

## ОБЗОР / REVIEW

**ХОРЕЯ НА HUNTINGTON – ОБЩИ СВЕДЕНИЯ, КЛИНИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА И  
НАУЧЕН НАПРЕДЪК В ТЕРАПИЯТА**

## РЕЗЮМЕ

**ХОРЕЯ НА HUNTINGTON – ОБЩИ СВЕДЕНИЯ,  
КЛИНИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА И НАУЧЕН  
НАПРЕДЪК В ТЕРАПИЯТА***Е. Чорбаджиева<sup>1,2</sup>, И. Миланов<sup>1,2</sup>, В. Грозева<sup>1,2</sup>*<sup>1</sup> УМБАЛНП „Св. Наум“<sup>2</sup> МУ – София

## ABSTRACT

**HUNTINGTON'S CHOREA – REVIEW, CLINICAL  
CHARACTERISTICS, AND THERAPEUTIC  
ADVANCES***E. Chorbazhieva<sup>1,2</sup>, I. Milanov<sup>1,2</sup>, V. Grozeva<sup>1,2</sup>*<sup>1</sup> MHATNP St. Naum<sup>2</sup> Medical University – Sofia

Хореята на Huntington е наследствено, невродегенеративно заболяване, увреждащо базалните ганглии. Обикновено започва на средна възраст и прогресира до значима инвалидизация и летален изход за период от 15-30 години. Възрастта на възникване на заболяването може да варира от ранно детство до късна възраст. Причинява се от генна мутация в 4-та хромозома, която води до амплификация на повтори на тринуклеотида CAG с производство на патологичния белтък huntingtin. Клиничната картина включва хореичен синдром с неволеви, несистемни, разхвърляни движения в крайниците, главата и тялото, когнитивен спад и психиатрични симптоми. Заболяването е изключително инвалидизиращо за болните и техните близки, значително влошава качеството им на живот и за съжаление завършва с летален изход. Няма открито модифициращо болестта лечение, но усилията на учените са насочени към утвърждаване на съвременни терапии с антисенс олигонуклеотиди за регулиране количеството експресия на патологични мутантни протеини.

**Ключови думи:** хореичен синдром, значима инвалидизация, терапия с антисенс олигонуклеотиди

Huntington's chorea is a hereditary neurodegenerative disease involving the basal ganglia.

The disease starts usually at middle age and progresses to a significant invalidization and lethality for a period of 15-30 years. Age of onset may vary from early childhood to late age. The disease is caused by genetic mutation in the 4th chromosome, which leads to amplification of repeats of CAG nucleotide and production of the pathological protein called huntingtin. Clinically Huntington's disease is represented by choreic syndrome with jerky involuntary movements affecting the limbs, head and body, cognitive impairment and psychiatric symptoms. The disease causes great invalidization of patients and their family. It worsens significantly their quality of life and unfortunately it has a lethal end. Medicine that modifies the progress of this disease has not been discovered, yet. Nevertheless, scientific efforts engage modern therapies using antisense nucleotides to reduce the quantity of expressed mutant proteins.

**Key words:** Huntington's chorea, choreic syndrome, significant invalidization, antisense oligonucleotides therapy

**Определение:**

Хореята на Huntington е наследствено невродегенеративно заболяване, увреждащо базалните ганглии в мозъка. Обикновено започва на средна възраст и перогресира до значима инвалидизация и летален изход за период от 15-30 години. Възрастта на възникване на заболяването може да варира от ранно детство до късна възраст. Клиничната картина се състои от прогресивно развиващи се двигателни, когнитивни и психиатрични симптоми (1). В напредналите стадии на заболяването са представени и трите симптомни модалности, като всяка една може да е изразена в различна степен. Леки когнитивни и поведенчески нарушения могат да се появят години преди заболяването да бъде разпознато клинично, като лонгитудинално проучване на пре-симптомни болни с хорея на Huntington показва наличие на структурни МРТ изменения в стриатума поне 20 години преди установеното вероятно начало на заболяването. През последните години стана ясно, че хореята на Huntington се асоциира и с неврологична симптоматика, причинена не само от стриатума, както и със симптоми с не-неврологичен произход.

