

## РОЛЯ НА ХЕПСИДИНА В РАЗВИТИЕТО НА АНЕМИЯ ПРИ МУЛТИПЛЕН МИЕЛОМ

М. Велизарова<sup>1</sup>, В. Манолов<sup>1</sup>, Е. Хаджиев<sup>2</sup>, К. Цачев<sup>3</sup>,  
Ж. Христова-Димитрова<sup>1</sup>, Б. Атанасова<sup>3</sup> и Г. Цветкова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Катедра по медицинска генетика, МУ – София

<sup>2</sup>Клиника по хематология, УМБАЛ „Александровска“ – София

<sup>3</sup>Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, МУ – София

## ROLE OF HEPCIDIN IN THE DEVELOPMENT OF ANEMIA IN MULTIPLE MYELOMA

M. Velizarova<sup>1</sup>, V. Manolov<sup>1</sup>, E. Hadzhiev<sup>2</sup>, K. Tzatchev<sup>3</sup>, J. Hristova-Dimitrova<sup>1</sup>, B. Atanasova<sup>3</sup> and G. Tsvetkova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Genetics, Medical University – Sofia

<sup>2</sup>Clinic of Hematology, Department of Internal Diseases, University Hospital Alexandrovskia – Sofia

<sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, Medical University – Sofia

<p><b>Резюме:</b></p> <p><b>Ключови думи:</b></p> <p><b>Адрес за кореспонденция:</b></p>	<p>Мултиплиеният миелом (ММ) е злокачествена, все още нелечима, плазмноклетъчна дискразия, при която се установяват пролиферация на моноклонални плазматични клетки в костния мозък, свръхпродукция на моноклонален протеин, костни лезии, хиперкалциемия, бъбречна недостатъчност и анемия. Анемията е една от характерните изяви на заболяването, като приблизително 73% от пациентите с ММ са с анемия при поставяне на диагнозата. Различни са патогенетичните механизми, които водят до развитие на анемия, но главната причина е свързана с наличие на хронично заболяване и с действие на възпалителни цитокини. IL-6, синтезиран в костния мозък, модулира транскрипцията на множество гени, кодиращи синтеза на някои острофазови протеини, включително С-реактивен протеин и хепсидин. Хепсидинът от своя страна, чрез свързване със своя клетъчен рецептор феропортин, блокира освобождаването на желязо от дуоденалните ентероцити и макрофагите. В резултат се наблюдава недостиг на желязо на мястото на активна еритропоеза и прогресивно развитие на анемия. Базалните серумни нива на хепсидин корелират сигнификантно с тежестта на анемията, асоциирана с ММ, и могат да служат като предиктор за степента на очаквания терапевтичен отговор при цитостатично лечение.</p> <p>мултиплен миелом, анемия, хепсидин</p> <p><i>Доц. д-р Милена Велизарова, дм, Катедра по медицинска генетика, МУ, ул. „Здраве“ № 2, 1431 София, тел.: 02 9230 926, e-mail: mvelizarova@abv.bg</i></p>
<p><b>Summary:</b></p> <p><b>Key words:</b></p> <p><b>Address for correspondence:</b></p>	<p>Multiple myeloma (MM) is a still incurable malignant plasma cell dyscrasia. MM presents with monoclonal proliferation of plasma cells in the bone marrow, overproduction of circulating monoclonal immunoglobulin, bone lesions, hypocalcaemia, renal failure and anemia. Anemia is one of the prominent features of MM and affects approximately 73% of patients at diagnosis. Several causes have been implicated, but anemia of chronic disease related to the inflammatory cytokines, appears to be one of the main reasons. IL-6, produced in bone marrow microenvironment, modulates the transcription of several liver-specific acute phase protein genes, including C-reactive protein and hepcidin. Hepcidin, by binding to its cellular receptor, ferroportin, causes anemia by blocking iron export from enterocytes and macrophages. As a result, iron depletion on the site of active erythropoiesis and progressive anemia is shown. Baseline serum hepcidin levels correlates significantly with the severity of MM-associated anemia and may serve as a predictor for therapeutic response in myeloma treatment.</p> <p>multiple myeloma, anemia, hepcidin</p> <p><i>Assoc. prof. Milena Velizarova, M.D., Department of Medical Genetics, Medical University, 2 Zdrave St., Bg – 1431 Sofia, tel.: +359 2 9230 926, e-mail: mvelizarova@abv.bg</i></p>

