

# ФАРМАЦИЯ

# PHARMACIA

Том/Volume LIV

2007

Книжка/Number 3-4

## СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО ФАРМАЦИЯ

**Главен редактор:** Ст. Николов

**Секретар:** Ал. Златков

### **Редакционна колегия:**

Зл. Димитрова, Св. Богданова, И. Иванов, Г. Китанов, И. Йонкова, Н. Данчев, Г. Петрова,  
Д. Обрешкова, Ст. Титева, И. Костадинова, Ф. Клерфьой, Е. Х. Хансен,  
М. Шефер, Р. Грьонинг, Л. Пистели, М. Унзета

## JOURNAL OF THE BULGARIAN PHARMACEUTICAL SCIENTIFIC SOCIETY

**Editor in Chief:** St. Nikolov

**Assistant Editor:** Al. Zlatkov

### **Editorial Board:**

Zl. Dimitrova, Sv. Bogdanova, I. Ivanov, G. Kitanov, I. Jonkova, N. Danchev, G. Petrova, D. Obreshkova,  
St. Titeva, I. Kostadinova, F. Clerfeuille, E. H. Hansen, M. Schaefer,  
R. Gröning, L. Pistelli, M. Unzeta

### **Адрес на редакцията**

Фармацевтичен факултет  
ул. "Дунав" 2, София 1000  
Факс (02) 987 987 4

Гл. редактор: ☎ (02) 987 987 4  
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

### **Address of Editorial Board**

Faculty of Pharmacy  
2, Dunav str., Sofia 1000  
Fax (02) 987 987 4

Editor in Chief: ☎ (+359 2) 987 987 4  
E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

## СЪДЪРЖАНИЕ

### Оригинални статии

<i>A. M. Kotenko, A. I. Tikhonov, Yu. V. Chernykh, O. S. Shpichak и L. I. Tseblykina.</i> Използване на триизмерна флуоресцентна спектроскопия в проучването на лекарства на базата на медени продукти .....	3
<i>G. Momekov, P. Todorov, E. Naydenova, A. Kostovski и K. Troev.</i> Цитотоксична активност на нови $\alpha$ -аминофосфонови киселини при човешки малигнени клетъчни линии .....	9
<i>D. Terziivanov, K. Bozhinova, Em. Hristov, Iv. Atanasova и V. Lindareva.</i> Приложение на стратегията за D-оптималните времена и популационния фармакокинетичен анализ при биофармацевтично проучване на ампицилин .....	12
<i>V. Tzankova, B. Doncheva, S. Dragoni и M. Valoti.</i> Метаболизъм на 7-ethoxycoumarin в чернодробни срезове, получени по техниката "precision-cut" .....	17
<i>T. Dimitrov и N. Boyadjeva.</i> Сравнителна оценка на токсичността на Chlorpheniramine и Dexchlorpheniramine при мишки и плъхове и влиянието им върху хематологичните показатели при хроничната им токсичност при плъхове.....	23

### Обзори

<i>V. Slavova и N. Boyadjeva.</i> Полови хормони – фармакологични и терапевтични аспекти .....	31
<i>M. Draganova-Filipova, V. Saraftian и L. Peychev.</i> Влияние на прополис върху клетъчната пролиферация и имунния отговор.....	42

<b>Информационен отдел</b> .....	48
----------------------------------	----

---

## CONTENTS

### Original articles

<i>A. M. Kotenko, A. I. Tikhonov, Yu. V. Chernykh, O. S. Shpichak and L. I. Tseblykina.</i> Using three-dimensional fluorescent spectroscopy while studying drugs on the basis of apiculture products .....	3
<i>G. Momekov, P. Todorov, E. Naydenova, A. Kostovski and K. Troev.</i> Cytotoxic activity of new $\alpha$ -aminophosphonic acids against human malignant cell lines .....	9
<i>D. Terziivanov, K. Bozhinova, Em. Hristov, I. Atanasova and V. Lindareva.</i> Application of D-optimal timing strategy and population pharmacokinetic analysis in biopharmaceutical trials of ampicillin .....	12
<i>V. Tzankova, B. Doncheva, S. Dragoni and M. Valoti.</i> Metabolism of 7-ethoxycoumarin by rat precision-cut liver slices .....	17
<i>T. Dimitrov and N. Boyadjeva.</i> Comparative assesement of the toxicity of Chlorpheniramine and Dexchlorpheniramine in mice and rats and their influence on the hematological indices in the chronic toxicity in rats .....	23

