

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ GENERALĂ**

**CARDIOMIOPATII- DE LA TESTAREA GENETICĂ LA VALIDAREA  
MUTAȚIILOR, FOLLOW-UP ȘI SCREENING-UL FAMILIAL**

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. MARIA DOROBANȚU**

**Student-doctorand:**

**Dr. FOTEA (CĂS. POPA-FOTEA) NICOLETA-MONICA**

## 1. Introducere

Cardiomiopatiile ereditare reprezintă o problemă importantă de sănătate publică la nivel mondial din cauza complicațiilor asociate, dar și din perspectiva implicațiilor rezultate la nivel individual și social.

Cardiomiopatia hipertrofică (CMH) ocupă un loc special în rândul cardiomiopatiilor ereditare, fiind una dintre principalele cauze de moarte subită cardiacă (MSC) la indivizii tineri, în special la sportivii de performanță [1]. În acest context, este important să diagnosticăm boala în fazele inițiale pentru a lua măsuri specifice de tratament și de prevenție a MSC. CMH este o boală autozomal dominantă cauzată de mutații în gene ale sarcomerului sau non-sarcomerice [2]. CMH este cea mai frecvent întâlnită cardiomiopatie ereditară, cu o prevalență în populația generală de 1:500 sau chiar mai mare, după anumite studii [3]. Conform ghidurilor actuale ale Societății Europene de Cardiologie (ESC) pentru managementul CMH, diagnosticul se bazează pe detectarea grosimii crescute a peretelui ventriculului stâng (VS) prin orice modalitate imagistică, cu mențiunea ca hipertrofia ventriculară să nu poate fi explicată pe deplin de presiunile de umplere [4]. Testarea genetică și în aceste cazuri joacă un rol extrem de important pentru distincția acestor patologii.

CMH este o boală genetică monogenică cu transmitere autozomal dominantă, unde o singură mutație este suficientă pentru a determina boala, cu penetranță incompletă și variabilă dependentă de vârstă, dar influențată și de alți factori de mediu și/sau genetici [5,6]. Aproximativ 60% dintre pacienții cu CMH au un istoric familial pozitiv. Prima mutația descoperită ca fiind baza genetică a CMH a fost în lanțul greu al  $\beta$ -miozinei, p.Arg403Glu [7], și a fost urmată de alte mutații în special în gene ce codifică proteine sarcomerice. Actualmente există peste 1400 mutații diferite în peste 25 de gene identificate ca fiind asociate cu CMH pe baza studiilor genotip-fenotipului [8]. De asemenea există și posibilitatea unor mutații spontane/de novo, recunoscute și raportate în literatură încă de la începutul anilor 1990, cu mențiunea obligativității de a demonstra paternitatea [9,10].

Mutații în genele ce codifică proteina de legare a miozinei (MYBPC3) și, respectiv, lanțul greu al  $\beta$ -miozinei (MYH7), sunt responsabile de până la 75% dintre formele de CMH ereditare. Alte gene implicate în etiologia CMH, dar cu frecvență mai redusă, sunt genele care codifică troponinele I și T (TNNI3, TNNI2), tropomiozina  $\alpha$ 1 (TPM1) și lanțul ușor de miozină (MYL3) [4]. Peste 99% dintre variantele patogene se regăsesc în opt dintre genele sarcomerice (menționate în literatura de specialitate ca „gene de bază”) [11]. Pe lângă principalele gene implicate în CMH, s-au evidențiat și alte gene, denumite „emergente”, ce

se regăesc într-un număr mai mic de cazuri. Alte forme de CMH genetică sunt bolile metabolice, infiltrative și neuromusculare, anomaliile cromozomiale și sindroamele genetice, reprezentând aproximativ 5-10% din cazurile diagnosticate la adulți, spre deosebire de populația pediatrică unde principala etiologie de CMH sunt mutații ale genelor implicate în metabolizarea diverselor substraturi [12].

CMH este caracterizată de o heterogenitate înaltă, nu numai din punct de vedere genetic, dar și din perspectiva expresiei clinice și a evoluției, chiar în cadrul aceleiași familii. Manifestările clinice pot varia de la asimptomatic la forme severe, sau chiar la MSC, ca primă expresie a bolii. Penetranța incompletă și variabilitatea de expresie sunt rezultatul a numeroși factori genetici și non-genetici care nu sunt cunoscuți în totalitate.

În prezent, analiza genetică a pacienților cu CMH este din ce în ce mai utilizată. Rezultatele testelor genetice pot influența direcțiile terapeutice în unele cazuri și pot ghida screening-ul rudelor de gradul întâi care astfel afla rezultatul înainte de apariția simptomatologiei. Testarea genetică este un instrument indispensabil pentru evaluarea transmiterii ereditare în vederea consilierii genetice, extrem de utilă mai ales la pacienții cu prezentare clinică atipică de CMH sau când se suspectează o fenocopie. În practica curentă, în special atunci când CMH este detectată după vârsta de 65 de ani, este dificil să se afirme numai pe baza investigațiilor clinice și paraclinice cauza acesteia (o boală sarcomerică descoperită târziu, amiloidoză, boala Fabry sau alte fenocopii) în absența testării genetice.

O contribuție importantă a testării genetice este aceea că permite distincția dintre CMH și alte fenocopii. Testarea genetică detectează variante patogene în gene cunoscute pentru diferite fenocopii în aproximativ 3% dintre indivizii testați. Identificarea acestora are o implicație directă, având în vedere că istoria naturală și tratamentul din CMH și celelalte fenocopii diferă uneori fundamental. De exemplu, terapia de substituție enzimatică specifică în anumite fenocopii cum este boala Fabry sau amiloidoza TTR. Un dezavantaj al testării genetice actuale în CMH este incapacitatea de a identifica la 50-60% dintre pacienții mutații patogene (P) sau potențial patogene (PP). Aceasta se întâmplă din pricina genelor patogene încă necunoscute.

Cercetarea de față își propune testarea genetică prin NGS (next-generation sequencing) a unei cohorte de subiecți cu CMH, dar și caracterizarea completă din punct de vedere ecocardiografic a acestor pacienți în ceea ce privește estimarea riscului aritmic utilizând dispersia mecanică a ventriculului stâng și drept, dar și funcția mecanică a atriului stâng la acești subiecți. Lucrarea de față este alcătuită din 2 părți, partea generală și contribuția personală, aceasta din urmă fiind constituită din 3 sub-studii: două sub-studii

ecocardiografice și un sub-studiu de cardio-genetică cu testare genetică prin sinteză folosind un panel extins de gene.

## **2. Obiective specifice**

Obiective specifice ale prezentei teze de doctorat sunt:

- determinarea rolului aditiv al dispersiei mecanice combinate de VS și VD în estimarea riscului aritmic al subiecților cu CMH adăugat la calculatorul de risc HCM-SCD;
- evaluarea funcției fazice a atriului strâng comparativ între grupul cu CMH și unul format din subiecți hipertensivi cu HVS, precum și identificarea unor parametri de ecografie de tip speckle-tracking care ar putea diferenția cele 2 afecțiuni (CMH și cardiopatia hipertensivă);
- secvențierea unei cohorte de pacienți cu CMH prin noile tehnici de secvențiere (NGS) pentru identificarea variantelor genice cauzale ale fenotipului;
- screening-ul familial al subiecților cu CMH care au consimțit la participarea în studiu.

## **3. Metodologia generală a cercetării**

Studiul actual a fost aprobat de Comitetul de etică al Spitalului Clinic de Urgență, București prin avizul nr. 2067 din 28.02.2017. Participarea pacienților la studiu va fi consimțită în mod liber, fapt certificat prin semnarea formularului de consimțământ informat- Anexa 1. Probele care fac obiectul acestei cercetări au fost colectate de la subiecți evaluați în cadrul Spitalul Clinic de Urgență București.

### **Criteriile de includere ale pacienților au fost:**

- identificarea prin ecografie cardiacă a unei hipertrofii de cel puțin 15 mm, ce afectează unul sau mai multe segmente ale VS și care nu este explicată de presiunile crescute de umplere ventriculare
- sau rude de gradul I/II ale subiecților cu CMH diagnosticată.