### АНЕМИЯ ПРИ МУЛТИПЛЕН МИЕЛОМ

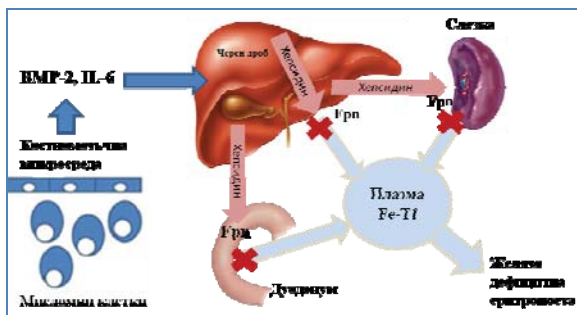
Мултиплиният миелом (ММ) е злокачествено заболяване с честота приблизително 10% от всички хематологични неоплазии [2, 18]. Заболяването се характеризира с клонална пролиферация на плазматични клетки в костния мозък, моноклонална гамопатия, анемия, хиперкалциемия, бъбречна недостатъчност и костни лезии [18]. Според едно голямо ретроспективно проучване при над хиляда пациенти с мултиплен миелом, 73% от тях са с анемия при поставянето на диагнозата с концентрация на хемоглобина < 120 g/l [8]. Приблизително 85% от пациентите с ММ могат да развият анемия по време на заболяването, като тя в повечето случаи е умерено изразена с концентрация на хемоглобина между 80 и 100 g/l [4]. Повече от 10% от пациентите обаче имат тежка анемия със стойности на хемоглобина под 80 g/l, което, от една страна, влошава качеството им на живот, а от друга, повлиява негативно преживяемостта им [3, 4].

Анемията при ММ е многофакторно обусловена и е резултат на потисната еритропоеза или директно медирана апоптоза на еритроидни прекурсори от пролифериращите миеломни клетки, недостиг на еритропоетин при бъбречна недостатъчност, намалена чувствителност на еритроидните прекурсори към еритропоетични стимули или костномозъчна хипоплазия от приложената химиотерапия [4, 10]. Въпреки че тежестта на анемията се засилва с прогресията на заболяването, в някои от случаите се установява тежка анемия при минимална инфилтрация на костния мозък от миеломни клетки, т.е. липсва пряка корелация с големината на туморната маса и серумните концентрации на  $\beta$ 2-микроглобулин [10].

#### УЧАСТИЕ НА ХЕПСИДИНА В РАЗВИТИЕТО НА АНЕМИЯ ПРИ МУЛТИПЛЕН МИЕЛОМ

Известно е, че интерлевкин-6 (IL-6) е възпалителен цитокин, потенциален растежен фактор за миеломните клетки [7, 8, 9]. IL-6 в костния мозък се секретира от стромалните клетки, като високите му нива се асоциират с увеличен общ обем на миеломните клетки и лоша прогноза. IL-6 модулира транскрипцията на множество гени, кодиращи синтеза на някои острофазови протеини, включително С-реактивен протеин (CRP) и хепсидин. Високите нива на IL-6 стимулират чернодробната продукция на хепсидин, който от своя страна блокира освобождаването на желязо от дуоденалните ентероцити и макрофагите (фиг. 1). В резултат се наблюдава недостиг на желязо на мястото на активна еритропоеза и развитие на анемия [15, 25]. Анемията е резистентна на терапия с желязо и на медикаменти,

стимулиращи еритропоезата, обикновено е нормохромна и нормоцитна, с ниски стойности на ретикулоцитите (ретикулоцитен индекс < 2.5%) и високи или нормални концентрации на серумен феритин [6, 10, 18]. Освен това повишените серумни [19] и уринни [22] концентрации на хепсидин силно корелират с тежестта на анемията.



Фиг. 1. Модел на патогенетичния механизъм на развитие на анемия при мултиплен миелом с участието на хепсидина. Миеломните клетки стимулират продукцията на BMP-2 и IL-6 от клетките на костномозъчната микросреда. Тези цитокини водят до активиране на хепсидиновата експресия в черния дроб и увеличени концентрации на серумния хепсидин. Хепсидинът функционира чрез свързване с феропортина (Fpn), функционален експортер на желязо, като блокира освобождаването на желязо от ретикулоендотелните клетки и ентероцитите. Това води до намаление на серумните нива на желязо и до желязодефицитна еритропоеза (модифицирана по VanderWall и съавт., 2013)

