

# Mnoga gruczolakowatość wewnątrzwydzielnicza oraz autoimmunologiczne zespoły wielogruzołowe u psów i kotów

Olga Gójska-Zygnier<sup>1</sup>, Anna Andrzejewska-Siwak<sup>1</sup>, Agnieszka Gecewicz<sup>1</sup>, Izabella Dolka<sup>2</sup>, Anna Rodo<sup>2</sup>

z Labros – Specjalistycznej Przychodni Weterynaryjnej w Warszawie<sup>1</sup> oraz Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Instytutu Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie<sup>2</sup>

## Multiple endocrine neoplasia and polyglandular autoimmune syndromes in dogs and cats

Gójska-Zygnier O.<sup>1</sup>, Andrzejewska-Siwak A.<sup>1</sup>, Gecewicz A.<sup>1</sup>, Dolka I.<sup>2</sup>, Rodo A.<sup>2</sup>, Labros - Specialized Veterinary Surgery in Warsaw<sup>1</sup>, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Institute of Veterinary Medicine<sup>2</sup>, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

Multiple endocrine neoplasia (MEN) and polyglandular autoimmune syndromes (PAS), belong to genetic polyendocrinopathies described in humans. MEN syndromes are often passed down in families. These syndromes have also been observed and described in dogs and cats. However, they were not considered as hereditary syndromes. Multiple endocrine neoplasia typically involves tumors in at least two endocrine glands. Polyglandular autoimmune syndromes were recognized in dogs but not in cats. They are characterized by immunodysregulation, polyendocrinopathy, and enteropathy. It seems probable that one of these syndromes, known as Schmidt's syndrome, may be hereditary in dogs. This article offers a review of canine and feline MEN and PAS literature and also a short presentation of own cases, resembling MEN and PAS 2, in dogs.

**Keywords:** multiple endocrine neoplasia, polyglandular autoimmune syndrome, dog, cat.

Zarówno u ludzi, jak i u zwierząt współwystępowanie dwóch lub więcej chorób endokrynologicznych obserwowane jest niezmiernie rzadko. U ludzi wyróżnia się dwie główne grupy zespołów, takich jak: mnoga gruczolakowatość wewnątrzwydzielnicza oraz autoimmunologiczne zespoły niedoczynności wielogruzołowej (inaczej autoimmunologiczne zespoły wielogruzołowe). Oba zespoły mają podłoże genetyczne. W przebiegu mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej rozwijają się aktywne hormonalnie łagodne bądź złośliwe guzy gruczołów wydzielania wewnętrznego oraz nowotwory innych tkanek i narządów, natomiast w przebiegu autoimmunologicznych zespołów niedoczynności wielogruzołowej dochodzi do niedoczynności więcej niż jednego gruczołu wydzielania wewnętrznego o podłożu autoimmunologicznym (1, 2). Wyjątkiem jest choroba Gravesa-Basedowa (autoimmunologiczna nadczynność tarczycy u ludzi) występująca w niektórych autoimmunologicznych zespołach wielogruzołowych (2, 3).

Oba zespoły dzielą się na kilka typów. Mnoga gruczolakowatość wewnątrzwydzielnicza (multiple endocrine neoplasia, MEN) dzieli się na typy:

MEN 1 (nazywany zespołem Wermera), MEN 2A (nazywany zespołem Sipple'a lub MEN2) i MEN 2B (nazywany również MEN 3, zespołem Williamsa-Pollocka lub zespołem Wagenmanna-Froboese'a) oraz MEN 4 (określany początkowo jako MEN X lub MEN 1 – podobny). Ponadto, w obrębie typu MEN 2 (A i B) wyróżnia się również wariant FMTC (familial medullary thyroid cancer – rodzinny rak rdzeniasty tarczycy), który może być wiązany z typem MEN 2A lub MEN 2B, jak również może występować jako odrębna jednostka chorobowa (4, 5, 6, 7, 8, 9). Ponadto, według Callender i wsp. (1), do kategorii zespołów mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej powinno zaliczać się m.in. również: zespół von Hippel-Lindaua, zespoły rodzinnych przyzwojaków, zespół Cowden (opisany po raz pierwszy w 1963 r. u pacjentki Rachel Cowden), zespół Carneya oraz zespół nadczynności przytarczyc i guza szczyki lub żuchwy.

