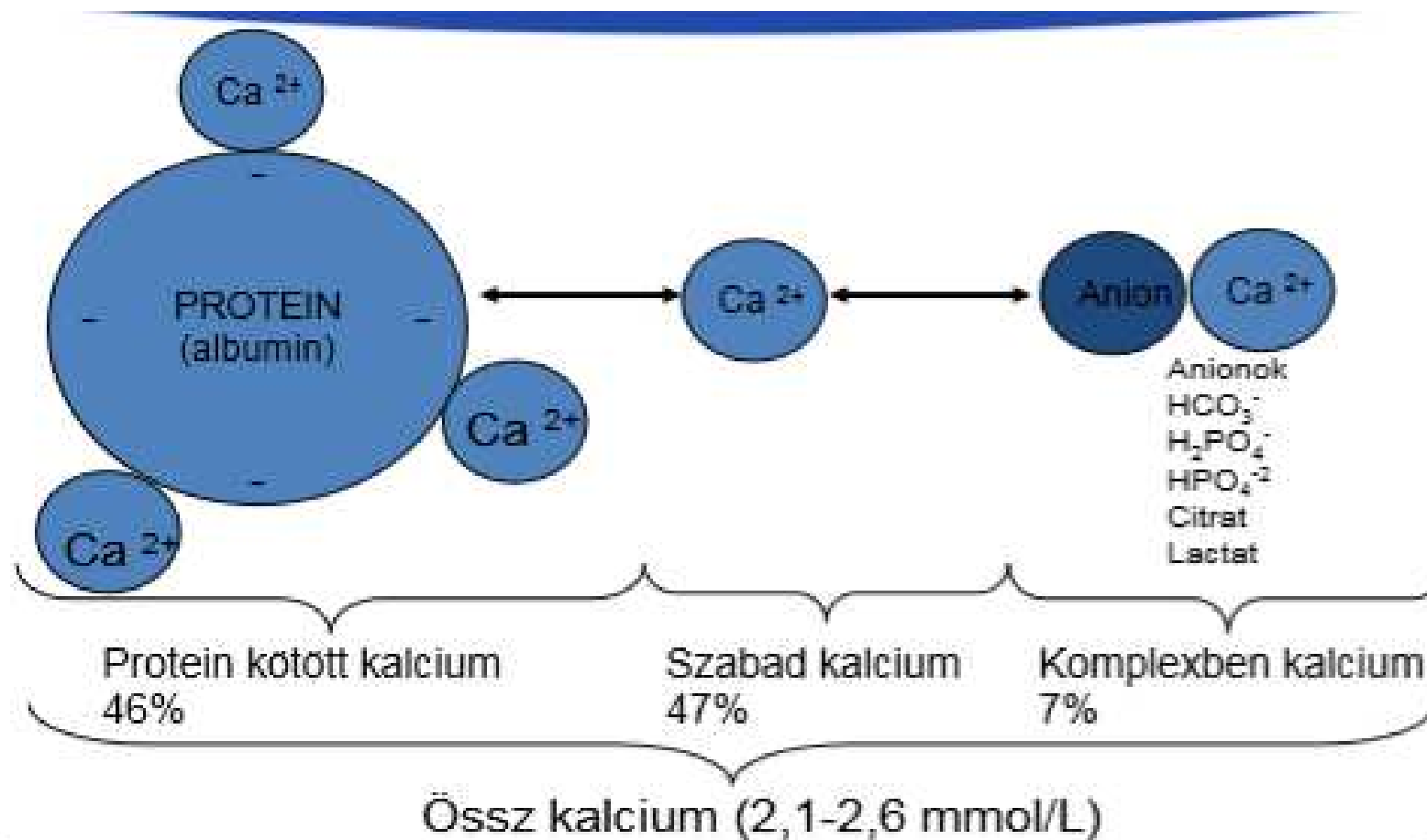


A kalcium- és foszfátforgalom zavarainak laboratóriumi vizsgálata

Dr. Patócs Attila, PhD, DSc
Laboratóriumi Medicina Intézet
MTA-SE Lendület Örökletes Endokrin
Daganatok Kutatócsoport

Kalcium megoszlása az érpályában



Vér kalcium tartalmának szabályozói

- Parathormon (mellékpajzsmirigy)
- Calcitriol - 1-25 DOH (aktív D vitamin) –
 - májban majd vesében hideoxilációkat követően képződik
- Calcitonin (pajzsmirigy C sejtjei)
 - élettani jelentősége bizonytalan (malignus hipercalcemia)

Kalcium-szenzor receptor

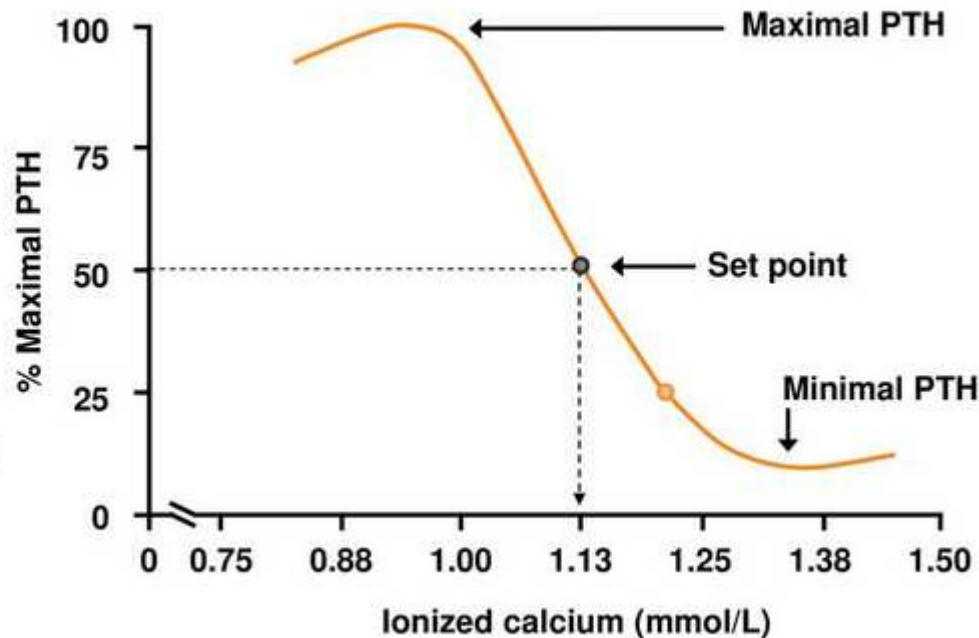
- CaSR legfontosabb természetes ligandja az extracelluláris szabad kalciumion

Parathormon

- Polipeptid (84 aminosav)
- Rövid felezési idő
- Biológiailag aktív: N-terminális 34 aminosav fragmens és az intakt PTH
- Vér kalcium szintet emeli
- Vér foszfát szintet csökkenti
- Analitika: hűtött cső!
- Módszertan és referencia tartomány kritikus

Parathormon és extracellularis Ca

- Small changes in serum calcium have a dramatic effect on PTH levels
- The set point illustrates the sensitivity of the parathyroid glands to serum calcium