#### ХЕПСИДИНЪТ КАТО РЕГУЛАТОР НА ОБМЯНАТА НА ЖЕЛЯЗО

Хепсидинът е ключов регулаторен протеин, който контролира чревната абсорбция на желязо и разпределението му в организма [1, 4, 6]. Той е пептиден хормон, синтезиран в черния дроб в отговор на редица сигнали, включително и според нивата на желязо в организма. Хепсидинът функционира чрез свързване и инициализиране на деградация на молекулата на феропортин, единствения известен експортер на желязо. Феропортинът се намира на повърхността на дуоденалните ентероцити, макрофагите и хепатоцитите. По този начин регулираният феропортин инхибира трансфера на клетъчното желязо в плазмата на тези клетки [15, 19]. Клетъчното усояване на желязо под различни форми също подлежи на регулация, но изглежда, че регулирането на феропортин-секрецията на клетъчната мембрана е преобладаващият начин, чрез който се контролира транспортът на желязо в плазмата.

Хепсидинът играе важна роля при възпалението чрез ограничаване на интестиналната абсорбция на желязо и на освобождаването на желязо от макрофагеалните клетки [16, 19]. Патоло-

гичната индукция на хепсидин при възпаление причинява хипоферемия, ограничаване на желязото на мястото на активна еритропоеза и в крайна сметка води до анемия. Установено е, че IL-6 има главна роля, но не е единственият цитокин, отговорен за нарушената хепсидинова регулация. Високи нива на хепсидин са установени при някои пациенти с ММ-асоцирана анемия, без повишаване на нивата на IL-6 [21, 22]. Проучвания при хора и миши модели потвърждават, че хепсидиновата свръхпродукция се индуцира и от други възпалителни цитокини, като IL-1 $\beta$ , трансформация растежен фактор- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) и костни морфогенни протеини (BMPs) 2, 4 и 9 [13, 23]. BMPs са част от суперфамилията на трансформиращите растежни фактори (TGF) и действат върху промотора на гена за човешкия хепсидин чрез BMP-отговорни елементи (BRES) и трансдюсер на сигнала и активатор на транскрипцията 3 (STAT3) [13, 26]. Установено е, че IL-6 и BMPs се секретират при ММ и имат важна роля в патогенезата на свързаната с миелом анемия. Maes и съавтори (2010) за първи път установяват високи нива на BMP-2 при пациенти с ММ и изказват предположение за възможно синергично стимулиращо влияние на BMP и IL-6 върху хепсидиновата чернодробна продукция [11].

TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  вероятно също повлияват нивата на серумния хепсидин при ММ-асоцирана анемия [9]. Обаче в свои проучвания при 44 пациенти с напреднал мултиплен миелом Sharma и съавт. (2006, 2008) не откриват сигнификантна връзка между серумните концентрации на TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  и уринарния хепсидин [21, 22]. Това потвърждава теорията за водещата роля на IL-6 в патогенезата на анемията при ММ.

Намалението на серумните нива на хепсидина и коригирането на анемията в хода на ефективно цитостатично лечение са още едно доказателство за важната роля на хепсидина в етиопатогенезата на асоцираната с ММ анемия [6]. Установено е, че при 80% от пациентите, лекувани с имуномодулатори или конвенционална цитостатична терапия, е налице клиничен отговор (намаление с 50% и повече на нивата на моноклоналния протеин) едновременно с намаление на базалните хепсидинови концентрации преди лечението. Важно е да се отбележи, че хепсидиновите нива приблизително 1 месец след започване на терапията могат да служат като предиктор за степента на очакваното повлияване на анемичния синдром [6]. Налице е обратна корелационна зависимост, при която колкото са по-ниски изходните стойности на хепсидина, толкова по-голяма е вероятността за коригиране на анемията.

### **ЕКСПРЕСИЯ НА ХЕПСИДИН В ПЪРВИЧНИ МИЕЛОМНИ КЛЕТКИ**

За да оценят способността на миеломните клетки за собствена, независима от черния дроб, хепсидинова продукция, Sharma и съавт. (2008) проучват хепсидиновата експресия с количествен PCR метод в миеломни клетки от двама пациенти, със и без добавяне на рекомбинантен IL-6 [22]. В резултат на този експеримент те установяват около 3000 пъти по-ниски концентрации на хепсидинова mRNA в миеломните клетки в сравнение с хепаталните клетки, без очаквания стимулиращ ефект на IL-6 върху хепсидиновата продукция. Според авторите синтезираният хепсидин в първичните миеломни клетки не оказва влияние върху серумните му нива и няма отношение към развитието на анемия. Вероятно ролята на миеломните клетки е свързана както с директен инхибиращ ефект върху еритропоезата, така и със стимулиране на костномозъчната микросреда за свръхпроизводство на IL-6 и хепсидин.

