

Received: 2011.08.18
Accepted: 2012.06.21
Published: 2012.08.06

Onkogeniczna osteomalacja czyli hipofosfatemia, bóle kostne i złamania patologiczne

Oncogenic osteomalacia and its symptoms: hypophosphatemia, bone pain and pathological fractures

Sonia Kaniuka-Jakubowska¹, Wojciech Biernat², Krzysztof Sworczak¹

¹ Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych, Gdański Uniwersytet Medyczny

² Katedra i Zakład Patomorfologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Onkogeniczna osteomalacja (OOM) jest rzadkim zespołem paranowotworowym wynikającym z obecności guza i wytwarzanych przez niego czynników fosfaturycznych, tzw. fosfatonin. Na obraz choroby składa się nerkowa utrata fosforanów, wtórna do tego procesu hipofosfatemia oraz zaburzone wytwarzanie aktywnej postaci witaminy D₃. Przebieg kliniczny charakteryzują: bóle kostne, złamania patologiczne, uogólnione zmęczenie i osłabienie mięśniowe. Guzy związane z osteomalacją najczęściej umiejscowione są na kończynach dolnych i górnych, połowa zmian jest umiejscowiona pierwotnie w kościach. Są to zwykle ogniska małej wielkości charakteryzujące się powolnym wzrostem. Niewielkie rozmiary guza, różnorodne umiejscowienie, rzadkie występowanie choroby, nieswoistość objawów klinicznych powodują, że postawienie właściwej diagnozy jest często bardzo trudne, czasochłonne i wymaga wielu badań dodatkowych. Średnio czas od pojawienia się pierwszych objawów do postawienia właściwego rozpoznania i rozpoczęcia leczenia wynosi ponad 2,5 roku. Celem pracy jest omówienie patofizjologii powstawania objawów choroby, patomorfologii guzów, metod diagnostycznych oraz leczenia onkogenicznej osteomalacji.

Słowa kluczowe:

onkogeniczna osteomalacja • hipofosfatemia • bóle kostne • złamania patologiczne

Summary

Oncogenic osteomalacia (OOM) is a rare paraneoplastic syndrome induced by tumor produced phosphaturic factors, i.e. phosphatonins. The disorder is characterized by renal tubular phosphate loss, secondary to this process hypophosphatemia and defective production of active form of vitamin D. The clinical course of oncogenic osteomalacia is characterized by bone pain, pathological fractures, muscle weakness and general fatigue. Osteomalacia-associated tumors are usually located in the upper and lower limbs, with half of the lesions primarily situated in the bones. Most of them are small, slow-growing tumors. Their insignificant size and various location coupled with rare occurrence of the disease and non-specificity of clinical symptoms lead to difficulties in reaching a diagnosis, which is often time-consuming and requires a number of additional tests. The average time between the appearance of the first symptoms and the establishment of an accurate diagnosis and the beginning of treatment is over 2.5 years. The aim of this study is to discuss the pathophysiology of disease symptoms, pathomorphology of tumors, diagnostic methods and treatment of oncogenic osteomalacia.

Key words:

oncogenic osteomalacia • hypophosphatemia • bone pain • pathological fractures

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1006413>**Word count:** 6698**Tables:** –**Figures:** 4**References:** 106**Adres autorki:** lek. med. Sonia Kaniuka-Jakubowska, Klinika Endokrynologii i Chorób Wewnętrznych, Gdański Uniwersytet Medyczny, ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk; e-mail: sonia.kaniuka@gumed.edu.pl

WSTĘP

Onkogeniczna osteomalacja (oncogenic osteomalacia – OOM) jest zespołem paranowotworowym wynikającym z obecności guza i wytwarzanych przez niego czynników humoralnych tzw. fosfatonin. Na obraz choroby składa się nerkowa utrata fosforanów indukowana czynnikami fosfaturycznymi, wtórna do tego procesu hipofosfatemia oraz zaburzone wytwarzanie aktywnej postaci witaminy D₃, z klinicznymi i histologicznymi cechami osteomalacji [13,93]. Przebieg choroby charakteryzują: bóle kostne, patologiczne złamania kości, osłabienie mięśniowe i uogólnione zmęczenie [93]. Najskuteczniejszą terapią jest leczenie przyczynowe polegające na doszczętnym usunięciu guza. Wycięcie zmiany prowadzi do pełnego wyleczenia z całkowitym ustąpieniem objawów klinicznych i zaburzeń biochemicznych oraz remineralizacją kości [13,93].

GUZY FOSFATURYCZNE

Epidemiologia

Pierwszy opis chorego z OOM pochodzi z 1947 roku, jednak wówczas jeszcze McCance [50] nie wiązał obecności guza okolicy uda z osteomalacją, którą z powodzeniem leczył wysokimi dawkami witaminy D₃. Niespełna 10 lat później Prader i wsp. [64] opisując w swojej pracy guz o utkaniu zbliżonym do nadziąsłaka olbrzymiokomórkowego słusznie zauważyli, że przyczyną osteomalacji jest proces nowotworowy.

OOM dotyka chorych w wieku 7–73 lat, najczęściej dorosłych, dwie trzecie pacjentów to osoby powyżej 30 roku życia. Choroba nie wykazuje predylekcji do płci, częstość zapaadalności u mężczyzn w stosunku do kobiet jest jak 1,2:1 [80].

Guzy związane z osteomalacją najczęściej umiejscowione są w kończynach dolnych (45%), następnie głowie (27%) i kończynach górnych (17%) [80,83]. Połowa zmian jest umiejscowiona pierwotnie w kościach [21], ale o bardzo różnorodnej lokalizacji świadczą opisy zmian umiejscowionych w gruczołach piersiowych [20], gardle [57], pochewkach ścięgien [66], oponach mózgowych [11] i tkance nerwowej [7]. Są to zwykle ogniska o niewielkich rozmiarach charakteryzujące się powolnym wzrostem, stąd duże trudności w ich uwidocznieniu [18]. Problemy z lokalizacją guza, rzadkie występowanie choroby, nieswoistość objawów klinicznych składają się na długi okres, często bezowocnej diagnostyki. Średni czas od początku pierwszych objawów do postawienia właściwego rozpoznania i rozpoczęcia leczenia wynosi ponad 2,5 roku, z rozpętością od 2,5 miesiąca do 19 lat [13]. Zdecydowana większość guzów związanych z OOM to zmiany łagodne, mimo to należy

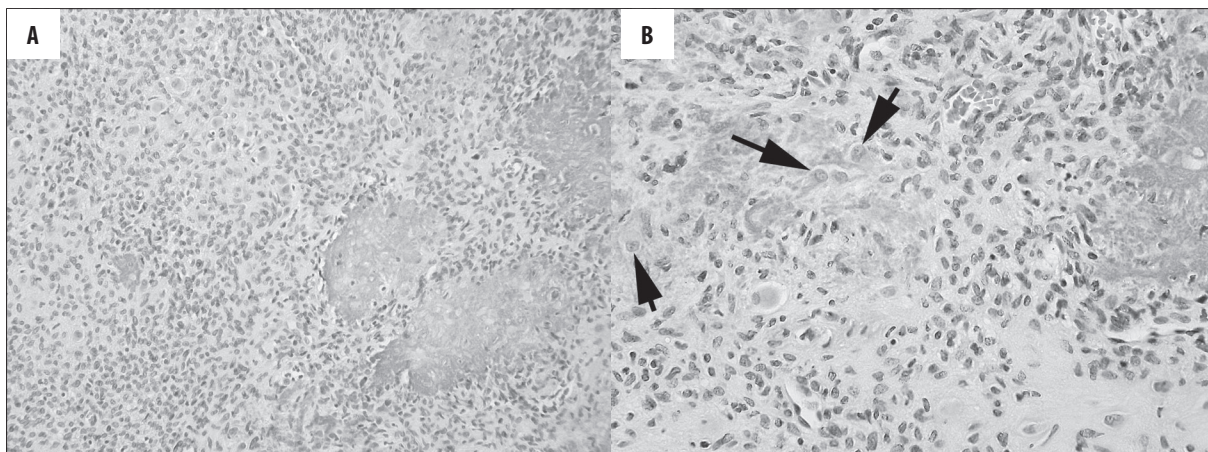
pamiętać o nielicznych doniesieniach zawierających opisy OOM w przebiegu nowotworów złośliwych [13].

Patomorfologia

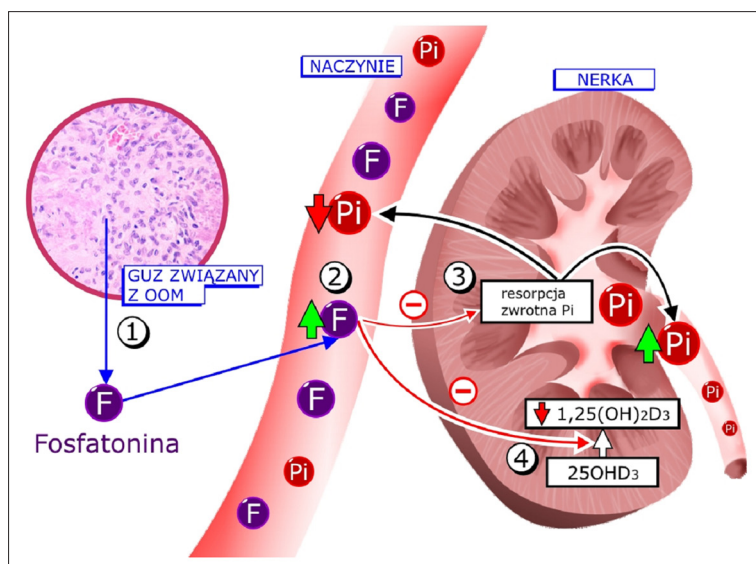
OOM występuje w powiązaniu z różnymi typami nowotworów. Najczęściej jest to guz pochodzenia mezenchymalnego nazywany wówczas fosfaturycznym guzem mezenchymalnym (phosphaturic mesenchymal tumor – PMT), chociaż opisywane są także przypadki OOM indukowanej nowotworami pochodzenia nabłonkowego, takimi jak rak piersi [24], rak prostaty [51], rak drobnokomórkowy [85] oraz szpiczak mnogi [49,52], przewlekła białaczka limfatyczna i chłoniaki limfoplazmocytozowe [10]. Inne schorzenia, takie jak: zespół znamion naskórkowych (epidermal naevus syndrome – ENS) [58], nerwiakowłóknikowatość typu 1 (neurofibromatosis type 1 – NF-1) [35] i dysplazję włóknistą kości (fibrous dysplasia of the bone) [12] charakteryzuje zbliżony do OOM zespół objawów podobnie wynikający z utraty fosforanów.

Termin PMT obejmuje różnorodne, nienabłonkowe nowotwory mezenchymalne, które w przypadku kostnego umiejscowienia mogą mieć utkanie przypominające określone jednostki histologiczne. Weidner i wsp. [98] zaproponowali dla tych odmian PMT odpowiednie nazwy: an osteoblastoma-like tumour, a non ossifying fibroma-like tumour an ossifying fibroma-like tumour. Najczęstszą z odmian PMT jest wariant występujący w tkankach miękkich, który autorzy ci określili jako typ mieszany łącznotkankowy ze względu na niejednoznaczne różnicowanie histologiczne guza (phosphaturic mesenchymal tumor, mixed connective tissue variant – PMTMCT). Opisany jest on prawie w 80% przypadków [98]. Najczęściej typ ten tworzy nieodróżniona komórka wrzecionowata (ryc. 1A), zaś architektonicznie utkanie często przypomina obłoniaka (*haemangiopericytoma*). Folpe i wsp. [18] analizując retrospektywnie 32 przypadki własne i 109 przypadków z piśmiennictwa stwierdzili, że morfologiczne spektrum obrazów PMT jest znacznie szersze i może także obejmować nowotwory złośliwe.

Mimo pewnych różnic morfologicznych PMT zbudowane są zwykle z małych, wrzecionowatych komórek mezenchymalnych leżących w bogato unaczynionym podścielisku. Dość częstym elementem utkania tego nowotworu jest obecność pól nagromadzonej macierzy bezkomórkowej, mogącej mieć postać szklistą, śluzowatą lub śluzowato-chrzęstną. Niekiedy obecne jest także tworzenie osteoidu. Obszary te zazwyczaj ulegają drobnoziarnistemu uwapnianiu (ryc. 1B) i mogą zawierać bardziej owalne („glomoidalne”) komórki guza, przypominające osteoblasty [98]. Komponent naczyniowy PMTMCT jest dobrze rozwinięty stąd wiele pomyłek kwalifikujących je jako wspomniany powyżej obłoniak, naczyniak, czy naczyniakowłókniak typu nosowego (*nasopharyngeal angiofibroma*) [13,101].