### Reviews

<i>V. Slavova and N. Boyadjeva.</i> Sex hormones – pharmacological and therapeutic aspects .....	31
<i>M. Draganova-Filipova, V. Saraftian and L. Peychev.</i> Effects of propolis on cell proliferation and immune response.....	42

<b>Informasion section</b> .....	48
----------------------------------	----

ФАРМАЦИЯ 3-4/2007

ISSN 0428-0296

УДК 615

Организационен секретар и стилов редактор Св. Цветанова  
Корекция Д. Танчева и Св. Цветанова  
Терминологичен и семантичен контрол д-р Б. Станчева  
Форматиране О. Маркова

Подписана за печат на 25.02.2008 г.  
Печатни коли 7,5, формат 60 x 90/8

Централна медицинска библиотека  
1431 София, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, тел. 952-16-45, Fax: 851 82 65  
e-mail: svetlamu@mail.bg

## ПРИЛОЖЕНИЕ НА СТРАТЕГИЯТА ЗА D-ОПТИМАЛНИТЕ ВРЕМЕНА И ПОПУЛАЦИОННИЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕН АНАЛИЗ ПРИ БИОФАРМАЦЕВТИЧНО ПРОУЧВАНЕ НА АМПИЦИЛИН

Д. Терзииванов<sup>1</sup>, К. Божинова<sup>1</sup>, Ем. Христов<sup>1</sup>, Ив. Атанасова<sup>2</sup> и В. Линдарева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Клиника по клинична фармакология и фармакокинетика, УМБАЛ "Св. Ив. Рилски",  
Медицински университет – София

<sup>2</sup>Изпълнителна агенция по лекарствата – София

**Резюме.** Целта на изследването беше приложението на D-оптималната стратегия при изготвянето на дизайн на проучване за биоеквивалентност (БЕ) за намиране на оптималните времеви точки и оценката на тяхната приложимост за реконструкция на профила плазмени концентрации/време на референтен лекарствен продукт посредством Байесовска предсказване със създадения популационен фармакокинетичен (ФК) модел от оптималните плазмени концентрации на тествания лекарствен продукт. Бяха използвани концентрациите на ампицилин от тествания и референтния продукт при 14 здрави доброволци. D-оптималните времена бяха определени на 1-вия, 4-тия и 6-ия час. С концентрациите на тези времена бяха създадени D-оптимални популационни ФК модели на теста и референтния продукт. Параметризацията беше извършена по адсорбционна константа –  $KA$  (1/h); обем на разпределение, нормализиран към телесната маса –  $VS1$  (L/kg), и клирънс, нормализиран към телесната маса –  $CLS1$  (L/h/kg). Не беше установена значима разлика на средните оценки на тези моделни параметри на тествания и референтния продукт на популационните ФК модели. Със създадения D-оптимален популационен ФК модел на тествания лекарствен продукт бяха предсказани концентрациите, получени от референтния продукт на същите часове. Беше установен коефициент на корелация  $r = 0.874$  при  $p < 0.001$  между предсказаните и наблюдаваните концентрации. Тест-моделът предсказваше концентрациите на референтния продукт с висока статистическа достоверност, което показва, че двата продукта са биоеквивалентни.

**Ключови думи:** биоеквивалентност, ампицилин, популационна фармакокинетика, D-оптимална стратегия

## APPLICATION OF D-OPTIMAL TIMING STRATEGY AND POPULATION PHARMACOKINETIC ANALYSIS IN BIOPHARMACEUTICAL TRIALS OF AMPICILLIN

D. Terziivanov<sup>1</sup>, K. Bozhinova<sup>1</sup>, Em. Hristov<sup>1</sup>, I. Atanasova<sup>2</sup> and V. Lindareva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinic for Clinical Pharmacology and Pharmacokinetics,  
University Hospital "St. Ivan Rilsky", Medical University – Sofia