- plazma PTH szintje és az extracelluláris $[Ca^{2+}]$ között meredek, inverz, szigmoidális görbével leírható kapcsolat van
- A PTH gátlás „set-point”-jának azt az extracelluláris $[Ca^{2+}]$ -t nevezzük ami a maximális gátlás felét okozza (élettanilag ez 1mM-os extracelluláris $[Ca^{2+}]$ -t jelent)

Parathormon hatásai

- Csont: Ca és P mobilizálás osteoclast resorpció
- Vese tubuláris Ca reabszorpció
 - tubuláris Mg reabszorpció
 - tubuláris P reabszorpció
 - tubuláris HCO_3 reabszorpció
- Bél 1-25 DHD-vitamin termelés a vesében

Emelkedett PTH szint okai

- Hyperparathyreosis
 - Primer
 - Secunder (PTH növekedés a fiziológiás válasz)
 - Tercier (autonom PTH szekréció)

Multiplex endorkin neoplasia 1-es típus (MEN1) szindrómában előforduló endokrin daganatok és ezek becsült penetranciája a 40. életkorig

Mellékpajzsmirigy adenoma	90 %
Enteropancreaticus daganat	
Gastrinoma	40%
Insulinoma	10%
Nem hormontermelő daganat	20%
Egyéb hormontermelő daganat (VIPoma, somatostatinoma)	2%
Előbél carcinoid	
Thymus carcinoid	2%
Bronchus carcinoid	2%
Gyomor enterochromaffin-szerű sejtekből kiinduló carcinoid	10 %
Hypophysis daganat	
Prolaktinoma	20 %
GH-t és prolaktint-termelő adenoma	5 %
GH-t termelő adenoma	5 %
ACTH-t termelő adenoma	2 %
TSH-t termelő adenoma	ritka
Nem hormontermelő adenoma	5 %
Mellékvesekéreg	
Primer aldosteronizmus	ritka
Cushing szindróma	ritka
Nem hormontermelő daganat	25 %
Pheochromocytoma	ritka
Nem endokrin daganatok	
Lipoma	30 %
Angiofibroma (arcon)	85 %
Kollagenoma	70 %
Ependymoma	1 %

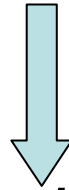
MEN1 szindróma: definíció

MEN1 szindróma:	3 fő komponens közül 2 jelenléte
Familiáris MEN1:	legalább 1 MEN1 szindrómás családtag + 1 vérrokonban a 3 fő komponens közül legalább 1 jelenléte
Sporadikus MEN1:	3 fő komponens közül 2 jelenléte
MEN1 gyanú:	- multiplex mellékpajzsmirigy adenoma 30 éves kor alatt - recidiváló hyperparathyreosis - familiáris izolált hyperparathyreosis - gastrinoma bármely életkorban - multiplex szigetsejtes daganat bármely életkorban

MEN1 gén-mutáció szűrés az összes fenti esetben indokolt

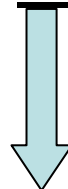
A MEN1 GENETIKAI JELLEMZŐI

- A betegség *autoszomális dominánsan* öröklődik



az utódok 50%-ban öröklik a betegséget!

- a MEN1 **tumorsuppresszor gén** a **11q13** kromoszómarégióban található; összesen *10 exonból*, melyből *9 exon* a kódoló régió;
- *több, mint 400 a MEN1 gént érintő mutációt írtak le a nemzetközi irodalomban; de nincs mutációs “hot spot”!*



Géneltérések a gén egész területén jelentkezhetnek

MEN1-hez társuló daganatok különböznek a sporadikus daganatoktól

Pathomechanizmus: "two-hit" modell (Knudson)

MEN 1: egyik allél: örökletes mutáció

másik allél: szerzett deléció

Sporadikus: egyik allél: szerzett mutáció

másik allél: szerzett deléció

Biológiai viselkedés: **Mellékpajzsmirigy**

MEN1 és sporadikus esetben hasonló, de a recidiva MEN1 daganat esetében gyakoribb

Gastrinoma

MEN1 és sporadikus esetben hasonló

Hypophysis tumor

MEN1 tumor agresszívabb, mint a sporadikus esetben

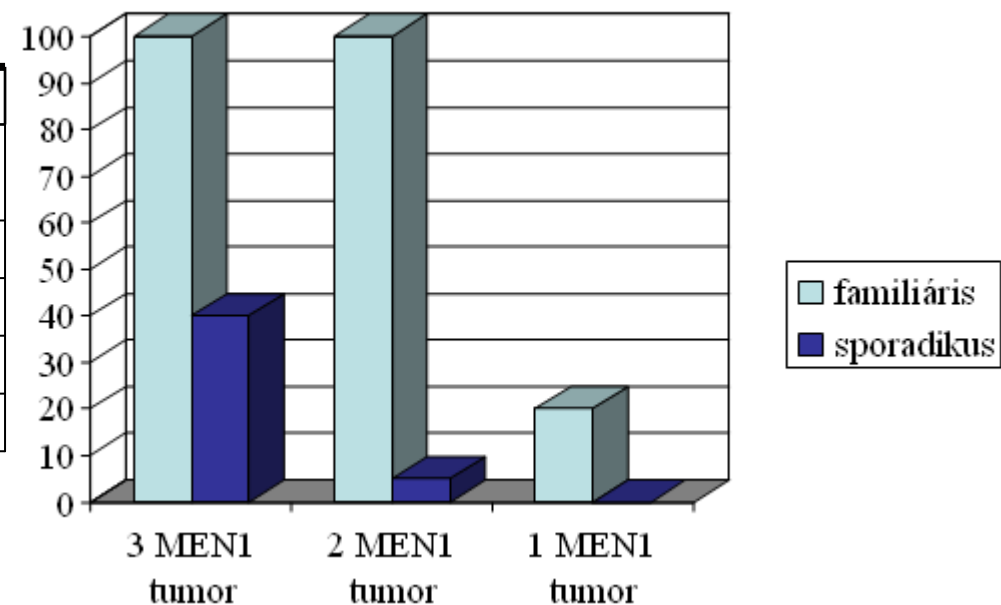
***MEN1* gén mutációk előfordulása és a MEN 1-asszociált daganatok száma közötti összefüggés az általunk vizsgált betegekben**

A familiáris esetek mindegyikében azonosítottuk a *MEN1* mutációt (6/6), míg a sporadikus megjelenésű MEN1 szindrómában szenvedőkben ez 23% (3/13) volt.