Ryc. 1. (A) Typowe utkania fosfaturycznego nowotworu mezenchymalnego. Tworzy go dość jednolita populacja komórek drobnych o wrzecionowatym kształcie. W prawej części zdjęcia widoczne uwapnione skupienia bezpostaciowych mas podścieliska. (B) Powiększenie tego samego przypadku ze zdjęcia A uwidocznia ogniskowe nagromadzenie bezpostaciowych mas podścieliska, na których odkładają się sole wapnia. Zwraca uwagę nieco odmienna morfologia komórek w tych obszarach (komórki „glomoidalne”, patrz strzałki)



Ryc. 2. Współczesna definicja fosfatoniny: 1 – czynnik wytwarzany przez guz w OOM, 2 – wzrost stężenia fosfatoniny w surowicy chorych z OOM, 3 – hamowanie resorpcji zwrotnej fosforanów w cewkach nerkowych powodujące hipofosfatemie i hiperfosfaturię, 4 – hamowanie wytwarzania $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

W diagnostyce różnicowej PMT należy uwzględnić: włóknak histiocytarny (fibrous histiocytoma), mięsaki – typu mięśniowego (leiomyosarcoma), kostnego (osteosarcoma) i chrzęstnego (chondrosarcoma), jak również łagodne nowotwory mezenchymalne – chrzęstniak (chondroma), chrzęstniak zarodkowy (*chondroblastoma*), nowotwór olbrzymio-komórkowy zarówno typu kostnego jak i tkanek miękkich (*giant cell tumor*) [98]. Jednym z patomorfologicznych czynników różnicującym nowotwory jest obecność w PMT naczyń limfatycznych [101]. Innym parametrem odróżniającym PMT od pozostałych guzów jest ekspresja swoistych białek i wytwarzanie czynników humoralnych, tzw. fosfatonin odpowiadających za kliniczny obraz guza [56].

FOSFATONINA – CZYNNIK FOSFATURYCZNY

Definicja fosfatoniny

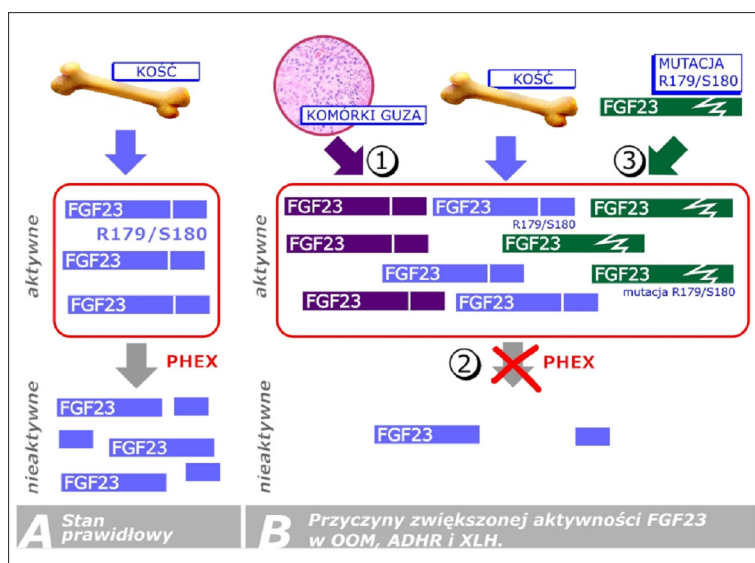
Analizy kliniczne przypadków OOM już na samym początku zasugerowały badaczom, że ogólnoustrojowe objawy związane z obecnością niewielkiego przecieź guza i ustępujące po jego usunięciu, wynikają z działania czynników

humoralnych wytwarzanych przez tkankę nowotworową. Obserwując zaburzenia w gospodarce fosforanowej, pierwotnie niezidentyfikowany jeszcze czynnik związany z nerkową utratą fosforanów nazwano fosfatoniną lub czynnikiem fosfaturycznym [45,87].

Obecna definicja fosfatoniny (ryc. 2) zaproponowana przez Kumara [37] zakłada, że czynnik fosfaturyczny:

- jest wytwarzany przez guz związany z OOM,
- jego stężenie w surowicy jest podwyższone w OOM,
- hamuje nerkową reabsorpcję fosforanów,
- hamuje syntezę $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Kryteria zawarte w tak sprecyzowanej definicji na podstawie obecnego poziomu wiedzy spełnia kilka czynników i są to: czynnik wzrostu fibroblastów 23 (fibroblast growth factor 23 (FGF-23)), fosfoglikoproteina macierzy zewnątrzkomórkowej (matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE)), stanniokalcyna (stanniocalcin) i białko 4 spokrewnione z białkami frizzled (frizzled-related protein 4 (FRP4)) [8].



Ryc. 3. Przyczyny zwiększonej aktywności FGF23 w OOM, ADHR i XLH; A – stan prawidłowy: wytwarzany głównie w osteocytach kości FGF23 jest uwalniany do krwioobiegu tworząc pulę krążącego aktywnego czynnika, który pod wpływem produktów ekspresji genu *PHEX* jest rozkładany na nieaktywne fragmenty, B – przyczyny wzmożonej aktywności FGF23: 1 – wzmożone wytwarzanie przez komórki guza OOM, 2 – mutacja inaktywująca proteazę kodowaną przez *PHEX* – XLH, 3 – mutacja miejsca proteolizy FGF23 – ADHR

Patofizjologia

OOM charakteryzuje się zaburzeniami mineralizacji kości, ustępującymi po usunięciu zmiany pierwotnej. U podstaw biochemicznych OOM leży wytwarzanie fosfatoniny, czynnika stymulującego fosfaturię. Nerkowa utrata fosforanów powoduje hipofosfatemie, czyli niedobór potrzebnego do właściwej mineralizacji kości substratu. Klinicznym i biochemicznym wykładnikiem zaburzeń budowy macierzy kostnej – osteoidu jest krzywica u dzieci i osteomalacja u dorosłych [90]. Pierwszym sukcesem w biochemicznych poszukiwaniach fosfatoniny było zidentyfikowanie w guzach fosfaturycznych czynników wykazujących nadekspresję, takich jak białko macierzy dentyny 1 (Dentin Matrix Protein 1 (DMP1)), MEPE i FGF23. Kolejnym krokiem były rozważania dotyczące oceny klinicznego działania fosfatonin [87].

Doświadczenia wykazujące wpływ poszczególnych czynników *in vitro*, poprzez aplikację ich oczyszczonych postaci zwierzętom doświadczalnym dowiodły fosfaturycznego działania FGF23 i jego nadrzędnej roli w OOM.

Shimada i wsp. [87] dowiedli, że wszczepienie myszom komórek z nadekspresją FGF23 (CHO-FGF23) wywołuje hipofosfatemie, zwiększone nerkowe wydalanie fosforanów, wzrost aktywności fosfatazy alkalicznej i obniżenie stężenia witaminy $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, zaburzenia charakterystyczne dla OOM. W badaniach radiologicznych wykazano, że gęstość mineralna kości u zwierząt z nadmiarem FGF23 była niższa niż w porównywalnej grupie kontrolnej. Ponadto zaobserwowano upośledzenie wzrastania i zniekształcenia klatki piersiowej – cechy stwierdzane u dzieci z wrodzonymi, nieleczonymi postaciami krzywicy. Zbliżony fenotyp uzyskali autorzy aplikując zdrowym zwierzętom rekombinowany aktywny FGF23. Ostatecznie, dowodząc wzmożonego wytwarzania FGF23 przez komórki guzów mezenchymalnych oraz fosfaturycznego działania tego czynnika u zwierząt doświadczalnych z objawami OOM, zdefiniowano długo poszukiwaną fosfatoninę, nazywając ją czynnikiem fosfaturycznym FGF23.

Wcześniej zaobserwowano, że klinicznym odpowiednikiem OOM u dzieci są: autosomalna dominująca krzywica

hipofosfatemiczna (autosomal dominant hypophosphatemic rickets – ADHR) i krzywica hipofosfatemiczna sprzężona z chromosomem X – inaczej krzywica hipofosfatemiczna rodzinna (X-linked hypophosphatemic rickets-XLH). Stwierdzono też, że wspólnym mianownikiem dla tych schorzeń jest nerkowa utrata fosforanów. Spostrzeżenia te sugerowały, że schorzenia te mogą wynikać z działania jednego podobnego czynnika humoralnego – fosfatoniny. Podobieństwo obrazów klinicznych myszy z CHO-FGF23 z doświadczenia Shimady [87] oraz chorych z OOM i wrodzonych postaci krzywicy hipofosfatemicznych, dodatkowo występowanie cech krzywicznych u zwierząt doświadczalnych było ważnym argumentem przemawiającym za wspólnym patomechanizmem powstawania tych schorzeń. Pozostało tylko odpowiedzieć na pytanie czy i w jaki sposób dochodzi do nadmiernej aktywności FGF23 w schorzeniach dziedzicznych genetycznie.

W badaniach chorych z ADHR wykazano mutację w regionie R176 i R179 odpowiedzialną za występowanie choroby. U myszy z fenotypem osteomalacji dowiedziono, że miejscem rozkładu FGF23 przez właściwe dla niego proteazy jest region R179/S180. Tak łącząc ze sobą elementy wykazano wreszcie, że odpowiedzialna za objawy krzywicy mutacja inaktywuje miejsce rozkładu FGF23 [90].

W XLH opisano mutację inaktywującą w genie *PHEX* (P_Hosphate regulating gene with homology to neutral Endopeptidases on the X chromosome), odpowiedzialnym za kodowanie metaloproteazy z rodziny M13. Wynikami wyłączenia genu jest brak proteazy, która jak dowiedziono rozkłada FGF23 [90]. Modelem krzywicy hipofosfatemicznej są zwierzęta z mutacją genu *PHEX*, prezentujące objawy hiperfosfaturii, hipofosfatemii i upośledzonej konwersji 25OHD_3 do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [90]. Zatem prawdziwe było przypuszczenie, że ADHR, XLH i OOM mają te same podstawy patofizjologiczne. We wszystkich tych schorzeniach, w różnych mechanizmach: ADHR – blokowanie miejsca proteolizy, XLH – dezaktywacja rozkładających proteaz i OOM – nadmierne wytwarzanie, dochodzi do kumulacji i wzmożonej aktywności FGF23 odpowiedzialnego za objawy osteomalacji/krzywicy (ryc. 3) [90].

CZYNNIK WZROSTU FIBROBLASTÓW 23 (FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23 – FGF23)

Charakterystyka FGF23

Czynnik FGF-23 (fibroblast growth factor 23) jest białkiem sekrecyjnym składającym się z 251 aa budujących homogeną dla FGF-ów domenę, która stanowi składową fragmentu N-końcowego oraz nowo powstały fragment C-końcowy złożony z 71 aminokwasów [6,87,104]. Głównym miejscem wytwarzania i wydzielania do krwiobiegu FGF-23 jest kość, a dokładniej osteoblasty [47]. Dowiedziono, że synteza FGF23 zachodzi również w komórkach szpiku kostnego, mózgu, grasicy i w węzłach chłonnych, wydaje się jednak, że proces ten ma niewielki wpływ na stężenie krążącego czynnika [47]. Uwolnione do krwiobiegu biologicznie aktywne białko FGF-23 jest rozkładane przez proteazę serynową na dwa mniejsze, prawdopodobnie nieaktywne fragmenty wielkości 18 kDa (N-fragment) i 12 kDa (C-fragment) [100,103]. Obecnie wiemy, że zaburzenia rozkładu FGF23 wynikające z mutacji w miejscu działania proteazy lub zaburzeń działania enzymów zaangażowanych w proces rozkładu stanowią molekularną podstawę schorzeń wynikających z nadmiaru FGF23 jakimi są ADHR i XLH [90].

FGF23 należy do podrodziny FGF19, w której skład ponadto wchodzi FGF19 (mysi FGF15) i FGF21. Białka należące do tej podrodziny tworzą nową grupę czynników endokrynnych, które swoim działaniem regulują procesy metaboliczne w organizmie [30,39].

Typowe FGF-y wykazują silne powinowactwo do wiązania z heparyną/siarczanem heparyny, które jest znacznie zredukowane w podrodzinie FGF19 [39]. Wydaje się, że dzięki temu FGF23 i pozostałe czynniki podgrupy zyskują działanie hormonalne. Wiązanie glikozaminoglikanów do FGF-u nasila bowiem pozakomórkowy wychwyt tego czynnika, uniemożliwiając jego działanie endokrynnie. Jednak jak wykazano heparyna w typowych FGF-ach jest kofaktorem niezbędnym do współdziałania z receptorem dla FGF-ów (FGFR – FGF receptor) [39]. Powstało więc pytanie, jak mimo słabego powinowactwa do glikozaminoglikanów czynniki podrodziny FGF19 aktywują właściwy receptor. Wykazano, że FGF19 wiąże FGFR4 w obecności heparyny [102], dowiedziono, że omawiane białka w obecności wysokich stężeń heparyny aktywują również inne receptory FGF, tj. FGFR1c, -2c, -3c, [106]. Jednak powinowactwo białek z rodziny FGF19 do FGFR w porównaniu z FGF1 jest słabe [106]. Tak zrodziła się hipoteza, że FGF19 i pozostałe czynniki tej podrodziny wymagają innego niż związki heparyny kofaktora, stabilizującego wiązanie do FGFR [39].

