

肥厚型心肌病MYH7基因Arg143Gln的突变分析

吕家磊¹, 单正宜², 刘荟婷², 焦俊杰¹, 信芳杰², 赵 鹏^{2*}

¹青岛大学基础医学院, 山东 青岛

²青岛大学附属医院病理科, 山东 青岛

收稿日期: 2022年5月10日; 录用日期: 2022年5月27日; 发布日期: 2022年6月13日

摘 要

目的: 筛查肥厚型心肌病(HCM)致病基因突变位点并解析该突变的特点和临床症状, 以期为HCM的基因诊断和治疗提供理论支持。方法: 采集患者家系的血液样本并收集其临床资料, 对先证者采取全外显子组测序方法, 利用Sanger测序法对先证者的致病突变位点在家系及307名正常对照组人群中验证, 结合文献报道, 通过同源性比对和多种生物信息学方法分析该突变的致病性。结果: 全外显子组测序发现先证者携带 β 肌球蛋白重链基因(MYH7) c.G428A突变, 该家庭中3人携带该突变, 2人被诊断为HCM, 表现出HCM特征性临床表现, 其他家人及对照组人群均未发现上述突变。不同物种同源性比对提示该位点的所编码的第146位氨基酸具有高度保守性, 不同生物信息学方法分析该突变位点是有害突变。结论: MYH7基因c.G428A是有害突变, 发病患者可能会表现出严重临床表现, 具有致病性。

关键词

肥厚型心肌病, β 肌球蛋白重链基因, Arg143Gln, 基因突变

Mutation Analysis of MYH7 Gene Arg143Gln in Hypertrophic Cardiomyopathy

Jialei Lyu¹, Zhengyi Shan², Huiting Liu², Junjie Jiao¹, Fangjie Xin², Peng Zhao^{2*}

¹School of Basic Medical, Qingdao University, Qingdao Shandong

²Department of Pathology, Qingdao University Affiliated Hospital, Qingdao Shandong

Received: May 10th, 2022; accepted: May 27th, 2022; published: Jun. 13th, 2022

*通讯作者。

文章引用: 吕家磊, 单正宜, 刘荟婷, 焦俊杰, 信芳杰, 赵鹏. 肥厚型心肌病 MYH7 基因 Arg143Gln 的突变分析[J]. 临床医学进展, 2022, 12(6): 5189-5196. DOI: 10.12677/acm.2022.126752

Abstract

Objective: To screen the pathogenic gene mutation of hypertrophic cardiomyopathy (HCM) and analyze the characteristics and clinical symptoms of the mutation, in order to provide theoretical support for the genetic diagnosis and treatment of HCM. **Methods:** Blood samples from the patient's family were collected and their clinical data were collected. Whole exome sequencing was used for the proband, and Sanger sequencing was used to verify the proband's pathogenic mutation in the family and 307 normal control populations, combined with literature reports, the pathogenicity of the mutation was analyzed by homology alignment and various bioinformatics methods. **Results:** Whole exome sequencing revealed that in the proband carried the c.G428A mutation in the β -myosin heavy chain gene (MYH7), 3 members of the family carried the mutation, and 2 were diagnosed with HCM, showing the characteristic clinical manifestations of HCM. The above mutations were not found in other family members and the control group. The homology alignment of different species indicated that the 146th amino acid encoded by this site is highly conserved, and different bioinformatics methods analyzed the mutation site as a deleterious mutation. **Conclusion:** MYH7 gene c.G428A is a deleterious mutation that is pathogenic in patients with severe clinical manifestations.