Autoimmunologiczne zespoły niedoczynności wielogruzołowej (polyglandular autoimmune syndromes, PAS lub autoimmune polyendocrine syndrome, APS) podobnie jak zespoły MEN również dzielą się na kilka typów. Autoimmunologiczny zespół niedoczynności wielogruzołowej typu 1 (PAS 1) określane jest również jako zespół Whitakera, młodzieńcza autoimmunologiczna poliendokrynopatia lub zespół APECED (autoimmune polyendocrinopathy, candidiasis and ectodermal dystrophy), czyli autoimmunologiczny zespół wielogruzołowy z kandydozą i dystrofią ektodermalną (10, 11). Autoimmunologiczny zespół wielogruzołowy typu 2 (PAS 2) określane jest również terminem zespołu Schmidta, w którym chorobie Addisona towarzyszą inne endokrynopatie o podłożu autoimmunologicznym (12). PAS 3 jest zespołem podobnym do PAS 2, nie występuje jednak w nim choroba Addisona, natomiast do PAS 4 zalicza się inne autoimmunologiczne zespoły wielogruzołowe niespełniające kryteriów dla pierwszych trzech zespołów (3). Ponadto, oprócz wymienionych typów PAS, wyróżnia się również inne zespoły poliendokrynopatii zarówno o podłożu autoimmunologicznym, jak i nieautoimmunologiczne, m.in. takie jak zespół IPEX (immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrome) będący sprzężonym z chromosomem X zespołem dysregulacji immunologicznej, poliendokrynopatii i enteropatii, choroba Hiraty, zespół Kearns-Sayre'a, zespół Wolframa czy też endokrynopatie związane z grasiczkami (2, 3, 13, 14).

## Współistnienie endokrynopatii u człowieka

Jak wspomniano we wstępie, występujące u ludzi endokrynopatie współistniejące należą do dwóch grup zespołów, tj. MEN i PAS, a ponadto występują również pozostałe poliendokrynopatie zarówno o podłożu autoimmunologicznym, jak i poliendokrynopatie nieautoimmunologiczne.

Mnoga gruczolakowatość wewnątrzwydzielnicza typu 1 (MEN 1) jest dziedzicznym zespołem nowotworzenia w co najmniej dwóch gruczolach wydzielania wewnętrznego, w przebiegu którego rozwija się gruczolak przytarczyc, gruczolak przysadki oraz guzy trzustkowo-jelitowe, takie jak: gastrinoma, insulinoma, glukagonoma, VIPoma (guz wydzielający wazoaktywny peptyd jelitowy) oraz guzy nieaktywne hormonalnie. Gruczolak przysadki może produkować w nadmiarze somatotropinę, prolaktynę lub kortykotropinę. Spośród wymienionych zmian najczęściej występuje pierwotna nadczynność przytarczyc (4, 15). Pomimo że zespół ten został opisany już na początku XX wieku, jego nazwa (wspomniany już zespół Wermera) pochodzi od nazwiska austriackiego lekarza Paula Wermera, który w 1954 r. jako pierwszy opisał ten zespół jako chorobę dziedziczną, którą zaobserwował u pięciu członków 11-osobowej rodziny – ojca i jego czworga spośród dziewięciorga dzieci (16).

Siedem lat później amerykański lekarz John H. Sipple opisał zespół MEN 2 (nazywany również MEN 2A lub zespołem Sipple'a). Był to opis przypadku pacjenta z guzem chromochłonnym i rakiem tarczycy (17). W zespole MEN 2 dochodzi do rozwoju aktywnych hormonalnie guzów, takich jak rdzeniasty rak tarczycy (rak z komórek C tarczycy produkujący kalcytoninę), guz chromochłonny oraz podobnie jak w zespole MEN 1 rozwija się pierwotna nadczynność przytarczyc. W przypadku zespołu MEN 2 najczęściej występującym guzem jest rdzeniasty rak tarczycy (5).