Rozwiązanie przyniosły badania na myszach pozbawionych białka Klotho. Okazało się, że kliniczny i biochemiczny fenotyp myszy pozbawionych tego białka jest uderzająco podobny do fenotypu zwierząt z wyłączoną ekspresją FGF23 [69]. Tak więc wysunięto hipotezę, że białka z rodziny Klotho są kofaktorami wiązania podrodziny FGF19 do ich właściwego receptora [39]. Późniejsze badania wykazały, że wiązanie Klotho z FGFR zmienia jego powinowactwo do białek FGF [38]. W obecności Klotho wiązanie FGF23 do FGFR jest znacząco wyższe [40]. Badania

in vitro wykazują, że N-końcowy fragment FGF23 w stężeniach fizjologicznych wiąże i aktywuje FGFR-1,-2 i -4 tylko w obecności białek Klotho. Klotho wiążąc FGFR i C-końcowy fragment FGF23 przekształca typowy FGFR w receptor swoisty dla FGF23 [40]. Obecny stan wiedzy pozwala więc uważać, że białka Klotho są niezbędnym kofaktorem wiązania z FGFR i przekazywania dokomórkowego sygnału przez FGF23 [41].

Mechanizm działania FGF23

Głównym następstwem działania FGF23 będącego wynikiem aktywacji Klotho/FGFR jest fosfaturia i zmniejszone wytwarzanie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [46,47,87]. FGF23 hamując kotransporter sodowo/fosforanowy (NPT 2a i NPT 2c) w cewkach nerkowych, zwiększa wydalanie fosforanów. Wpływa też na poziom $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ przez hamowanie α -1-hydroksylazy przekształcającej $25(\text{OH})\text{D}_3$ w $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ oraz stymulację 24-hydroksylazy inaktywującej $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w cewkach proksymalnych nerek [87,88]. Stąd nadmiar FGF23 charakteryzuje: hiperfosfaturia, hipofosfatemia i niedobór $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Odwrotnie niedobór FGF23 powoduje hiperfosfatemie i zwiększone wytwarzanie aktywnej postaci witaminy D_3 [42,47]. Przedstawiona wyżej charakterystyka zwierząt z wszczepionymi komórkami CHO-FGF23 stanowi model wzmożonego działania FGF23.

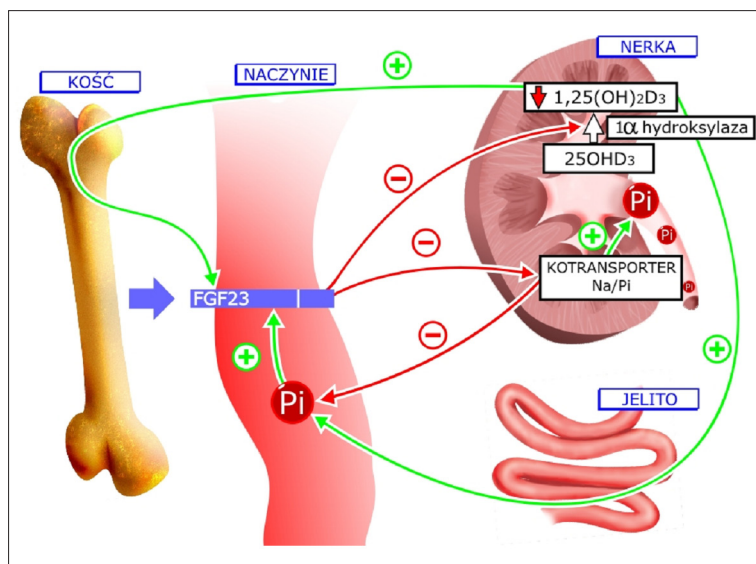
Odwrotnie klinicznym obrazem niedoboru czynnika FGF23 są myszy pozbawione ekspresji FGF23. Zwierzęta są mniejsze niż niezmutowane „dzikie” osobniki. Taki fenotyp charakteryzuje: hiperfosfatemia, z nadekspresją 1α -hydroksylazy witaminy D_3 i duże stężenie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ przy prawidłowym stężeniu PTH w surowicy. W badaniu zaobserwowano ponadto szybkie powstawanie zaawansowanych naczyniowych i trzewnych zwapnień oraz skrócenie długości życia zwierząt zmutowanych w stosunku do osobników zdrowych [69]. Znając mechanizm działania FGF23 na właściwy receptor nie dziwi, że podobny fenotyp przedstawiają zwierzęta pozbawione ekspresji białka Klotho [39].

Podobnie u ludzi brak ekspresji FGF23 powoduje hiperfosfatemie, zmniejszone wydalanie fosforanów z moczem i zwapnienia tkanek miękkich należące do objawów choroby określanej jako zwapnienia guzowate [25,68,87].

Regulacja FGF23

Regulacja FGF23 jest mechanizmem złożonym i wiele czynników pośrednio wpływa na poziom krążącego FGF23. Najlepiej poznanym mechanizmem jest regulacja zwrotna pomiędzy FGF23 i witaminą D_3 . Wiadomo, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bezpośrednio z udziałem receptora VDRE (vitamin D response elements) w kości stymuluje wytwarzanie FGF23 w osteoblastach. Nadmiar FGF23 obniża stężenie kalcytriolu przez hamowanie 1α -hydroksylazy w nerce zamykając pętlę sprzężenia zwrotnego (ryc. 4) [46,67].

Nazywając FGF23 hormonem fosfaturycznym oczekujemy istnienia osi regulacyjnej między fosforanami, a wpływającą na ich poziom fosfatoniną. Jakkolwiek nie udowodniono bezpośredniego wpływu fosforanów na stymulację mRNA lub genu promotorowego dla FGF23, to wykazano stymulujący wpływ na poziom fosfatoniny [46,67].



Ryc. 4. Regulacja stężenia FGF23 w surowicy. Wzrost aktywności FGF23 hamuje 1 α -hydroksylazę oraz kotransporter sodowo/fosforanowy, obniżając stężenie 1,25(OH) $_2$ D $_3$ i zwiększając wydalanie fosforanów z moczem jednocześnie zmniejszając stężenie fosforanów w surowicy. Wzrost stężenia 1,25(OH) $_2$ D $_3$ zwrótnie pobudza wytwarzanie FGF23 w osteoblastach. Podobnie na FGF23 działa wzrost stężenia fosforanów w surowicy. Dodatkowo zaznaczono dodatni wpływ aktywnej postaci witaminy D $_3$ na wchłanianie fosforanów w jelicie

Wiadomo, że krótkotrwałe zmiany w przyjmowaniu fosforanów nie zmieniają stężenia FGF23 u ludzi, podobnie jak długotrwała dieta wysokofosforanowa [17]. U zwierząt poziom fosfatoniny zdecydowanie bardziej zależy od zmian fosforanów w diecie, zwiększona suplementacja fosforanów podwyższa stężenie FGF23, natomiast zmniejszona ich podaż i hipofosfatemia hamują wytwarzanie czynnika fosfaturycznego [62]. Hiperfosfatemia obserwowana w przewlekłej chorobie nerek stymuluje FGF23, który usiłuje skompensować zmniejszone w tej chorobie wydalanie fosforanów. Stężenie FGF23 w warunkach zaburzeń homeostazy gospodarki fosforanowej, jakie występują u chorych z upośledzoną funkcją nerek koreluje ze stężeniem fosfatemii [67,97].

Wydaje się, że pewne znaczenie w równowadze FGF23 odgrywają też w sposób pośredni wapń i PTH. Nie wykazano bezpośredniego wpływu tych czynników na wytwarzanie FGF23 w osteoblastach [46]. Jakkolwiek zaobserwowano wzrost FGF23 w związku z niewielkim wchłanianiem wapnia przy niedoborze witaminy D3 oraz w przypadku nadmiaru PTH charakteryzującym pierwotną nadczynność przytarczyc [65,67]. Przeciwnie, kalcytonina u pacjentów z OOM powoduje obniżenie poziomu FGF23 [67,94].

Inne czynniki fosfaturyczne

Dużym uproszczeniem byłoby założenie, że FGF23 jest jedynym czynnikiem odpowiedzialnym za objawy OOM. Rzeczywiście, w komórkach guzów fosfaturycznych wykazano zwiększoną ekspresję także innych potencjalnych fosfatonin, takich jak: FRP4, MEPE oraz fibroblast growth factor 7 (FGF7).

Cennym spostrzeżeniem było stwierdzenie aktywności fosfatoniny w komórkach szpiku kostnego lub hodowlach osteoblastów pozbawionych ekspresji FGF23. W toku dalszych badań krótko po odkryciu FGF23, opisano kolejny czynnik odpowiedzialny za regulację nerkowej utraty fosforanów, intensywnie wytwarzany przez komórki nowotworowe – FRP4. Jest ono białkiem sekrecyjnym zawierającym domenę homologiczną z zewnątrzkomórkową częścią

białka przez błonowego Fizzled. Hamuje zwrotne wchłanianie fosforanów w cewkach proksymalnych nerk po przez blokowanie kotransportera sodowo-potasowego i obniża poziom 1,25(OH) $_2$ D $_3$. Jak dowiedziono w badaniach na zwierzętach wzrost stężenia FRP4 poprzez egzogenne podanie tego czynnika, wywołuje fosfaturię. Ewidentne dowody na zwiększoną ekspresję genu dla FRP4 w OOM stanowią ostatnie ogniwo łączące OOM z tym białkiem, które można nazwać drugą fosfatoniną.

Podobnie na komórki cewek nerkowych działa FGF7. Jest ono białkiem o ciężarze 28 kDa należącym do rodziny FGF aktywnie wydzielanym przez tkanki ran oparzeniowych, w warunkach fizjologicznych wykazującym dużą ekspresję w keratynocytach [5]. Uważa się, że FGF7 selektywnie aktywuje FGFR2b [60], podczas gdy FGF23 silniej wiąże się z FGFR2c i FGFR3c [103]. Niedawne badania chorych z wrodzoną hipofosfatemią sugerują mutację FGFR1c jako czynnika związanego z fosfaturią [9]. Wydaje się więc, że wszystkie trzy typy FGFR odgrywają główną rolę w hamującym działaniu FGF na transport fosforanów w cewkach nerkowych [9]. Potwierdzają to autorzy prac, w których ekstrahując FGF7 z komórek guza wywołującego kliniczne objawy OOM opisano hamujący wpływ tego czynnika na nerkowy transport fosforanów. Podając przeciwciała przeciwko FGF7 uzyskano zmniejszenie utraty fosforanów przez nerki [9].

Zwiększoną aktywność MEPE uwalnianego z osteoblastów, osteocytów i odontoblastów obserwuje się u chorych z XLH i OOM [1,78].

Dotychczas nie wykazano bezpośredniego działania FGF23 na mineralizację kości. Dlatego szukając przyczyny osteomalacji w XLH zasugerowano dodatkowe działanie osteoblastycznej fosfatoniny (osteoblastic phosphatonin OB-PTN), za którą obecnie uważa się MEPE [78]. Mutacja inaktywująca *PHEX* w XLH jest związana ze wzrostem aktywności FGF23 i aktywnych fragmentów MEPE. *PHEX* powoduje rozkład aktywnego FGF23 przez odpowiednie proteazy, stąd mutacja wyłączająca *PHEX* prowadzi do nagromadzenia aktywnego czynnika i jego wzmożonego działania. Natomiast odwrotnie *PHEX* chroni MEPE

przed proteolizą. Rozkład MEPE powoduje uwolnienie jego składowej, białka ASARM, które hamuje mineralizację kości. Stąd dezaktywacja PHEX w XLH zwiększając rozkład MEPE, zwiększa stężenie aktywnej postaci MEPE (ASARM), odpowiadającej za zmniejszoną mineralizację [78,79]. Białko ASARM jest składową innych czynników należących do tej samej co MEPE rodziny SIBLING (small integrin binding ligand N-linked glycoprotein) czyli osteopontin (OPN), które stanowią dentin-matrixprotein-1 (DMP-1) i dentin-sialophosphoprotein (DSPP) [78].

Aktywność MEPE rośnie w XLH przy dezaktywacji PHEX, obniża się pod wpływem PHEX i $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, a jego nadmierną aktywność przy wzmożonym wytwarzaniu obserwujemy w OOM [79]. Aktywne postaci MEPE hamują mineralizację kości. Przeciwnie myszy pozbawione aktywności MEPE charakteryzuje przyspieszona mineralizacja i formowanie kości [23] oraz choroby zębów i wewnętrznych czaszki zwapnienia w PLS (Papillon-Lefevre syndrome) [92]. Jak wykazano, MEPE zwiększa dodatkowo wydalanie fosforanów wywołując hipofosfatemie *in vivo*, jednak – co istotne – nie hamuje wytwarzania $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [79].

