budowę chemiczną [11].

Narażenie na DEHP pochodzący z opakowań, w których przechowuje się krew i preparaty

krwiopochodne, powoduje u szczurów zmniejszenie stężenia insuliny i kortyzonu w surowicy, zmniejszenie ilości glikogenu wątrobowego oraz wzrost stężenia glukozy, T3 i T4 w surowicy [12]. Zmiany te mają charakter przejściowy i ustępują po zaprzestaniu ekspozycji na DEHP. Podobne zmiany biochemiczne obserwowano także w samej krwi przechowywanej w opakowaniach zawierających w swoim składzie DEHP. Obserwacji tych nie można prosto ekstrapolować na ludzi, tym niemniej przenikanie DEHP do preparatów przeznaczonych do transfuzji jest możliwe, a wielokrotne przetoczenia krwi mogą być szkodliwe ze względu na rosnące narażenie na DEHP.

Udział ftalanów i insulinopodobnego czynnika wzrostu (Insl3) w indukowaniu wad układu rozrodczego szczurów był przedmiotem badań McKinnella et al. [13]. Prawdopodobnie oba czynniki odgrywają rolę w powstawaniu częstej wady, jaką jest wnętrostwo. W celu wyjaśnienia roli Insl3 w tym procesie wytworzono przeciwciała przeciw Insl3, które pomogły w identyfikacji Insl3 w komórkach Leydiga. Metodami immunologicznymi wykazano silną ekspresję Insl3 około 17. i 19. dnia życia płodowego oraz od dnia 35. i później. W czasie dojrzewania płciowego reakcja z przeciwciałami była słaba. Narażenie na DBP w czasie życia płodowego powodowało wnętrostwo i zahamowanie ekspresji genu Insl3. Wykazano jednak, że narażenie na DBP zarówno w okresie płodowym, jak i w czasie dojrzewania powoduje znaczący spadek ilości Insl3, ale nie wykazano korelacji między tym spadkiem a zmianą pozycji jąder. Wilson et al. wykazali natomiast, że pod wpływem DEHP, DBP i BBP dochodzi do zahamowania syntezy testosteronu w komórkach Leydiga i zmniejszenia ekspresji genu Insl3, co predysponuje do wystąpienia wad układu rozrodczego u szczurów [14].

Duże dawki DBP prowadzą do gwałtownego, ale odwracalnego zmniejszenia ekspresji niektórych białek niezbędnych do transportu cholesterolu i syntezy steroidów w jądrach płodów szczurów [15]. Powoduje to zmniejszenie syntezy testosteronu i wynikające z tego konsekwencje.

DBP działa niekorzystnie nie tylko na rozwój narządów płciowych, ale też upośledza funkcję enzymów wątrobowych [16]. Weyde et al. podjęli próbę ustalenia, w jaki sposób ekspozycja na DBP wpływa na aktywność enzymów metabolizujących sterydy i jak DBP wpływa na ekspresję genów kodujących enzymy wątrobowe u płodów szczurów. Ciężarne samice szczurów otrzymywały doustnie 10, 50 lub 500 mg/kg m.c./d DBP przez 7 dni, po czym pobierano do badań próbki wątroby matki i płodu. W obu rodzajach materiału tkankowego zwierząt narażonych na największą

dawkę DBP stwierdzono znacznie zwiększoną ilość mRNA cytochromów CYP 2B1, 3A1 i 4A1. Narażenie na duże dawki DBP powodowało także zwiększenie ilości mRNA wątrobowej sulfotransferazy i UDP-glukuronylotransferazy u samic poddanych badaniu. Zwiększenie aktywności cytochromów 3A1 i 2B1 jest prawdopodobnie spowodowane pobudzeniem jądrowego receptora PXR (*pregnane X receptor*) i receptora CAR (*constitutive androstane receptor*). DBP pobudza oba te receptory, natomiast jego główny metabolit, ftalan monobutyłowy (MBP) nie daje takiej reakcji. Reakcje te potwierdzają, że DBP oddziałuje na kilka elementów układu utrzymującego homeostazę hormonów sterydowych i niektórych lipidów. 15-dniowe narażenie samców ryb *Danio rerio* (zeberka) na DBP powoduje proliferację peroksyosomów wątrobowych i wzrost aktywności oksydazy acetyloCoA [17].