### **Criterii de excludere:**

- afecțiuni ce induc prin presiunile de umplere crescute hipertrofie ventriculară, precum stenoza aortică moderată sau severă, bolile infiltrative sau de depozit
- fereastră ecografică dificilă
- imposibilitatea de a acorda consimțământ informat
- criteriile specifice de excludere pentru fiecare dintre cele 2 sub-studii ecocardiografice ce vor fi menționate în capitolul dedicat

### **3.1 Metode de evaluare**

Participanții selectați și diagnosticați cu CMH au fost evaluați astfel:

- examinare clinică completă;
- arbore genealogic pe cel puțin 3 generații cu ajutorului software-ului Progeny [65] în care au fost sintetizate antecedentele familiale;
- electrocardiogramă în 12 derivații;
- holter ECG pe 24h;
- ecocardiografie bidimensională și tridimensională;
- testare genetică prin NGS.

Rudele de gradul I/II ale pacienților cu CMH care au consimțit la includerea în studiu în cadrul screening-ului familial au fost evaluate astfel:

- examinare clinică completă;
- electrocardiogramă;
- ecocardiografie bidimensională și tridimensională.

Fiecare dintre metodele de evaluare ale subiecților incluși vor fi prezentate pe scurt mai jos, urmând ca în cadrul fiecăruia dintre cele 3 sub-studii acestea să fie detaliate.

#### **3.1.1 Arborele genealogic**

La fiecare dintre pacienții incluși în studiu cu CMH s-a efectuat analiza arborelui genealogic pe cel puțin 3 generații cu ajutorul softului Progeny, cu accent asupra antecedentelor de MSC sau a antecedentelor de CMH sau CMD. De asemenea s-a urmărit paternul de transmitere genetică (autozomal dominant, recesiv sau X-linkat) în cazul familiilor cu multipli membri diagnosticați cu CMH.

### **3.1.2 Electrocardiograma în 12-derivații**

Fiecare dintre subiecții incluși au efectuat electrocardiogramă, la care s-au urmărit următoarele:

- hipertrofia ventriculară stângă folosind algoritmi multipli (Sokolov-Lyon, Cornell, Cornell modificat sau Romhilt-Estes)
- supraîncărcarea atrială stângă
- prezența undele q patologice ( $>0.04$  s sau  $>25\%$  din unda R)
- modificări marcate de repolarizare ( de exemplu, unde T negative în cel puțin 2 derivații)
- disritmii de tip flutter sau fibrilație atrială, tahicardii supraventriculare, tahicardii ventriculare, extrasistolie supraventriculară sau ventriculară.

### **3.1.3 Monitorizarea electrocardiogramei pe 24h**

Fiecare dintre subiecții cu CMH incluși au beneficiat cel puțin o dată- la includere- de monitorizare Holter pe 24h. La monitorizarea Holter pe 24h s-au urmărit următoarele:

- tulburărilor de ritm supra-ventriculare (fibrilație atrială, flutter atrial, tahicardie paroxistică supra-ventriculară, tahicardie atrială, extrasistolie supraventriculară);
- tulburărilor de ritm ventriculare (tahicardii ventriculare susținute și/sau nesusținute, extrasistolie ventriculară izolată sau sistematizată).

### **3.1.4 Ecocardiografia**

Toți subiecții au fost evaluați prin:

- ecografie cardiacă transtoracică 2D utilizând un ecograf VIVID E9, GE Healthcare, Wauwatosa, WI, SUA, cu sonda de 3.5 MHz. S-au realizat toate incidențele standard de ecocardiografie: apicale (ax lung, patru și două camere), para-sternal ax lung și scurt, toate achiziționate cu 50-70 cadre pe secundă;
- ecografie cardiacă 3D, folosind același ecograf VIVID E9 menționat mai sus, dar cu o sonda 4C-D convexă; calculul volumelor VS în cazul ecografiei 3D s-a efectuat cu ajutorul softului semiautomat 4D Auto LVQ, EchoPAC BT 12; GE Vingmed Ultrasound AS. La finalul prelucrării datelor programul a afișat automat volumele și volumul bătaie VS și FEVS;
- ecografia de tip Doppler tisular la nivelul inelului mitral medial pentru evaluarea vitezei proto-diastolice a inelului mitral medial și la nivelul inelului mitral lateral pentru viteza proto-diastolică a inelului mitral lateral; de asemenea s-a determinat prin Doppler

tissular viteza maximă sistolică a inelului tricuspidian lateral în incidența de apical 4 camere;

- ecografie de tip speckle-tracking pentru determinarea strain-ului global longitudinal al VS, strain-ului de perete liber VD și funcțiilor fazice ale AS; de asemenea utilizând ecografia 2D strain pentru calcularea dispersiei mecanice de VS și VD.

Imaginile au fost prelucrate, și toate măsurătorile au fost analizate off-line utilizând software-ul EchoPac versiunea BT13 (GE Vingmed Ultrasound, Horten, Norvegia).

### **3.1.5 Testarea genetică prin noile tehnici de secvențiere**

Subiecții diagnosticați cu CMH au fost testați genetic utilizând tehnica de secvențiere prin sinteză de nouă generație (NGS) utilizând un panel de 47 de gene asociate cu CMH. Extracția ADN-ului s-a realizat dintr-o probă de sânge venos recoltată într-un vacutainer cu EDTA, și utilizând un extractor automat. După secvențierea ADN-ului extras folosind platforma Illumina, s-au analizat din punct de vedere al relevanței lor clinice folosind soft-ul VariantStudio v3.0 toate variantele genice după excluderea celor benigne sau potențial benigne și a acelor cu frecvență alelică mai mare de 1%, pentru ca la final să fie formulate buletine de analiză genetică pentru fiecare individ secvențiat din cadrul studiului.

## **4. Rezultate**

### **4.1 Rezultatele primului sub-studiu ecocardiografic dedicat dispersiei mecanice combinate a ventriculului stâng și drept în stratificarea riscului aritmic în CMH**

În cadrul acestui sub-studiu s-a arătat că:

- dispersia mecanică a VD și a VS este crescută la pacienții cu CMH și TVNS comparativ cu cei fără TVNS pe monitorizare Holter ECG, aceștia din urmă având valori comparabile cu lotul control.
- dispersia VS și VD sunt predictorii independenți semnificativi pentru frecvența și durata episoadelor de TVNS.
- dispersia VS mai mare de 62 ms este un bun parametru pentru discriminarea subiecților cu CMH și TVNS.
- dispersia mecanică a VD mai mare 39 ms s-a corelat cu prezența TVNS la monitorizarea ECG pe 24 de ore, independent de prezența hipertrofiei peretelui liber de VD;

analiza utilizată s-a limitat la segmentele de perete liber de ventricul drept pentru a evita includerea segmentelor afectate ale septului inter-ventricular.

- subiecții cu CMH, mutații patogene sau probabil patogene și TVNS a avut o DM VS și VD semnificativ mai mare comparativ cu lotul cu TVNS, dar fără mutații genetice identificate cu semnificație patogenă sau probabil patogenă conform VarSome; aceasta din urmă sugerează că anumite mutații genetice se pot asocia mai frecvent cu TVNS și implicit, cu un risc mai crescut de MSC.

#### **4.2 Rezultatele celui de-al doilea sub-studiu ecocardiografic dedicat funcția atrului stâng în ecocardiografie speckle-tracking la pacienții cu CMH în funcție de genotip și noilor parametri de diferențiere a CMH de cardiomiopatia hipertensivă**

În cadrul acestui sub-studiu s-au arătat următoarele:

- funcția AS, evaluată prin ecocardiografie speckle-tracking, este global mai afectată la subiecții cu CMH comparativ cu cei având cardiopatie hipertensivă, ultimul grup fiind caracterizat de disfuncție izolată a funcției de conduct a AS, în timp ce funcțiile de rezervor și de pompă sunt prezervate.
- reducerea umplerii pasive a AS în CMH evaluată prin funcția de rezervor și conduct este cauzată cel mai probabil de reducerea complianței AS, evaluată indirect prin LASI, care a arătat o rigiditate semnificativ crescută la cei cu CMH comparativ cu lotul martor sau subgrupul cu HTN.
- strain-ul și strain-rate-ul AS raportat la grosimea SIV sunt discriminatorii ai HVS din CMH.
- raportul  $LASct$  și  $IVS \leq 0.38$  a arătat o sensibilitate de 87% și o specificitate de 81%, iar raportul dintre  $pLASRct$  și  $IVS \leq -0.03$  o sensibilitate de 71% și o specificitate de 75% în comparație cu alți parametri ecocardiografici clasici, de discriminare a HVS din CMH; așadar propunem normalizarea parametrilor de strain și strain rate la grosimea septului interventricular, pentru a crește precizia discriminării între CMH și HTN cu un grad similar de HVS.
- pacienții cu mutații patogene sau potențial patogene sarcomerice sau relaționate cu sarcomerul au avut o funcție de pompă afectată în comparație cu pacienții genotip negativ, în ciuda unor valori similare ale FEVS, sau a funcțiilor de rezervor și conduct ale AS.