Kolejnym czynnikiem wpływającym na gospodarkę fosforanową jest stanniokalcyne. Stanniokalcyne odpowiadają za regulację gospodarki wapniowo-fosforanowej u zwierząt. U ryb hormon ten zmniejsza skrzelowe i jelitowe wchłanianie wapnia działając hipokalcemicznie oraz nasila nerkową reabsorpcję fosforanów [48]. U ludzi stanniokalcyne jest uwalniana w nerkach [48,59] i stymuluje wchłanianie zwrotne fosforanów w cewkach nerkowych, bez wpływu na nerkowy transport wapnia [96]. Przyjmując definicję fosfatoniny zaproponowaną przez Kumara [37] trudno stanniokalcyne nazwać fosfatoniną. Z pewnością jednak należy zaliczyć ten czynnik do hormonów wpływających na gospodarkę fosforanową.

DIAGNOSTYKA

Objawy i badanie fizykalne

Podstawowymi dolegliwościami, z którymi chorzy z OOM zgłaszają się do lekarza są problemy w zakresie narządu ruchu. Przede wszystkim skargi na nasilone bóle mięśniowe i kostne, te ostatnie nierzadko związane ze złamaniami patologicznymi kości długich. Częstym i ważnym z punktu widzenia chorego objawem jest narastające osłabienie. Miopatia mięśni proksymalnych, złamania, dolegliwości bólowe doprowadzają do poważnych trudności w poruszaniu się. Chorego z OOM charakteryzuje chód kaczkowy, a w krańcowym stadium choroba prowadzi do inwalidztwa i przykuwa do wózka. Objawy te są na tyle nieswoiste, a sama choroba na tyle rzadka, że postawienie właściwego rozpoznania zajmuje średnio ponad 2,5 roku. W tym czasie chorzy są nieskutecznie badani w kierunku chorób reumatycznych, ortopedycznych i neurologicznych. Niecharakterystyczne objawy wymagają różnicowania z fibromialgią, chorobami zapalnymi stawów i innymi zaburzeniami czynnościowymi w zakresie narządu ruchu [13,45].

Podejrzenie rzadkiej przyczyny, często występujących objawów wymaga dalszego potwierdzenia w badaniach dodatkowych,

Siegel i wsp. [89] proponują kryteria diagnostyczne oparte na:

- obrazie radiologicznym: osteopenia, pogrubienie kości długich wskutek poodkostnowego odkładania się osteoidu, złamania rzekome czyli strefy Loosera-Milkmanna,
- scyntygrafii kości: mnogie ogniska nadmiernego gromadzenia znacznika,
- wykładnikach biochemicznych: niski poziom wapnia i fosforanów, podwyższona aktywność fosfatazy alkalicznej,
- cechach histologicznych: niewapniona tkanka kostna z nadmiernym gromadzeniem osteoidu.

Jednak głównym problemem pozostaje nie tyle diagnostyka różnicowa schorzenia, co samo wysunięcie podejrzenia rzadkiej przyczyny bólów kostnych i osłabienia mięśni.

Mówiąc o objawach klinicznych OOM należy wspomnieć o doniesieniach badaczy amerykańskich [18], którzy opisują trzy przypadki guzów mezenchymalnych o bezobjawowym klinicznie przebiegu. W swoich rozważaniach nad przyczyną takiego stanu, autorzy biorą pod uwagę guzy wytwarzające nieaktywny FGF23 lub zbyt małą jego ilość, wzmożone wytwarzanie MEPE zamiast FGF23 lub indywidualną zdolność pacjentów do kompensowania działania fosfatoniny. Podobne obserwacje odnotowali Yoshioka i wsp. [105] opisując przypadek nawracającego PMTMCT, o pierwotnie bezobjawowym przebiegu, ale z zaburzeniami biochemicznymi. Po roku od resekcji guza, w wyniku odrostu zmiany wystąpiły pełne objawy choroby włączając narastające bóle kostne. Na tej podstawie autorzy proponują podział przebiegu OOM na trzy etapy. Pierwszy w zasadzie bezobjawowy, drugi z widoczną fosfaturią, ale bez objawów klinicznych i ostatni etap, „klasyczny”, w pełnoobjawowym stadium choroby.

Diagnostyka laboratoryjna

Zaburzenia biochemiczne

Analizując patomechanizm powstawania OOM, przyjmując hipotezę działania fosfatoniny, w obrazie biochemicznym chorych z OOM oczekujemy: hiperfosfaturii, hipofosfatemii oraz niedoboru aktywnej witaminy D_3 .

Istotnie, OOM charakteryzuje zwiększone wydalanie fosforanów, wyrażone spadkiem maksymalnej zdolności reabsorpcji zwrotnej fosforanów w cewkach nerkowych na decylitr przesączania kłębuszkowego (TmP/GFR) oraz wskaźnika nerkowej reabsorpcji fosforanów TRP [53,91]. U chorych z OOM, mimo utrzymującej się hipofosfatemii, wskaźnik cewkowej reabsorpcji fosforanów jest zwykle niski i wynosi 40–60% (norma >85%) [80]. Podobnie obserwujemy obniżone wartości TmP/GFR wahające się 0,2–1,3 mg/dl przy zakresie referencyjnym 3,0–5,0 mg/dl [63,73,80,105]. Ponadto niskie stężenie fosforanów w surowicy, podwyższona aktywność fosfatazy alkalicznej, niski albo nieznaczalny poziom aktywnego metabolitu witaminy D_3 przy zwykle prawidłowym poziomie jego prekursora $25\text{-OH}\text{D}_3$ są kolejnymi cechami charakterystycznymi dla OOM [13]. Stężenie wapnia w surowicy jest na ogół prawidłowe lub nieznacznie obniżone. Podobnie stężenie PTH mimo nielicznych doniesień, gdzie obserwowano pewne jego wahania, pozostaje zwykle w zakresie wartości

referencyjnych. Zaburzeniom nerkowej utraty fosforanów może towarzyszyć aminoaciduria, glicynuria i glukozuria obserwowane u 30–50% badanych [13].

Niewiele jest doniesień na temat aktywności markerów obrotu kostnego w OOM. Jakkolwiek posługując się obrazem histopatologicznym uzyskanym z biopsji kości oczekujemy prawidłowego lub nawet nieznacznie obniżonego obrotu kostnego. Wyniki pomiarów stężenia hydroksyprowiny w moczu dorosłych z OOM i dzieci z krzywicą wykonane przez Dreznera [13] zbliżone są do wartości referencyjnych. Brak jest jednak doniesień na temat wartości pozostałych parametrów kościogubienia w przebiegu OOM [13].

Inne są natomiast parametry odzwierciedlające kościotwórczenie. Oczekuje się, że wskutek obniżenia mineralizacji tkanki kostnej dojdzie do ich zmniejszenia. Ostatecznie jednak, doniesienia na temat nieprawidłowej mineralizacji macierzy kostnej wykazują wzrost obrotu kolagenu [81], co powinno skutkować wzrostem stężenia C-końcowego propektolagenu typu I (PICP) i N-końcowego prokolagenu typu I (PINP), markerów kościotwórczenia. Jednak przyjęcie takiego stanowiska, wymaga potwierdzenia w badaniach klinicznych [13].

Oznaczanie stężeń FGF23

Niewątpliwie patomechanizm OOM opiera się na uwalnianiu przez guz fosfatonin i endokrynnym ich działaniu. Wobec tego spodziewamy się, że czynniki fosfaturyczne będą swego rodzaju markerami w diagnostyce tego schorzenia.

Rzeczywiście wykazano podwyższone stężenia FGF23 u chorych z OOM [32,56,91,105]. Obecnie wielu autorów stosuje pomiary poziomu FGF23 w surowicy jako wartościową metodę diagnostyczną [32,53,56,91,99,105]. Najnowsze doniesienia dotyczą diagnostyki umiejscowienia guza opartej na pobieraniu próbek krwi żyłnej z porównaniem stężeń FGF23 w różnych partiach ciała. Miejscowy wzrost stężenia FGF23 wskazuje przybliżone umiejscowienie guza, co w połączeniu z badaniami obrazowymi celowanymi na tę okolicę daje dobre wyniki diagnostyczne [53,55,99]. Należy jednak uwzględnić doniesienia o nielicznych przypadkach guzów mezenchymalnych związanych z OOM, w których mimo zastosowania metod immunohistochemicznych i RT-PCR nie wykazano ekspresji FGF23. Takie wyniki uzyskał Flope [18] w dwóch preparatach histologicznych PMT na 21.

Pozostaje pytanie, jakie stężenie FGF23 obliuguje do rozpoznania OOM. Jonsson i wsp. [32], ustalili zakres wartości referencyjnych dla FGF23 u osób zdrowych na 5–105 RU/ml, zaś u czterech chorych z OOM uzyskali wartości 426–7970 RU/ml. Jednak wielu autorów opisujących własne przypadki chorych z OOM podaje zaledwie zdwojenie stężenia FGF23, niemniej potwierdzające rozpoznanie [56,91,105]. Yoshioki i wsp. [105] uzyskując tylko 1,5-krotny wzrost FGF23, zasadność przyjęcia takiego progu tłumaczy hamującym wpływem na fosfatoninę bardzo małego stężenia fosforanów. Stąd jego propozycja oceny stężeń FGF23 z uwzględnieniem stosunku do aktualnego stężenia fosforanów. Słusznie badacze biorą pod uwagę także działanie innych fosfatonin. Analizując zaburzenia gospodarki fosforanowej i oczekując pierwotnego do tego stanu

wzrostu FGF23, pamiętajmy o udziale w tym mechanizmie innych czynników fosfaturycznych, które jakkolwiek nie znalazły dotychczas zastosowania w diagnostyce guzów z OOM, jednak odgrywają istotną rolę w patomechanizmie tego schorzenia.

Diagnostyka patomorfologiczna

Biopsja kości

W razie podejrzenia OOM, czy innych poszlak wskazujących na tę chorobę, biopsja kości jest badaniem, które niewiele wnosi do dalszej diagnostyki, stąd rzadkie jej zastosowanie [4]. Badanie histopatologiczne kości potwierdza osteomalację, jednak nie zmienia w żaden sposób dalszej strategii postępowania. Pamiętać należy, że OOM jest rzadką przyczyną powstawania zmian kostnych. Zanim wysuniemy podejrzenie OOM powinniśmy przeanalizować inne mechanizmy powstawania zaburzeń kostnych. Jeśli przyczyna dolegliwości bólowych i zmian obserwowanych w badaniach obrazowych kości nie jest znana, biopsja zdecydowanie zyskuje na wartości.

Lewiecki i wsp. [45] zastosowali biopsję kości jako technikę wykluczającą przerzuty nowotworowe do kości, a dopiero po ich wykluczeniu, sugerującą metaboliczną przyczynę schorzenia. Podobnie inni badacze na wstępie diagnostyki posilkowali się biopsją, ostatecznie uzyskując wynik przemawiający jedynie za osteomalacją [77,83]. Biopiat osteomalacyjnie przebudowanej kości cechuje niewuapniona tkanka kostna i wzmożona kumulacja nieprawidłowo zmineralizowanego osteoidu [83]. Występowanie beleczek kostnych zwykle odzwierciedla niski obrót kostny. Stąd w biopsji zaobserwować możemy znaczną redukcję we wskaźniku osteoblastycznej kalcyfikacji, co wyraża się wydłużeniem mineralizacji i wzrostem czasu formowania kości. Obserwuje się również znaczne zmniejszenie osteoidu w osteoblastach oraz liczby aktywnych centrów formowania kości, wskazujące na zmniejszenie liczby jednostek przebudowy (BRU – bone remodeling unit) w otoczeniu beleczek kostnych. Powierzchnia osteoklastyczna i liczba osteoklastów jest prawidłowa lub nieco podwyższona, jednak bardziej w wyniku przedłużenia czasu resorpcji aniżeli wskutek wzmożonej aktywności osteoklastów [13,44,86].