Keywords

Hypertrophic Cardiomyopathy, β -Myosin Heavy Chain Gene, Arg143Gln, Gene Mutation

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

在心脏病学诊断和治疗中，原发性心肌病是最难治愈的心血管疾病之一，其中最常见遗传性心肌疾病是肥厚型心肌病(hypertrophic cardiomyopathy, HCM)，在全世界的发病率约为 1/200 [1] [2]。HCM 是首个确定致病基因的单基因遗传性心血管疾病，它的特点是左心室肥厚且不可用异常负荷的情况来完全解释[3]，其中大约 50%~70%的 HCM 患者表现出了明显的家族聚集倾向，称为家族性肥厚型心肌病[4] [5]。Teare 最早在 1958 年对 HCM 进行了现代病理学的描述[6]，该疾病所表现出的临床症状多样，从无症状到黑朦、晕厥、胸痛、心律失常等，严重的甚至出现心力衰竭、心源性猝死(sudden cardiac death, SCD)，被认为是 35 岁以下青年人和运动员发生 SCD 的主要原因[7]。

目前，HCM 尚无明确其致病机制，临床上主要依据患者所表现的疾病症状、心电图及二维及多普勒超声心动图来确证[8]。由于大量 HCM 患者表现为非特异性症状或无心血管事件，所以 HCM 在普通人群中并没有得到充分鉴别及诊断[9] [10]。HCM 是一类由肌小节蛋白编码基因变异或遗传病因不明的心肌肥厚为特征的心血管疾病，在国外研究证明至少存在 8 个肌小节蛋白编码基因是 HCM 的明确致病基因，《2020 年 AHA/ACC 肥厚型心肌病诊断及治疗指南》建议将 8 个肌小节基因作为 HCM 基因筛查的一线检测目标，因此患者突变基因位点的确定及其家族成员基因的早期筛查对 HCM 的防治尤为重要[11]。该家系中 MYH7 基因 c.G428A 突变在中国人人群中突变频率较高，为中国人 HCM 的热点突变之一，本文旨在分析 MYH7 基因 c.G428A 突变的致病性及患者临床表现，以期为中国人群的 HCM 基因诊断提供数据支持和理论支撑。

2. 对象与方法

2.1. 研究对象

选取一个两代共 4 人的 HCM 家系为研究对象(图 1), 采集该家庭成员的血液样本并收集临床资料(表 1), 包括该家系成员的体格检查、临床检查的心电图以及超声心动图等。在该家系中先证者(II 1) 15 岁即被确诊为 HCM(图 1), 主要的症状表现为劳力性呼吸困难、心悸, 且超声心动图显示室间隔基底段和中段明显增厚, 最厚约 29~30 mm。19 岁时心电图(图 2)显示窦性心律、P-R 间期延长、室内传导延缓、左心室高电压, 部分导联 ST-T 改变; 超声心动图(图 3)显示室间隔及左室心尖部明显增厚, 最厚处约 37 mm。先证者的母亲也被诊断为 HCM, 先证者父亲及妹妹无心肌肥厚等临床表现。HCM 的诊断标准: 超声心动图见心室壁或室间隔的最大厚度 ≥ 15 mm, 且有明确证据排除其他心脏、系统性以及代谢性疾病导致的心脏肥厚[12]。对照选取 307 例无明显心脏功能及结构异常的健康志愿者。所有参与者都给予书面知情同意。本研究经青岛大学附属医院伦理委员会批准实施, 符合《赫尔辛基宣言》原则。

Table 1. Family clinical data

表 1. 家系临床资料

编号	性别	民族	年龄	携带的基因突变	临床表现
I1	男	汉族	45	无	无心肌肥厚等心血管疾病
I2	女	汉族	45	MYH7 c.G428A	诊断为 HCM
II1	男	汉族	20	MYH7 c.G428A	诊断为 HCM
II2	女	汉族	8	MYH7 c.G428A	无心肌肥厚等心血管疾病