- disfuncția de pompă a AS la subiecții cu CMH și mutații în gene care codifică proteine sarcomerice sau asociate sarcomerului poate fi corelată cu fibroza mai extensivă a AS și VS sugerând un stadiu mai avansat al bolii la acești indivizi. Această diferență în funcția AS în funcție de genotip se mai poate datora unei evoluții mai îndelungate a CMH și odată cu aceasta o disfuncție mai severă de AS.

### **4.3 Rezultatele sub-studiului genetic**

În cadrul sub-studiului genetic s-au secvențiat 45 de subiecți cu CMH cu următoarele concluzii legate de rezultatul testării genetice:

- pozitiv în 6 cazuri (13.3%) cu mutații patogene sau probabil patogene strict în gene sarcomerice (MYBPC3, MYH7, TNNI3, TPM1)
- neconcludent la 31 dintre pacienți (68.89%)
- negativ în 8 cazuri (17.78%).

Cele mai frecvent întâlnite variante au fost în genele TTN (58) și MYBPC3 (23), urmate de MYH7 și MYH6, fiecare cu câte 7 variante.

Dintre variantele identificate, au fost 118 variante punctiforme (missense) (75.16%); 25 variante sinonime (15.92%); 9 inframe indels (5.73%); 1 variantă de tip frameshift (0.64%); 1 variantă splice-variant (0.64%) și 3 de tip stop-gained (1.92%).

Majoritatea variantelor descrise în cadrul studiului au fost secvențiate la un singur pacient, cu excepția a 7 dintre acestea (MYBPC3 c.1967C>T, MYBPC3 c.1965A>G, MYBPC3 c.1957\_1962delGGCCGC, MAP2K1 c.315C>T, MYBPC3 c.565G>A, TTN-AS1 NR\_038271.1:n.446+3284dupT, MYBPC3 c.3413G>C) care au fost descrise la doi sau maxim trei subiecți.

## **5. Discuții**

### **5.1 Discuțiile sub-studiului ecocardiografic dedicat dispersiei mecanice combinate a ventriculului stâng și drept în stratificarea riscului aritmic în CMH**

În sub-studiul prezent, s-a arătat că atât DM VS cât și DM VD sunt crescute la pacienții cu CMH și TVNS comparativ cu cei fără TVNS pe monitorizare Holter ECG, aceștia din urmă având valori comparabile cu lotul control. Mai mult, s-a arătat că DM VS și VD sunt predictorii independenți semnificativi pentru frecvența și durata episoadelor de

TVNS. De asemenea s-a observat că grupul cu mutații patogene sau probabil patogene și TVNS a avut o DM VS și VD semnificativ mai mare comparativ cu lotul cu TVNS, dar fără mutații genetice identificate. Aceasta din urmă sugerează faptul că anumite mutații genetice se pot asocia cu un risc mai mare de TVNS și implicit, de MSC de etiologie aritmică.

Una dintre principalele cauze de MSC în populația cu CMH sunt aritmiile ventriculare, fie tahicardii ventriculare susținute, fie fibrilația ventriculară [13,14], din aceste studii reieșind importanța identificării pacienților cu risc crescut de aritmii ventriculare. Chiar și atunci când se iau în considerare factorii de risc convenționali pentru MSC (TVNS, hipertrofia severă de VS, antecedentele familiale de MSC, fibrilație atrială și/sau dimensiunea AS, FEVS, vârstă, sincopă inexplicabilă), 8% dintre pacienții cu MSC nu vor fi identificați, ceea ce arată necesitatea identificării unor parametri de risc suplimentari rapid și ușor de obținut [15]. Strain-ul global longitudinal de VS este un marker sensibil pentru detectarea disfuncției miocardice și a fost deja asociată cu TVNS la subiecții cu CMH [16,17], precum și DM VS [18].

Prezența a mai mult de trei segmente ale VS cu deformare longitudinală redusă ( $\geq -10\%$ ) prezice cu 81% sensibilitate și 97% specificitate TVNS cum se arată într-un studiu al lui di Salvo [16]. Strain-ul global longitudinal de VS este un marker al aritmiilor ventriculare la subiecții cu CMH ( $-14.1 \pm 3.6\%$ ) [19]. Asocierea DM VS crescută cu aritmii a fost observată și în alte cardiomiopatii, ischemice [20] sau non-ischemice: cardiomiopatie ventriculară dreaptă aritmogenă [21], cardiomiopatie dilatată [22] sau în prolapsul valvei mitrale [23]. Fibroza miocardică focală sau difuză care caracterizează CMH induce heterogenitate electrică în conducerea stimulului intra-cardiac, care la rândul său crește dispersia electrică creând mediul favorabil dezvoltării aritmiilor ventriculare, cum ar fi tahicardiile ventriculare. Întrucât contracția mecanică depinde de activarea electrică, dispersia electrică crescută va duce la creșterea dispersiei mecanice. Fibroza miocardică se dovedește a fi cea mai probabilă legătură între dispersia electrică și mecanică, un studiu arătând că DM VS crescută este legată de gradul de fibroză la RM [19]. Cu toate că DM VS a fost analizată în diverse studii, nu sunt disponibile suficiente date pentru corelația dintre DM VS și apariția TVNS sau despre cum parametrul compozit format din DM VD și VS ar putea îmbunătăți stratificarea riscului aritmic al pacienților cu CMH.

Prezentul sub-studiu a arătat că o valoare a DM VS mai mare de 62 ms este un bun parametru pentru discriminarea subiecților cu CMH și TVNS. În studiile anterioare, s-au constatat alte valori de referință ale DM VS asociate cu un risc crescut de aritmie ventriculară diferite de valoarea de 62 ms identificată în prezentul sub-studiu. Aceste discrepante s-ar

putea datora heterogenității cohortelor analizate, deoarece unele studii au inclus numai pacienții cu CMH și defibrilator cardiac implantabil, care aveau un risc mai crescut de MSC [24] sau subiecți cu fibroză miocardică extinsă.

Mai mult de atât, comparativ cu alte studii, am analizat și DM VD și am identificat o corelație între acest parametru și TVNS. Analiza a folosit numai segmentele de perete liber de ventricul drept pentru a evita includerea segmentelor afectate ale septului inter-ventricular. Interesant, DM VD crescută ( $> 39$  ms) s-a corelat cu prezența TVNS la monitorizarea ECG pe 24 de ore, independent de prezența hipertrofiei peretelui liber de VD.

Această constatare ar putea avea diverse explicații, cum ar fi: faptul că ecocardiografia a măsurat numai un perete al VD, fără a exclude o posibilă hipertrofie a celorlalte segmente; o fibroză difuză a VD în contextul CMH sau o afectare a hemodinamicii, cu hipertensiune pulmonară secundară determinată de presiunile crescute de umplere ale VS. O dovadă care ar susține argumentul hipertensiunii pulmonare secundare ar fi o corelație între volumele AS și valorile DM VD, dar în cohorta noastră nu a existat o corelație semnificativă între acești parametri.

Majoritatea studiilor publicate au investigat relația dintre aritmiile maligne și DM VD la pacienții cu cardiomiopatie aritmogenă de ventricul drept (CAVD), arătând că valori peste 29 ms pentru DM VD se asociază cu tahicardie sau fibrilația ventriculară; chiar și un purtător asimptomatic al unei mutații asociate cu CAVD are o valoare a DM VD semnificativ mai crescută comparativ cu lotul control [21]. Ar fi fost util să existe date despre DM VD și în alte cardiomiopatii, cu implicare predominant a VS, dar, din câte știm, acesta este primul sub-studiu care analizează la pacienții cu CMH corelația dintre TVNS și DM VD sau parametrul compozit DM VS și VD.

Există câteva limitări ale acestui sub-studiu, cum ar fi numărul redus de subiecți incluși și designul său transversal; prin urmare, sunt necesare studii prospective ample pentru a confirma constatările și a stabili valorile cele mai fiabile pentru DM VD și VS dacă aceștia vor fi considerați markeri suplimentari pentru evaluarea riscului aritmic la subiecții cu CMH.