Nem volt mutációs hotspot

Mellékvesekéreg daganat nem mutatott összefüggést a *MEN1* mutáció megjelenésével

MEN asszociált tumorok száma	Familiáris		Sporadikus	
	N	Mutáció (%)	N	Mutáció (%)
3	2	2 (100)	4	2 (50)
2	4	4 (100)	17	1 (5)
1	5	1 (20)	1	0 (0)
Összesen	11	7 (63)	22	3 (11%)



Balogh K, Hunyady L, **Patocs A**, Gergics P, Valkusz Z, Toth M, Racz K: CLINICAL ENDOCRINOLOGY 67:(5) pp. 727-734. (2007)
Patocs A, Balogh K, Racz K: ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY 668: pp. 97-103. (2009)
Balogh K, Hunyady L, **Patocs A**, ... Tulassay Z: ORVOSI HETILAP 146:(43) pp. 2191-2197. (2005)

Sporadikus mellékpajzsmirigy daganatokban a MEN1 szerepe

Kérdések:

- Szomatikus *MEN1* mutációk szerepe
- *MEN1* és *MEN1* 3'UTR-t célzó mikroRNS szerepe

Módszerek

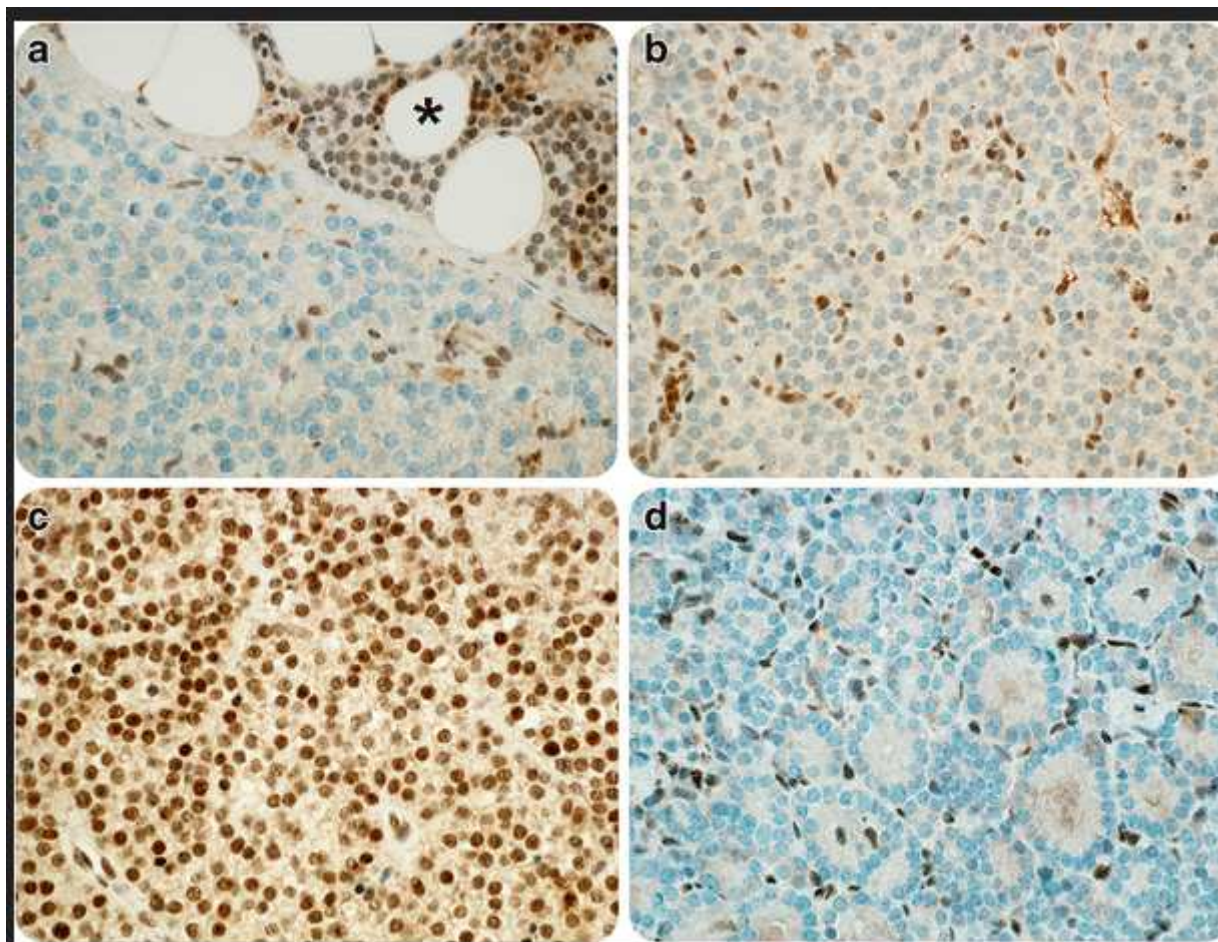
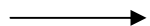
- Szövetminták

Betegek:

- 14 MEN1 szindrómás és 40 sporadikus mellékpajzsmirigy szövet
- Molekuláris és immunhisztokémiai módszerek
 - MEN1 Sanger szekvenálás szövetből
 - menin immunhisztokémia
 - miR-24, miR-28 expresszió qRT-PCR

Menin expresszió immunhisztokémiai festéssel PHPT-ban

MEN1- PHPT



Sporadikus
PHPT



MEN1 és sporadikus mellékpajzsmirigy daganatok jellegzetességei

	MEN1-asszociált	Sporadikus PHPT	<i>p</i> érték
<i>N</i>	16	40	
Nem(nők, %)	81.3%	82.5%	1.000
Életkor (év)	34.9 ± 3.58	53.8 ± 2.44	<0.001
Legnagyobb átmérő (mm)	16.7 ± 2.0	20.6 ± 1.51	0.149
Mitosis (/10 HPF)	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	n.a.
Ki67 index (%)	0.5 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.358
Menin (cytoplasm)	0.69 ± 0.15	0.60 ± 0.09	0.620
Menin (Magi)	0.0 ± 0.0	1.6 ± 0.2	<0.001
PTH (pg/ml)	131 ± 13.7	254 ± 57	0.258
Ca ²⁺ (mmol/l)	2.79 ± 0.06	2.83 ± 0.06	0.708

Szomatikus *MEN1* mutációk

- A 40 szövetből 10-ben igazolódott MEN1 mutáció (25%)
- 11 sporadikus PHPT negatív menin festődés
- MEN1 asszociált HPT-ban negatív menin festődés

EGYÉB okok a menin hiányra

mikroRNS-ek?