Podawanie DBP ciężarnym samicom szczurów zaburza procesy dojrzewania płciowego ich potomstwa. Lee et al. poddali samice szczurów działaniu DBP w dawkach 20, 200, 2000 i 10 000 ppm od 15. dnia ciąży do 21. dnia życia ich potomstwa [18]. Narażenia na największą dawkę DBP spowodowało wyraźne nieprawidłowości anatomiczne u samców i jedynie nieznaczne opóźnienie dojrzewania płciowego u samic. Już najmniejsza dawka DBP powodowała u samców zaburzenia spermatogenezy, a u samic nieprawidłowości histologiczne w gruczołach piersiowych. U obu płci obserwowano także zaburzenia rozwoju komórek przysadki produkujących FSH, LH i PRL. Najważniejsze w tych badaniach wydaje się spostrzeżenie, że większość zmian indukowanych w jądrach miała charakter przejściowy, zmiany w gruczołach piersiowych natomiast nie ustępowały z czasem.

Ftalany mogą działać niekorzystnie także na organizmy żeńskie przez inicjację nowotworów hormonozależnych [19]. Przeprowadzono badanie z wykorzystaniem genów CaBP-9k (Calbindin-D9k), które zawierają element warunkujący prawidłowe działanie estrogenów, tzw. element odpowiedzialny za estrogeny (ERE – *estrogen response element*). Oznaczono tempo proliferacji ludzkich komórek raka piersi (w linii komórkowej MCF-7), a następnie poddano je działaniu 17-beta-estradolu, 17-alfa-estradolu, które zwiększyły tempo proliferacji. Taki sam efekt uzyskano, podając linię komórek nowotworowych 6-dniowemu działaniu ftalanów (BBP, DCHP, DEHP i DBP). Drugim etapem badań była ocena wpływu ftalanów (dawka 600 mg/kg m.c.) na ekspresję genu CaBP-9k w mięśniach macicy płodów szczurów. Ku zaskoczeniu badaczy nie wykazano niekorzystnego wpływu tych substancji na ekspresję analizowanego genu.

SERM – modulatory receptora estrogenowego – działają w niektórych narządach jak estrogeny, a EDCs mogą pełnić rolę SERM. Seidlova-Wuttke et al. zbadali powinowactwo wybranych EDCs do receptora estrogenowego alfa i beta zlokalizowanego w macicy, pochwie i kości samic szczurów po owariektomii. BP2 (benzofenon-2) wykazywał jednakowe powinowactwo do obu receptorów, podczas gdy BPA był bardziej selektywny w stosunku do receptora beta [20]. DBP wykazywał słabe powinowactwo do receptora beta i żadnego powinowactwa do receptora alfa. Tylko BP2 powodował wzrost masy mięśnia macicy, wzrost ilości składowej dopełniacza C3 i zahamowanie ekspresji genu receptora beta oraz działanie antyosteoporozytyczne w kości strzałki. Na podstawie badań wysnuto wnioski, że BPA i DBP nie wywierają czystego efektu estrogenowego, tak jak BP2.

Ftalany są aktywatorami PPARs (*peroxisome proliferator-activated receptors*), co może przyczynić się do rozwoju zmian hormonozależnych w narządach takich, jak: wątroba, gruczoł piersiowy czy tkanka tłuszczowa [21–22].

Podawanie witaminy E samicom szczurów narażonych na działanie DEHP zapobiega rozwojowi zmian degeneracyjnych w o.u.n. i tarczycy, spadkowi aktywności pompy sodowo-potasowej, spadkowi stężenia insuliny, kortyzolu i TSH oraz wzrostowi T3 i T4 [23]. Ta obserwacja otwiera dyskusję na temat potencjalnych korzyści z przyjmowania witaminy E przez pacjentów chorujących na talasemie, narażonych na DEHP zawarty w opakowaniach preparatów krwi w wyniku częstych transfuzji.

Duty et al. badali wpływ ftalanów na gospodarkę hormonalną 295 mężczyzn [24]. Analizie poddano stężenia metabolitów ftalanów wydalane z moczem i osoczowe stężenia wybranych hormonów płciowych i przysadkowych. Wykazano jedynie związek między stężeniem ftalanu mono-butyłowego a stężeniem inhibiny B i hormonu folikulo-tropowego, a stężenia pozostałych badanych hormonów (testosteronu, LH, globuliny wiążącej hormony) nie zmieniły się w oczekiwany sposób.