<sup>2</sup>Bulgarian Drug Agency – Sofia

**Summary.** The objective of the study was to use D-optimal strategy in bioequivalence study design to search optimal time points and to estimate their ability to permit reconstruction of reference plasma concentrations/time relationship by test D-optimal population pharmacokinetic (PK) model with Bayes prediction. There were used test and reference products ampicillin concentrations from 14 healthy volunteers. D-optimal time points were defined at 1<sup>st</sup>, 4<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> hour. With concentrations at these time points were developed D-optimal population PK models of test and reference products. Parametrization was performed via absorption rate constant,  $KA$  (1/h), volume of distribution normalized to the body weight,  $VS1$  (L/kg), and systemic clearance normalized to the body weight,  $CLS1$  (L/h/kg). There were not observed significant differences between mean estimates of these model parameters of test and reference population PK models. Reference concentrations (at 1<sup>st</sup>, 4<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> h) were predicted by D-optimal test population PK model. Correlation coefficient between predicted versus observed concentrations was  $r = 0.874$ ,  $p < 0.001$ . The test model predicted reference concentrations with statistic significance, which presumes that two drug formulations were bioequivalent.

**Key words:** bioequivalence, ampicillin, population pharmacokinetics, D-optimality

Сред фундаменталните проблеми при проучванията за биоеквивалентност (БЕ), в които се преплитат съображения от статистическо и клинично естество, са броят и обемът на взетите проби кръв по отношение на телесния размер на участващия доброволец (болен). Обикновена практика е при конвенционалните проучвания за БЕ да се вземат 12-15 (до 20) проби кръв за химичен анализ, аритметично и/или геометрично разпределени във времето [2]. При такъв голям брой (обикновено в едно денонощие, а при лекарства с дълъг полуживот и до 4-5 денонощия) е напълно възможно физиологичният профил на кръвта да се промени от първите спрямо последните проби – особено хематокрита, който може да се увеличи. Този момент, тъй като трудно се контролира от един индивид на друг, може да бъде източник на грешка и да увеличи интра- и интериндивидуалната вариация (дисперсия) [2].

Затова възниква въпросът, възможно ли е да се намали броят на вземанията на кръв от всеки участник, без да се понижи статистическата сигурност при сравняване на разпределенията на концентрация/време профилите, генерирани от тествания и референтния лекарствен продукт (Т и РЛП), т.е. съществува ли възможност броят на тези вземания да се оптимизира? Отговорът на този въпрос с *да* или *не* е много съществен най-малко поради две причини. Първо, бъдещите проучвания за БЕ ще вървят в посока на увеличен порядък, т.е. ще станат от 3-ти и 4-ти порядък, за да могат да оценяват и индивидуалната био(не)еквивалентност и взаимодействието индивид-лекарствена форма. Този феномен наблюдаваме и в момента. Това изисква увеличаване на броя участници в подобни проучвания, което неминуемо ги оскъпява. Експертите по фармакокинетично (ФК) моделиране добре знаят, че не всички точки от кривата плазмени концентрации/време – от 15 до 20 – носят критична информация за формата на профила концентрация/време. С увеличаването на броя на точките от кривата плазмени концентрации/време се намалява дисперсията на ФК модел и един модел, макар и не истинският, може да покаже сравнително ниска дисперсия и да бъде приет като задоволителен [2]. За всеки ФК модел обаче съществува критичен минимум от точки върху кривата плазмени концентрации/време, който позволява тя да бъде реконструирана статистически достоверно само ако те са *оптималните*.

Целта на проучването беше да се разработи приложението на D-оптималната стратегия при

създаването на дизайн на реално клинично проучване за БЕ за установяване на оптималните времеви точки и за оценката на тяхната приложимост при реконструкция на профила плазмени концентрации/време на референтен лекарствен продукт посредством Байесовско предсказване със създадения популационен ФК модел от оптималните плазмени концентрации на тествания лекарствен продукт.

Работната хипотеза беше, че популационният ФК модел на тествания лекарствен продукт ще реконструира плазмените концентрации на референтния продукт само ако тестваният лекарствен продукт е биоеквивалентен на референтния.