**Генетика:**

Хореята на Huntington се причинява от единична генна мутация, която е установена през 1993 год., като експанзия на повтори на тринуклеотида CAG в екзон 1 на гена *huntingtin*, в 4-та хромозома. Нормалният ген съдържа между 6 и 20 повтора на тринуклеотида CAG. Когато повторите надвишат 39, възниква заболяване. Повечето от болните имат повтори между 40-50, като обикновено още по-дългите повтори (>50) могат да настъпят и обикновено се асоциират с ювенилно начало на хореята на Huntington (Westphal вариант) (7). Хореята на Huntington е автосомно-доминантно заболяване със

100% пенетрантност при повтори над 39. Алели между 36 и 39 могат да имат вариабилна пенетрантност (13).

**Патогенеза:**

Макроскопски проучвания post mortem показват разширяване на латералните мозъчни вентрикули и дегенерация на стриатума. Двете основни ядра на неостриатума (n. caudatus и putamen) се свиват и атрофират, като n. caudatus се засяга по-рано и в по-голяма степен от putamen (25). Основно за поставяне на диагнозата е измерването на бикаугалния диаметър. На микроскопско ниво предоминантно се засяга основният клас проекционни неврони в стриатума, използващи най-вече инхибиторния невротрансмитер GABA (15, 3). Въпреки че стриатумът се счита за патоанатомичен субстрат на заболяването, други области като части от мозъчната кора, се засягат дори по-рано, още преди да са се появили първите симптоми на заболяването. Доказано е намаляване на GABA в хипокампусите и мозъчната кора (16). В напредналите стадии на болестта се установява широко разпространена корова атрофия. BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) също показва понижени нива при болни с хорея на Huntington (2).

Най-новите изследвания на клетъчно и оргanelно ниво в насока патогенеза на хореята на Huntington са показали лизозомна дисфункция. Счита се, че лизозомите са основните цитоплазмени органи, отговорни за разрушаването на непотребни и вредни субстанции от белтъци, липиди и захари. Процесът е известен като макроавтофагия и се счита, че нарушението му е причина за възникване на редица невродегенеративни заболявания като Паркинсонова болест, Латерална амиотрофична склероза, болест на Huntington и др. Чрез възстановяване на функциите на лизозомите и клетъчната

хомеостаза се цели да се постигне подобрене на симптомите и дори излекуване от редица заболявания. Тези хипотези са залегнали в преклинични и начални клинични фази на проучвания и широко се разработват през последните години. Счита се, че са бъдещето в лечението на невродегенеративните заболявания (6).

#### **Клинична характеристика:**

Основната изява на заболяването е хореиформената двигателна симптоматика. Тя се състои от неволеви, несистемни, „безцелни“ движения, обхващащи крайниците, тялото, главата, лицето и буко-оро-лингвалните области (1). Липсата на хореиформени движения се среща често при ювенилната форма, но те могат да липсват или да са представени в много лека степен и при начало на Huntington в по-късна възраст. Въпреки, че хореиформените движения са една от най-отчетливите характеристики на заболяването, много по-инвалидизиращи от нея са други двигателни феномени, като ригидност, брадикинезия, постурална нестабилност, апраксия и дистония, които също могат да са фенотипна изява на заболяването (10, 21). Очните движения са абнормни още в началото на заболяването, като увреждането прогресира до степен, че волевите следящи движения и сакадите могат да изчезнат напълно в късните стадии на заболяването. Речта често е неразбираема, дори в началните стадии и може да се съпътства от неволеви вокализации. Речта упада прогресивно, като започва да изисква усилия, става трудно разбираема до финалните стадии, в които повечето от пациентите рядко имат спонтанни вокализации, които често са неразбираеми и могат да достигнат дори до мутизъм. Въпреки че речевите промени са смятани за дизартрични в миналото, вече има доказателства, че полетата на речта също се засягат при хорея на Huntington. Обикновено се установява и

съпътстваща дисфагия, която прогресира до затруднено гълтане, повръщане и риск от аспирране, което е индикация за хранене чрез перкутанна ендоскопска гастростома (ПЕГ).

Когнитивният дефицит при заболяването се характеризира с дизекзекутивен синдром, нарушено внимание и редуцирана психомоторна скорост. Обикновено психиатричните и когнитивни аспекти на заболяването допринасят повече за страданието на близките, отколкото по-явните моторни симптоми (18).