Badania 234 młodych ochotników z populacji szwedzkiej nie wykazały silnego związku między stopniem narażenia na ftalany a upośledzeniem funkcji rozrodczych [25]. Od mężczyzn pobrano próbki surowicy, moczu i nasienia. Wykonano spermogram, oznaczono stężenia hormonów płciowych i wybranych ftalanów (MEP, MEHP, MBP) oraz kwasu ftalowego w moczu. Nie wykazano znaczących związków między stężeniem MEHP i MBP a innymi badanymi wskaźnikami. Wykazano korelację między wysokim stężeniem MEP a nieprawidłowościami w spermogramie i niższym stężeniem LH. Wyniki tych badań nie są

całkowicie zgodne z wynikami uzyskiwanymi u zwierząt, co można tłumaczyć mniejszym narażeniem na ftalany i większą na nie odpornością.

Wydaje się, że narażenie człowieka na ftalany zawarte np. w urządzeniach medycznych nie jest tak szkodliwe, jak narażenie zwierząt na te substancje. Amerykanie podjęli próbę określenia odległych skutków narażenia na DEHP zawarty w membranach używanych do natleniania pozaustrojowego (ECMO – *extracorporeal membrane oxygenation*) [26]. W tym celu przebadano 13 chłopców i 6 dziewcząt w wieku 14–16 lat, którzy w okresie niemowlęcym byli poddani ECMO. Zanalizowano następujące wskaźniki: masę ciała, wzrost, obwód głowy i stopień dojrzałości płciowej według skali Tannera (u chłopców określono dodatkowo objętość jąder i długość prącia) a także

zbadano funkcję tarczycy, wątroby, nerek oraz stężenia estradiolu, testosteronu i FSH. Nie wykazano żadnych znaczących odchyłeń od normy, co sugeruje, że narażenie na DEHP pochodzący z błon do ECMO w okresie niemowlęcym nie powoduje odległych skutków.

Wiedza o ftalanach jest stale poszerzana. Nie ustalono jednoznacznie, czy powszechne zastosowanie tych związków i narażenie na nie jest całkowicie bezpieczne. Z pewnością warto zmniejszać zużycie ftalanów. Liczne rozporządzenia dotyczące dopuszczalnej zawartości tych związków w przedmiotach codziennego użytku, np. w zabawkach dziecięcych, świadczą o świadomości, że są to związki, które należy jeszcze dokładniej poznać i które nie są obojętne dla zdrowia.

Piśmiennictwo

- [1] **Brown D, Thompson RS:** Chemosphere 1982, 11, 4, 427.
- [2] **Brossa L, Marce RM, Borrull F, Pocurull E:** Occurrence of twenty-six endocrine-disrupting compounds in environmental water samples from Catalonia, Spain. Environ Toxicol Chem 2005, 24, 2, 261–267.
- [3] **Klamer HJ, Leonards PE, Lamoree MH, Villerius LA, Kerman JE, Bakker JF:** A chemical and toxicological profile of Dutch North Sea surface sediments. Chemosphere 2005, 58, 11, 1579–1587.
- [4] **Hulls AG:** Determination of the effects of Vestinol AH (DEHP) on the survival and reproduction of *Daphnia magna*. Final Report No DL-160, 1995.
- [5] **Wang Y, Hu W, Cao Z, Fu X, Zhu T:** Occurrence of endocrine-disrupting compounds in reclaimed water from Tianjin. Bioanal Chem. 2005, 383, 5, 857–863.
- [6] **Kurahashi N, Kondo T, Omura M, Umemura T, Ma M, Kishi R:** The effects of subacute inhalation of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the testes of prepubertal Wistar rats. J Occup Health 2005, 47, 5, 437–444.
- [7] **Takeuchi S, Iida M, Kobayashi S, Jin K, Matsuda T, Kojima H:** Differential effects of phthalate esters on transcriptional activities via human estrogen receptors alpha and beta, and androgen receptor. Toxicology 2005, 1, 210, 2–3, 223–233.
- [8] **Lee SK, Veeramachaneni DN:** Subchronic exposure to low concentrations of di-n-butyl phthalate disrupts spermatogenesis in *Xenopus laevis* frogs. Toxicol Sci 2005, 84, 2, 394–407.
- [9] **Akingbemi BT, Ge R, Klinefelter GR, Zirkin BR, Hardy MP:** Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. Proc Natl Acad Sci USA 2004, 20, 101, 3, 775–780.
- [10] **Stroheker T, Cabaton N, Nourdin G, Regnier JF, Lhuguenot JC, Chagnon MC:** Evaluation of anti-androgenic activity of di-(2-ethylhexyl)phthalate. Toxicology 2005, 1, 208, 1, 115–121.
- [11] **Borch J, Ladefoged O, Hass U, Vinggaard AM:** Steroidogenesis in fetal male rats is reduced by DEHP and DINP, but endocrine effects of DEHP are not modulated by DEHA in fetal, prepubertal and adult male rats. Reprod Toxicol 2004, 18, 1, 53–61.
- [12] **Gayathri NS, Dhanya CR, Indu AR, Kurup PA:** Changes in some hormones by low doses of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), a commonly used plasticizer in PVC blood storage bags & medical tubing. Indian J Med Res 2004, 119, 4, 139–144.
- [13] **McKinnell C, Sharpe RM, Mahood K, Hallmark N, Scott H, Ivell R, Staub C, Jegou B, Haag F, Koch-Nolte F, Hartung S:** Expression of insulin-like factor 3 protein in the rat testis during fetal and postnatal development and in relation to cryptorchidism induced by in utero exposure to di (n-Butyl) phthalate. Endocrinology 2005, 146, 10, 4536–4544.
- [14] **Wilson VS, Lambright C, Furr J, Ostby J, Wood C, Held G, Gray LE Jr.:** Phthalate ester-induced gubernacular lesions are associated with reduced *insl3* gene expression in the fetal rat testis. Toxicol Lett 2004, 2, 146, 3, 207–215.
- [15] **Thompson CJ, Ross SM, Gaido KW:** Di(n-butyl) phthalate impairs cholesterol transport and steroidogenesis in the fetal rat testis through a rapid and reversible mechanism. Endocrinology 2004, 145, 3, 1227–1237.
- [16] **Wyde ME, Kirwan SE, Zhang F, Laughter A, Hoffman HB, Bartolucci-Page E, Gaido KW, Yan B, You L:** Di-n-butyl phthalate activates constitutive androstane receptor and pregnane X receptor and enhances the expression of steroid-metabolizing enzymes in the liver of rat fetuses. Toxicol Sci 2005, 86, 2, 281–290.
- [17] **Ortiz-Zarragoitia M, Cajaraville MP:** Effects of selected xenoestrogens on liver peroxisomes, vitellogenin levels and spermatogenic cell proliferation in male zebrafish. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 2005, 141, 2, 133–144.
- [18] **Lee KY, Shibutani M, Takagi H, Kato N, Takigami S, Uneyama C, Hirose M:** Diverse developmental toxic-