Biopsja guza

Niewiele jest doniesień na temat diagnostyki OOM opartej na biopsji guza. Policarpio-Nicolas i wsp. [63] przedstawili przypadek zastosowania biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej celowanej (BACC) w diagnostyce guza mezenchymalnego tkanek miękkich. Lokalizując za pomocą MR 3 cm zmianę okolicy poślodka przed usunięciem guza, autorzy posłużyli się BACC. Otrzymany materiał zawierał wrzecionowatego kształtu komórki z owalnym wydłużonym jądrem, ziarnistą chromatyną i kwasochłonną cytoplazmą. Mimo umiarkowanej atypii jąder, martwica i figury podziału nie były widoczne. Taki obraz wymaga różnicowania pomiędzy łagodnymi i złośliwymi nowotworami zawierającymi komórki wrzecionowate, takimi jak: mięsak maziówkowy (*synovial sarcoma*), mięśniak gładkokomórkowy (*leiomyoma*), nowotwór osłonek nerwów obwodowych (*peripheral nerve sheath tumor*), włókniakomięsak (*fibrosarcoma*), czerniak (*melanoma*) i rak mięsakowaty

(*sarcomatoid carcinoma*). Biorąc pod uwagę stosunkowo różnorodne obrazy mikroskopowe prezentowane przez PMT, jego diagnostyka cytologiczna jest dużym wyzwaniem dla patologa i wymaga ścisłej korelacji z danymi klinicznymi. Wysuwając podejrzenie OOM na podstawie obrazu klinicznego i badań biochemicznych można się spodziewać potwierdzenia sugestii nowotworu mezenchymalnego utworzonego z drobnych komórek wrzecionowatych charakterystycznych dla PMT. Dodatkową wartością takiego badania może być stwierdzenie cech cytologicznej złośliwości, co może sugerować rzadko występujący złośliwy charakter PMT. Znamienność rozpoznania PMT w tym przypadku może być jednak znacznie mniejsza i może wymagać uzyskania materiału tkankowego do postawienia jednoznacznego rozpoznania.

Diagnostyka obrazowa

Techniki obrazowe w OOM spełniają w zasadzie dwie ważne funkcje. Po pierwsze, służą jako narzędzie do oceny zaawansowania, wielkości i liczby zmian osteomalacyjnych. Po drugie, używane są w diagnostyce lokalizacyjnej guza przebiegającego z OOM. Do technik obrazujących wtórne zmiany kostne zalicza się klasyczne zdjęcia radiologiczne i scyntyografię kości [21]. Lokalizacja guza pierwotnego związanego z OOM biorąc pod uwagę, niewielkie jego rozmiary, łagodny charakter i powolny wzrost, jest zadaniem zdecydowanie trudniejszym [18]. Tu badaniem rekomendowanym jest najczęściej MR, jakkolwiek ostatnio coraz więcej autorów zaleca OctreoScan i PET [4,19,21].

Badanie radiologiczne

Radiologicznymi wykładnikami osteomalacji są: osteopenia, pogrubienie kości długich wskutek podokostnowego odkładania nieprawidłowo zmineralizowanego osteoidu, oraz strefy Loosera-Milkmanna [89]. Najbardziej charakterystyczne są strefy Loosera-Milkmanna, czyli tzw. złamania rzekome, które cechują poprzeczne, linijne przejaśnienia, o nieostrych granicach najczęściej umiejscowione w tylnych częściach żeber, szyjce kości udowej, podkrętarzowo i gałęziach kości łonowych. Linie złamania zwykle przebiegają podokostnowo i towarzyszy im odczynowe pobudzenie kostniny. Jednak odkładanie osteoidu, który nie podlega prawidłowej mineralizacji nie przynosi wyleczenia. W ciężkich przypadkach osteomalacji dochodzi do zniekształceń kośćca i kalectwa. Złamania w osteomalacji są klasycznym przykładem złamań patologicznych powstających w wyniku prawidłowego obciążenia nieprawidłowo zbudowanej kości [70]. Demineralizacja kości w OOM przebiega podobnie jak u chorych z osteoporozą, stąd wyniki densytometrii (BMD) często wskazują na zaawansowaną osteoporozę [27,54,70].

Scyntygrafia

Scyntygrafia kości w diagnostyce OOM podobnie jak klasyczne badania radiologiczne obrazuje głównie zmiany osteomalacyjne [43,77,82]. Scyntygram wykazuje mnogie, rozsiane ogniska wychwytu przypominające swym obrazem ogniska metastatyczne w kościach [43]. W rzeczywistości są to osteomalacyjne pseudozłamania, które podobnie jak przerzuty do kości gromadzą znaczniki używane w obrazowaniu scyntygraficznym [82]. Po usunięciu

guza indukującego OOM na skutek remineralizacji i odbudowy kośćca, akumulacja znacznika stopniowo zmniejsza się, aż do całkowitej normalizacji obrazów. Scyntygrafia może więc służyć także jako badanie follow-up [34]. Duża liczba niecharakterystycznych w swym obrazie zmian sprawa, że scyntygrafia nie jest badaniem zalecanym w diagnostyce lokalizacyjnej guzów wywołujących OOM [34,43]. Większość autorów stosujących scyntyografię jako technikę lokalizacyjną guza nie może się pochwalić dobrymi wynikami [19,29,53]. Jakkolwiek Kimizuka i wsp. wykonując scyntyografię całego ciała z użyciem ^{201}Tl i $^{99\text{m}}\text{Tc}$ MIBI SPECT znaleźli zmianę stanowiącą przyczynę osteomalacji [34].

Tomografia komputerowa (TK)

W poszukiwaniu ogniska pierwotnego TK, mimo pewnej, trudnej do oszacowania skuteczności i częstego zastosowania, nie jest obecnie zalecaną metodą obrazowania. Podejście takie wynika z niewielkiej czułości tego badania, która jest często dyskutowana szczególnie w publikacjach na temat wykorzystania nowszych, skuteczniejszych, technik diagnostycznych [19,76,95]. W dostępnym piśmiennictwie brakuje jednak prac oceniających czułość i skuteczność TK, jako właściwego uzasadnienia z rezygnacji jego zastosowania. Fukumoto i wsp. [19] podkreślają przewagę MR nad TK, zwłaszcza w obrazowaniu guzów umiejscowionych w kościach, a te jak wiemy stanowią prawie połowę PMT [21]. Przeciwnie TK przemawia także nieuniknione napromieniowanie chorego w trakcie badania [19]. Przedstawione dane nie zmieniają faktu, że ważnym argumentem przemawiającym na korzyść TK jest jego duża dostępność i porównując z nowymi technikami stosunkowo niski koszt. Stąd, mimo braku rekomendacji, wielu autorów w poszukiwaniu ogniska pierwotnego PMT z powodzeniem posiłkuje się tą techniką [22,26,33,73,83,89].

Rezonans magnetyczny (MR)

W opinii wielu autorów badanie MR zyskało miano najskuteczniejszej i rekomendowanej w diagnostyce OOM metody, szczególnie do zmian zlokalizowanych w tkankach miękkich i kościach [3,19,53]. Użycie różnych sekwencji MR zwiększa jego czułość. Obrazy T1-zależne wskazują maksymalny kontrast pomiędzy guzem a tkanką tłuszczową, a obrazy T2-zależne uzyskują maksymalne zróżnicowanie obrazu guza z mięśniem, więzadłem i ścięgnem [75]. Guzy OOM w MR mają niską intensywność sygnału w obrazach T1-zależnych i wysoką intensywność sygnału w obrazach T2-zależnych, z elementami zwapnień, martwicy i zmian krwotocznych o niskim sygnale [3]. Oczywiście zaletą MR porównując z TK jest brak napromieniowania [19]. Stąd wiele przychylnych opinii na temat użycia i skuteczności MR w wykrywaniu guzów OOM kośćca [3,19,53]. Wadą metody jest to, że powszechne zastosowanie MR ogranicza jego wysoki koszt. Avila i wsp. [3] w poszukiwaniu małych zmian związanych z OOM zalecają wykonanie MR głowy, szyi, klatki piersiowej, jamy brzusznej i miednicy. Nietrudno oszacować koszt, jaki niesie za sobą wykonanie MR całego ciała, stąd ciągle poszukiwanie nowych, skuteczniejszych metod obrazowania [74]. Ponadto, oprócz publikacji zachęcających do obrazowania techniką MR, istnieją prace wskazujące, że MR mimo dobrej czułości nie jest badaniem swoistym

dla OOM. Imanishi i wsp. [29] opisują przypadek, w którym kierując się obrazami MR u chorego z klinicznymi objawami OOM usunięto zmianę, a pacjent nadal prezentował kliniczne i biochemiczne wykładniki OOM. Podobne niepowodzenia opisują inni autorzy przedstawiając przypadki, w których zastosowanie MR nie przyniosło spodziewanych efektów, a wynik negatywny zmusił badaczy do dalszego poszukiwania guza z wykorzystaniem innych technik obrazowych [74,99].

Analiza dotychczasowych wyników badań zachęca do stosowania MR jako bardzo czułej metody, jednak nakazuje zachować rezerwę, jeśli chodzi o diagnostykę MR opartą na pojedynczym wyniku. Niektórzy proponują OctreoScan jako uzupełnienie diagnostyki MR. Dodatni wynik badania ma zwiększyć prawdopodobieństwo, że opisywany w MR guz jest związany z OOM [29]. Pozostaje wątpliwość, co w sytuacji, gdy guz należy do tzw. „OctreoScan ujemnych”. Prawdopodobnie w wyniku tych niejasności zrodziła się kolejna koncepcja podwójnej diagnostyki: obrazowo-biochemicznej opartej na badaniu różnicy stężeń FGF23 pomiędzy naczyniami ogólnoustrojowymi, a żyłami odprowadzającymi krew z okolicy guza.

MR w połączeniu z zastosowaniem sekwencyjnych oznaczeń FGF23

W najnowszych doniesieniach oceniających diagnostykę OOM, czytamy o bardzo skutecznym połączeniu dwóch niezależnych metod diagnostycznych, tj. badań obrazowych i laboratoryjnych. Założeniem nowego sposobu jest oznaczenie różnicy osoczowych stężeń FGF23 między naczyniami okolicy guza i pozostałymi częściami ciała. Podwyższone miejscowo stężenie FGF23 w połączeniu z dużym obrazowym lokalizującym zmianę pozwala z dużym prawdopodobieństwem określić, czy znaleziony guz jest odpowiedzialny za objawy osteomalacji [53,55,99].

Nową strategią diagnostyki OOM opartą na połączeniu techniki MR i oznaczania stężeń FGF23 opisują Nasu i wsp. [53]. Warunkiem jej zastosowania jest obecność guza, który prawdopodobnie wydzielą FGF23. Pierwszym krokiem jest oznaczenie stężenia fosfatony w krwi obwodowej. W przypadku podwyższonych wartości FGF23 kolejnym etapem jest lokalizacja zmiany za pomocą badań obrazowych. Jako metodę referencyjną autorzy zalecają MR. Potwierdzeniem podejrzenia, że zobrazowana zmiana to guz odpowiadający za objawy OOM jest stwierdzenie podwyższonego stężenia FGF23 w naczyniach otaczających ognisko. W tym celu należy pobrać próbki krwi żyłnej z różnych okolic ciała, włączając żyły zbierające krew z okolicy guza. Podwyższone stężenie FGF23 w okolicy zobrazowanej zmiany w stosunku do pozostałych naczyń z dużym prawdopodobieństwem wskazuje, że znaleziony guz jest przyczyną choroby. Oparty na zbliżonych zasadach model diagnostyki prezentują badacze szwedzcy [99]. W sytuacji, gdy badania TK i MR zawiodły w diagnostyce lokalizacyjnej guza, oznaczali oni stężenia FGF23 w czterech głównych naczyniach żylnych. Podwyższone stężenie fosfatony w lewej żyłce udowej zasugerował wykonanie OctreoScanu ograniczonego do lewej kończyny dolnej. Badanie pozwoliło na dokładną lokalizację guza, co potwierdzono w celowanym na tę okolicę MR. Taka strategia postępowania

być może pozwoli zrezygnować z zastosowania drogiego, nierzadko nieskutecznego obrazowania całego ciała, na korzyść wybiórczych, ograniczonych do wybranej okolicy ciała badań.

Diagnostyka izotopowa z zastosowaniem analogów somatostatyny znakowanych Indem 111 (OctreoScan)

Podstawą wykorzystania OctreoScanu u chorych z OOM była praca Reubi i wsp. [72], w której autorzy udokumentowali występowanie receptorów somatostatyny (somatostatyn receptor – SSTR) na wielu typach guzów mezenchymalnych m.in.: osteosarcoma, fibrohistiocytic tumors, vascular tumors i mesothelial tumors.

Diagnostyka radioizotopowa z użyciem analogów somatostatyny znakowanych indem 111 w obrazowaniu guzów związanych z OOM jest uważana za metodę „ratunkową”, szczególnie w sytuacjach, gdy pozostałe rutynowo stosowane techniki obrazowe okazują się nieskuteczne [2,15,31,74,84]. Na podstawie przeglądu piśmiennictwa, Duet i wsp. [15] oszacowali skuteczność tego badania na 79%. Aż 90% pozytywnych wyników uzyskano w przypadkach gdy zawiodła rutynowa diagnostyka obrazowa. Należy jednak pamiętać o ograniczeniach tego badania scyntygraficznego. Dodatni wynik uzyskamy tylko wtedy, gdy komórki guza będą wykazywały ekspresję receptora SSTR 2 lub 5. Natomiast nie zostanie on zobrazowany w sytuacji wzmożonej ekspresji SSTR 1 lub 4 i wówczas należy liczyć się z wynikiem fałszywie ujemnym [74]. Przykładem jest praca Jan de Beur i wsp. [31], w której autorom oceniającym skuteczność OctreoScanu w obrazowaniu guzów z OOM w 2 na 7 przypadków nie udało się zlokalizować zmiany w żadnym z dostępnych badań obrazowych, włączając MR i scyntygrafię z ¹¹¹In-pentetreotydem [31]. Podobne fałszywie ujemne wyniki z użyciem OctreoScanu opisali Roarke i wsp. [76].