a

```
1 ACUACUGGGGACUUCGGACCGCUUGUGGGGACCCAGGCUCGCCCCUAGUCCCCAACUCUGAGCCCAUGUUCUG 75
hsa-miR-637
76 CCCCCAGCCCAAAGGGGACAGGCCUCACCCUACCCAAACCCUAGGUUCCCCGGUCCCGAGUACAGUCUGUAUCAA 150
hsa-miR-637
151 ACCCAGAUUUUUCUCCAGCUCAGAACCCAGGGCUCUGCCCCAGUCGUUAGAAUAVAGGUCUCUUCUCCAGAAUC 225

226 CCAGCCGGCCAAUGGAAACCCUCAGCUGGGGUCCUAAUUAACAGUCUUUAAAGGCCAGCCCCUAGAAACCCAAGC 300
hsa-miR-28 hsa-miR-24 hsa-miR-28
301 UCCUCCUCGGAACCGCUCACCUAGAGCCAGACCAAGUACUCAGGGCUCUCCAGCUGUAGGAGCUGAGGUU 375

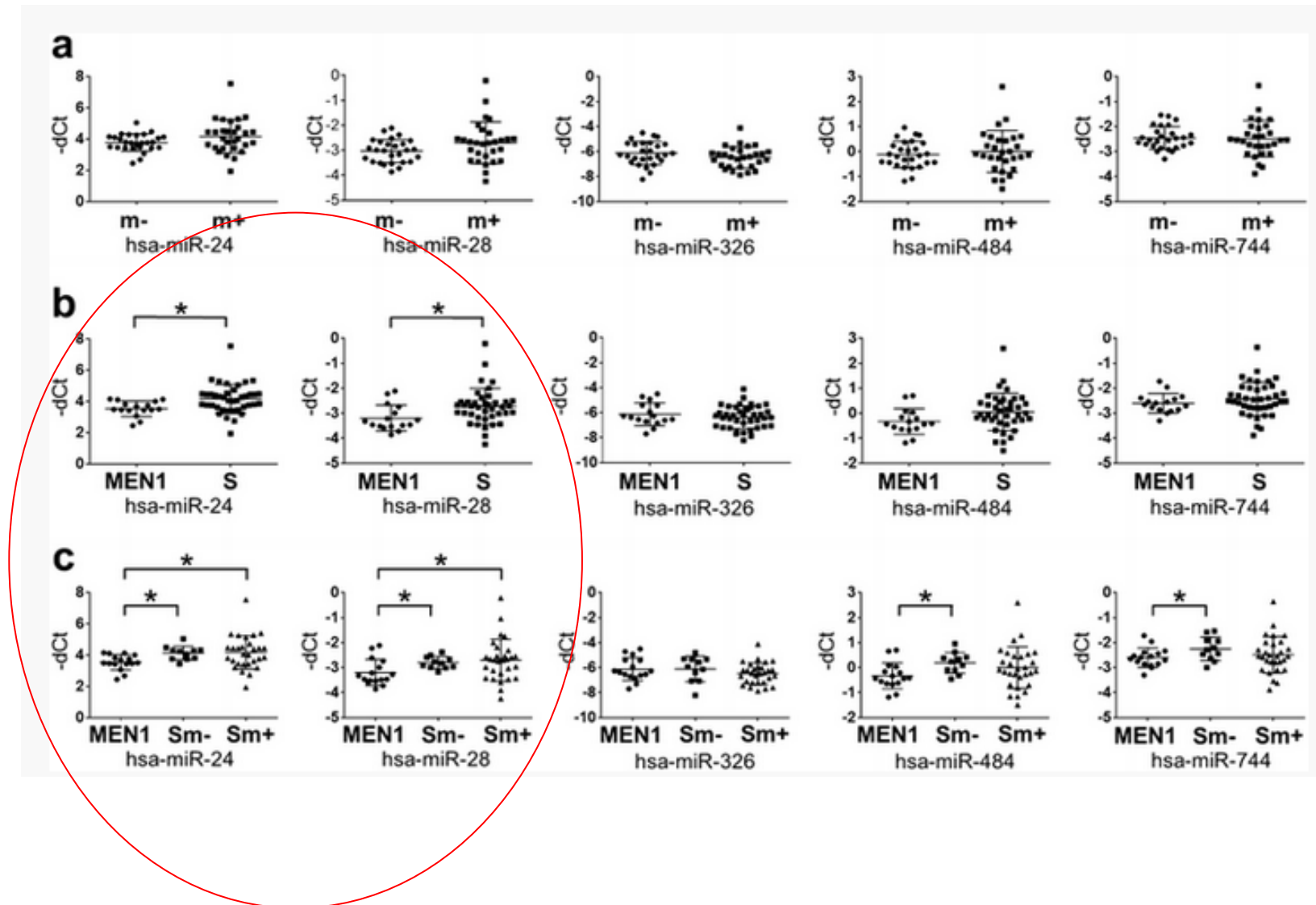
376 UCACCCUUAACCCAAGGAGCACAGGUCCCACCUCCAGCCCGGGAGCCUAGGACCACUCAGCCCCUAGGAGUAUAV 450

451 UCCGCACUUCAGAAUUCUUAUUCUGCGAAUCCAAGCUCUCCUGCCCCAAUUAACUUCAGUCCUGCUCAGAAU 525

526 UGGAAAUCCUAGUUUCCUUCUCCUUCGUUUCUCCGAGUCUGGGACACAAAACUCCGCCCCAGCCUAGAGCAUCCU 600
hsa-miR-24 hsa-miR-744
601 GAGCCCCGCCUUCUCCUGACGAAACUGGCCCCGGAUCAGAGCAGGACCUCUCCUCCGACCCUCUGGGAACCUCC 675
hsa-miR-326 hsa-miR-484
676 CAGAGGUCCAGCCCAUCUCGGAGCAUCCCGGAGGAAUUCUGCAGAGGGUUAAGGAGUGGGUGACAGAGCCUGAUC 750

751 UCUUCCUGUUUUGUACAUAAGAUUUAUUUUUCAGUUCCAAGAAAGAUAGAAUACAUUUUGUU 810
```