### **ДАЛИ ЛЕЧЕНИЕТО ПРИ МУЛТИПЛЕН МИЕЛОМ ВОДИ ДО АНЕМИЯ?**

Анемията е често срещан страничен ефект на ММ и присъствието ѝ е част от диагностичния процес. Много проучвания потвърждават, че 85% от пациентите с ММ имат анемия преди или по време на лечението [2, 3, 4, 8, 18]. Обикновено при постигане на хематологична ремисия анемията е коригирана, но в някои случаи химиотерапията може да доведе до нейното задълбочаване.

### **ХЕПСИДИНЪТ КАТО ПРЕДИКТОР НА ТЕРАПЕВТИЧНИЯ ОТГОВОР КЪМ ЕРИТРОПОЕТИН**

Около 30-40% от пациентите с анемия, асоцирана с ММ, остават резистентни или показват слаб терапевтичен отговор при лечение с рекомбинантен еритропоетин [12]. Приложен в умерени дози, еритропоетинът има недостатъчен стимулиращ ефект върху еритропоезата, вероятно поради ограничената доставка на желязо при пациенти с високи хепсидинови нива. Предклинични и клинични проучвания потвърждават връзката между еритропоетиновата концентрация и хепсидина, като е установено, че парентералното приложение на високи дози еритропоетин води до потискане на хепсидиновата експресия в черния дроб и усиляване на интестиналната абсорбция на желязо, успоредно с

увеличаване на страничните ефекти на лечение-то [24]. Тази асоциация предполага двустранно действие на хипоксията, която, от една страна, води до увеличена секреция на еритропоетин, а от друга, директно потиска хепсидиновата експресия. По този начин се увеличава количеството на желязото за нуждите на еритропоезата, както и активността на еритропоетин-чувствителните клетки в костния мозък.

От съществено значение за терапевтичния отговор към рекомбинантен еритропоетин са базалните нива на серумния хепсидин при MM-асоциирана анемия. Укагма и съавт. (2009) установяват сигнификантно повишаване на концентрацията на хемоглобина при лечение с еритропоетин при пациенти с ниски изходни нива на хепсидин, като базални стойности на хепсидина < 13 pmol/L имат положителна предиктивна стойност за увеличаване на хемоглобина > 10 g/L в 85.7% от случаите с MM [24].

#### **ТЕРАПЕВТИЧНО ПОВЛИЯВАНЕ НА ДИСРЕГУЛАЦИЯТА В МЕТАБОЛИЗМА НА ЖЕЛЯЗО И СВРЪХПРОДУКЦИЯТА НА ХЕПСИДИН**

Лечението на анемията, асоциирана с мултиплен миелом, е сериозно предизвикателство пред клиницистите. Честите хемотранфузии са свързани с повишен риск за заразяване с трансмисивни инфекции, свръхобременяване с желязо, както и с прогресиращо увеличение на серумните антитела към кръвните елементи. Приложението на рекомбинантен еритропоетин, от друга страна, е скъпо, с недостатъчен терапевтичен отговор при първоначално високи нива на хепсидин. Това предполага търсене на нови възможности за корекция на анемията, особено при високи хепсидинови нива, с цел подобряване на качеството на живот на засегнатите пациенти.

Тъй като увеличението на хепсидиновите нива при MM се дължи на синергично действие на различни цитокини, терапевтичният фокус е насочен основно към потискане на хепсидиновата продукция чрез въздействие върху оста хепсидин-феропортин: те биха могли да инхибират пътищата за синтез на хепсидин или да стимулират износа чрез феропортин [17]. Установено е, че намаляването на нивата на серумен хепсидин чрез таргетна моноклонална терапия при миши модели на анемия при възпаление, успоредно с приложение на еритропоетинова хормонална стимулация, води до възстановяване на хемоглобиновата концентрация [20].

В стадий на разработка и изпитвания са и редица медикаменти, които повлияват транспорта на желязото в миеломните клетки. Такива са моноклоналните антитела, насочени срещу свръхекспресирани върху миеломните клетки трансферинови рецептори (TfR) [5]. Чрез блокиране на вноса и намаляване на интрацелуларното желязо те оказват силен цитотоксичен ефект върху миеломните клетки.