Analizując powyższe dane, Kumar i wsp. [36] zaproponowali podział OOM na guzy OctreoScan-pozytywne i OctreoScan-negatywne, zalecając w zależności od wyniku dalszy schemat postępowania diagnostycznego i terapeutycznego.

Podsumowując, w przypadkach ujemnych wyników standardowych badań obrazowych i braku innej możliwości, racjonalne wydaje się podjęcie próby wykorzystania badań scyntygraficznych (OctreoScan) w celu zlokalizowania guza związanego z OOM [15,31].

Pozytronowa tomografia emisyjna

Istnieje stosunkowo niewiele doniesień opisujących użycie PET (positron emission omography) w diagnostyce OOM. Jako pierwsi zastosowanie PET celem lokalizacji guza związanego z OOM opisali w 2005 Dupond i wsp. [16]. Po nieudanych próbach odnalezienia zmiany z użyciem TK, MR i OctreoScanu, stosując PET autorzy zlokalizowali niewielkie, 2 cm ognisko w żuchwie, histologicznie odpowiadające PMTMCT. Podobny schemat postępowania przyjęli też Roarke i wsp. [76], którzy również w wyniku niepowodzenia diagnostyki opartej na TK, MR i OctreoScanie używając PET/TK doprowadzili do odnalezienia i usunięcia guza.

Najnowsze doniesienia w zakresie diagnostyki OOM z użyciem PET dotyczą badań z zastosowaniem ^{68}Ga -DOTANOC. Nowy radioznacznik zawiera octreotyd zmodyfikowany w pozycji 3, połączony z emitującym pozytonowy ^{68}Ga jako emitera pozytonów pozwala na obrazowanie PET. Natomiast modyfikacja octreotydu w ^{68}Ga -DOTANOC w miejscu wiązania z SSRT zwiększa powinowactwo ^{68}Ga -DOTANOC do obu typów receptorów SSRT-2 i SSRT-5, w stosunku do innych standardowo stosowanych radioznaczników, takich jak ^{111}In -DOTATOC, który wiąże się głównie z SSRT2 [27].

Powodzenie w użyciu PET/TK w diagnostyce OOM opisał Hesse i wsp. oraz zespół Christiana von Falcka, którzy tą metodą obrazowali zmiany zlokalizowane w kości udowej [27,95]. Jakkolwiek doniesienia autorów przedstawiających pozytywne wyniki badań z ^{68}Ga -DOTANOC PET/TK są zachęcające, z pewnością metoda ta wymaga jeszcze potwierdzenia skuteczności na większym materiale.

Podsumowując, obrazowanie w OOM jest jedną z najistotniejszych składowych diagnostyki, a lokalizacja zmiany warunkiem koniecznym do całkowitego wyleczenia. Stąd ogromny wysiłek badaczy i zainteresowanie najbardziej czułymi oraz swoistymi technikami obrazowania. Dotychczas metodą do wyboru było badanie MR. Po odkryciu obecności SSRT na komórkach guzów mezenchymalnych, nowe techniki z zastosowaniem znaczników znakowanych octreotydem zyskały na znaczeniu. Najnowsze doniesienia dotyczą użycia ^{68}Ga -DOTANOC PET/TK, którego skuteczność jednak, jak wielu innowacyjnych technik, wymaga dalszego potwierdzenia w badaniach klinicznych.

LECZENIE

Leczenie zabiegowe

Całkowite usunięcie guza indukującego OOM zapewnia wyleczenie. Postępowanie operacyjne, patrząc z etiopatologicznego punktu widzenia, eliminujące źródło czynników humoralnych odpowiedzialnych za objawy choroby, jest leczeniem przyczynowym.

Wycięcie guza normalizuje zaburzenia biochemiczne od pierwszego dnia do kilku miesięcy po zabiegu. Oka i wsp. [56] wykazali wzrost stężenia fosforanów do wartości prawidłowych już w pierwszej dobie po zabiegu. Przy zakresie wartości referencyjnych dla fosforanów 1,4–4,5 mg%, stężenie fosforanów przed zabiegiem wynosiło 1,2 mg%, by następnego dnia po operacji wzrosnąć do 1,6 mg%. Podobnie, normalizację stężeń FGF23 obserwowano już w pierwszym dniu po usunięciu guza, przy czym obniżenie to było bardziej widoczne. Stężenie fosfatyny obniżyło się z 220 pg/ml przed zabiegiem do 30 pg/ml w pierwszej dobie po usunięciu zmiany (norma 10–50 pg/ml). Najdłużej utrzymywała się nieprawidłowo duża aktywność fosfatazy alkalicznej, która jeszcze 2 tygodnie po zabiegu nie osiągnęła wartości referencyjnych. Podobne, choć nie tak widoczne wyniki opisują inni badacze, zgadzając się, że do normalizacji parametrów biochemicznych potrzeba od kilku dni do kilku miesięcy [33,71,73,89]. Szybko, bo w okresie pierwszego tygodnia po leczeniu widoczna jest już także poprawa kliniczna. Natężenie bólów kostnych zdecydowanie słabnie, a trudności w poruszaniu się stopniowo zanikają [33,71]. Dłużej trwa cofanie się zmian kostnych, jakkolwiek

brak czynników zaburzających mineralizację kości sprawia, że obserwowane zmiany osteomalacyjne i drobne złamania goją się w ciągu kilku miesięcy [89].

Suplementacja witaminy D_3 i fosforanów

Problemem terapeutycznym pozostają przypadki OOM, w których klasyczne metody leczenia operacyjnego nie mają zastosowania. Są to sytuacje, w których dochodzi do wznowy guza lub zmiana pierwotna nie jest resekcyjna, a także przypadki, w których mimo zastosowania wielu technik obrazowych nie udaje się zlokalizować ogniska pierwotnego.

Początkowo w leczeniu farmakologicznym OOM, celem redukcji zaburzeń elektrolitowych i osteomalacyjnych stosowano preparaty witaminy D_3 . Ze względu na zwykle krótki okres obserwacji brakuje doniesień z obiektywną oceną wyników takiego postępowania. Wiadomo jednak, że terapia ta nie przyniosła oczekiwanych efektów leczenia zmian osteomalacyjnych, co więcej nie powodowała istotnej poprawy parametrów biochemicznych [13]. Drezner i Feinglos [14] stosując monoterapię $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w dawce 3 $\mu\text{g}/\text{d}$ uzyskali normalizację stężenia fosforanów i poprawę zdolności reabsorpcji zwrotnej fosforanów wyrażanej w TmP/GFR oraz regresję zmian kostnych ocenianą obiektywnie biopsją kości. Jakkolwiek istnieją doniesienia podważające skuteczność zastosowania leczenia monoterapii kalcytriolem [13]. Obecnie postępowaniem farmakologicznym z udowodnioną poprawą parametrów kostnych i biochemicznych jest suplementacja kalcytriolu i fosforanów [13]. Yoshioka i wsp. [105] stosując suplementację fosforanów w dawce 3 g/dobę i $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ w dawce 1 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ uzyskali stopniowy wzrost i normalizację stężenia fosforanów, obniżenie aktywności fosfatazy alkalicznej oraz redukcję dolegliwości bólowych. Chociaż w opisanym przypadku leczenie to nie przyniosło poprawy dolegliwości bólowych związanych ze zmianą pierwotną na szyi. Gershinsky i wsp. [21] mimo początkowo dobrych wyników suplementacji fosforanami i kalcytriolem, po trzech latach terapii stopniowo zwiększając dawki, odpowiednio do 2,4 g/d i 6 $\mu\text{g}/\text{d}$, doszedł do punktu, w którym stężenie fosforanów pozostawało niskie, zaś z powodu bólów i osłabienia mięśniowego chory nie był w stanie poruszać się samodzielnie. Obecnie uważa się, że w przypadkach nieoperacyjnych OOM, postępowaniem z wyboru jest leczenie farmakologiczne oparte na skojarzonym uzupełnianiu kalcytriolu (1,5–3,0 $\mu\text{g}/\text{d}$) i fosforanów (2–4 g/d) [13,44]. Pamiętając o możliwych działaniach niepożądanych takiej terapii należy brać pod uwagę: kamice nerkową, zwapnienia nerek i hiperkalcemię. Podawanie fosforanów przy dodatkowej stymulacji witaminą D_3 może indukować trzyczlorodową nadczynność przytarczyc, ostatecznie prowadząc do autonomicznej nadczynności tych gruczołów. Hiperkalcemia wtórna do nadmiaru PTH dotyczy 15–20% pacjentów z OOM poddanych długotrwałej farmakoterapii. Stąd leczenie takie wymaga stałej kontroli poziomu PTH, stężenia wapnia w surowicy i moczu oraz oceny parametrów nerkowych [13].

Leczenie analogami somatostatyny

Skuteczność diagnostyki opartej na znakowanych analogach somatostatyny w badaniach obrazowych guzów mezenchymalnych pozwala także oczekiwać efektów terapeutycznych przy zastosowaniu tych analogów.

Seufert i wsp. [84] opisali przypadek, w którym wykorzystanie OctreoScanu pozwoliło na lokalizację zmiany pierwotnej dokumentując obecność SSRT na komórkach guza, jednocześnie udokumentowali także skuteczność leczenia octreotydem. W oczekiwaniu na zabieg u chorego z klinicznymi i biochemicznymi wykładnikami OOM oraz zlokalizowaną za pomocą OctreoScanu zmianą pierwotną, zastosowano leczenie krótko działającym analogiem somatostatyn (Octerotide) przez 13 dni w dawce 50 µg s.c. trzy razy na dobę przez pierwsze 5 dni, następnie 100 µg trzy razy dziennie przez kolejne 8 dni. W 10 dobie stosowania terapii uzyskano normalizację stężenia fosforanów w surowicy oraz klirensu i nerkowej reabsorpcji fosforanów. Wysłunięto hipotezę, że octreotyd w niesprecyzowanym mechanizmie może być zaangażowany w hamowanie wydzielania FGF23 [21]. Hoffman i wsp. opisują 75% spadek stężenia FGF23 po 6 miesiącach stosowania terapii octreotydem u pacjenta z zespołem linijnego znamienia łojowego [28].