Най-честата психиатрична манифестация включва депресия, тревожност, раздразнителност, гневни пристъпи, апатия, дезинхибиторни персеверации и obsесивно-компулсивни симптоми (24).

Някои допълнителни симптоми с хипоталамичен, ендокринен и метаболитен произход, често влошават общото състояние на болните с хорея на Huntington.

Хорейта на Huntington с начало в детска възраст може да протече по различен начин от тази при възрастните пациенти. Хорейта, като клинична изява, е представена в много по-лека степен, като може да липсва изобщо. Първоначалните симптоми могат да включват нарушение във вниманието и поведението, разсеяност, несправяне с училището, дистония, брадикинезия и понякога тремор. Често деца, които са били с добри оценки в училище, започват да влошават резултата си. Епилептичните пристъпи, които се срещат много рядко при възрастните пациенти, могат да се появят при ювенилната форма. Хорейта на Huntington с ювенилно начало обикновено има по-бърз ход на развитие и преживяемостта е по-малка от 15 години. Мнозинството от пациентите с ювенилно начало наследяват дефектния ген от засегнатия си баща. Ригидността и спастичността често се появяват още в началото на заболяването при децата. Тези

симптоми могат да затруднят походката, да причинят падания, да доведат до нуждата от използване на инвалиден стол. Дистонията може да включва извиване, накланяне, извъртане на врата (torticollis), опистотонус, както и извиване на стъпалата. Всички тези прояви биха могли да са симптоми на заболяването или да са резултат от невролептичното лечение. Епилепсията е изключително рядка при възрастните пациенти и доста по-често представена при тези, с ювенилно начало (30% от юношите с хорея на Huntington). Първият пристъп при пациент с хорея на Huntington обикновено не трябва да се интерпретира като епилепсия, тъй като е необходимо да се изключи друга неврологична причина (напр. субдурален хематом след падане). Клиничният подход при първи епилептичен пристъп включва обстоен преглед, лабораторни изследвания (за да се изключи инфекция или метаболитна причина), ЕЕГ и образно изследване. Лечението се основава на характеристиката на епилептичните пристъпи. При пациент с ювенилно начало на заболяването, миоклонична епилепсия или генерализирани пристъпи предполагат стартиране на лечение с валпроат. Трудно се постига добър контрол на пристъпите, обикновено след смяна на много медикаменти.

**Диагнозата** се базира най-вече на добре снета анамнеза, клинично и генетично изследване. Могат да се проведат някои диагностични изследвания в подкрепа на диагнозата и отхвърляне на други причини за състоянието:

1. *Неврофизиологични методи:* С най-голяма честота се използват Електромиографски методи (ЕМГ) – при хореичните движения могат да се намерят няколко типа неволеви мускулна активност от мускули агонисти-антагонисти, треморна активност, нарушен мигателен рефлекс, стартъл рефлекс. По-рядко и с недостатъчна информативност

могат да бъдат приложени електроенцефалография (ЕЕГ), евокирани потенциали (ЕП), транскраниална магнитна стимулация (ТМС), транскраниална дуплекс/доплерова сонография.

2. *Невроизобразяващи изследвания:* Компютърна томография (КТ), Ядрено-магнитен резонанс (ЯМР) – при хорейта на Huntington обикновено се наблюдава разширяване на латералните мозъчни вентрикули и дегенерация на стриатума, особено на п. caudatus (19, 20, 21). Не е изключено да се наблюдава и нормален образ. fMRI доказва изменения преди и след изява на първите симптоми (8). Може да се използва и позитронно-емисионна томография, но това са скъпоструващи изследвания и се използват главно за нуждите на клиничните проучвания. Образните изследвания се провеждат и с цел изключване на други заболявания и вторични причини за поява на хиперкинетичен синдром, пространство заемащи процеси и др.

3. *Лабораторни изследвания:* рутинно изследване на ПКК и биохимия – не се очакват отклонения в лабораторните показатели при тази група заболявания, ако синдромът не се дължи на друга етиологична причина. Напоследък се правят доста изследвания в търсене на серумни и ликворни биомаркери. Най-обещаващо в ликвор е изследването на mHtt, който е свързан с двигателните нарушения и когнитивния дефицит (4). От кръвните биомаркери с най-голяма диагностична стойност е изследването на NFL-neurofilament light protein. Стойностите му са в пряка корелация със степента на мозъчна атрофия, двигателния дефицит и когнитивния спад.