Подобни терапевтични стратегии биха довели до по-ефективно повлияване на нарушенията в метаболизма на желязо и развиващата се впоследствие анемия при пациенти с мултиплен миелом.

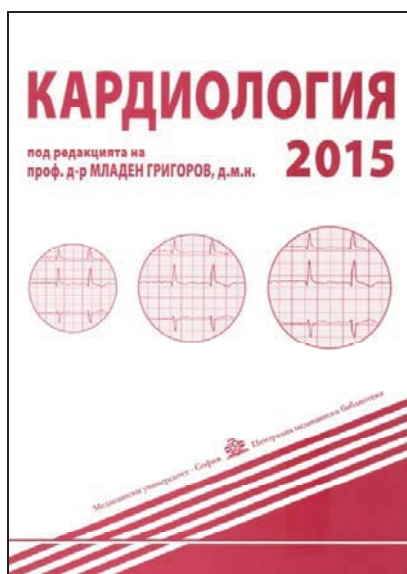
*Този литературен обзор е направен във връзка със спечелен Грант за Научноизследователски проект № 232/2015, Медицински университет – София.*

#### **Библиография**

1. Манолов, В. и др. Изследване на хепсидин в биологични течности. Медицински преглед, 49, 2013, № 2, 41-46.
2. Bird, J. M. et al. Haemato-oncology Task Force of British Committee for Standards in Haematology (BCSH) and UK Myeloma Forum. Guidelines for the diagnosis and management of multiple myeloma 2011. Br J Haematol, 154, 2011, № 1, 32-75.
3. Caro, J. et al. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review. Cancer, 91, 2001, № 12, 2214-2221.
4. Cucianu, A., M. Patiu et A. Rusu. Hepsidin and multiple myeloma related anemia. Med Hypotheses, 66, 2006, № 2, 352-4.
5. Daniels, T. R. et al. The transferrin receptor part I: Biology and targeting with cytotoxic antibodies for the treatment of cancer. Clin Immunol, 12, 2006, № 2, 144-58.
6. Katodritou, E. et al. Sequential evaluation of serum hepcidin in anemic myeloma patients: study of correlations with myeloma treatment, disease variables, and anemia response. Am J Hematol, 84, 2009, № 8, 524-6.
7. Klein, B. et al. IL-6 is the central tumor growth factor in vitro and in vivo in multiple myeloma. Eur Cytokine Netw, 1, 1990, № 4, 193-201.
8. Kyle, R. A. et al. Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. Mayo Clin Proc, 78, 2003, № 1, 21-33.
9. Lee, P. et al. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. Proc Natl Acad Sci USA, 102, 2005, № 6, 1906-10.
10. Ludwig, H., G. Pohl et A. Osterborg. Anemia in multiple myeloma. Clin Adv Hematol Oncol, 2, 2004, № 4, 233-241.
11. Maes, K. et al. In anemia of multiple myeloma, hepcidin is induced by increased bone morphogenetic protein 2. Blood, 116, 2010, № 18, 3635-44.
12. Mano, M. et al. Current role of erythropoietin in the management of patients with hematological and solid malignancies. Cancer Ther, 3A, 2005, 41-56.
13. Mei, S. et al. Hepsidin and GDF15 in anemia of multiple myeloma. Int J Hematol, 100, 2014, № 3, 266-73.

14. N e m e t h , E. et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest*, **113**, 2004, № 9, 1271-6.
15. N e m e t h , E. et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, **306**, 2004, № 5704, 20090-3.
16. N i c o l a e , C. D. et al. Hepcidin in neoplastic disease. *J Med Life*, **6**, 2013, № 3, 355-360.
17. P o l i , M. et al. Hepcidin antagonists for potential treatments of disorders with hepcidin excess. *Front Pharmacol*, **5**, 2014, 86.
18. R a j k u m a r , S. V. Multiple myeloma: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*, **86**, 2011, № 1, 57-65.
19. R i v e r a , S. et al. Hepcidin excess induces the sequestration of iron and exacerbates tumor-associated anemia. *Blood*, **105**, 2005, № 4, 1797-802.
20. S a s u , B. J. et al. Antihepcidin antibody treatment modulates iron metabolism and is effective in a mouse model of inflammation-induced anemia. *Blood*, **115**, 2010, № 17, 3616-3624.
21. S h a r m a , S. et al. Hepcidin overproduction mediates the anemia of multiple myeloma. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*, **108**, 2006, Abstract 516.
22. S h a r m a , S. et al. Involvement of hepcidin in the anemia of multiple myeloma. *Clin Cancer Res*, **14**, 2008, № 11, 3262-7.
23. T r u k s a , J. et al. Different regulatory elements are required for response of hepcidin to interleukin-6 and bone morphogenetic proteins 4 and 9. *Br J Haematol*, **139**, 2007, № 1, 138-147.
24. U k a r m a , L. et al. Hepcidin as a predictor of response to epoetin therapy in anemic cancer patients. *Clin Chem*, **55**, 2009, № 7, 1354-60.
25. V a n d e r W a l l , K. et al. Iron in multiple myeloma. *Crit Rev Oncog*, **18**, 2013, № 5, 449-61.
26. W r i g h t i n g , D. M. et N. C. Andrews. IL-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood*, **108**, 2006, № 9, 3204-9.