De asemenea s-a observat că subiecții cu rezultat genetic pozitiv și TVNS au avut o DM VS și VD semnificativ mai crescută comparativ cu cei fără TVNS sugerând că anumite mutații genetice sunt mai predispuse la aritmii comparativ cu altele, însă nu s-a putut realiza o sub-analiză în funcție de gena mutată întrucât numărul de subiecți a fost scăzut, fapt susținut și de alte studii [25]. De asemenea o altă limitare este lipsa informațiilor oferite de RM în ceea ce privește extensia fibrozei miocardice și corelarea DM VS și VD cu zonele de fibroză.

Cu toate acestea, sub-studiul de față oferă date preliminare cu privire la valoarea prognostică a unui parametru ecocardiografic relativ ușor de obținut și disponibil pe scară largă, care ar putea fi mai ușor de aplicat în practica clinică decât imagistica prin RM, scumpă și mai puțin accesibilă.

În studiu au fost analizate numai TVNS, excluzând tahicardia ventriculară susținută sau fibrilație ventriculară, din cauza numărului redus de pacienți din cohortă cu acest tip de evenimente ventriculare (doar doi subiecți au prezentat fibrilație ventriculară sau tahicardie susținută) și întrucât aceștia au avut o FEVS < 50%, acesta din urmă fiind criteriu de excludere.

## **5.2 Discuțiile sub-studiului ecocardiografic dedicat funcția atriului stâng în ecocardiografie speckle-tracking la pacienții cu CMH în funcție de genotip și noilor parametri de diferențiere a CMH de cardiomiopatia hipertensivă**

Acest sub-studiu a evaluat funcția AS folosind parametri convenționali 2D volumetrici dar și parametri de speckle-tracking la pacienți cu HVS cauzată fie de CMH, fie de HTN esențială și, în plus, a analizat dacă rezultatul genetic pozitiv la subiecții cu CMH are impact asupra remodelării funcționale a AS.

Ecocardiografia speckle-tracking s-a dovedit a fi o tehnică fezabilă și reproductibilă [26,27], ușor de realizat în practica clinică la subiecții cu fereastră acustică favorabilă. Rezultatele noastre au arătat că funcția AS, evaluată prin ecocardiografie speckle-tracking, este global mai afectată la subiecții cu CMH comparativ cu subiecții având HTN esențială, ultimul grup fiind caracterizat de disfuncție izolată a funcției de conduct a AS, în timp ce funcțiile de rezervor și de pompă au fost păstrate; aceste constatări sunt similare cu alte studii care raportează o scădere a pLASRcd în HTN esențială [28]. Pe de altă parte, analiza volumetrică bidimensională a arătat că subiecții cu CMH au numai o afectare a funcțiilor de rezervor și conduct a AS, în timp ce funcția de pompă a fost similară cu cea din grupul control sau cu HTN. Aceste diferențe între analiza volumetrică și speckle-tracking pot fi explicate printr-o sensibilitate mai mare a acesteia din urmă în evidențierea disfuncției miocardice sub-clinice. Reducerea umplerii pasive a AS în CMH evaluată prin funcția de rezervor și conduct este cauzată cel mai probabil de reducerea complianței AS [29], evaluată indirect prin LASI, care a arătat o rigiditate semnificativ crescută la cei cu CMH comparativ cu lotul martor sau subgrupul cu HTN.

Ca noutate, acest sub-studiu propune, utilizarea raportului dintre parametrii de strain ai AS și grosimea SIV. S-a arătat că strain-ul și strain-rate-ul AS raportat la grosimea SIV sunt discriminatori mai buni ai CMH; mai exact raportul dintre LASct și IVS a arătat o sensibilitate (87%) și specificitate (81%) ridicată pentru un cut-off de  $\leq 0.38$ , precum și raportul dintre pLASRct și IVS cu o sensibilitate de 71% și specificitate de 75% pentru cut-off de  $\leq -0.03$  în comparație cu alți parametrii ecocardiografici clasici, cum ar fi strain și strain-rate-ul funcției de rezervor sau conduct a LA, grosimea SIV, masa indexată a VS, E/e's, E/e'l care nu au prezentat nici sensibilitate, nici specificitate. În consecință, rapoartele dintre LASct sau pLASRct și grosimea SIV pot fi markeri promițătoare pentru diferențierea dintre CMH și HTN esențială, ambele patologii fiind cauze de HVS. Diferit de Badran și colaboratorii [30], am obținut diferențe semnificative ale funcției de pompă între grupurile CMH și HTN și, în plus, LASct/SIV și pLASRct/SIV au avut o putere discriminativă mai bună pentru CMH în comparație cu parametrii propuși de autorii de mai sus. Diferențele se pot datora heterogenității subiecților incluși; FEVS și indicele cardiac al grupului cu CMH au fost semnificativ scăzute în comparație cu valorile din cohorta studiului lui Badran, sugerând un stadiu mai avansat al CMH în cohorta noastră.

S-a sugerat în mai multe studii că remodelarea AS la pacienții cu CMH (atât în ceea ce privește modificările structurale, cât și cele funcționale) este multifactorială. Disfuncția diastolică și hipertrofia VS, insuficiența mitrală, obstrucția din TEVS, fibroza difuză și miopatia atrială intrinsecă sunt câțiva dintre factorii incriminați în remodelarea atrială [31]. În studiile bazate pe RM, s-a demonstrat că în CMH, anomaliile funcționale ale AS apar treptat, în corelație cu gradul de fibroză a VS. În consecință, funcția de conduct a AS este redusă încă din fazele timpurii ale bolii (caracterizată prin fibroză ușoară sau absentă a VS), în timp ce disfuncția contractilă a AS se dezvoltă mai târziu în cursul bolii, atunci când este documentată fibroza extensivă a VS [32]. Într-adevăr, disfuncția de rezervor și conduct a AS, împreună cu deformarea regională a AS (în special o scădere la nivelul peretelui LA antero-superior al AS) apare înainte de dilatarea atrială, după cum au demonstrat recent Yang și colegii [33].

Cel mai important, studiul nostru oferă noi perspective cu privire la corelațiile genotip-fenotip ale funcției AS în CMH. Pacienții cu mutații sarcomerice sau relaționate cu sarcomerul P/PP au avut o funcție de pompă afectată în comparație cu pacienții cu genotip negativ, în ciuda unor valori similare ale FEVS, sau a funcțiilor de rezervor și conduct ale LA. Disfuncția de pompă a AS la subiecții cu CMH și mutații în gene care codifică proteine sarcomerice sau asociate sarcomerului poate fi corelată cu fibroza mai extensivă a AS și VS

sugerând un stadiu mai avansat al bolii la acești indivizi [32]. Această diferență în funcția AS în funcție de genotip se poate datora unei evoluții mai îndelungate a CMH și odată cu aceasta o disfuncție mai severă de AS [12] sau simptomelor, întrucât am luat în considerare valorile la înrolarea în studiu și nu progresia lor de-a lungul timpului. Evoluția mai îndelungată a bolii este asociată cu evenimente cardiovasculare mai frecvente, dilatarea și disfuncția AS [34]. Identificarea timpurie a disfuncției AS este de mare importanță, deoarece aceasta ar putea identifica pacienții cu risc de fibrilație atrială paroxistică [35] sau alte aritmii, după cum arată Negishi și colaboratorii în cardiomiopatia dilatată neischemică [36].

Cu toate acestea, sub-studiul nostru are mai multe limitări. A inclus un număr mic de subiecți cu CMH, deoarece au fost excluși cei fără testare genetică, cohorta redusă putând influența rezultatele statistice. Designul observațional de tip transversal ne împiedică să concluzionăm cu privire la valoarea prognostică a funcției AS. Sunt necesare studii viitoare prospective, cu o cohortă mai mare de subiecți, pentru a concluziona cu exactitate despre rolul raportului dintre strain-ul sau strain-rate-ul AS și grosimea SIV în CMH. Un alt dezavantaj se referă la lipsa imagisticii prin rezonanță magnetică. Captarea tardivă de gadolinium permite cuantificarea fibrozei miocardice a AS, care poate fi, de asemenea, un discriminator între pacienții genotip pozitiv sau negativ cu CMH și care ar fi putut explica diferențele în funcția AS funcție de genotip.