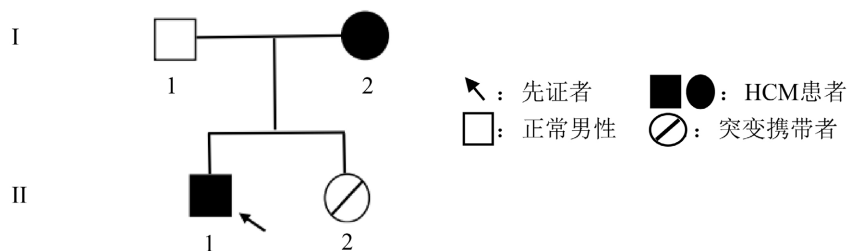


Figure 1. Mutant family pedigree diagram

图 1. 突变家系系谱图

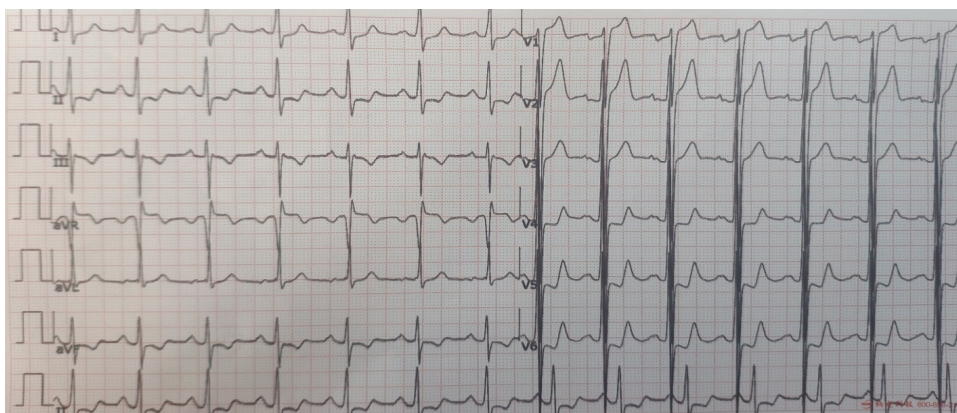


Figure 2. Electrocardiogram of the proband

图 2. 先证者的心电图



Figure 3. Echocardiogram of the proband

图 3. 先证者的超声心动图

2.2. 方法

2.2.1. 基因检测

采集 4 名家族成员的外周血，采用 EDTA 抗凝，使用血液基因组提取试剂盒(诺禾致源科技股份有限公司，北京)提取该 4 名家庭成员的基因组 DNA。采用全外显子测序方法对先证者的基因进行对比分析。首先将基因组 DNA 经超声破碎仪打断为 250 bp 左右的片段，将片段进行末端修复，加 A 尾等操作后制备 DNA 文库。使用标记探针进行液相杂交、捕获外显子、PCR 扩增等一系列步骤后开展文库质检，当质检合格后开展测序。Agilent 的液相芯片捕获系统，建库和捕获实验采用 Agilent Sure Select Human All Exon V6 试剂盒(北京诺禾致源科技股份有限公司)，对人的全外显子区域 DNA 进行高效富集后在 Illumina 平台上进行测序，比对人类基因组参考序列(GRCh37/hg19)，对突变基因进行筛选。设计 MYH7 基因 5 号外显子上下游引物(北京诺禾致源科技股份有限公司)，上游引物序列 5'-ACTGGCAAGTCACTGCTCCT-3'，下游引物序列 5'-CTCCCTTCCTTCTCCCTCTC-3'。PCR 选用 50 μ L 反应体系：基因组 DNA 20 ng，2 \times TaqMasterMix (北京诺禾致源科技股份有限公司) 25 μ L，上下游引物各 10 pmol。PCR 条件：预变性，95 $^{\circ}$ C，10 min；变性，95 $^{\circ}$ C，30 S；复性，54 $^{\circ}$ C，30 S；延伸，72 $^{\circ}$ C，40 S；重复 35 循环；充分延伸，72 $^{\circ}$ C，10 min。产物纯化后，双脱氧末端终止法测序，在家庭成员及 307 名正常志愿者对照组中验证。

2.2.2. 生物信息分析

在 NCBI 核酸数据库中获取人类、黑猩猩、猪、牛、小鼠、褐家鼠等物种相应基因编码的蛋白质序列，应用 ClustalX2 软件对突变氨基酸在不同物种间的保守性进行分析；突变在人群中发生的频率通过检索 1000 Genomes Project (T1GP; <http://browser.1000genomes.org>) [13]以及 Exome Variant Server (ESP; <http://evs.gs.washington.edu/EVS/>) [14]进行确定；应用多种生物信息学软件方法，如 Polyphen-2、Mutation Taster、SIFT、FATHMM 对突变蛋白的致病性进行预测。