### Дизайн на клиничното проучване и участници

Изследването беше планирано като открито, рандомизирано, кръстосано с два периода на третиране с тествания (Ampicillin Biovet) и референтния (Standacillin Biochemie) препарат. Подбрани бяха 14 здрави доброволци от мъжки и женски пол, на възраст между 18 и 45 години (median – 30 год.; min. – 19 год.; max. – 44 год.). Телесното тегло на участниците бе в границите  $\pm 20\%$  от идеалното тегло по Broca (median – 68 kg; min. – 50 kg; max. – 91 kg), а височината – median – 170 cm; min. – 150.00 cm; max. – 183.00 cm [7].

По време на двата периода на клиничното изпитване бяха приложени рандомизирано еднократни дози (1 капсула от 500 mg) от ТЛП Ampicillin (Biovet), капс. 500 mg и РЛП Standacillin (Biochemie Austria), капс. 500 mg, с “отмивач” период от 7 дни.

Кръвта за определяне на индивидуалните плазмени концентрации на ампицилин след еднократна доза беше вземана в хепаринизирани епруветки в следните часове: преди медикация (0 h); и на 0.5, 1-вия, 2-рия, 4-тия, 6-ия, 8-ия, 10-ия, 12-ия и 24-ия час след медикацията, като отделената след центрофугирането плазма беше съхранявана във фризер при  $-20^{\circ}\text{C}$  до химичния анализ на лекарството.

### Материал и методи

За количествения анализ беше използван високоефективен течнохроматографски (ВЕТХ) метод, модификация на предложения от Vree и сътр. [8] метод за количествено определяне на субстанцията ампицилин. Той беше валидиран съгласно изискванията на световните стандарти за биоаналитичен анализ.

Определянето на D-оптималните времена по D'Argenio (1981) беше извършено с програмата REUNEX (написана от R. W. Jelliffe) [4], в която при оптимизирането се използва критерият D-оптималност. Този критерий намира времената, при които лекарствените плазмени концентрации са най-чувствителни на всяка промяна в стойностите на структурните ФК параметри и минимизира детерминантата на обратната информационна матрица на Fisher. Вследствие на това се минимизира общата дисперсия на оценките на структурните ФК параметри. За D-оптималност се тестват различни комбинации от двойки актуални времена, принадлежащи към елиминационната log-линейна фаза на лекарството. В резултат на изискванията към актуалните времена за D-оптималност се установяват най-ниските стойности за коефициентите на вариация, дисперсиите на грешката и критерият D-оптималност за структурните параметри: абсорбционна константа – KA (1/h); обем на разпределение, нормализиран към телесната маса – VS1 (L/kg), и клирънс, нормализиран към телесната маса – CLS1 (L/h/kg). Създават се два D-оптимални популационни ФК модела съответно за Т и РЛП, NPEM-OPT-TEST и NPEM-OPT-REFERENT. По този начин създадените популационни ФК модели със средните на моделните ФК параметри, като използват регистрираните плазмени нива на лекарството на тези часове, ще съдържат най-много информация, необходима за оценка на ФК параметри [7].

За достоверността на двата популационни ФК модела се съдеше по точността, оценена чрез средната грешка – ME, и прецизността, оценена посредством корен квадратен от средната квадратична грешка – RMSE, на разликите между наблюдаваните и предсказаните стойности на концентрациите [6].

Валидирането на работната хипотеза беше тествано чрез предсказване на наблюдаваните плазмени концентрации на РЛП на 1-вия, 4-тия и 6-ия час, които се използваха като Байесовска предварителна (Bayesian priors) информация, посредством създадения NPEM-OPT-TEST.

## Резултати

Изискванията за D-оптималност, резултиращи в най-ниските стойности за коефициентите на вариация, дисперсиите на грешката и критерия D-оптималност за структурните параметри KA, VS1 и CLS1, се изпълняваха от плазмените концентрации на ампицилина, наблюдавани на

1-вия, 4-тия и 6-ия час след перорален прием на лекарственото средство. Така че създадените популационни ФК модели за Т и РЛП, използвайки регистрираните плазмени нива на ампицилина на тези часове (1 h, 4 h и 6 h), ще съдържат най-много информация за съответните параметри и ще възстановяват статистически най-достоверно хода на плазмените концентрации във времето. Бяха създадени два D-оптимални популационни ФК модела за Т и РЛП: NPEM2-OPT-TEST и NPEM2-OPT-REFERENT.