#### **4.3. Discuțiile sub-studiului dedicat testării genetice în CMH**

În acest sub-studiu, s-a investigat genetic o cohortă de pacienți având diagnosticul de CMH. Caracteristicile generale ale cohorței de subiecți cu CMH au arătat că la înrolare subiecții au fost în medie în decada a cincea de viață, cu o predominanță masculină.

În cadrul studiului s-au identificat 157 mutații cu o frecvență alelică <1%, care au fost clasificate după softul VarSome astfel: 23 mutații patogene sau probabil patogene (14.65%), dintre care 11 (47.83%) nu au fost raportate anterior, 39 de variante cu semnificație necunoscută (24.84%), dintre care 24 neraportată anterior, precum și 95 mutații benigne sau probabil benigne (60.51%), dintre care 13 neraportate anterior (13.68%).

Genele MYBPC3 și TTN au arătat cea mai mare variație a secvenței, dintre care variația extinsă a TTN ar fi putut fi prezisă având în vedere dimensiunea proteinei și numeroasele variante alternative de splicing.

Conform ClinVar, numai 6 dintre cele 23 de mutații clasificate conform VarSome ca fiind patogene sau probabil patogene îndeplinesc criteriile necesare pentru a fi definite cert ca fiind patogene sau probabil patogene.

Toate variantele P/PP s-au aflat în gene ce codifică proteine sarcomerice. Dacă este să comparăm studiul de față cu alte studii, rata de detecție de variante P/PP (13.3%) este mai mică, pentru aceste diferențe existând mai multe explicații.

În primul rând, criteriile mai stricte pentru clasificarea într-o categorie sau alta a variantelor secvențiate conform noilor recomandări ale Colegiului American de Genetică Moleculară (ACMG) [37], numărul de teste genetice pozitive scăzând progresiv în timp, de la aproximativ 58% înainte de 2000 la 38% după 2010, după cum se arată într-o analiză dintr-un registru internațional [38]. Rata de detecție de variante P/PP în studii recente a variat între 21.4% și 38% dintre cazuri [39-41].

În al doilea rând, recomandarea mai frecventă și accesul mai facil la testarea genetică au făcut ca referirea cazurilor către secvențiere să fie indicată și la cei cu fenotipuri mai puțin severe și/sau diagnostice mai puțin definitive [39,42].

În al treilea rând, există doar date limitate cu privire la baza genetică a CMH în populația din România, datele disponibile limitate fiind legate în principal de fenocopii [43-45].

Proporția de variante nou identificate în cohorta noastră este comparabilă cu date din literatură care indică o rată de 35-40%, jumătate dintre acestea fiind unice per familie [39]. În ceea ce privește genele care adăpostesc mutații P/PP, datele noastre sunt în concordanță cu descoperirile anterioare care arată că cele mai frecvente variante cauzale au fost detectate în gene sarcomerice de bază, predominant MYBPC3 și MYH7 care împreună explică aproximativ jumătate dintre cazurile de CMH familială [46-48]. Șaisprezece probanzi (35.6%) din cohorta noastră au purtat o variantă VUS sau variante cu date discordante (VUS/PP), o rată mai mare decât cea publicată recent de un grup finlandez [40]. Cinci subiecți (11%) au avut variante raportate anterior pentru care clasificarea ClinVar nu era disponibilă (cu sau fără una sau mai multe variante noi), în timp ce alți 5 pacienți au avut numai variante nou identificate. În total, rezultatele neconcludente au reprezentat 68.9% din totalul cazurilor, în concordanță cu alte date publicate care au arătat rezultate neconcludente sau negative la 40-60% dintre subiecții selectați [48-50]. Pentru restul de 8 pacienți (17.8%) din cohorta noastră, nicio variantă (P/PP, VUS, sau variantă cu date discordante) nu a fost detectată în oricare dintre genele testate, indicând faptul că sunt necesare studii suplimentare pentru elucidarea substratului genetic al CMH.

Eșecul identificării variantelor mendeliene rare într-o proporție substanțială de pacienți cu CMH sugerează mecanisme mai complexe ce stau la baza acestei boli.

Mai multe ipoteze pot explica eșecul identificării mutațiilor cauzale în 40-50% dintre cazurile de CMH, precum:

- existența unor variante rare în gene necunoscute pentru CMH; actualmente secvențierea utilizând paneluri genetice extinse sau chiar secvențierea întregului exom/genom (WES/WGS) încearcă rezolvarea acestei probleme;
- CMH poate fi cauzată de variante rare în regiuni non-codante ale genomului; Bagnall și colaboratorii [51] au arătat că o variantă intronică în gena MYBPC3 poate explica până la 9% dintre cazurile cu rezultat genetic neconcludent;
- CMH cu transmitere non-mendeliană; din ce în ce mai multe date arată că cazurile de CMH genotip negative sunt foarte probabil să reprezinte forme non-mendeliene ale bolii, cu prognostic însă mai puțin sever sau cu risc mai scăzut de transmitere genetică. Identificarea unor asemenea gene candidat este îngreunată de necesitatea efectuării de studii de asociere genomică în populații de mari dimensiuni cu determinarea atât a frecvenței alelei în populație, cât și a efectului său asupra fenotipului.

## **6. Contribuții personale și perspective**

În cadrul studiului de față a fost secvențiată pentru prima dată în România o cohortă de subiecți având diagnosticul de cardiomiopatie hipertrofică folosind tehnici de secvențiere de nouă generație de tip secvențiere prin sinteză folosind un panel de 47 de gene asociate cu CMH. Ca element de originalitate, s-au identificat 45 de variante genetice neraportate în ClinVar, dintre care 11 raportate în VarSome ca patogene sau probabil patogene; se urmărește în perspectiva validarea acestor mutații neraportate anterior prin tehnica clasică de secvențiere Sanger, precum și studiul impactului acestor în cauzalitatea fenotipului. În ceea ce privește cele 31 de rezultate genetice cu semnificație incertă, într-un sub-studiu viitor aflat în desfășurare se va analiza segregarea genotip-fenotip în cadrul familiilor cu mai mulți membri pentru clasificare definitivă a variantelor cu semnificație încă incertă.

Sub-studiul cardiogenetic oferă date preliminare pentru caracteristicile genetice ale CMH în Europa de Sud-Est, unde există puține date legate de prevalența anumitor mutații comparativ cu Europa de Vest sau de Nord, de unde provin cele mai multe date de incidență a mutațiilor în CMH.



În cadrul sub-studiilor ecocardiografice, s-a arătat că prezența mutațiilor genetice patogene sau probabil patogene conform VarSome este asociată cu aritmiile ventriculare, mai exact cu tahicardii ventriculare nesuținute comparativ cu sub-grupul neavând mutații patogene sau probabil patogene, însă nu s-a putut realiza o sub-analiză în funcție de gena mutată întrucât numărul de subiecți a fost scăzut pentru o sub-analiză în funcție de gena afectată. În perspectivă se va lărgi lotul de studiu prin includerea unui număr mai mare de subiecți ce va permite o posibilă analiză diferențiată în funcție de genotip. Cu toate acestea, sub-studiul de față oferă date preliminare cu privire la valoarea prognostică a unui parametru ecocardiografic relativ ușor de realizat și anume dispersia mecanică combinată a ventriculului stâng și drept disponibilă pe scară largă, care ar putea fi mai ușor de aplicat în practica clinică decât imagistica prin RM, scumpă și mai puțin disponibilă și care la rândul său se corelează cu rezultatul testării genetice. Utilizarea acestor parametrii, rezultatul testării genetice împreună cu dispersia mecanică compusă a ventriculului drept și stâng, ar putea crește sensibilitatea de detectare a subiecților cu CMH și risc de tahicardii ventriculare.

În cel de-al doilea sub-studiu ecocardiografic s-a evidențiat că rapoartele dintre LASct sau pLASRct și grosimea SIV pot fi markeri promițători pentru diferențierea dintre CMH și HTN esențială, ambele patologii fiind cauze de HVS. Poate mai important, acest sub-studiu oferă noi perspective cu privire la corelațiile genotip-fenotip ale funcției AS în CMH. Subiecții cu mutații patogene sau probabil patogene conform VarSome au prezentat disfuncție de pompă a AS comparativ cu subiecții având testare genetică negativă, ceea ce poate sugera pe de-o parte o afectare mai severă a funcției atriale la cei cu mutații genetice, și/sau pe de altă parte, o evoluție mai îndelungată a bolii. Pentru stabilirii relației dintre funcția atrială stângă și genotipul subiecților cu CMH se are în vedere un studiu prospectiv de urmărire pe termen lung a parametrilor funcției fazice a atriului stâng în corelație cu evoluția la 1 și la 5 ani.