MEN1-t célzó mikroRNS-ek expressziója PHPT-ban

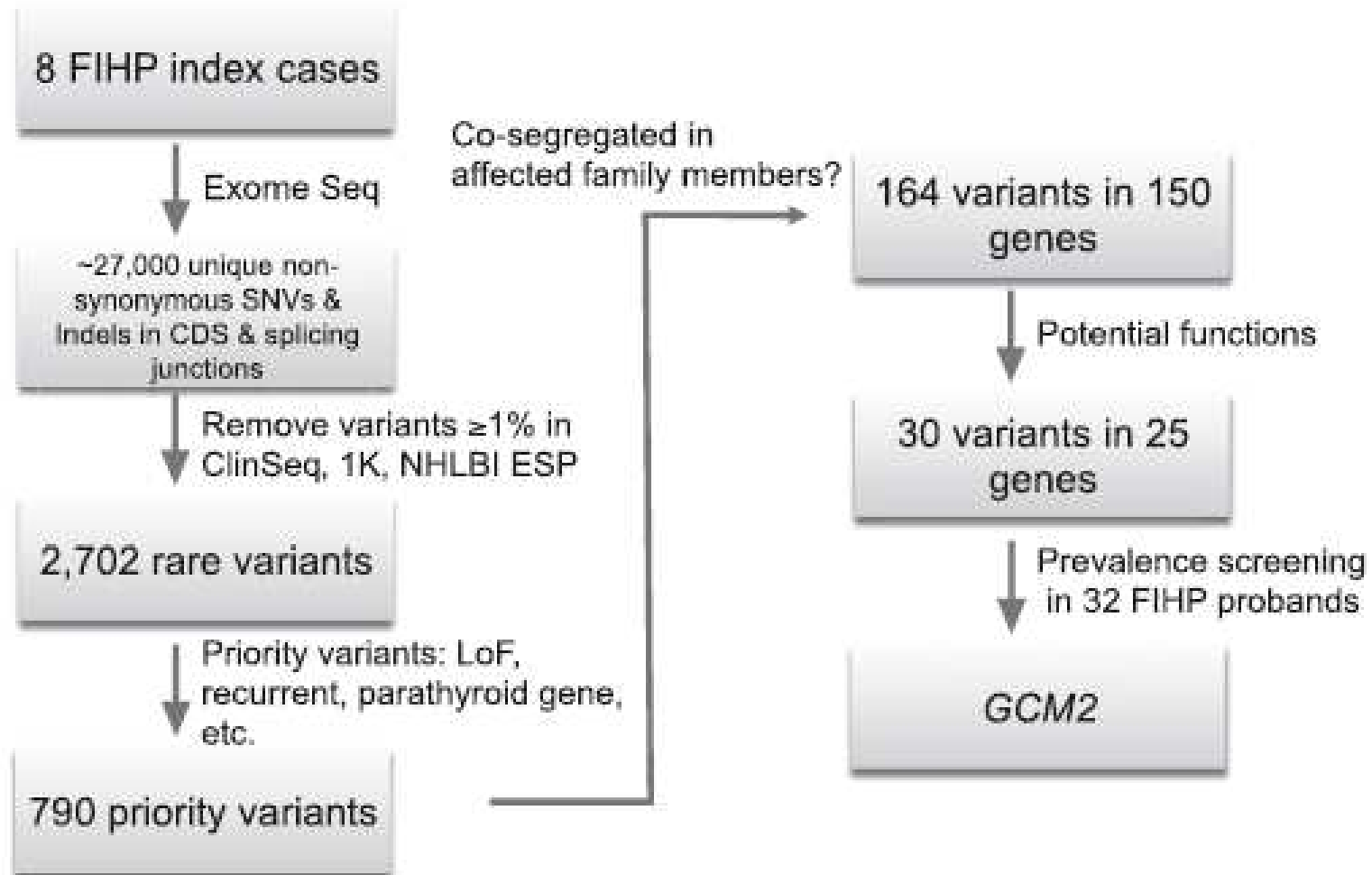




Új gén felfedezése familiáris mellékpajzsmirigy daganatokban



Stratégia





Új gén azonosítása familiáris mellékpajzsmirigy daganatokban



GCM2

GCM2: mellékpajzsmirigy szövetre specifikus transzkripciós faktor, hiánya mellékpajzsmirigy-hiányt okoz, Stop, vagy kereteltolódással járó mutációit izolált hypoparathyreosisban mutatták ki

Ritka, funkció-nyeréssel járó variánsok familiáris hyperparathyreosisban:

- 40 vizsgált esetből 8-ban (20%) igazoltak mutációt
[c.943A>G (p.Asn315Asp), c.1181A>C (p.Tyr394Ser)
c.[751C>G; 1136T>A] (p.[Gln251Glu; Leu379Gln])



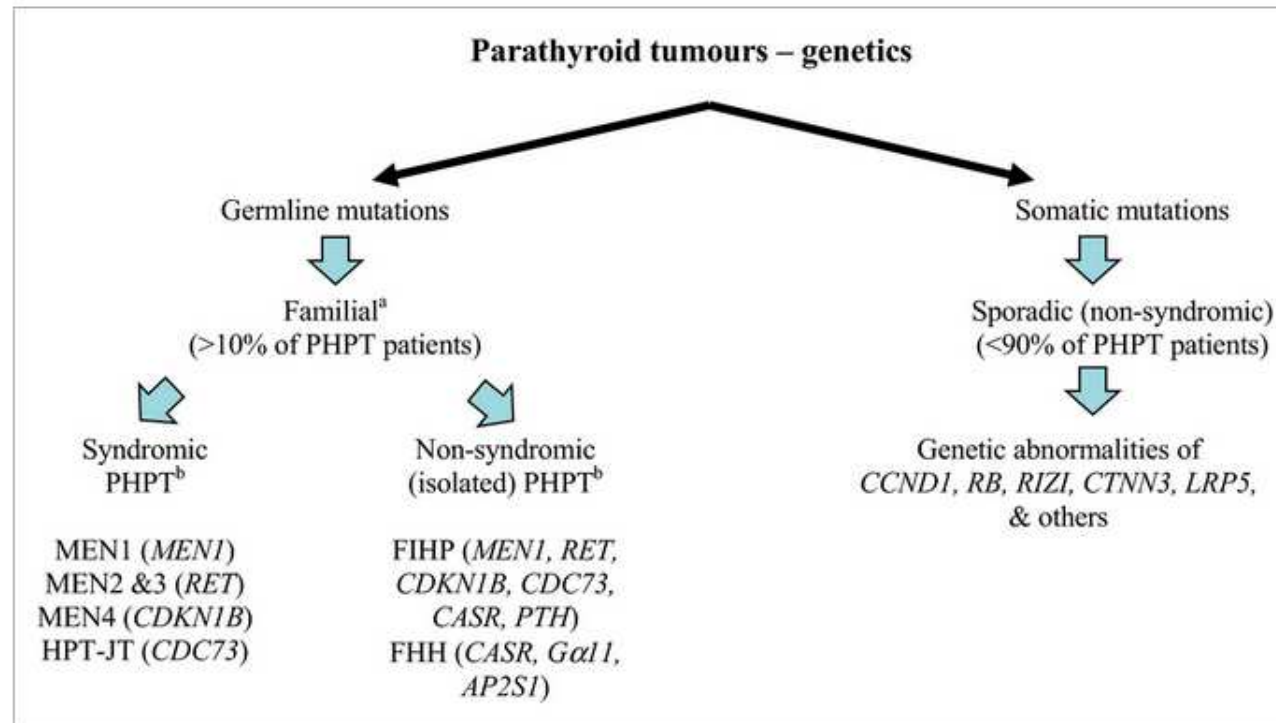
Mellékpajzsmirigy adenómák esetén érintett gének és szindrómák

MEN1

CaSR

CDC73

GCM2??



Mutációvizsgálat indikációi:

- (i) PHPT 45 évesnél fiatalabb betegekben
- (ii) Multiglandularis betegség
- (iii) mellékpajzsmirigy carcinoma vagy atipikus szövettani kép
- (iv) Mutációt hordozó egyén egyeneságú rokona
- (v) index beteg, egy vagy két MEN1-hez társult daganatra



CDC73 mutációhoz társult mellékpajzsmirigy daganat

-hyperparathyreosis-állkapocstumor szindróma (HPT-JT)

-15%-ukban mellékpajzsmirigy carcinoma

Eset	Nem	Életkor	Primer tumor (diagnóziskor az életkor)	Egyéb tumor	PHPT	JT	Recidiva/ Áttét	Egyéb	HPRT2 génmutáció	Családi előfordulá s
A	nő	44	maxilla fibrosus dysplasia (20), mellékpajzsmirigy carcinoma (34)	kétoldali vese- cysta, myoma uter	+	+	Mellék- pajzsmirigy carcinoma áttétje tüdőben	terhességi hypertonia, hypertónia, vesekövesség, cholelithiasis, splenomegalia,	c.1298insCA	PHPT, JT nem ismert
B	nő	57	mandibula osteoclastoma (52), mellékpajzsmirigy adenoma (???)	-	+	+	n.a.	osteoporosis	-	n.a.
C	nő	46	maxilla nem- osszifrikáló fibroma (23), mandibula fibrosus dysplasia (23), kettős mellékpajzsmirigy adenoma (38)	myomatosis uteri (20)	+	+	visszatérő állcsonti daganat	gyermekkortól asthma bronchiale, méhnyak polypus, vesekövesség	c.85G>T (Glu28Stop)	anya súlyos aszthmás, daganat nem ismert
D	nő	30	mellékpajzs-mirigy carcinoma (30)	-	+	-	n.a.	híti kyphosis, IV stádiumú vesebetegség,	-	hypertonia