- ty of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation. *Toxicology* 2004, 15, 203, 1–3, 221–238.
- [19] **Hong EJ, Ji YK, Choi KC, Manabe N, Jeung EB:** Conflict of estrogenic activity by various phthalates between in vitro and in vivo models related to the expression of Calbindin-D9k. *J Reprod Dev* 2005, 51, 2, 253–263.
- [20] **Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Wuttke W:** Pure estrogenic effect of benzophenone-2 (BP2) but not of bisphenol A (BPA) and dibutylphthalate (DBP) in uterus, vagina and bone. *Toxicology* 2004, 1, 205, 1–2, 103–112.
- [21] **Fan LQ, You L, Brown-Borg H, Brown S, Edwards RJ, Corton JC:** Regulation of phase I and phase II steroid metabolism enzymes by PPAR alpha activators. *Toxicology* 2004, 15, 204, 2–3, 109–121.
- [22] **Shipley JM, Waxman DJ:** Simultaneous, bidirectional inhibitory crosstalk between PPAR and STAT5b. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004, 15, 199, 3, 275–284.
- [23] **Dhanya CR, Gayathri NS, Mithra K, Nair KV, Kurup PA:** Vitamin E prevents deleterious effects of di (2-ethyl hexyl) phthalate, a plasticizer used in PVC blood storage bags. *Indian J Exp Biol* 2004, 42, 9, 871–875.
- [24] **Duty SM, Calafat AM, Silva MJ, Ryan L, Hauser R:** Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men. *Hum Reprod* 2005, 20, 3, 604–610.
- [25] **Jonsson BA, Richthoff J, Rylander L, Giwercman A, Hagmar L:** Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men. *Epidemiology* 2005, 16, 4, 487–493.
- [26] **Rais-Bahrami K, Nunez S, Revenis ME, Luban NL, Short BL:** Follow-up study of adolescents exposed to di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) as neonates on extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) support. *Environ Health Perspect* 2004, 112, 13, 1339–1340.

Adres do korespondencji:

Zygmunt Zdrojewicz
Katedra i Klinika Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami AM
Wybrzeże L. Pasteura 4
50-637 Wrocław

Conflict of interest: None declared

Praca wpłynęła do Redakcji: 13.12.2005 r.

Po recenzji: 17.05.2006 r.

Zaakceptowano do druku: 17.05.2006 r.

Received: 13.12.2005

Revised: 17.05.2006

Accepted: 17.05.2006