4. *Генетични изследвания:* Провеждат се с диагностична (при заболяли) или прогностична стой-

ност при роднини на заболял или по репродуктивни причини. Унаследяването на болестта е автосомно-доминантно. Хореята на Huntington се причинява от единична генна мутация, която е експанзия на повтори на тринуклеотидна CAG в екзон 1 на гена *huntingtin*, в 4-та хромозома.

В диференциалнодиагностично отношение се търсят заболявания, чиито симптоми са свързани с основните симптоми на хореята на Huntington. На първо място е спиноцеребеларната атаксия SCA 17 (26). Също така под внимание трябва да се вземат и други спиноцеребеларни атаксии от 1 до 3, както и Фридрайховата атаксия. Ако в клиничната картина присъстват епилептични припадъци, трябва да се изключи генторубропалидолизиева атрофия. При феритинопатия и невродегенерация от патологично натрупване на желязо могат да се наблюдават изменения на ЯМР наподобяващи на тези при хореята на Huntington. При заболяването невроакантоцитоза се наблюдават абнормни клетки-акантоцити в периферната кръв. Препоръчително е провеждане на кръвна натрипка за търсене на акантоцити. Сред Африканската популация най-разпространената причина за фенотипия на хореята на Huntington е Huntington's disease like syndrome 2 (HDL2) (9, 27). Изолиран хореичен синдром може да бъде предизвикан от различни увреди на стриатума, при хорея на бременността, системен лупус или антифосфолипиден синдром, тиреотоксикоза, полицитемия вера, постинфекциозен синдром, употреба на медикаменти (27).

**Лечение:** Все още няма открито модифициращо лечение на заболяването. Докато такава бъде установено, усилията са съсредоточени върху симптоматичната терапия и общите грижи за пациентите. Необходим е мултидисциплинарен подход, както и активното участие на близките и семей-

ствата на болните в лечебния процес. Леко изразената хорея обикновено не налага стартиране на лечение, тежката обаче изисква таква. Един от най-добрите медикаменти, които се използват в цял свят е Tetrabenazine (Xenazine, Nitoman). Той е одобрен за употреба от FDA през 2008 г. и се използва в редица страни по света. Прилага се също така за лечение на тардивни дискинезии, синдром на Tourette и хемибализъм. Представлява VMAT2 инхибитор, който намалява захващането на моноамините в синаптичните везикули и подпомага бързото метаболитно разграждане на допамина. Tetrabenazine в доза 12,5 мг три пъти дневно, обикновено е достатъчна за регулиране на хореята. Някои антипсихотици като Olanzapine, Quetiapine, Risperidone, Sulpride и Tiapride също са показали добър симптоматичен ефект. Нов медикамент в борбата с болестта е Deutetrabenazine с търговско наименование Austedo на фармацевтичната компания Teva. Позициониран е за регулиране на хореичните хиперкинезии, както и при тардивни дискинезии. Представлява модифицирана версия на Tetrabenazine като има по-дълъг плазмен полуживот и по-малко метаболитни трансформации. В клиничното проучване FIRST-HD, сравнен с плацебо, показва значително регулиране на хореичния синдром (11). Установено е, че може да увеличи риска от депресия, сънливост както и да предизвика суицидни намерения (17).

По отношение на невропротективните медикаменти са изследвани редица с евентуална потенциална невропротекция. Един такъв е коензим Q10. В проведено през 2001 г. клинично проучване, сравняващо коензим Q10 и Ramacemide (NMDA антагонист) при пациенти с ранна хорея на Huntington, не са съобщени клинично значими подобрения на симптомите за период от 30 месеца. Дори са съобщени някои странични ефекти като замаяване, повръщане и стомашен дискомфорт. Друга изпитвана субстан-

ция с евентуален невропротективен ефект е креатинът. Също не са открити позитивни резултати (23). Също така са провеждани проучвания с трансплантация на клетки от фетуси с противоречиви резултати (5, 14).