CDC73 mutációt hordozók klinikai jellegzetességei

	Pathogenic <i>CDC73</i> variant	No pathogenic <i>CDC73</i> variant	<i>P</i> value	Yield
	n=11	n=78		12.4%
Age mean $\pm$ SD (years)	32.3 $\pm$ 14.6	42.6 $\pm$ 18	0.068	
Range (years)	13-54	10-81		
Sex, male (n, %)	10 (91)	32 (41)	0.002	
(suspect) HPT-JT syndrome (n, %)	3 (27)	15 (19)		16.7%
Familial isolated pHPT (n, %)	5* (45)	14 (18)		26.3%
Sporadic parathyroid carcinoma (n, %)	2 (18)	9 (12)		18.0%
Sporadic parathyroid adenoma (n, %)	1 (9)	40 (51)		2.4%
Familial pHPT (n, %)	8 (73)	19 (24)	0.003	
Recurrent pHPT or multiple PA	0	12	0.162	



CDC73 mutációt hordozók klinikai jellegzetességei

ID	Sex	Tumours observed (age at detection, years)	Family history	Phenotype	Germline CDC73 variant	Tested relatives	Non-index carriers (sympt.)	Not tested sympt. relatives
A	M	PA (54)	pHPT	FIHP	c.226C>T, p.(Arg76*)	6	2 (1)	2
B	M	PC (54), RCC (57)	Negative	sPC	c.544dup, p.(Ile182Asnfs*11)	3	1 (0)	0
C	F	PA (17)	pHPT	FIHP	c.358C>T, p.(Arg120*)	1	1 (1)	1
D [§]	M	PA (34)	pHPT, Renal cysts	Suspect HPT-JT syndrome	c.687_688delAG, p.(Arg229Serfs*37)	37	24 (14)	2
E	M	Jaw (15), PA (22)	pHPT, Wilms tumour	HPT-JT syndrome	c.3_15dup, p.(Ser6Glyfs*5)	3	3 (3)	0
F	M	PA (13)	Negative	sPA	Whole gene deletion	4	2 (0)	0
G	M	PC (45)	pHPT	FIHP	Whole gene deletion	9	4 (2)	0
H	M	Wilms tumour (8), PA (33)	pHPT, uterine fibroids	FIHP	c.3_15dup, p.(Ser6Glyfs*5)	3	1 (1)	0
I	M	PC (18)	Negative	sPC	Exon 1 deletion	0		0
J	M	PA (40)	pHPT	FIHP	Exon 1 deletion	2	1 (1)	1
K	M	PA (25)	pHPT	FIHP	c.685_688delAGAG, p.(Arg229Tyrfs*27)	0		2
L	M	PA (40)	pHPT, jaw	HPT-JT syndrome	c.760C>T, p.(Gln254*)	8	4 (1)	0

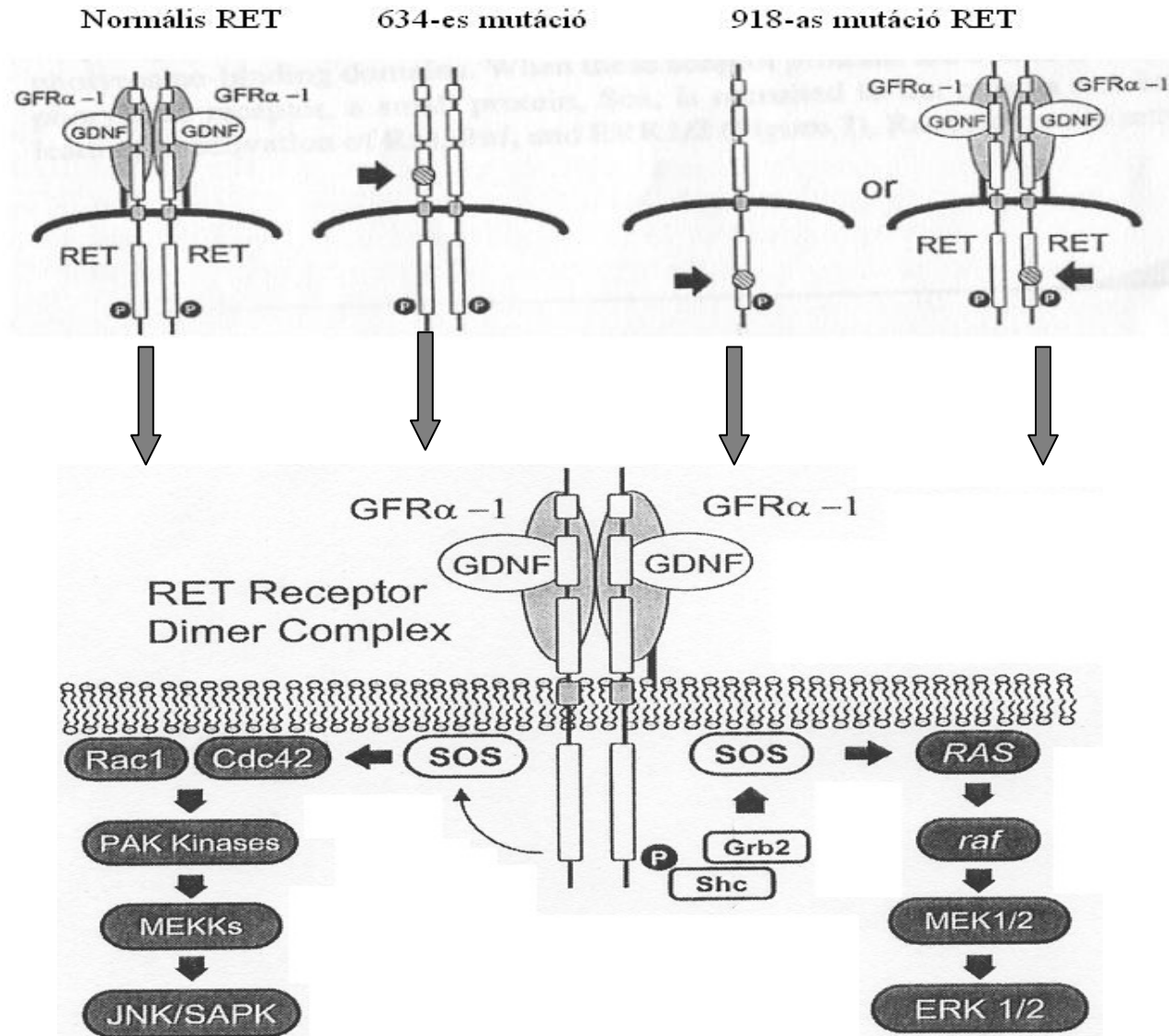
A Multiplex endokrin neoplasia 2-es típus (MEN2) szindróma alcsoportjai