W 1966 r. Williams i Pollock opisali dwa przypadki pacjentów z guzem chromochłonnym, rakiem tarczycy oraz nerwiakowłóknakowatością (18). Opisany przez nich zespół obecnie nosi nazwę MEN 3 (nazywany jest również MEN 2B lub zespołem Williamsa-Pollocka). Inna stosowana nazwa to zespół Wagenmanna-Froboese'a, pochodząca od nazwisk dwóch autorów, którzy na początku lat 20. XX wieku po raz pierwszy opisali tę chorobę. Ich prace ukazały się jednak w języku niemieckim, co przypuszczalnie może mieć wpływ na rzadsze używanie tej nazwy dla zespołu MEN 3. Zespół ten charakteryzuje się występowaniem raka rdzeniastego tarczycy, guza chromochłonnego oraz nerwiaków błon śluzowych. W zespole MEN 3 nie dochodzi jednak do rozwoju choroby przytarczyc. Choroba ujawnia się w młodym wieku, a średni wiek zgonu chorych wynosi 21 lat. U niemal wszystkich osób z tym zespołem dochodzi do rozwoju rdzeniastego raka tarczycy oraz nerwiaków błon śluzowych, a u ok. połowy rozwija się również guz chromochłonny. Osoby te mają budowę ciała podobną do budowy ciała osób z zespołem Marfana (5, 9, 19).

Czwarty typ mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej po raz pierwszy został opisany w 2002 r. u szczurów z gruczolakiem przysadki,

guzami chromochłonnymi, rakiem rdzeniastym tarczycy oraz obustronnym rozrostem przytarczyc. Zespół ten początkowo nazwano MEN X. Natomiast ze względu na podobieństwo do zespołu MEN 1 stosowana była również nazwa podobna do MEN 1 (20, 21). U ludzi z zespołem MEN 4 dochodzi do rozwoju gruczolaków przysadki i przytarczyc, narządów rozrodczych oraz nerek i nadnerczy (15, 21). W kilku przypadkach u ludzi z zespołem MEN 4 występowały również aktywne hormonalnie guzy trzustki, żołądka i dwunastnicy wydzielające gastrynę, insulinę, wazoaktywny peptyd jelitowy oraz kortykotropinę. Ponadto w modelu mysim zespołu MEN 4 dochodziło również do rozwoju guzów chromochłonnych i przyzwojaków (21).

Jak wspomniano we wstępie, autoimmunologiczny zespół niedoczynności wielogruczolowej typu 1 (PAS 1 lub APS 1) określany jest również jako zespół Whitakera. Zespół ten, podobnie jak zespoły MEN, jest dziedziczny. Choroba spowodowana jest mutacją w genie AIRE (autoimmune regulator gene) zlokalizowanym na 21. chromosomie. Mutacja ta powoduje, że własne antygeny rozpoznawane są jako obce i powstają przeciwko nim autoprzeciwciała. Choroba ujawnia się w dzieciństwie, a nawet już w wieku niemowlęcym, stąd też jej inna nazwa – młodzieńcza autoimmunologiczna poliendokrynopatia (10, 11, 14). Na ogół pierwszą zauważalną zmianą patologiczną jest kandydoza skóry i błon śluzowych. U osób z PAS 1 bardzo często lub często ujawnia się choroba Addisona, niedoczynność przytarczyc oraz obwodowy hipogonadyzm (częściej u dziewczynek). Ponadto rzadziej może dojść do rozwoju cukrzycy typu 1, niedoczynności tarczycy, autoimmunologicznego zapalenia wątroby oraz niedokrwiistości. Rzadko, na skutek działania przeciwciał przeciwko receptorom dla TSH, dochodzić może również do rozwoju choroby Gravesa-Basedowa (autoimmunologiczna nadczynność tarczycy, w której przeciwciała stymulują gruczoł tarczycowy do nadmiernej produkcji i sekrecji jodotyronin). U części chorych występują również wyłysienia i bielactwo oraz dystrofia szkliwa zębów i paznokci, stąd też inna nazwa tego zespołu to autoimmunologiczny zespół wielogruczolowy z kandydozą i dystrofią ektodermalną. Ponadto w niektórych przypadkach dochodzić może do zaniku śledziony, upośledzonego wchłaniania jelitowego oraz zapalenia błony śluzowej żołądka (11, 13, 22, 23).

Drugi typ autoimmunologicznego zespołu wielogruczolowego (PAS 2 lub APS 2) nazywany jest zespołem Schmidta (13). Według niektórych autorów nazwa ta stosowana jest w przypadku PAS 2, w którym chorobie Addisona towarzyszy autoimmunologiczna choroba tarczycy (częściej choroba Hashimoto, rzadziej choroba Gravesa-Basedowa), natomiast gdy chorobie Addisona towarzyszy cukrzyca typu 1 z ewentualną autoimmunologiczną chorobą tarczycy, zespół nazywany jest zespołem Carpentera (12, 24). Warto jednak zaznaczyć, że nazwa zespół Carpentera odnosi się do innej choroby genetycznej człowieka, którą cechuje przedwczesne skostnienie szwów czaszkowych, wielopalczałość rąk i nóg, zrost palców, przepuklina pępkowa, wnetrostwo, otyłość i wrodzona choroba