### **Bibliografie selectivă**

- [1] Maron BJ, Doerer JJ, Haas TS, Tierney DM, Mueller FO. Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006. *Circulation*. 2009 Mar 3;119(8):1085–92.
- [2] Geske JB, Ommen SR, Gersh BJ. Hypertrophic Cardiomyopathy: Clinical Update. *JACC Hear Fail*. 2018 May;6(5):364–75.
- [3] Semsarian C, Ingles J, Maron MS, Maron BJ. New Perspectives on the Prevalence of Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2015 Mar 31;65(12):1249–54.

- [4] Perry E, Aris A, Michael B, Martin B, Cecchi F, Charron P, et al. 2014 ESC guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy The Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Hear J.* 2014;35(39):2733–79.
- [5] Marian AJ, Roberts R. The Molecular Genetic Basis for Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol.* 2001 Apr;33(4):655–70.
- [6] Marian AJ, Braunwald E. Hypertrophic Cardiomyopathy: Genetics, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Therapy. *Circ Res.* 2017 Sep 15;121(7):749–70.
- [7] Geisterfer-Lowrance AAT, Kass S, Tanigawa G, Vosberg HP, McKenna W, Seidman CE, et al. A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: A  $\beta$  cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell.* 1990;62:999–1006.
- [8] Ho CY, Charron P, Richard P, Girolami F, Van Spaendonck-Zwarts KY, Pinto Y. Genetic advances in sarcomeric cardiomyopathies: state of the art. *Cardiovasc Res.* 2015 Apr 1;105(4):397–408.
- [9] Watkins H, Thierfelder L, Hwang DS, McKenna W, Seidman JG, Seidman CE. Sporadic hypertrophic cardiomyopathy due to de novo myosin mutations. *J Clin Invest.* 1992 Nov 1;90(5):1666–71.
- [10] Maron BJ, Mathenge R, Casey SA, Poliac LC, Longe TF. Clinical profile of hypertrophic cardiomyopathy identified de novo in rural communities | Each of the authors contributed significantly to the submitted work including: 1) conception and design of the project and/or interpretation of data; 2) drafting and/. *J Am Coll Cardiol.* 1999 May;33(6):1590–5.
- [11] Walsh R, Buchan R, Wilk A, John S, Felkin LE, Thomson KL, et al. Defining the genetic architecture of hypertrophic cardiomyopathy: re-evaluating the role of non-sarcomeric genes. *Eur Heart J.* 2017 Jan 11;38(46):ehw603.
- [12] Colan SD, Lipshultz SE, Lowe AM, Sleeper LA, Messere J, Cox GF, et al. Epidemiology and Cause-Specific Outcome of Hypertrophic Cardiomyopathy in Children. *Circulation.* 2007 Feb 13;115(6):773–81.
- [13] Monserrat L, Elliott PM, Gimeno JR, Sharma S, Penas-Lado M, McKenna WJ. Non-sustained ventricular tachycardia in hypertrophic cardiomyopathy: an independent marker of sudden death risk in young patients. *J Am Coll Cardiol.* 2003 Sep 3;42(5):873–9.
- [14] Gimeno JR, Tomé-Esteban M, Lofiego C, Hurtado J, Pantazis A, Mist B, et al. Exercise-induced ventricular arrhythmias and risk of sudden cardiac death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2009 Nov;30(21):2599–605.

- [15] Elliott PM, Poloniecki J, Dickie S, Sharma S, Monserrat L, Varnava A, et al. Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: Identification of high risk patients. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(7):2212–8.
- [16] Di Salvo G, Pacileo G, Limongelli G, Baldini L, Rea A, Verrengia M, et al. Non Sustained Ventricular Tachycardia in Hypertrophic Cardiomyopathy and New Ultrasonic Derived Parameters. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010 Jun;23(6):581–90.
- [17] Correia E, Rodrigues B, Santos LF, Moreira D, Gama P, Cabral C, et al. Longitudinal Left Ventricular Strain in Hypertrophic Cardiomyopathy: Correlation with Nonsustained Ventricular Tachycardia. *Echocardiography*. 2011 Aug;28(7):709–14.
- [18] Jalanko M, Tarkiainen M, Sipola P, Jääskeläinen P, Lauerma K, Laine M, et al. Left ventricular mechanical dispersion is associated with nonsustained ventricular tachycardia in hypertrophic cardiomyopathy. *Ann Med*. 2016 Aug 17;48(6):417–27.
- [19] Haland TF, Almaas VM, Hasselberg NE, Saberniak J, Leren IS, Hopp E, et al. Strain echocardiography is related to fibrosis and ventricular arrhythmias in hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Hear J – Cardiovasc Imaging*. 2016 Jun 1;17(6):613–21.
- [20] Haugaa KH, Smedsrud MK, Steen T, Kongsgaard E, Loennechen JP, Skjaerpe T, et al. Mechanical Dispersion Assessed by Myocardial Strain in Patients After Myocardial Infarction for Risk Prediction of Ventricular Arrhythmia. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010 Mar 1;3(3):247–56.
- [21] Sarvari SI, Haugaa KH, Anfinsen O-G, Leren TP, Smiseth OA, Kongsgaard E, et al. Right ventricular mechanical dispersion is related to malignant arrhythmias: a study of patients with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and subclinical right ventricular dysfunction. *Eur Heart J*. 2011 May 1;32(9):1089–96.
- [22] Haugaa KH, Goebel B, Dahlslett T, Meyer K, Jung C, Lauten A, et al. Risk assessment of ventricular arrhythmias in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy by strain echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2012;25:667–73.
- [23] Ermakov S, Gulhar R, Lim L, Bibby D, Fang Q, Nah G, et al. Left ventricular mechanical dispersion predicts arrhythmic risk in mitral valve prolapse. *Heart*. 2019 Jul 1;105(14):1063–9.
- [24] Candan O, Gecmen C, Bayam E, Guner A, Celik M, Doğan C. Mechanical dispersion and global longitudinal strain by speckle tracking echocardiography: Predictors of appropriate implantable cardioverter defibrillator therapy in hypertrophic cardiomyopathy. *Echocardiography*. 2017;34:835–42.

- [25] Parvatiyar MS, Landstrom AP, Figueiredo-Freitas C, Potter JD, Ackerman MJ, Pinto JR. TNNC1-A31S in HCM and VF 1 A mutation in TNNC1-encoded cardiac troponin C, TNNC1-A31S, predisposes to hypertrophic cardiomyopathy and ventricular fibrillation. *J Biol Chem*. 2019;287:31845–55.
- [26] Kim DG, Lee KJ, Lee S, Jeong S-Y, Lee YS, Choi YJ, et al. Feasibility of Two-Dimensional Global Longitudinal Strain and Strain Rate Imaging for the Assessment of Left Atrial Function: A Study in Subjects with a Low Probability of Cardiovascular Disease and Normal Exercise Capacity. *Echocardiography*. 2009 Nov;26(10):1179–87.
- [27] Sirbu C, L H, Dhooge J, Claus P, Marciniak A, Langeland T, et al. Feasibility of strain and strain rate imaging for the assessment of regional left atrial deformation: A study in normal subjects. *Eur J Echocardiogr*. 2006 Jun 1;7(3):199–208.
- [28] Tsai W-C, Huang Y-Y, Liu Y-W, Shih J-Y, Lin C-C, Tsai L-M. Changes of Left Atrial Phasic Function Assessed by Speckle Tracking Echocardiography in Untreated Hypertension. *J Med Ultrasound*. 2012 Dec 1;20(4):220–7.
- [29] Hrabia JB, Pogue EPL, Zayachkowski AG, Długosz D, Kruszelnicka O, Surdacki A, et al. Left atrial compliance: an overlooked predictor of clinical outcome in patients with mitral stenosis or atrial fibrillation undergoing invasive management. *Postep w Kardiol interwencyjnej = Adv Interv Cardiol*. 2018;14(2):120–7.
- [30] Badran HM, Faheem N, Elnoamany MF, Kenawy A, Yacoub M. Characterization of Left Atrial Mechanics in Hypertrophic Cardiomyopathy and Essential Hypertension Using Vector Velocity Imaging. *Echocardiography*. 2015;32(10):1527–38.
- [31] Debonnaire P, Joyce E, Hiemstra Y, Mertens BJ, Atsma DE, Schalijs MJ, et al. Left atrial size and function in hypertrophic cardiomyopathy patients and risk of new-onset atrial fibrillation. *Circ Arrhythmia Electrophysiol*. 2017;10(2):e004052.
- [32] Kowallick JT, Silva Vieira M, Kutty S, Lotz J, Hasenfu G, Chiribiri A, et al. Left Atrial Performance in the Course of Hypertrophic Cardiomyopathy: Relation to Left Ventricular Hypertrophy and Fibrosis. *Invest Radiol*. 2017;52(3):177–85.
- [33] Yang Y, Yin G, Jiang Y, Song L, Zhao S, Lu M. Quantification of left atrial function in patients with non-obstructive hypertrophic cardiomyopathy by cardiovascular magnetic resonance feature tracking imaging: A feasibility and reproducibility study. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2020;22(1):1–11.
- [34] Yang H, Woo A, Monakier D, Jamorski M, Fedwick K, Wigle ED, et al. Enlarged left atrial volume in hypertrophic cardiomyopathy: A marker for disease severity. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18(10):1074–82.