Alcsoport	Klinikai manifesztációk
MEN2A	Medulláris pajzsmirigy carcinoma Phaeochromocytoma Hyperparathyreosis (mellékpajzsmirigy adenoma)
FMTC	Medulláris pajzsmirigy carcinoma
FMTC vagy MEN2A + Hirschsprung	
FMTC vagy MEN2A + Hirschsprung betegség	
FMTC + cutan lichen amyloidosis	FMTC + viszkető bőrleváltozások a háton
MEN2B	Medulláris pajzsmirigy carcinoma Phaeochromocytoma Nyálkakártya neuromák Intestinális ganglioneuromatosis Marfanoid alkat

A RET receptor szerkezete és működése, normális illetve génmutációk esetén

Extracellularis rész

Intracellularis rész



Malignus hypercalcemia

1. csont metastasis - direkt calcium kioldódás a csontból
2. parathyroid hormon related peptid (PTHrP)
3. osteoclast aktiváló citokinek interleukin-1, TNF vagy prosztaglandinok

Szekunder hyperparathyreosis

Osteomalaciával vagy rachitissel

- a. Csökkent Ca és D vitamin felvétel ill. abszorpció Ca és D vitamin hiányos táplálkozás,
 - Steatorrhoea és egyéb malabsorptio
- b. Az aktiv D vitamin képződés gátlása
 - Krónikus vesekárosodás
 - Krónikus májbetegség alpha hydroxylatio hiánya
- c. A D vitamin fokozott inaktivációja anticonvulsiv therapia
- d. 25 hidroxilázt transportáló fehérje hiánya
- e. D vitamin receptor defektus

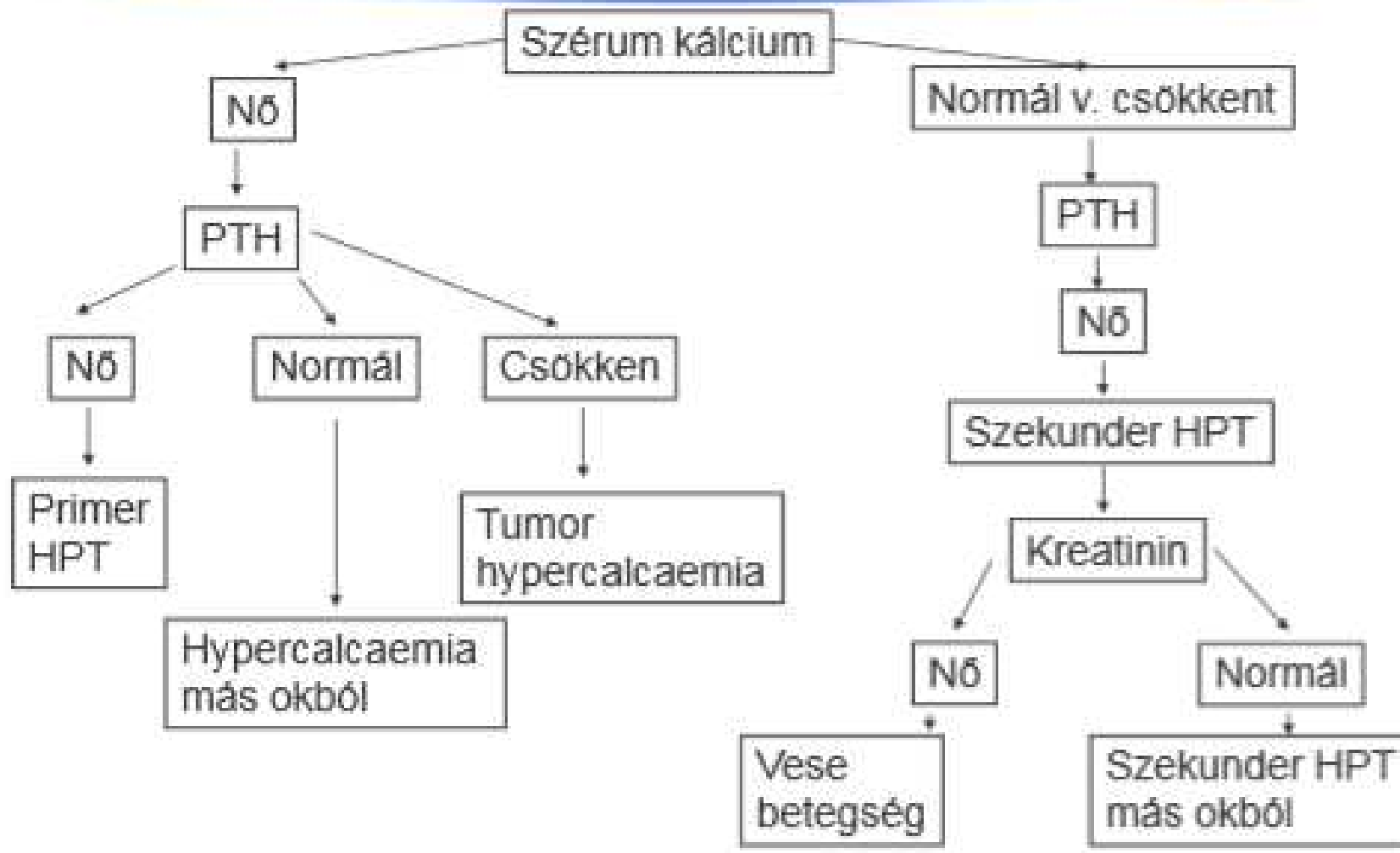
Osteomalacia és rachitis nélkül

- a.acut pancreatitis
- b.neonatalis hypocalcaemia

Hyperparathyreosis biokémiai jelei

	Primer	Szekunder	Tercier
Se Ca^{2+}	↑	↓ / N	↑
Foszfát	↓	↓ / ↑	↓ / ↑
Alkalikus foszfatáz	N / ↑	↑	↑
PTH	N / ↑	↑	↑ ↑

Laboratóriumi kivizsgálás



Alacsony PTH szint okai

- Hypoparathyreosis
 - Kongenitális
 - Szerzett
 - Pseudohypoparathyroidismus

Hypoparathyreosis okai

- Congenitális Pl. Di George sy (immundeficiencia + thymus aplasia)
- Pseudohypoparathyroidismus
- Szerzett
 - 1/ Sebészi beavatkozás a. totális vagy partialis thyreoidectomy b. laryngectomy c. parathyroidectomy
 - 2/ Autoimmun megbetegedés
 - 3/ haemochromatosis
 - 4/ infiltratív állapotok

Valódi vs. pseudo

	Valódi	Pseudo
Se Ca^{2+}	↓	↓
foszfát	↑	↑
Alkalikus foszfatáz	N	N
PTH	↓	↑

Hypocalcemia okai

I. Alacsony fehérjéhez kötött Ca

- Overhidráció
- Hypoalbuminaemia

II. Alacsony ionizált Ca szint

II/A Szekunder hyperparathyreoidizmus

D vitamin hiány (felvétel, felszívódás)