Jednak innym badaczom zachęconym pracą Seuferta nie udało się powtórzyć jego wyników. Duet i wsp. [15] stosując terapię krótko działającym analogiem somatostatyn w dawkach 50 µg s.c. trzy razy dziennie przez 1 miesiąc i 100 µg s.c. trzy razy dziennie przez kolejne 2 miesiące, następnie podając sandostatynę LAR w dawce 20 mg/miesiąc i.m. nie odnotowali poprawy parametrów klinicznych i biochemicznych, mimo obniżenia się stężenia FGF23 o 30%. Autor niepowodzenie terapii tłumaczy ewentualnym wytwarzaniem innych fosfatonin, niepodlegających działaniu analogów somatostatyn. Jednak należy rozważyć czy 30% spadek stężenia FGF23 przy nadal wysokim jego poziomie wynoszącym 341 pg/mL (wartości referencyjne <40 pg/mL) nie należy interpretować jako brak wpływu octreotydu na wydzielanie FGF23 przez guz. Podobnie inni autorzy, Paglia i wsp. [61] oraz Yoshioka i wsp. [105], mimo stosowania dużych dawek octreotydu, odpowiednio 600 µg s.c. dziennie przez 6 dni oraz 100 µg s.c. 3 razy dziennie przez tydzień, nie zauważyli wpływu takiego leczenia na stężenie fosforanów i FGF23 w surowicy.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Argiro L., Desbarats M., Glorieux F.H., Ecarot B.: Mepe, the gene encoding a tumor-secreted protein in oncogenic hypophosphatemic osteomalacia, is expressed in bone. *Genomics*, 2001; 74: 342–351
- [2] Auehaviat P., Roberts J.R., Biega T.J., Toney M.O., Christensen R.S., Belnap C.M., Berenberg J.L.: Case 3. Oncogenic osteomalacia associated with hemangiopericytoma localized by octreotide scan. *J. Clin. Oncol.*, 2005; 23: 3626–3628
- [3] Avila N.A., Skarulis M., Rubino D.M., Doppman J.L.: Oncogenic osteomalacia: lesion detection by MR skeletal survey. *Am. J. Roentgenol.*, 1996; 167: 343–345
- [4] Beech T.J., Rokade A., Gittoes N., Johnson A.P.: A haemangiopericytoma of the ethmoid sinus causing oncogenic osteomalacia: a case report and review of the literature. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 2007; 36: 956–958
- [5] Beer H.D., Gassmann M.G., Munz B., Steiling H., Engelhardt F., Bleuel K., Werner S.: Expression and function of keratinocyte growth factor and activin in skin morphogenesis and cutaneous wound repair. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, 2000; 5: 34–39
- [6] Benet-Pages A., Lorenz-Depiereux B., Zischka H., White K.E., Econs M.J., Strom T.M.: FGF23 is processed by proprotein convertases but not by PHEX. *Bone*, 2004; 35: 455–462
- [7] Biernat W., Kaniuka S., Stempniewicz M., Reclawowicz D., Sworcza K.: Phosphaturic mesenchymal tumor of spinal nerve in a patient with osteomalacia and multiple fractures. *Acta Neuropathol.*, 2010; 119: 379–380
- [8] Blumsohn A.: What have we learnt about the regulation of phosphate metabolism? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2004; 13: 397–401
- [9] Carpenter T.O., Ellis B.K., Insogna K.L., Philbrick W.M., Sterpka J., Shimkets R.: Fibroblast growth factor 7: an inhibitor of phosphate transport derived from oncogenic osteomalacia-causing tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005; 90: 1012–1020
- [10] Clarke B.L., Wynne A.G., Wilson D.M., Fitzpatrick L.A.: Osteomalacia associated with adult Fanconi's syndrome: clinical and diagnostic features. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 1995; 43: 479–490
- [11] David K., Revesz T., Kratimenos G., Krausz T., Crockard H.A.: Oncogenic osteomalacia associated with a meningeal phosphaturic mesenchymal tumor. Case report. *J. Neurosurg.*, 1996; 84: 288–292
- [12] Dent C.E., Gertner J.M.: Hypophosphataemic osteomalacia in fibrous dysplasia. *Q. J. Med.*, 1976; 45: 411–420
- [13] Drezner M.K.: Tumor-induced osteomalacia. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, 2001; 2: 175–186
- [14] Drezner M.K., Feinglos M.N.: Osteomalacia due to 1α,25-dihydroxycholecalciferol deficiency. Association with a giant cell tumor of bone. *J. Clin. Invest.*, 1977; 60: 1046–1053
- [15] Duet M., Kerkeni S., Sfar R., Bazille C., Liote F., Orcel P.: Clinical impact of somatostatin receptor scintigraphy in the management of tumor-induced osteomalacia. *Clin. Nucl. Med.*, 2008; 33: 752–756
- [16] Dupond J.L., Mahammedi H., Magy N., Blagosklonov O., Meaux-Ruault N., Kantelip B.: Detection of a mesenchymal tumor responsible for hypophosphatemic osteomalacia using FDG-PET. *Eur. J. Intern. Med.*, 2005; 16: 445–446
- [17] Ferrari S.L., Bonjour J.P., Rizzoli R.: Fibroblast growth factor-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005; 90: 1519–1524
- [18] Folpe A.L., Fanburg-Smith J.C., Billings S.D., Biscaglia M., Bertoni F., Cho J.Y., Econs M.J., Inwards C.Y., Jan de Beur S.M., Mentzel T., Montgomery E., Michal M., Miettinen M., Mills S.E., Reith J.D., O'Connell J.X., Rosenberg A.E., Rubin B.P., Sweet D.E., Vinh T.N., Wold L.E., Wehrli B.M., White K.E., Zaino R.J., Weiss S.W.: Most osteomalacia-associated mesenchymal tumors are a single histopathologic entity: an analysis of 32 cases and a comprehensive review of the literature. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2004; 28: 1–30
- [19] Fukumoto S., Takeuchi Y., Nagano A., Fujita T.: Diagnostic utility of magnetic resonance imaging skeletal survey in a patient with oncogenic osteomalacia. *Bone*, 1999; 25: 375–377
- [20] Gascon A., Cobeta-Garcia J.C., Iglesias E., Lazaro J.M., Muniesa J.A.: Oncogenic osteomalacia in a patient with a fibrocystic nodule of the breast. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1999; 14: 1561–1563
- [21] Gershinsky M., Croitoru S., Dickstein G., Bardicef O., Gelman R., Barmer E.: Imaging of oncogenic osteomalacia. *Isr. Med. Assoc. J.*, 2007; 9: 566–567
- [22] Gonzalez-Compta X., Manos-Pujol M., Foglia-Fernandez M., Peral E., Condom E., Claveguera T., Dicenta-Sousa M.: Oncogenic osteomalacia: case report and review of head and neck associated tumors. *J. Laryngol. Otol.*, 1998; 112: 389–392
- [23] Gowen L.C., Petersen D.N., Mansolf A.L., Qi H., Stock J.L., Tkalecivic G.T., Simmons H.A., Crawford D.T., Chidsey-Frink K.L., Ke H.Z., McNeish J.D., Brown T.A.: Targeted disruption of the osteoblast/osteocyte factor 45 gene (OF45) results in increased bone formation and bone mass. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 1998–2007
- [24] Hall T.C., Griffiths C.T., Petranek J.R.: Hypocalcemia – an unusual metabolic complication of breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 1966; 275: 1474–1477
- [25] Hammert W.C., Lindsay L.R.: Tumoral calcinosis - or is it? A case report and review. *Hand (N. Y.)*, 2009; 4: 119–122
- [26] Hasegawa T., Shimoda T., Yokoyama R., Beppu Y., Hirohashi S., Maeda S.: Intracortical osteoblastic osteosarcoma with oncogenic rickets. *Skeletal Radiol.*, 1999; 28: 41–45
- [27] Hesse E., Moessinger E., Rosenthal H., Laenger F., Brabant G., Petrich T., Gratz K.F., Bastian L.: Oncogenic osteomalacia: exact tumor localization by co-registration of positron emission and computed tomography. *J. Bone Miner. Res.*, 2007; 22: 158–162
- [28] Hoffman W.H., Jueppner H.W., Deyoung B.R., O'dorisio M.S., Given K.S.: Elevated fibroblast growth factor-23 in hypophosphatemic linear nevus sebaceous syndrome. *Am. J. Med. Genet. A*, 2005; 134: 233–236

- [29] Imanishi Y., Nakatsuka K., Nakayama T., Okamura T., Kobayashi K., Nakayama K., Ishimura E., Inaba M., Nishizawa Y.: False-positive magnetic resonance imaging skeletal survey in a patient with sporadic hypophosphatemic osteomalacia. *J. Bone Miner. Metab.*, 2003; 21: 57–59
- [30] Itoh N., Ornitz D.M.: Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends Genet.*, 2004; 20: 563–569
- [31] Jan de Beur S.M., Streeten E.A., Civelek A.C., McCarthy E.F., Uribe L., Marx S.J., Onobrakpeya O., Raisz L.G., Watts N.B., Sharon M., Levine M.A.: Localisation of mesenchymal tumours by somatostatin receptor imaging. *Lancet*, 2002; 359: 761–763
- [32] Jonsson K.B., Zahradnik R., Larsson T., White K.E., Sugimoto T., Imanishi Y., Yamamoto T., Hampson G., Koshiyama H., Ljunggren O., Oba K., Yang I.M., Miyauchi A., Econs M.J., Lavigne J., Juppner H.: Fibroblast growth factor 23 in oncogenic osteomalacia and X-linked hypophosphatemia. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 1656–1663
- [33] Kaylie D.M., Jackson C.G., Gardner E.K.: Oncogenic osteomalacia caused by phosphaturic mesenchymal tumor of the temporal bone. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2006; 135: 653–654
- [34] Kimizuka T., Ozaki Y., Sumi Y.: Usefulness of ²⁰¹Tl and ^{99m}Tc MIBI scintigraphy in a case of oncogenic osteomalacia. *Ann. Nucl. Med.*, 2004; 18: 63–67
- [35] Konishi K., Nakamura M., Yamakawa H., Suzuki H., Saruta T., Hanaoka H., Davatchi F.: Hypophosphatemic osteomalacia in von Recklinghausen neurofibromatosis. *Am. J. Med. Sci.*, 1991; 301: 322–328
- [36] Kumar K., Halkar R.: Tumor-induced osteomalacia (TIO) (also known as oncogenic osteomalacia). *Appl Radiol*, 2008; 37: 9–24
- [37] Kumar R.: Tumor-induced osteomalacia and the regulation of phosphate homeostasis. *Bone*, 2000; 27: 333–338
- [38] Kurosu H., Choi M., Ogawa Y., Dickson A.S., Goetz R., Eliseenkova A.V., Mohammadi M., Rosenblatt K.P., Klierer S.A., Kuro-o M.: Tissue-specific expression of betaKlotho and fibroblast growth factor (FGF) receptor isoforms determines metabolic activity of FGF19 and FGF21. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 26687–26695
- [39] Kurosu H., Kuro O.: The Klotho gene family as a regulator of endocrine fibroblast growth factors. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2009; 299: 72–78
- [40] Kurosu H., Ogawa Y., Miyoshi M., Yamamoto M., Nandi A., Rosenblatt K.P., Baum M.G., Schiavi S., Hu M.C., Moe O.W., Kuro-o M.: Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 6120–6123
- [41] Lanske B., Razzaque M.S.: Mineral metabolism and aging: the fibroblast growth factor 23 enigma. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2007; 16: 311–318
- [42] Larsson T., Davis S.I., Garringer H.J., Mooney S.D., Draman M.S., Cullen M.J., White K.E.: Fibroblast growth factor-23 mutants causing familial tumoral calcinosis are differentially processed. *Endocrinology*, 2005; 146: 3883–3891
- [43] Lee H.K., Sung W.W., Solodnik P., Shimshi M.: Bone scan in tumor-induced osteomalacia. *J. Nucl. Med.*, 1995; 36: 247–249
- [44] Leicht E., Biro G., Langer H.J.: Tumor-induced osteomalacia: pre- and postoperative biochemical findings. *Horm. Metab. Res.*, 1990; 22: 640–643
- [45] Lewiecki E.M., Urig E.J.Jr., Williams R.C. Jr.: Tumor-induced osteomalacia: lessons learned. *Arthritis Rheum.*, 2008; 58: 773–777
- [46] Liu S., Tang W., Zhou J., Stubbs J.R., Luo Q., Pi M., Quarles L.D.: Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2006; 17: 1305–1315
- [47] Liu S., Zhou J., Tang W., Jiang X., Rowe D.W., Quarles L.D.: Pathogenic role of Fgf23 in Hyp mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2006; 291: E38–E49
- [48] Lu M., Wagner G.F., Renfro J.L.: Stanniocalcin stimulates phosphate reabsorption by flounder renal proximal tubule in primary culture. *Am. J. Physiol.*, 1994; 267: R1356–R1362
- [49] Maldonado J.E., Velosa J.A., Kyle R.A., Wagoner R.D., Holley K.E., Salassa R.M.: Fanconi syndrome in adults. A manifestation of a latent form of myeloma. *Am. J. Med.*, 1975; 58: 354–364
- [50] McCance R.A.: Osteomalacia with Looser's nodes (Milkman's syndrome) due to a raised resistance to vitamin D acquired about the age of 15 years. *Q. J. Med.*, 1947; 16: 33–46
- [51] Murphy P., Wright G., Rai G.S.: Hypophosphatemic osteomalacia associated with prostatic carcinoma. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)*, 1985; 290: 1945
- [52] Narvaez J., Domingo-Domenech E., Narvaez J.A., Nolla J.M., Valverde J.: Acquired hypophosphatemic osteomalacia associated with multiple myeloma. *Joint Bone Spine*, 2005; 72: 424–426
- [53] Nasu T., Kurisu S., Matsuno S., Tatsumi K., Kakimoto T., Kobayashi M., Nakano Y., Wakasaki H., Furuta H., Nishi M., Sasaki H., Suzuki H., Ito N., Fukumoto S., Nanjo K.: Tumor-induced hypophosphatemic osteomalacia diagnosed by the combinatory procedures of magnetic resonance imaging and venous sampling for FGF23. *Intern. Med.*, 2008; 47: 957–961
- [54] Negri A.L., Bogado C.E., Zanchetta J.R.: Bone densitometry in a patient with hypophosphatemic osteomalacia. *J. Bone Miner. Metab.*, 2004; 22: 514–517
- [55] Ogura E., Kageyama K., Fukumoto S., Yagihashi N., Fukuda Y., Kikuchi T., Masuda M., Suda T.: Development of tumor-induced osteomalacia in a subcutaneous tumor, defined by venous blood sampling of fibroblast growth factor-23. *Intern. Med.*, 2008; 47: 637–641
- [56] Oka M., Kamo T., Sasaki E., Kaji H., Nishizawa H., Imanishi Y., Nishigori C.: A case of phosphaturic mesenchymal tumour (mixed connective tissue variant) that developed in the subcutaneous tissue of a patient with oncogenic osteomalacia and produced fibroblast growth factor 23. *Br. J. Dermatol.*, 2007; 157: 198–200
- [57] Olefsky J., Kempson R., Jones H., Reaven G.: "Tertiary" hyperparathyroidism and apparent "cure" of vitamin-D-resistant rickets after removal of an ossifying mesenchymal tumor of the pharynx. *N. Engl. J. Med.*, 1972; 286: 740–745
- [58] Olivares J.L., Ramos F.J., Carapeto F.J., Bueno M.: Epidermal naevus syndrome and hypophosphatemic rickets: description of a patient with central nervous system anomalies and review of the literature. *Eur. J. Pediatr.*, 1999; 158: 103–107
- [59] Olsen H.S., Cepeda M.A., Zhang Q.Q., Rosen C.A., Vozzolo B.L.: Human stanniocalcin: a possible hormonal regulator of mineral metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 1792–1796
- [60] Ornitz D.M., Marie P.J.: FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. *Genes Dev.*, 2002; 16: 1446–1465
- [61] Paglia F., Dionisi S., Minisola S.: Octreotide for tumor-induced osteomalacia. *N. Engl. J. Med.*, 2002; 346: 1748–1749
- [62] Perwad F., Azam N., Zhang M.Y., Yamashita T., Tenenhouse H.S., Portale A.A.: Dietary and serum phosphorus regulate fibroblast growth factor 23 expression and 1,25-dihydroxyvitamin D metabolism in mice. *Endocrinology*, 2005; 146: 5358–5364
- [63] Policarpio-Nicolas M.L., Abbott T.E., Dalkin A.C., Bennett-Wick J., Frierson H.F. Jr.: Phosphaturic mesenchymal tumor diagnosed by fine-needle aspiration and core biopsy: a case report and review of literature. *Diagn. Cytopathol.*, 2008; 36: 115–119
- [64] Prader A., Illig R., Uehlinger E., Stalder G.: Rickets following bone tumor. *Helv. Paediatr. Acta*, 1959; 14: 554–565
- [65] Prentice A., Ceasay M., Nigdikar S., Allen S.J., Pettifor J.M.: FGF23 is elevated in Gambian children with rickets. *Bone*, 2008; 42: 788–797
- [66] Prowse M., Brooks P.M.: Oncogenic hypophosphatemic osteomalacia associated with a giant cell tumour of a tendon sheath. *Aust. N. Z. J. Med.*, 1987; 17: 330–332
- [67] Quarles L.D.: Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 3820–3828
- [68] Razzaque M.S., Sitara D., Taguchi T., St Arnaud R., Lanske B.: Premature aging-like phenotype in fibroblast growth factor 23 null mice is a vitamin D-mediated process. *FASEB J.*, 2006; 20: 720–722
- [69] Razzaque M.S., St Arnaud R., Taguchi T., Lanske B.: FGF-23, vitamin D and calcification: the unholy triad. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2005; 20: 2032–2035
- [70] Reginato A.J., Coquia J.A.: Musculoskeletal manifestations of osteomalacia and rickets. *Best. Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 2003; 17: 1063–1080
- [71] Reis-Filho J.S., Paiva M.E., Lopes J.M.: Pathologic quiz case. A 36-year-old woman with muscle pain and weakness. Phosphaturic mesenchymal tumor (mixed connective tissue variant)/oncogenic osteomalacia. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2002; 126: 1245–1246
- [72] Reubi J.C., Waser B., Laissue J.A., Gebbers J.O.: Somatostatin and vasoactive intestinal peptide receptors in human mesenchymal tumors: *in vitro* identification. *Cancer Res.*, 1996; 56: 1922–1931
- [73] Reyes-Mugica M., Arnsmeier S.L., Backeljauw P.F., Persing J., Ellis B., Carpenter T.O.: Phosphaturic mesenchymal tumor-induced rickets. *Pediatr. Dev. Pathol.*, 2000; 3: 61–69
- [74] Rhee Y., Lee J.D., Shin K.H., Lee H.C., Huh K.B., Lim S.K.: Oncogenic osteomalacia associated with mesenchymal tumour detected by indium-111 octreotide scintigraphy. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*, 2001; 54: 551–554