През последните 20 години са проведени над 100 клинични проучвания с медикаменти, повечето от тях с незадоволителен резултат (22) и прекратени през различни фази. Революционни се оказват проучвания, свързани с ДНК и РНК таргетни терапии посредством антисенс олигонуклеотиди (ASOs) или малки инхибиторни молекули. Антисенс олигонуклеотидите представляват векторни молекули, които се въвеждат в ДНК на гостоприемника и предотвратяват производството на патологичен белтък. Пренасят се от неинфекциозни вируси или други носители. В ход са изследвания във фаза 1b/2a на клинично проучване, обхващащо човешката популация. Вкарват се интратекално и допринасят за разрушаването на HTT mRNA. В клинични изпитвания с животни е доказана 80% ефективност, с трайно намаляване на нивото на патологичния белтък (12).

Нефармакологичните подходи са от голямо значение, особено по отношение на речта, гълтането и храненето. Физиотерапията и физическите упражнения също оказват своя положителен ефект върху симптоматиката. Комплексното използване на физикалните фактори при лечението на хорея на Huntington е качествено ново въздействие, което е способно не само да усили или отслаби влиянието на отделно взетия физичен фактор, но и да му придобие нови качества. В течение на един и същ ден се изпълняват няколко физикални фактора през определен времеви интервал и последователност между тях. Могат да бъдат прилагани топлинни процедури, електро-физиотерапевтични процедури, биофийдбек, лечебен масаж, постизометрична релаксация,

лечебна физкултура и др.

**Бъдеще:** Необходимо е активно търсене и установяване на биомаркери на заболяването във връзка с възрастта на стартиране на пре-симптомната фаза на заболяването, прогресията и евентуалното лечение на това инвалидизиращо заболяване.

Усилията на специалистите и организациите, занимаващи се с хорейта на Huntington през последните години, са насочени към по-гетайлното знание и разбиране на това деструктивно заболяване, което често засяга и млади индивиди. На това знание би могло да се базира разработването на нови лечения. Нарастващите познания в сферата на различните молекулярни, клетъчни и системни пътища, виновни за подлежащия дефицит при хорейта на Huntington, могат да доведат до бъдещи открития на още по-задоволителни симптоматични терапии и модифициращи хода на заболяването лечения. Лечебните подходи са насочени към достъпването на молекули, като анти-сенс олигонуклеотиди за регулиране количеството експресия на токсичните мутантни протеини. Потенциални модифициращи хода на заболяването агенти, като HDAC инхибитори и нефармакологични стратегии, като прилагането на разтежни фактори, дълбока мозъчна стимулация, двигателна и когнитивна рехабилитация, както и клетъчно замествителна терапия (индуцирана плурипотентна терапевтична технология със стволови клетки), са бъдещите направления за справяне с това невродегенеративно заболяване.

#### Литература:

1. Andrich, J., Saft, C., Ostholt, N., Müller, T. Complex movement behaviour and progression of Huntington's disease. *Neurosci. Lett.* 2007, 416, 272-274.
2. Baquet, Z., Gorski, J., Jones K. Early striatal dendrite deficits followed by neuron loss with advanced age in the absence of an-