3. 结果

3.1. 遗传分析

先证者的 MYH7 基因存在 c.G428A (Arg143Gln)突变，此位点的突变位于 MYH7 基因的 5 号外显子上，使得表达的蛋白上第 143 位氨基酸残基由精氨酸变为谷氨酰胺(图 4)，该家系中 3 人携带该突变，2 人确诊为肥厚型心肌病。该突变未在对照人群中筛查到，也未筛查到其他基因的致病性突变。

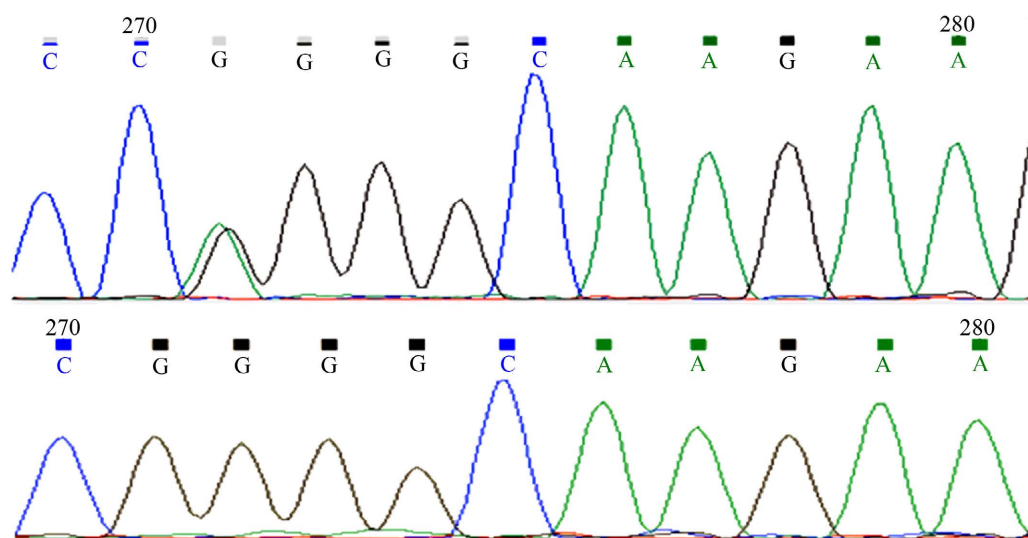


Figure 4. Mutant map + wild-type map, ↓ is the mutation site

图 4. 突变型图谱 + 野生型图谱, ↓为突变位点

3.2. MYH7 c.G428A 突变位点生物信息分析结果

应用 ClustalX2 在不同物种间进行该位点的同源性比对,发现该突变位点所编码的精氨酸在不同物种间具有高度保守性(表 2)。该突变在 1000 Genomes Project 以及 Exome Variant Server 数据库中均非频率 $\geq 0.1\%$ 的变异。应用 Polyphen-2、Mutation Taster、SIFT、FATHMM 等生物信息学软件对该突变的致病性进行预测,结果相同,说明 MYH7 c.G428A 突变为有害突变(表 3)。

Table 2. Conservation of this amino acid residue analyzed by clustalw2 software

表 2. 通过 clustalw2 软件分析该氨基酸残基的保守性

Host	Genbank	Site	Sequence
Human	XP_017455131.1	138	VVAAYRGKKRSEAPPHIFSISDNAYQYM
Chimpanzee	XP_006252013.1	138	VVAAYRGKKRSEAPPHIFSISDNAYQYM
Rat	NP_058936.1	138	VVAAYRGKKRSEAPPHIFSISDNAYQYM
Mouse	NP_001107183.1	138	VVAAYRGKKRSEAPPHIFSISDNAYQYM
Pig	XP_016781379.1	138	VVAAYRGKKRSEAPPHIFSISDNAYQYM
Cattle	NP_777152.1	138	VVAAYRGKKRSEAPPHIFSISDNAYQYM
Dog	NP_999020.2	138	VVAAYRGKKRSEAPPHIFSISDNAYQYM