serca (25). W związku z tym, by uniknąć nieporozumień, lepiej stosować nazwę autoimmunologiczny zespół wielogruzołowy typu 2 lub zespół Schmidta niezależnie od tego, czy chorobie towarzyszy cukrzyca typu 1, czy też nie, co zresztą stosowane jest w nazewnictwie zespołu przez innych autorów (13, 14). Oprócz wymienionych endokrynologicznych chorób autoimmunologicznych cechujących PAS 2 w zespole tym występować mogą również zaburzenia niebędące zaburzeniami endokrynologicznymi, takie jak wyłysienia, bielactwo, reumatoidalne zapalenie stawów, miastenia, celiakia, nieswoiste zapalenia jelit, zapalenie żołądka i trzustki (3, 13). Autoimmunologiczny zespół niedoczynności wielogruzołowej typu 2 występuje znacznie częściej niż PAS 1, ujawnia się on u osób dorosłych na ogół w trzeciej lub czwartej dekadzie życia (2).

Trzeci typ autoimmunologicznego zespołu niedoczynności wielogruzołowej (PAS 3 lub APS 3) różni się od typu drugiego brakiem choroby Addisona, a zatem cechuje go cukrzyca typu 1 oraz autoimmunologiczna choroba tarczycy, którą podobnie jak w PAS 2 może być zarówno limfocytarne zapalenie tarczycy (choroba Hashimoto) prowadzące do jej niedoczynności, jak i choroba Gravesa-Baseдова powodująca nadczynność gruczołu tarczowego. Najczęściej choroba ujawnia się u osób dorosłych, na ogół w czwartej dekadzie życia jako choroba Gravesa-Baseдова lub też w piątej i szóstej dekadzie jako autoimmunologiczne zapalenie tarczycy (3, 14). Opisywano jednak również przypadki PAS 3 u dzieci, z czego najczęściej był to podtyp PAS 3A charakteryzujący się autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy wraz z cukrzycą typu 1; a w drugiej kolejności u dzieci wykrywano PAS 3C charakteryzujący się autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy wraz z cukrzycą typu 1, bielactwem i łysieniem. Podtyp PAS 3B charakteryzuje się autoimmunologicznym zapaleniem tarczycy wraz z cukrzycą typu 1 i niedokrwiistością złośliwą (26).

Do czwartego typu autoimmunologicznego zespołu wielogruzołowego (PAS 4 lub APS 4) zaliczane są przypadki, w których dwa lub więcej narządów wydzielania wewnętrznego ulega narządowo swoistej autoimmunizacji, nie spełniając przy tym kryteriów dla pozostałych trzech zespołów PAS tj. PAS 1 - PAS 3 (3, 14). Zaburzenia endokrynologiczne, jakie mogą występować w PAS 4, to: hipogonadyzm, niedoczynność przytarczyc, niedoczynność przysadki, autoimmunologiczne choroby tarczycy oraz cukrzyca typu 1 (3).

Wspomniany sprzężony z chromosomem X zespół dysregulacji immunologicznej, poliendokrynopatii i enteropatii (zespół IPEX) jest ciężką, śmiertelną chorobą genetyczną ujawniającą się u ludzi w wieku dziecięcym lub nawet niemowlęcym, najczęściej u chłopców. W części przypadków dochodzi również do obumierania płodów. U dzieci choroba charakteryzuje się cukrzycą typu 1, ciężkimi enteropatiami z biegunką, egzemą, niedokrwiistością i małopłytkowością. Ponadto dochodzi do upośledzenia funkcjonowania tarczycy. Na ogół występuje niedoczynność tarczycy, jednakże w części przypadków może

rozwinąć się nadczynność tarczycy. Choroba spowodowana jest mutacją zaburzającą rozwój limfocytów T regulatorowych w grasicy (27, 28, 29).