- [35] Schaaf M, Andre P, Altman M, Maucort-Boulch D, Placide J, Chevalier P, et al. Left atrial remodelling assessed by 2D and 3D echocardiography identifies paroxysmal atrial fibrillation. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017 Jan;18(1):46–53.
- [36] Negishi K, Negishi T, Zardkoohi O, Ching EA, Basu N, Wilkoff BL, et al. Left atrial booster pump function is an independent predictor of subsequent life-threatening ventricular arrhythmias in non-ischaemic cardiomyopathy. *Eur Hear J – Cardiovasc Imaging*. 2016 Oct 1;17(10):1153–60.
- [37] Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405–23.
- [38] Canepa M, Fumagalli C, Tini G, Vincent-Tompkins J, Day SM, Ashley EA, et al. Temporal Trend of Age at Diagnosis in Hypertrophic Cardiomyopathy: An Analysis of the International Sarcomeric Human Cardiomyopathy Registry. *Circ Hear Fail*. 2020;13(9):e007230.
- [39] Alfares AA, Kelly MA, McDermott G, Funke BH, Lebo MS, Baxter SB, et al. Results of clinical genetic testing of 2,912 probands with hypertrophic cardiomyopathy: Expanded panels offer limited additional sensitivity. *Genet Med*. 2015;17(11):880–8.
- [40] Jääskeläinen P, Vangipurapu J, Raivo J, Kuulasmaa T, Heliö T, Aalto-Setälä K, et al. Genetic basis and outcome in a nationwide study of Finnish patients with hypertrophic cardiomyopathy. *ESC Hear Fail*. 2019;6(2):436–45.
- [41] van Lint FHM, Mook ORF, Alders M, Bikker H, Lekanne dit Deprez RH, Christiaans I. Large next-generation sequencing gene panels in genetic heart disease: yield of pathogenic variants and variants of unknown significance. *Netherlands Hear J*. 2019;27(6):304–9.
- [42] Hofman N, Tan HL, Alders M, Kolder I, De Haij S, Mannens MMAM, et al. Yield of molecular and clinical testing for arrhythmia syndromes: Report of 15 years' experience. *Circulation*. 2013;128:1513–21.
- [43] Militaru S, Saftoiu A, Streubel B, Jurcut R. New Fabry disease mutation confirms cardiomyopathy aetiology: A case report. *Eur Hear J - Case Reports*. 2018;2(4):yty133.
- [44] Giucă A, Mitu C, Popescu BO, Bastian AE, Capsă R, Mursă A, et al. Novel FHL1 mutation variant identified in a patient with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy and myopathy- A case report. *BMC Med Genet*. 2020;21:188.

- [45] Cecchi F, Iacone M, Maurizi N, Pezzoli L, Binaco I, Biagini E, et al. Intraoperative Diagnosis of Anderson-Fabry Disease in Patients With Obstructive Hypertrophic Cardiomyopathy Undergoing Surgical Myectomy. *JAMA Cardiol.* 2017;2(10):1147–51.
- [46] Erdmann J, Daehmlow S, Wischke S, Senyuva M, Werner U, Raible J, et al. Mutation spectrum in a large cohort of unrelated consecutive patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Genet.* 2003;64:339–49.
- [47] Pablo Kaski J, Syrris P, Shaw A, Alapi KZ, Cordeddu V, Esteban MTT, et al. Prevalence of Sequence Variants in the RAS-Mitogen Activated Protein Kinase Signaling Pathway in Pre-Adolescent Children With Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet.* 2012 Jun;5(3):317–26.
- [48] Seidman CE, Seidman JG. Identifying sarcomere gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy: A personal history. *Circ Res.* 2011;108:743–50.
- [49] Maron BJ, Maron MS, Semsarian C. Genetics of hypertrophic cardiomyopathy after 20 years: Clinical perspectives. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60:705–15.
- [50] Ho CY, Day SM, Ashley EA, Michels M, Pereira AC, Jacoby D, et al. Genotype and Lifetime Burden of Disease in Hypertrophic Cardiomyopathy: Insights from the Sarcomeric Human Cardiomyopathy Registry (SHaRe). *Circulation.* 2018;138(14):1387–98.
- [51] Bagnall RD, Ingles J, Dinger ME, Cowley MJ, Ross SB, Minoche AE, et al. Whole Genome Sequencing Improves Outcomes of Genetic Testing in Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72(4):419–29.

## **Lista cu lucrările științifice publicate**

### **Articole publicate în jurnale de specialitate în domeniul doctoratului**

#### **1. Articole publicate în jurnale indexate ISI**

1.1 **Popa-Fotea N-M**, Micheu MM, Oprescu N, Alexandrescu A, Greavu M, Onciul S, Onut R, Petre I, Scarlatescu A, Stoian M, Ticulescu R, Zamfir D, Dorobanțu M. The Role of Left-Atrial Mechanics Assessed by Two-Dimensional Speckle-Tracking Echocardiography to Differentiate Hypertrophic Cardiomyopathy from Hypertensive Left-Ventricular Hypertrophy. *Diagnostics* 2021; 11: 814. IF: 3.11

1.2 Micheu, M.M.; **Popa-Fotea\***, N.-M.; Oprescu, N.; Bogdan, S.; Dan, M.; Deaconu, A.; Dorobantu, L.; Gheorghe-Fronea, O.; Greavu, M.; Iorgulescu, C.; Scafa-Udriste, A.; Ticulescu, R.; Vatasescu, R.G.; Dorobanțu, M. Yield of Rare Variants Detected by Targeted Next-Generation Sequencing in a Cohort of Romanian Index Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy. *Diagnostics* 2020, 10, 1061. Doi: 10.3390/diagnostics10121061; IF: 3.11  
\*autor corespondent

1.3 **Popa-Fotea N.-M.**; Micheu M.M.; Onciul S.; Zamfir D.; Dorobanțu M. Combined right and left ventricular mechanical dispersion enhance the arrhythmic risk stratification in hypertrophic cardiomyopathy. *J. Cardiol.* 2020. doi: 10.1016/j.jjcc.2020.04.009; IF :2.289

1.4 **Popa-Fotea, N.-M.**; Cojocaru, C.; Scafa-Udriste, A.; Micheu, M.M.; Dorobantu, M. The Multifaced Perspectives of Genetic Testing in Pediatric Cardiomyopathies and Channelopathies. *J. Clin. Med.* 2020, 9 (7), 2111. doi: 10.3390/jcm9072111; IF: 3.303

1.5 **Popa-Fotea NM**, Micheu MM, Bataila V, Scafa-Udriste A, Dorobantu L, Scarlatescu AI, Zamfir D, Stoian M, Onciul S, Dorobantu M. Exploring the Continuum of Hypertrophic Cardiomyopathy—From DNA to Clinical Expression. *Medicina.* 2019; 55(6): 299. doi: 10.3390/medicina55060299. IF:1.467

1.6 Micheu MM, **Popa-Fotea NM**, Oprescu N, Dorobantu M, Ratiu AC, Ecovoiu A. NGS data validated by Sanger sequencing reveal a puzzling small deletion of MYBPC3 gene associated with hypertrophic cardiomyopathy. *Romanian Biotechnological Letters.* 2019; 24(1): 91-99. doi: 10.25083/rbl/24.1/91.99. IF:0.59