Table 3. Bioinformatics software predictions

表 3. 生物信息学软件预测

预测软件	预测结果	评分	备注
Polyphen-2	最可能有害	0.888, P	从 0.0 (最可能良性)到 1.0 (最可能有害)
MutationTaster	致病基因	0.9999, D	可能性接近 1 显示预测价值高
SIFT	影响蛋白质功能	0.001, D	范围 0~1, ≤ 0.05 (有害) > 0.05 (可耐受)
FATHMM	有害	-2.28, D	D 提示有害, T 提示可耐受

4. 讨论

MYH7 基因是 HCM 的主要致病基因, 在 HCM 中存在 35%~50% 的患者发生该基因突变[15] [16]。MYH7 基因位于 14 号染色体长臂区域, 存在 41 个外显子, 编码的是 β -肌球蛋白重链, 共有 1935 个氨基酸, 包含头部区、尾部区以及头杆结合区三个部分[17]。研究表明, 发生在 MYH7 基因上的突变具有明显的聚集性, 主要集中在 3~23 号外显子, 且多发生在该肌球蛋白头部以及头杆结合区[18]。 β 肌球蛋白重链是粗肌丝的重要组成部分, 具有高度的保守性, MYH7 突变将会影响 ATP 分解位点和肌动蛋白的结合位点, 导致粗肌丝与细肌丝的亲和能力降低, 心机的收缩能力下降, 心脏将会出现代偿性的肥厚[19]。

本研究中发现 HCM 患者发生 MYH7 基因 c.G428A 突变位于球状头部区域, 导致第 143 位氨基酸残基由带正电荷的精氨酸被中性的谷氨酰胺所替代。Kimura 等研究人员在对东亚人群 HCM 和扩张型心肌病(Dilated cardiomyopathy, DCM)的研究时首次报道了 MYH7 c.G428A 突变他们发现发生该突变的 70 岁以上患者的生存率在九成以上, 从而将该把突变定义为温和性突变[20] [21]。但在国内一个肥厚型梗阻性心肌病家系的报道中, 先证者携带 MYH7 基因 c.G428A 突变, 但是出现胸闷、呼吸困难、晕厥等严重的 HCM 临床症状, 心脏超声心动图显示室间隔最厚处为 25 mm, 先证者的三个儿子都携带该突变且均诊断为肥厚型心肌病[22]。在北京协和医学院的邵春丽的研究报道中, 在 52 例 HCM 患者中发现了 3 例 MYH7 基因存在 c.G428A 突变, 突变频率较高, 提示该突变基因位点是中国人肥厚型心肌病的热点突变之一, 携带该突变的患者都发生黑朦或者晕厥等临床症状, 其中有 2 例病患分别携带有 Ala26Val 和 Gln1277Arg 的双杂合突变, 出现的临床症状都较另一例 Arg143Gln 单一突变更明显且恶性程度更高[23]。在一项对 7675 名 HCM 患者基因型和表型的研究中, MYH7 基因突变的 HCM 患者发病年龄更早, 比没有这种突变的患者出现更严重表型。此外, 具有肌节突变的患者更容易发生 SCD [24]。Kimura 等研究人员因死亡率低将该突变定义为温和性突变现在看来有所欠缺, 因为基因突变导致的 HCM 受多种因素的影响, 如个体差异、环境因素等都会影响疾病的发展, 然而随着肥胖率和环境污染, 该突变导致的 HCM 可出现严重的临床表现, 可见不能因为致死率低而忽略携带该突变位点患者的疾病发展进程。

在本研究中, 先证者 15 岁即被诊断为肥厚型心肌病, 出现呼吸困难, 运动后晕厥等症状, 超声心动图显示室间隔基底段和中段增厚, 最厚处约 29~30 mm。19 岁时先证者的心脏彩超显示室间隔及左室心尖部进一步明显增厚, 最厚处可达 37 mm, 心肌肥厚程度进行性发展较快, 需要药物甚至手术治疗进行控制。我们应用 ClustalX2 软件在不同物种间对 MYH7 基因 c.G428A 突变位点进行同源性比对, 发现该基因突变位点所编码的第 146 位氨基酸在不同物种间具有高度保守性, 表明该基因位点具有重要的生物学意义。应用 Polyphen-2、Mutation Taster、SIFT、FATHMM 等生物信息学软件方法对该基因突变位点的致病性进行预测, 分析得到该突变具有致病性的结论, 说明 MYH7 c.G428A 突变为有害突变, 表明该突变虽然患者的生存率较高, 但仍可出现较为严重的 HCM 临床症状, 应及时积极参与疾病的预防和治疗。因此对于 HCM 患者进行基因筛查, 通过基因突变位点表现的临床症状进行分析, 对于疾病的预测和治疗都有十分重要的临床意义[25]。