- terograde cortical brain-derived neurotrophic factor. J. Neurosci. 2004, 24, 4250-4258.
3. Bird, E., Iversen, L. Huntington's chorea. Postmortem measurement of glutamic acid decarboxylase, cholineacetyltransferase and dopamine in basal ganglia. Brain. 1974, 97, 457-472.
  4. Byrne, L., Wild, E. Cerebrospinal fluid biomarkers for Huntington's disease. J Huntingtons Dis. 2016, 5, 1-13.
  5. Cicchetti, F., Lacroix, S., Cisbani, G., Vallières, N., Saint-Pierre, M. Mutanthuntingtin is present in neuronal grafts in Huntington disease patients. Ann. Neurol. 2014, 76, 31-42.
  6. Croce, K., Yamamoto, A. A role for autophagy in Huntington's disease. Neurobiol. Dis. 2009, 122, 16-22.
  7. Gusella, J., MacDonald, M., Lee, J. Genetic modifiers of Huntington's disease. Mov Disord. 2014, 29, 1359-1365.
  8. Harrington, D., Rubinov, M., Durgerian, S. Network topology and functional connectivity disturbances precede the onset of Huntington's disease. Brain. 2015, 138, 2332-2346.
  9. Hensman Moss, D., Poulter, M., Beck, J. C9orf72 expansions are the most common genetic cause of Huntington disease phenocopies. Neurology. 2014, 82, 292-299.
  10. Hogarth, P., Kayson, E., Kieburz, K. Interrater agreement in the assessment of motor manifestations of Huntington's disease. Mov Disord. 2005, 20, 293-297.
  11. Huntington-Study Group, Frank, S., Testa, C. Effect of deutetabenazine on chorea among patients with Huntington disease: a randomized clinical trial. JAMA. 2016, 316, 40-50.
  12. Kordasiewicz, H., Stanek, L., Wancewicz, E. Sustained therapeutic reversal of Huntington's disease by transient repression of huntingtin synthesis. Neuron. 2012, 74, 1031-1044.
  13. Moss, D., Pardinas, A., Langbehn, D. Identification of genetic variants associated with Huntington's disease progression: a genome-wide association study. Lancet Neurol. 2017, 16, 701-711.
  14. Paganini, M., Biggeri, A., Romoli, A., Mechi, C., Ghelli, E., Berti, V. Fetal striatal grafting slows motor and cognitive decline of Huntington's disease. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 2014, 85, 974-981.
  15. Perry, T., Hansen, S., Kloster, M. Huntington's chorea. Deficiency of gamma-aminobutyric acid in brain. N. Engl. J. Med. 1973, 288, 337-342.
  16. Reynolds, G., Pearson, S. Decreased glutamic acid and increased 5-hydroxytryptamine in Huntington's disease brain. Neurosci. Lett. 1987, 78, 233-238.
  17. Rodrigues, F., Duarte, G., Costa, J., Ferreira, J., Wild, E. Tetraabenazine versus deutetabenazine for Huntington's disease: twins or distant cousins? Mov Disord Clin Pract. 2017, 4, 582-585.
  18. Spires, T., Hannan, A. Molecular mechanisms mediating pathological plasticity in Huntington's disease and Alzheimer's disease. J. Neurochem. 2007, 100, 874-882.
  19. Tabrizi, S., Scahill, R., Durr, A. Biological and clinical changes in premanifest and early stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: the 12-month longitudinal analysis. Lancet Neurol. 2011, 10, 31-42.
  20. Tabrizi, S., Reilmann, R., Roos, R. Potential endpoints for clinical trials in premanifest and early Huntington's disease in the TRACK-HD study: analysis of 24-month observational data. Lancet Neurol. 2012, 11, 42-53.
  21. Tabrizi, S., Scahill, R., Owen, G. Predictors of phenotypic progression and disease onset in premanifest and early-stage Huntington's disease in the TRACK HD study: analysis of 36-month observational data. Lancet Neurol. 2013, 12, 637-649.
  22. Travessa, A., Rodrigues, F., Mestre, T., Ferreira, J. Fifteen years of clinical trials in Huntington's disease: a very low clinical drug development success rate. J Huntingtons Dis. 2017, 6, 157-163.
  23. Verbessem, P., Lemiere, J., Eijnde, B., Swinnen, S., Vanhees, L., Van Leemputte, M. Creatine supplementation in Huntington's disease: a placebo-controlled pilot trial. Neurology. 2003, 61, 925-930.
  24. Verny, C., Allain, P., Prudean, A., Malinge, M., Gohier, B., Scherer, C. Cognitive changes in asymptomatic carriers of the Huntington diseasemutation gene. Eur. J. Neurol. 2007, 14, 1344-1350.
  25. Vonsattel, J., Myers, R., Stevens, T., Ferrante, R., Bird, E., Richardson, E. Neuropathological classification of Huntington's disease. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 1985, 44, 559-577.
  26. Wild, E., Mudanohwo, E., Sweeney, M. Huntington's disease phenocopies are clinically and genetically heterogeneous. Mov Disord. 2008, 23, 716-720.
  27. Wild, E., Tabrizi, S. Huntington's disease phenocopy syndromes. Curr Opin Neurol. 2007, 20, 681-687.

*Адрес за кореспонденция: Е. Чорбаджиева  
УМБАЛНП „Св. Наум“ ул. „Любен Русев“ 1,  
София 1113, България  
тел. 02 9702 202  
e-mail: elena\_8\_3@abv.bg*

*Address for correspondence: E. Chorbadzhieva  
MHATNP „St. Naum“ Luben Russev 1 str.,  
Sofia 1113, Bulgaria  
Phone: 02 9702 202  
e-mail: elena\_8\_3@abv.bg*