Постъпил за печат на 15 юни 2015 г.



## КАРДИОЛОГИЯ 2015

Под ред. на  
проф. д-р Мл. Григоров, дмн

Първо издание  
ЦМБ, МУ – София, 516 с.

Написана от голям авторски колектив (близо 30 автори) и посветена на покойните създатели на българската кардиологична школа, книгата е предназначена за кардиолози, интернисти и други медицински специалисти, за специализанти и студенти.

НАЙ-ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ ПОНЯТИЯ В КАРДИОЛОГИЯТА  
СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ НА ОСНОВНИТЕ АНАТОМИЧНИ ЕЛЕМЕНТИ НА МИОКАРДА  
КРАТКА ФИЗИОЛОГИЯ НА КРЪВООБРАЩЕНИЕТО  
ПАТОФИЗИОЛОГИЯ НА ОСНОВНИТЕ СИМПТОМИ В КАРДИОЛОГИЯТА  
ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА НА ГРЪДНАТА БОЛКА  
ПРИНЦИПИ НА СЪРДЕЧНАТА МОЛЕКУЛЯРНА БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА  
МЕТАБОЛИЗЪМ И ИСКHEMИЯ  
ЕПИДЕМИОЛОГИЯ И РИСКОВИ ФАКТОРИ ЗА СЪРДЕЧНО-СЪДОВИ ЗАБОЛЯВАНИЯ  
АНАМНЕЗА И ФИЗИКАЛНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА СЪРДЕЧНО БОЛНИ  
ОБРАЗНИ МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ  
НУКЛЕАРНА КАРДИОЛОГИЯ  
ИНВАЗИВНИ МЕТОДИ В КАРДИОЛОГИЯТА  
МОНИТОРИРАНЕ НА ОСНОВНИ ХЕМОДИНАМИЧНИ ПАРАМЕТРИ  
СЪРДЕЧНА НЕДОСТАТЪЧНОСТ  
АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТОНИЯ  
ИСКHEMИЧНА БОЛЕСТ НА СЪРЦЕТО (КОРОНАРНА БОЛЕСТ)  
РИТЪМНИ И ПРОВОДНИ НАРУШЕНИЯ  
СЪРДЕЧНА СТИМУЛАЦИЯ И ДИВАЙС ТЕРАПИЯ  
СИНКОП  
СЪРДЕЧЕН АРЕСТ. КАРДИО-ПУЛМОНАЛНА РЕСУСЦИТАЦИЯ  
ВЪЗПАЛИТЕЛНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ НА СЪРЦЕТО  
КАРДИОМИОПАТИИ  
ВРОДЕНИ СЪРДЕЧНИ МАЛФОРМАЦИИ  
ПРИДОБИТИ КЛАПНИ СЪРДЕЧНИ ПОРОЦИ  
БОЛЕСТИ НА КРЪВОНОСНИТЕ СЪДОВЕ  
ТУМОРИ НА СЪРЦЕТО  
ОЦЕНКА НА СЪРДЕЧНИЯ РИСК ПРИ НЕСЪРДЕЧНА ХИРУРГИЯ.  
БРЕМЕННОСТ И СЪРДЕЧНО-СЪДОВИ ЗАБОЛЯВАНИЯ  
РЕХАБИЛИТАЦИЯ ПРИ ЗАБОЛЯВАНИЯ НА СЪРДЕЧНО-СЪДОВАТА СИСТЕМА  
СЪРЦЕ И СПОРТ  
ОЦЕНКА НА ЗДРАВНИТЕ ТЕХНОЛОГИИ В КАРДИОЛОГИЯТА