Средните стойности на структурните ФК параметри на двата D-оптимални популационни ФК модела на ампицилина и взаимното им сравнение са представени на табл. 1.

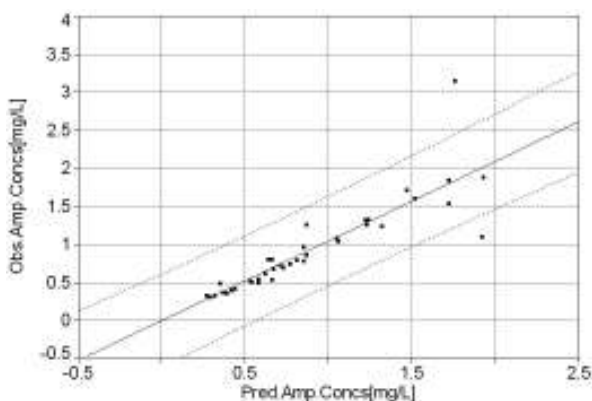
**Таблица 1.** Сравнение между NPEM2 оценките на структурните ФК параметри на ампицилин при здрави доброволци от двата D-оптимални популационни ФК модела (NPEM2-OPT-TEST и NPEM2-OPT-REFERENT)

Средна стойност ± SD		
NPEM2-OPT-TEST (n = 14)	NPEM2-OPT-REFERENT (n = 14)	p
KA = 0.482 ± 0.241 (1/h) (CV% = 49)	0.698 ± 0.673 (CV% = 96)	0.134
VS1 = 1.859 ± 1.205 (L/kg) (CV% = 65)	2.065 ± 1.322 (CV% = 63)	0.335
CLS1 = 1.150 ± 0.434 (L/h/kg) (CV% = 38)	1.122 ± 0.397 (CV% = 35)	0.427

Точността на NPEM-OPT-TEST, оценена чрез ME се равняваше на 0.0255 mg/L, а прецизността, оценена чрез RMSE, се равняваше на 0.146 mg/L. Точността и прецизността на NPEM-OPT-REFERENT се равняваха съответно на 0.0436 mg/L и 0.246 mg/L. Тези грешки са практически несъществени в сравнение с наблюдаваната средна концентрация на ампицилина, равняваща се на 0.922 mg/L.

Не беше установена статистически значима разлика между средните стойности на моделните ФК параметри между двата модела, което предполагаше, че с D-оптималния популационен ФК модел на Т-продукта NPEM2-OPT-TEST ще могат да се предсказват с висока статистическа достоверност оптималните концентрации на референтния продукт на 1-вия, 4-тия и 6-ия час (фиг. 1).

D-оптималният популационен ФК модел NPEM2-OPT-TEST предсказваше с висока точност и прецизност апостериорните Байесовски предсказани концентрации на ампицилин-референт.



**Фиг. 1.** Корелация между предсказаните с NPEM2-OPT-TEST и наблюдаваните концентрации на ампицилин–референтен лекарствен продукт  $n = 38$ ,  $r = 0.874$ ,  $p < 0.001$