## **2. Lucrări (articole sau capitole de carte) publicate în timpul studiilor doctorale în domeniul cardiologiei în reviste ISI**

2.1 Scărlătescu AI, Micheu MM, **Popa-Fotea N-M**, Dorobanțu M. MicroRNAs in Acute ST Elevation Myocardial Infarction-A New Tool for Diagnosis and Prognosis: Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci* 2021; 22:9; IF: 4.556

2.2 Alexandru Scafa-Udriste, Vlad Bataila, Lucian Calmac, **Nicoleta-Monica Popa-Fotea**, Maria Dorobanțu. Acute inferior myocardial infarction in a young man with testicular seminoma- case report. *World Journal of Clinical Cases*, 2021; 9:4040-4045 IF: 1.013

2.3 Nicoleta Oprescu, Miruna Mihaela Micheu, Alexandru Scafa-Udriste, **Nicoleta-Monica Popa-Fotea**, Maria Dorobantu. Inflammatory markers in acute myocardial infarction and the correlation with the severity of coronary heart disease. *Annals of medicine* 2021. IF: 3.243

2.4 **N M Popa-Fotea**, M M Micheu, M Dorobantu. Mechanical dispersion of the left and right ventricle and the correlation with ventricular arrhythmias in hypertrophic cardiomyopathy. *European Heart Journal-Cardiovascular Imaging*. 2020; 21 (Supplement\_1): jez319.622. doi: 10.1093/ehjci/jez319.622. IF: 5.26

2.5 Micheu MM, **Popa-Fotea NM**, Bataila V, Oprescu N, Dorobantu M. SAFETY and efficacy of autologous bone marrow – derived mononuclear stem cell therapy in patients with severe chronic ischemic Heart Failure – Rationale and Design. *Romanian Biotechnological Letters*. 2018; 23(7). doi: 10.26327/RBL2018.237. IF:0.59

2.7 Dorobantu M., **Popa-Fotea NM**, Popa M., Rusu I., Micheu MM., Pursuing meaningful end-points for stem cell therapy assessment in ischemic cardiac disease. *World Journal of Stem Cells*. 2017; 9(12): 203-218. IF: 4.376

## **3. Lucrări (articole sau capitole de carte) publicate în timpul studiilor doctorale în domeniul cardiologiei în reviste BDI**

3.1 Maria Dorobantu, **Nicoleta-Monica Popa-Fotea**. Potential benefits and harms of various arterial hypertension guidelines. *Int J Cardiol Hypertens*. 2020; 7:100047. doi: 10.1016/j.ijchy.2020.100047.

3.2 **Popa-Fotea Nicoleta-Monica**, Silvia Iancovici, Miruna Mihaela Micheu, Mircea Beuran, Valentin Enache, Razvan Scurtu. Durerea toracica acuta- cutia Pandorei sau calcaiul lui Ahile? în vol. *Cardiologie in urgenta. De la prezent la viitor*, eds. Maria Dorobantu, Sebastian Onciul (Bucuresti, Ed. Medicala, 2019), 61-73



- 3.3 Vlad Bataila, **Nicoleta Popa-Fotea**, Sebastian Onciul, Lucian Calmac, Alexandru Scafa-Udriste, Ali Cherry, Diana Stanciulescu, Maria Dorobantu. Antithrombotic Therapy in Patients with ST-segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary PCI. *Modern Medicine*. 2019; 26 (3).
- 3.4 Onciul S., Pascal A.M., Guzu C, Scarlatescu A., Petre I., Stoian M., Iancovici S., Cojocaru I., Popa M., **Popa-Fotea N.**, Deaconu A., Onut R., Zamfir D., Micheu M., Dorobantu M., Mitral Valve Remodeling after Acute Myocardial Infarction - a Longitudinal Three- Dimensional Echocardiography Study. *Modern Medicine*. 2019; 26(2).
- 3.5 Micheu MM, **Popa-Fotea NM**, Oprescu N, Dorobanțu M, Proposed strategy for circulating progenitor stem cells assessment by multiparameter flow cytometry analysis. *Romanian Journal of Cardiology*. 2018; Issue suppl\_1, 157-158.
- 3.5 Micheu MM, **Popa-Fotea NM**, Bătăilă V, Oprescu N, Dorobanțu M, Safety and efficacy of autologous bone marrow – derived mononuclear stem cell therapy in patients with severe chronic ischemic heart failure – study methodology. *Romanian Journal of Cardiology*. 2018; Issue suppl\_1, 112-113.
- 3.6 Nicoleta Oprescu, **Nicoleta Monica Popa-Fotea**, Miruna Mihaela Micheu, Hypertension and peripheral vascular damage assessment. *J Hypertens Res*. 2018. 4(1):15-21.
- 3.7 **N M Popa-Fotea**, M M Micheu, G Nicula, N Oprescu, A Scarlatescu, L Calmac, M Dorobantu; P334 The efficiency of autologous bone marrow stem cells in STEMI patients with systolic dysfunction- ECG-gated SPECT myocardial perfusion and echocardiography approach. *Cardiovascular Research*. 2018; 114 (suppl\_1): S86. IF: 7.014
- 3.8 Nicoleta Oprescu, **Nicoleta Monica Popa-Fotea**, Miruna Mihaela Micheu, Hypertension and peripheral vascular damage assessment. *J Hypertens Res*. 2018. 4(1):15-21.
- 3.9 Miruna-Mihaela Micheu, Nicoleta Oprescu, **Nicoleta-Monic Popa-Fotea**. In Silico Analysis of Novel Titin Non-Synonymous Missense Variants Detected by Targeted Next-Generation Sequencing in a Cohort of Romanian Index Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy. *Romanian Journal of Cardiology*. 2021; 31(3): 565-571.

#### 4. Lucrări susținute la manifestări științifice naționale și internaționale

- 4.1 Septembrie 2021, Congresul Național de Cardiologie, „Funcția mecanică a atriului stâng prin ecografie speckle-tracking în cardiomiopatia hipertrofică genotip pozitiv sau genotip negativ”, Sinaia, România
- 4.2 Septembrie 2021, Congresul Național de Cardiologie, „Ruptură masivă de sept interventricular post-infarct și totuși pacientul supraviețuiește la 6 luni”
- 4.3 Septembrie 2020, Congresul Național de Cardiologie, “Viitorul este scris....în gene sau în stele”, Sinaia, România;
- 4.4 Decembrie 2019, Euro Echo Imaging 2019, „Mechanical dispersion of the left and right ventricle and the correlation with ventricular arrhythmias in hypertrophic cardiomyopathy”, Viena, Austria;
- 4.5 Septembrie 2019, Congresul Național de Cardiologie, „Identificarea unei variante rare în gena tioredoxin reductazei 2 mitocondriale într-o familie cu cardiomiopatie hipertrofică”, Sinaia, România;
- 4.6 Aprilie 2019, Al 13-lea Congres Anual al Asociației Medicale Române, “Reduced global longitudinal strain and the association with ventricular arrhythmias”, Academia Română de Științe Medicale, București, România;
- 4.7 Aprilie 2018, Congres ESC- Frontiers in CardioVascular Biology, “The efficiency of autologous bone marrow stem cells in STEMI patients with systolic dysfunction- ECG-gated SPECT myocardial perfusion and echocardiography approach”, Viena, Austria;
- 4.8 Septembrie 2018, Congresul Național de Cardiologie, “siguranța și eficiența celulelor medulare stem autologe–derivate din celulele mononucleare la pacienții cu insuficiență cardiacă cu disfuncție sistolică severă- metodologie de studiu”;
- 4.9 Septembrie 2018, Congresul Național de Cardiologie, “Propunerea unei strategii de identificare a celulelor stem progenitoare circulante prin citometrie în flux multiparametrică”.

## **5. Premii obținute pe perioada studiilor doctorale**

- 5.1 Aprilie 2019, Premiul Academiei de Științe medicale din România, la al-13lea Congres Anual al Asociației Medicale Române pentru prezentarea “Reducerea strain-ului global longitudinal și asocierea cu aritmiile ventriculare în CMH”;
- 5.2 Septembrie 2019, ESC Congress Educational Grant 2019;
- 5.3 Octombrie 2019, Premiul Deutscher Akademischer Austausch Dienst (DAAD) pentru studierea prin noile tehnici de secvențiere a unei cohorte de pacienți cu CMH.