当前在国内关于 Arg143Gln 单一突变的报道并不多, 该突变是 HCM 的致病突变, 当联合其他恶性突变时症状会较单一恶性突变明显加重。本文分析了该家系 MYH7 基因 c.G428A 突变患者的临床症状, 结合文献报道和通过同源性比对和多种生物信息学预测说明该突变的致病性, 且对于 HCM 的预防和治疗中, 基因筛查都具有特殊的意义, 但本研究中的家系数量、样本量较少, 先证者的妹妹年龄较小还未出现 HCM 症状, 但不排除发病可能, 因此需要进一步的研究并对该家系进行跟踪随访, 并警惕突变遗传的致病风险。

利益冲突

所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Maron, B., Rowin, E. and Maron, M. (2018) Global Burden of Hypertrophic Cardiomyopathy. *JACC: Heart Failure*, **6**, 376-378. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2018.03.004>
- [2] Du, Y., Wang, Y., Han, X., Feng, Z. and Ma, A. (2019) MYH7 Gene-Related Mutation P.V878I Identified in a Chinese Family with Hypertrophic Cardiomyopathy. *International Heart Journal*, **60**, 1415-1420. <https://doi.org/10.1536/ihj.19-146>
- [3] Coats, C. and Elliott, P. (2013) Genetic Biomarkers in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Biomarkers in Medicine*, **7**, 505-516. <https://doi.org/10.2217/bmm.13.79>
- [4] Arimura, T., Hayashi, T. and Kimura, A. (2007) Molecular Etiology of Idiopathic Cardiomyopathy. *Acta Myologica*, **26**, 153-158.
- [5] Wang, H., Lin, Y., Zhang, R., Chen, Y., Ji, W., Li, S., *et al.* (2022) Viaprogrammed Exercise Attenuates Familial Hypertrophic Cardiomyopathy in Transgenic E22k Mice Inhibition of Pkc-A/Nfat Pathway. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, **9**, Article ID: 808163. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.808163>
- [6] Teare, D. (1958) Asymmetrical Hypertrophy of the Heart in Young Adults. *Heart*, **20**, 1-8. <https://doi.org/10.1136/hrt.20.1.1>
- [7] Maron, B., Maron, M. and Semsarian, C. (2012) Genetics of Hypertrophic Cardiomyopathy after 20 Years: Clinical Perspectives. *Journal of the American College of Cardiology*, **60**, 705-715. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.02.068>
- [8] Maron, B. and Maron, M. (2016) The Remarkable 50 Years of Imaging in HCM and How It Has Changed Diagnosis and Management: From M-Mode Echocardiography to CMR. *JACC: Cardiovascular Imaging*, **9**, 858-872. <https://doi.org/10.1016/j.jcmg.2016.05.003>
- [9] Ackerman, M., Priori, S., Willems, S., Berul, C., Brugada, R., Calkins, H., *et al.* (2011) HRS/EHRA Expert Consensus Statement on the State of Genetic Testing for the Channelopathies and Cardiomyopathies This Document Was Developed as a Partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *EP Europace*, **8**, 1077-1109. <https://doi.org/10.1093/europace/eur245>
- [10] Wang, B., Wang, J., Wang, L., Yang, F., Xu, L., Li, W.X., *et al.* (2019) Genetic Analysis of Monoallelic Double MYH7 Mutations Responsible for Familial Hypertrophic Cardiomyopathy. *Molecular Medicine Reports*, **20**, 5229-5238. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10754>
- [11] 吴桂鑫, 邹元宝, 康连鸣, 惠汝太, 宋雷, 许连军. 《2020年AHA/ACC肥厚型心肌病诊断及治疗指南》解读[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2020, 20(6): 3594-3597.
- [12] Geske, J., Ommen, S. and Gersh, B. (2018) Hypertrophic Cardiomyopathy: Clinical Update. *JACC: Heart Failure*, **6**, 364-375. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2018.02.010>
- [13] The 1000 Genomes Project Consortium (2015) A Global Reference for Human Genetic Variation. *Nature*, **526**, 68-74. <https://doi.org/10.1038/nature15393>
- [14] Lek, M., Karczewski, K., Minikel, E., Samocha, K.E., Banks, E., Fennell, T., *et al.* (2016) Analysis of Protein-Coding Genetic Variation in 60,706 Humans. *Nature*, **536**, 285-291. <https://doi.org/10.1038/nature19057>
- [15] Homburger, J., Green, E., Caleshu, C., Sunitha, M.S., Taylor, R.E., Ruppel, K.M., *et al.* (2016) Multidimensional Structure-Function Relationships in Human β -Cardiac Myosin from Population-Scale Genetic Variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **113**, 6701-6706. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606950113>
- [16] Lee, S., Ashley, E., Homburger, J., Caleshu, C., Green, E.M., Jacoby, D., *et al.* (2018) Incident Atrial Fibrillation Is Associated with MYH7 Sarcomeric Gene Variation in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation: Heart Failure*, **11**, Article ID: e005191. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.118.005191>
- [17] Mattivi, C., Bos, J., Bagnall, R., Nowak, N., Giudicessi, J.R., Ommen, S.R., *et al.* (2020) Clinical Utility of a Phenotype-Enhanced MYH7-Specific Variant Classification Framework in Hypertrophic Cardiomyopathy Genetic Testing. *Circulation: Genomic and Precision Medicine*, **13**, 453-459. <https://doi.org/10.1161/CIRCGEN.120.003039>
- [18] Marian, A. and Braunwald, E. (2017) Hypertrophic Cardiomyopathy: Genetics, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Therapy. *Circulation Research*, **121**, 749-770. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311059>
- [19] Marian, A. (2021) Molecular Genetic Basis of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation Research*, **128**, 1533-1553. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318346>