D vitamin metabolizmus zavara (vesebetegség)

Fokozott inaktiváció

II/B Hypoparathyreoidizmus

A kalcium hibás érzékelésén alapuló örökletes és szerzett betegségeket

	A kalciumérzékelést gyengíti	A kalciumérzékelést fokozza
Öröklött tényezők	<u>CaSR gén inaktiváló mutációk</u> - Familiáris hypokalcériás hyperkalcaemia - Újszülöttkori súlyos hyperparathyreosis - Újszülöttkori hyperparathyreosis <u>CaSR gén polimorfizmusok</u> - SRQ / ARE genotípus a 986, 990, 1011. aminosavak	<u>CaSR gén aktiváló mutációk</u> - Autoszomális domináns hypokalcaemia V. típusú Bartter-szindróma
Szerzett kórképek	<u>Mellékpajzsmirigy hyperplázia vagy adenoma</u> - Primer hyperparathyreosis - Szekunder hyperparathyreosis <u>Autoimmun kórképek</u> - Inaktiváló CaSR autoantitestek	<u>Autoimmun kórképek</u> Aktiváló CaSR autoantitestek

CaSR gén inaktiváló mutációi által okozott kórképek

- heterozygota formában a rendszerint tünetmentes familiáris hypokalciuriás hyperkalcaemiát (FHH; OMIM: 14598),
- homozygota formában pedig az újszülöttkori súlyos hyperparathyreosist (NSHPT; OMIM: 239200) (gén dózis hatás).
- Az inaktiváló hatás a PTH szekréció „set-point”-jának jobbra (magasabb szérum kalcium koncentráció felé) tolódását jelenti.

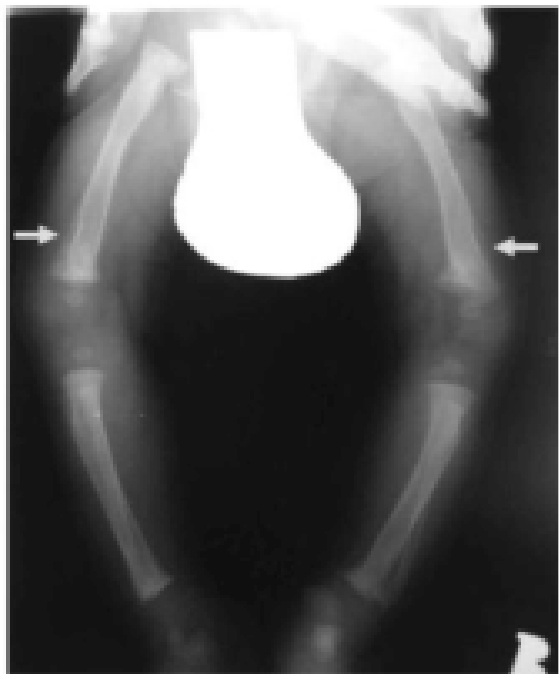
Hazai CaSR géneltérést hordozók jellemzői

	Nem	Életkor *	Szérum Ca (mmol/l)	CCCR	Szérum PTH (pg/ml)	Szérum OC (ng/ml)	Szérum β-CL (pg/ml)	Ágyéki gerinc z-score	Combnyak z-score	Radius distalis 1/3 z-score	CaSR gén mutáció Polimorfizmus	analízis Mutáció
I.	Nő	59 év	2.60	NA	NA	NA	NA	0.50	1.10	NA	Q1011E heterozygota	Negatív
II.	Ffi	4 év	3.30	0.001	43.5	NA	NA	NA	NA	NA	Negatív	C582Y heterozygota
II. anyja	Nő	27 év	3.30	0.002	58	41.5	240	-2.05	-2.4	-2.16	Negatív	C582Y heterozygota
III.	Nő	54 év	2.79	0.012	75	24.1	360	0.24	1.45	-0.73	Negatív	Negatív.
IV.	Nő	26 év	2.84	0.004	34.1	28.7	330	1.32	0.88	-0.6	Negatív	P55L heterozygota
IV. apja	Ffi	57 év	2.72	0.010	40.9	30.5	430	-1.19	-1.39	-0.23	Negatív	P55L heterozygota
V.	Nő	4 év	2.90	0.003	55	NA	NA	NA	NA	NA	Negatív	Negatív
VI.	Nő	63 év	2.65	0.012	124	31.4	780	-0.30	0.65	NA	R990G heterozygota	Negatív
VII.	Nő	58 év	2.62	0.008	40.1	17.7	210	-1.24	1.24	0.81	Negatív	Negatív
VIII.	Ffi	19 év	2.73	0.004	112.5	NA	NA	0.44	NA	NA	Negatív	Negatív

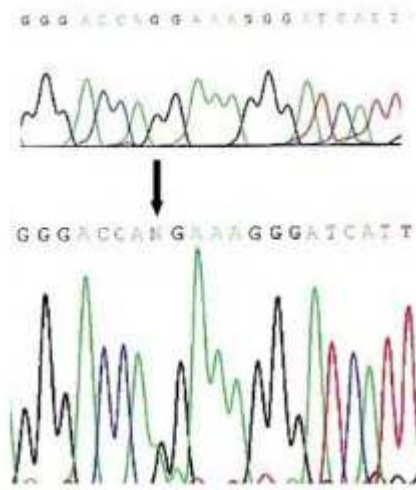
Újszülöttkori hyperparathyreosisban szenvedő beteg és vérrokonainak laboratóriumi leletei

	Életkor	Szérum Ca (mmol/l)	Szérum P (mmol/l)	PTH (pg/ml)	ALP (U/l)
Index beteg	18 nap	3.10 (2.25 - 2.75)	1.1 (1.55 - 2.65)	48.30 (11 - 64)	2372 (300 - 850)
	24 nap	3.00 (2.25 - 2.75)	0.84 (1.55 - 2.65)	NA	NA
	8 hónap	2.70 (2.25 - 2.75)	1.28 (1.55 - 2.65)	NA	NA
	6 év	3.14 (2.15 - 2.60)	0.88 (0.80 - 1.62)	23.70 (11 - 64)	1046 (220 - 650)
	7 9/12 év	3.40 (2.15 - 2.60)	0.94 (0.80 - 1.62)	NA	NA
	10 év	3.31 (2.15 - 2.60)	1.17 (0.80 - 1.62)	62.50 (11 - 64)	1164 (140 - 700)
Nővér	9 év	2.42 (2.15 - 2.60)	1.60 (0.80 - 1.62)	83.10 (11 - 64)	574 (140 - 700)
Apa	36 év	2.48 (2.10 – 2.55)	1.15 (0.90 - 1.45)	52.60 (11 - 64)	190 (100 - 270)
Anya	32 év	2.40 (2.10 – 2.55)	1.05 (0.90 - 1.45)	55.90 (11 - 64)	127 (100 - 270)

Újszülöttkori hyperparathyreosisban szenvedő beteg csonteltérései



A CaSR génhiba a genetikai eltérés mechanizmusa



CaSR gén 6-os exonjának szekvencia részlete

A normális nukleotid szekvencia részlet (felül) és az R551K heterozygota mutáció (alul)