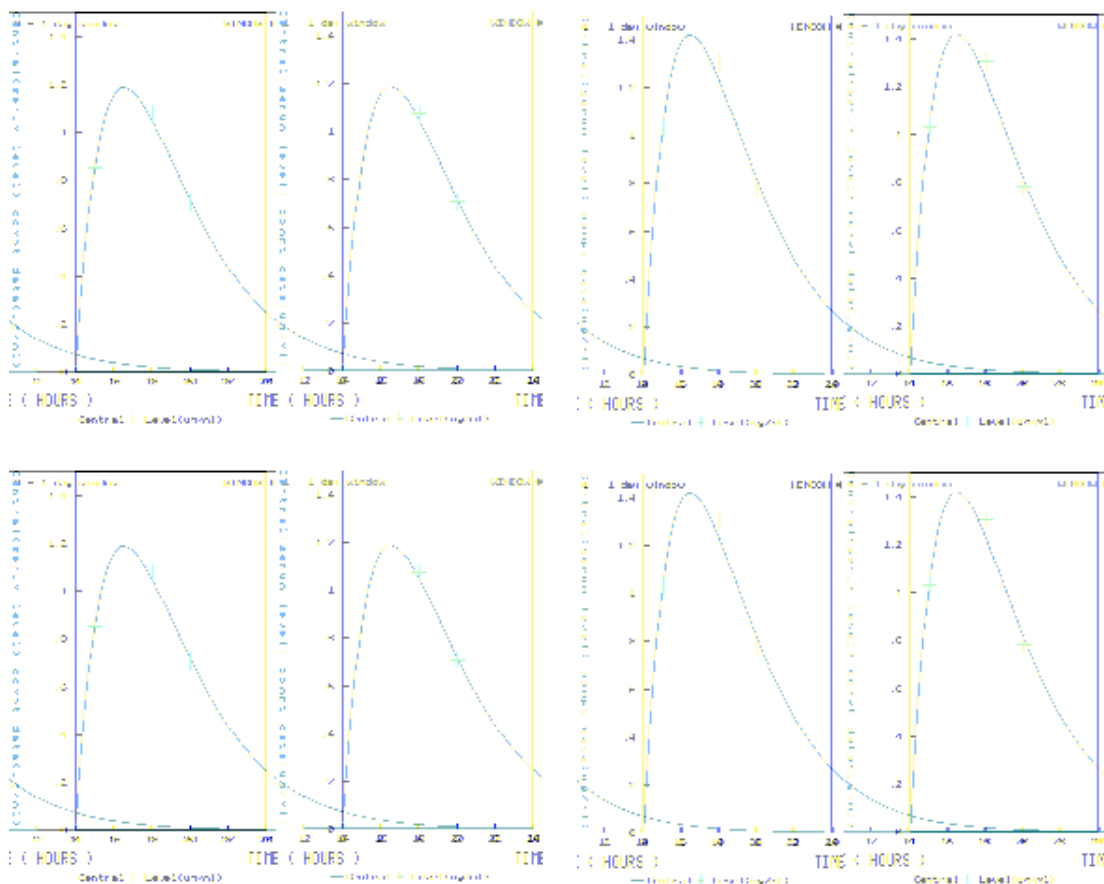
На фиг. 1 са показани наблюдаваните D-оптимални плазмени концентрации на ампицилина (РЛП) и апостериорните Байесовски предсказани концентрации с NPEM2-OPT-TEST. Беше установена високосигнификантна корелация между експерименталните и модел-предсказаните концентрации на ампицилин РЛП ( $r = 0.874$ ,  $p < 0.001$ ,  $n = 38$ ).

На фиг. 2 са показани симулираните време/концентрации криви на ампицилин при 4-ма здрави доброволци със съответно по 3 точки като Bayesian prior за РЛП. D-оптималният популяционен ФК модел на тествания продукт – NPEM2-OPT-TEST, добре възстановява хода на зависимостта време/концентрация на РЛП. Крайната минимизирана стойност на оценъчната Байесовска функция беше в границите от 0.366 до 2.253.

**Обсъждане**

Проблемът “оптимален експериментален дизайн” за оценка на нелинейни параметри (каквито са ФК параметрите) е поставен още през 1959 г. от Vox и Lucas [3] и е намерил блестящо решение за ФК практика в разработките на D’Argenio (1981) от Лабораторията по приложна фармакокинетика на проф. Роджър Джелиф [4].

Работната хипотеза беше, че популяционният ФК модел на ТЛП ще реконструира плазмените концентрации на РЛП само когато тестваният продукт е биоеквивалентен на референтния лекар-



**Фиг. 2.** Симулация с D-оптималния популяционен ФК модел – NPEM2-OPT-TEST, на време/концентрация зависимостта с 3 точки като Bayesian prior на 4-ма здрави доброволци: № 007, 008, 011 и 01

ствен продукт. Това означава популационните ФК модели, създадени на основата на информацията от D-оптималните плазмени концентрации на ампицилина, генерирани от двата продукта, да нямат статистически значима разлика, т.е. популационният модел, създаден от "тест"-плазмените концентрации на ампицилина (тест-популационен ФК модел – NPEM2-OPT-TEST), да предсказва статистически значимо плазмените нива на лекарството от референтния продукт.