-
- [20] Kimura, A., Ito-Satoh, M., Hayashi, T., Takahashi, M. and Arimura, T. (2001) Molecular Etiology of Idiopathic Cardiomyopathy in Asian Populations. *Journal of Cardiology*, **37**, 139-146.
- [21] Kimura, A. (2010) Molecular Basis of Hereditary Cardiomyopathy: Abnormalities in Calcium Sensitivity, Stretch Response, Stress Response and beyond. *Journal of Human Genetics*, **55**, 81-90. <https://doi.org/10.1038/jhg.2009.138>
- [22] 钟海雷, 李妍伸, 杜彬彬, 邢清和, 贺林, 张彦周. 中国一肥厚型梗阻性心肌病家系 MYH7 基因 Arg143Gln 突变研究[J]. 中国优生优育, 2014, 20(3): 137-140.
- [23] 邵春丽. 肥厚型心肌病的梗阻机制及基因型——表型的关联研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 清华大学医学部, 2010.
- [24] Sedaghat-Hamedani, F., Kayvanpour, E., Tugrul, O., Lai, A., Amr, A., Haas, J., *et al.* (2018) Clinical Outcomes Associated with Sarcomere Mutations in Hypertrophic Cardiomyopathy: A Meta-Analysis on 7675 Individuals. *Clinical Research in Cardiology*, **107**, 30-41. <https://doi.org/10.1007/s00392-017-1155-5>
- [25] Viswanathan, S., Sanders, H., Mcnamara, J., Jagadeesan, A., Jahangir, A., Tajik, A.J., *et al.* (2017) Hypertrophic Cardiomyopathy Clinical Phenotype Is Independent of Gene Mutation and Mutation Dosage. *PLOS ONE*, **12**, Article ID: e0187948. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187948>