- [75] Richardson M.L., Kilcoyne R.F., Gillespy T.3rd, Helms C.A., Genant H.K.: Magnetic resonance imaging of musculoskeletal neoplasms. *Radiol. Clin. North Am.*, 1986; 24: 259–267
- [76] Roarke M.C., Nguyen B.D.: PET/CT localization of phosphaturic mesenchymal neoplasm causing tumor-induced osteomalacia. *Clin. Nucl. Med.*, 2007; 32: 300–301
- [77] Robertson A., Mansberg R., Mansberg V., Van der W.H., Hooper M.: Tumor-induced osteomalacia: a case of diagnostic dilemma. *Clin. Nucl. Med.*, 2007; 32: 631–634
- [78] Rowe P.S., de Zoysa P.A., Dong R., Wang H.R., White K.E., Econs M.J., Oudet C.L.: MEPE, a new gene expressed in bone marrow and tumors causing osteomalacia. *Genomics*, 2000; 67: 54–68
- [79] Rowe P.S., Kumagai Y., Gutierrez G., Garrett I.R., Blacher R., Rosen D., Cundy J., Navvab S., Chen D., Drezner M.K., Quarles L.D., Mundy G.R.: MEPE has the properties of an osteoblastic phosphatonin and minihibin. *Bone*, 2004; 34: 303–319
- [80] Ryan E.A., Reiss E.: Oncogenous osteomalacia. Review of the world literature of 42 cases and report of two new cases. *Am. J. Med.*, 1984; 77: 501–512
- [81] Saggese G., Baroncelli G.I., Bertelloni S., Perri G.: Long-term growth hormone treatment in children with renal hypophosphatemic rickets: effects on growth, mineral metabolism, and bone density. *J. Pediatr.*, 1995; 127: 395–402
- [82] Sahin M., Basoglu T., Albayrak S., Canbaz F., Yapici O.: Pentavalent technetium-99m DMSA uptake in pseudofractures of osteomalacia. *Clin. Nucl. Med.*, 2001; 26: 62–64
- [83] Schapira D., Ben Izhak O., Nachtigal A., Burstein A., Shalom R.B., Shagrawi I., Best L.A.: Tumor-induced osteomalacia. *Semin. Arthritis Rheum.*, 1995; 25: 35–46
- [84] Seufert J., Ebert K., Muller J., Eulert J., Hendrich C., Werner E., Schuue N., Schulz G., Kenn W., Richtmann H., Palitzsch K.D., Jakob F.: Octreotide therapy for tumor-induced osteomalacia. *N. Engl. J. Med.*, 2001; 345: 1883–1888
- [85] Shaker J.L., Brickner R.C., Divgi A.B., Raff H., Findling J.W.: Case report: renal phosphate wasting, syndrome of inappropriate antidiuretic hormone, and ectopic corticotropin production in small cell carcinoma. *Am. J. Med. Sci.*, 1995; 310: 38–41
- [86] Shane E., Parisien M., Henderson J.E., Dempster D.W., Feldman F., Hardy M.A., Tohme J.F., Karaplis A.C., Clemens T.L.: Tumor-induced osteomalacia: clinical and basic studies. *J. Bone Miner. Res.*, 1997; 12: 1502–1511
- [87] Shimada T., Mizutani S., Muto T., Yoneya T., Hino R., Takeda S., Takeuchi Y., Fujita T., Fukumoto S., Yamashita T.: Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 6500–6505
- [88] Shimada T., Yamazaki Y., Takahashi M., Hasegawa H., Urakawa I., Oshima T., Ono K., Kakitani M., Tomizuka K., Fujita T., Fukumoto S., Yamashita T.: Vitamin D receptor-independent FGF23 actions in regulating phosphate and vitamin D metabolism. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2005; 289: F1088–F1095
- [89] Siegel H.J., Rock M.G., Inwards C., Sim F.H.: Phosphaturic mesenchymal tumor. *Orthopedics*, 2002; 25: 1279–1281
- [90] Strewler G.J.: FGF23, hypophosphatemia, and rickets: has phosphatonin been found? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 5945–5946
- [91] Takeuchi Y., Suzuki H., Ogura S., Imai R., Yamazaki Y., Yamashita T., Miyamoto Y., Okazaki H., Nakamura K., Nakahara K., Fukumoto S., Fujita T.: Venous sampling for fibroblast growth factor-23 confirms preoperative diagnosis of tumor-induced osteomalacia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2004; 89: 3979–3982
- [92] Toomes C., James J., Wood A.J., Wu C.L., McCormick D., Lench N., Hewitt C., Moynihan L., Roberts E., Woods C.G., Markham A., Wong M., Widmer R., Ghaffar K.A., Pemberton M., Hussein I.R., Temtamy S.A., Davies R., Read A.P., Sloan P., Dixon M.J., Thakker N.S.: Loss-of-function mutations in the cathepsin C gene result in periodontal disease and palmoplantar keratosis. *Nat. Genet.*, 1999; 23: 421–424
- [93] Toyosawa S., Tomita Y., Kishino M., Hashimoto J., Ueda T., Tsujimura T., Aozasa K., Ijuhin N., Komori T.: Expression of dentin matrix protein 1 in tumors causing oncogenic osteomalacia. *Mod. Pathol.*, 2004; 17: 573–578
- [94] van Boekel G., Ruinmans-Koerts J., Joosten F., Dijkhuizen P., van Sorge A., de Boer H.: Tumor producing fibroblast growth factor 23 localized by two-staged venous sampling. *Eur. J. Endocrinol.*, 2008; 158: 431–437
- [95] von Falck C., Rodt T., Rosenthal H., Langer F., Goesling T., Knapp W.H., Galanski M.: (68)Ga-DOTANOC PET/CT for the detection of a mesenchymal tumor causing oncogenic osteomalacia. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 2008; 35: 1034
- [96] Wagner G.F., Vozzolo B.L., Jaworski E., Haddad M., Kline R.L., Olsen H.S., Rosen C.A., Davidson M.B., Renfro J.L.: Human stanniocalcin inhibits renal phosphate excretion in the rat. *J. Bone Miner. Res.*, 1997; 12: 165–171
- [97] Weber T.J., Liu S., Indridason O.S., Quarles L.D.: Serum FGF23 levels in normal and disordered phosphorus homeostasis. *J. Bone Miner. Res.*, 2003; 18: 1227–1234
- [98] Weidner N., Santa Cruz D.: Phosphaturic mesenchymal tumors. A polymorphous group causing osteomalacia or rickets. *Cancer*, 1987; 59: 1442–1454
- [99] Westerberg P.A., Olsson H., Toss G., Wikstrom B., Morales O., Linde T., Jonsson K., Ljunggren O., Larsson T.E.: Preoperative tumor localization by means of venous sampling for fibroblast growth factor-23 in a patient with tumor-induced osteomalacia. *Endocr. Pract.*, 2008; 14: 362–367
- [100] White K.E., Cabral J.M., Davis S.I., Fishburn T., Evans W.E., Ichikawa S., Fields J., Yu X., Shaw N.J., McLellan N.J., McKeown C., Fitzpatrick D., Yu K., Ornitz D.M., Econs M.J.: Mutations that cause osteoglyphic dysplasia define novel roles for FGFR1 in bone elongation. *Am. J. Hum. Genet.*, 2005; 76: 361–367
- [101] Williams K., Flanagan A., Folpe A., Thakker R., Athanasou N.A.: Lymphatic vessels are present in phosphaturic mesenchymal tumours. *Virchows Arch.*, 2007; 451: 871–875
- [102] Xie M.H., Holcomb I., Deuel B., Dowd P., Huang A., Vagts A., Foster J., Liang J., Brush J., Gu Q., Hillan K., Goddard A., Gurney A.L.: FGF-19, a novel fibroblast growth factor with unique specificity for FGFR4. *Cytokine*, 1999; 11: 729–735
- [103] Yamashita T., Konishi M., Miyake A., Inui K., Itoh N.: Fibroblast growth factor (FGF)-23 inhibits renal phosphate reabsorption by activation of the mitogen-activated protein kinase pathway. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 28265–28270
- [104] Yamashita T., Yoshioka M., Itoh N.: Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 277: 494–498
- [105] Yoshioka K., Nagata R., Ueda M., Yamaguchi T., Konishi Y., Hosoi M., Inoue T., Yamanaka K., Iwai Y., Sato T.: Phosphaturic mesenchymal tumor with symptoms related to osteomalacia that appeared one year after tumorectomy. *Intern. Med.*, 2006; 45: 1157–1160
- [106] Zhang X., Ibrahim O.A., Olsen S.K., Umehori H., Mohammadi M., Ornitz D.M.: Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. The complete mammalian FGF family. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 15694–15700

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.