Включените 3 плазмени концентрации на ампицилин в изграждането на D-оптималния популационен ФК модел на ампицилина са повтарящи се в оптималните времена и отговарят на изискванията за D-оптималност [3, 4].

Резултатите от проучването недвусмислено доказват много добрите предсказващи способности на D-оптималния популационен модел на ампицилин при здрави доброволци. Получените резултати убедително показват несъмнените предимства на популационния D-оптимален дизайн пред стандартния D-оптимален дизайн. За разлика от стандартния D-оптимален дизайн, който игнорира вариабилността между субектите, използваният от нас популационен D-оптимален дизайн се съобразява с различните източници на ФК вариабилност, включвайки популационната информационна матрица на Fisher при определянето на оптималния ФК протокол и се фокусира по-скоро върху оценката на разпределението на моделните ФК параметри в изучаваната популация, отколкото върху индивидуалните им стойности.

D-оптималният ФК протокол в комбинация с непараметричен популационен ФК анализ могат да се окажат подходящият методичен подход за етични и икономически ефективни ФК проучвания за сравнителна бионаличност върху болни и върху рискови популации (деца, хора в напреднала възраст), където пробовземанията трябва да бъдат сведени до оптималния минимум.

### Заклучение

Резултатите, получени чрез популационния ФК анализ, потвърждават работната хипотеза. Те доказват, че D-оптималният популационен

ФК модел на тестваната лекарствена форма достоверно предсказва плазмените лекарствени нива, генерирани от референтната форма.

Резултатите показват, че D-оптималната стратегия, комбинирана с NPEM метода, е подходяща и приложима за сравняване на средната биоеквивалентност на две орални лекарствени форми, когато се налага лимитирано пробовземане при специални таргетни популации.

**Благодарност.** Тази работа беше реализирана благодарение на грант #22/2005, финансиран от Медицинския университет – София. Авторите изказват благодарност и на проф. Роджър Джелиф за предоставения софтуер USC\*PACK, v.10.6.

### Библиография

1. Атанасова, И. и др. Изследване на популационната биоеквивалентност на Ampicillin caps. 500 mg (Biovet) и Standacillin caps. 500 mg (Biochemie Austria). – Нефрол. хемодиал. транспл., **3**, 1997, № 3-4, 44-51.
2. Атанасова, И. и Д. Терзииванов. Проблеми при взаимозаменяемостта на лекарствените препарати. Средна (популационна) и индивидуална биоеквивалентност. С., НИХФИ, 1999.
3. Box, G. E. P. et H. L. Lucas. Design of experiments in nonlinear situations. – *Biometrika*, **46**, 1959, 77-90.
4. D'Argenio, D. Z. Optimal sampling times for pharmacokinetic experiments. – *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **9**, 1981, 739-755.
5. Hooker, A. C. et al. An evaluation of population D-optimal designs via pharmacokinetic simulations. – *Ann. Biomed. Engin.*, **31**, 2003, 98-111.
6. Schumitzky, A. Nonparametric EM algorithms for estimating prior distributions. – *Appl. Math. Comput.*, **45**, 1991, 143-157.
7. Terziivanov, D., I. Atanasova, V. Dimitrova et al. Pharmacokinetic variability of nimodipine disposition after single and multiple oral dosing to hypersensitive renal failure patients: parametric and nonparametric population analysis. – *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **37**, 1999, 404-412.
8. Vree, T. B. et al. Rapid determination of amoxicillin (clamoxyl) and ampicillin (penbritin) in body fluids of many by means of high-performance liquid chromatography. – *J. Chromatogr. (Biomed. Appl.)*, **145**, 1978, 496-501.

Постъпила – 19.04.2006 г.

### ✉ Адрес за кореспонденция

Проф. Димитър Николов Терзииванов  
УМБАЛ "Св. Иван Рилски"  
бул. "Акад. Иван Гешов" № 15  
1431 София

☎ (00359 2) 952 22 93

### ✉ Address for correspondence

Prof. Dimiter Nikolov Terziivanov  
UMHAT "St. I. Rilsky"  
15 Acad. Ivan Geshov Blvd.  
1431 Sofia

☎ (00359 2) 952 22 93