### Współistniejące endokrynopatie u psów

Podobnie jak u ludzi, u psów również stwierdzano przypadki współwystępowania dwóch lub więcej endokrynopatii. Blois i wsp. (30) przeanalizowali dokumentację medyczną 13 512 psów leczonych w Ontario Veterinary College Teaching Hospital of the University of Guelph w latach 1996–2009, stwierdzając występowanie równocześnie dwóch lub więcej endokrynopatii u 71 psów. Z badań wykluczono jednak 36 psów z powodu rozwoju jatrogennych endokrynopatii lub niespełnienia kryteriów rozpoznania drugiej choroby endokrynologicznej pomimo ewidentnych objawów klinicznych. Spośród pozostałych 35 zwierząt 28 miało dwie choroby endokrynologiczne, natomiast 7 psów miało trzy choroby wydzielania wewnętrznego. Najczęściej stwierdzano współwystępowanie cukrzycy i zespołu Cushinga, niedoczynności tarczycy i choroby Addisona lub niedoczynności tarczycy i cukrzycy (30). Rozwój cukrzycy u psów z zespołem Cushinga jest dobrze znanym zjawiskiem. Cukrzyca ta związana jest jednak z insulinoopornością i rozwija się u kilkunastu procent psów z zespołem Cushinga (31, 32). Podobnie jest z niedoczynnością tarczycy u psów, która również sprzyja rozwojowi insulinooporności (33).

U psów opisywano jednak również przypadki omówionych wyżej zespołów mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej oraz autoimmunologicznych zespołów wielogruzołowych. W odniesieniu do zespołów MEN u psów nie jest jasne, czy opisane przypadki są rzeczywiście tymi zespołami, czy też jedynie wyglądają tak, jak te zespoły, gdyż dotychczas nie stwierdzono u psów dziedzicznego charakteru tych przypadków. Przypuszczalnie pierwszy przypadek psa z mnogą gruczolakowatością wewnątrzwydzielniczą opisano w 1965 r. u boksera, u którego doszło do rozwoju licznych guzów nowotworowych, w tym narządów wydzielania wewnętrznego, jednak nie oceniono w pełni aktywności hormonalnej tych guzów (34). Natomiast pierwszy przypadek psa, u którego potwierdzono hormonalną aktywność guzów nowotworowych, odpowiadający jednemu z zespołów MEN, opisany został w 1982 r. przez Petersona i wsp. u 15-letniego foksteriera szorstkowłosego (35). Objawami klinicznymi zgłoszonymi przez właściciela psa były ogólne osłabienie, wielomocz i wzmożone pragnienie. Przyżyciowo stwierdzono deformację prawego płata tarczycy oraz wzrost stężenia kalcytoniny, parathormonu i wapnia, natomiast pośmiertnie rozpoznano raka rdzenia tarczycy, rozrost przytarczyc oraz guza chromochłonного lewego nadnercza, co pokrywa się ze zmianami typowymi dla zespołu MEN 2 (35).

Kolejne przypadki u psów opisano w latach 90-tych ubiegłego wieku. W jednym z nich rozpoznano u 14-letniego yorkshire teriera z ogólnym osłabieniem guz chromochłonny i pierwotną nadczynność przytarczyc, w drugim u 11-letniego syberyjskiego husky

z biegunką, wielomoczem, wzmożonym pragnieniem, sporadycznymi wymiotami i wybiórczym apetytem rozpoznano zespół zespół Zollingera-Ellisona (gastrioma trzustki) i raka rdzeniastego tarczycy (36, 37). W drugim przypadku u 10-letniego sznaucera średniego z wyłysieniami i podejrzeniem zespołu Cushinga wykryto guza kory nadnerczy powodującego hiperkortyzolizm, guza chromochłonnego, guza przysadki produkującego ACTH oraz stwierdzono rozwój niedoczynności tarczycy po przeprowadzeniu zabiegu obustronnej adrenalectomii (38). Autorzy tych prac zwrócili uwagę na podobieństwo opisanych przez nich przypadków do zespołów MEN u ludzi.

Pod koniec XX wieku opisano kolejne dwa przypadki u psów mieszańców. Jeden dotyczył 12-letniej suki z wymiotami, biegunką, poliurią, polidypsją, spadkiem masy ciała, niedokrwistością i hipoglikemią, u której w badaniu pośmiertnym rozpoznano insulinozę, obustronne raka kory nadnerczy oraz przyzwójaka aorty. Autorzy tej pracy uznali ten przypadek za przykład zespołu mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej, choć nie byli w stanie określić typu MEN (39). Drugi przypadek dotyczył 12-letniego samca z utrzymującymi się od czterech miesięcy zwiększonym pragnieniem i wielomoczem, hiperkalcemią i podwyższoną aktywnością enzymów wątrobowych, u którego rozpoznano aktywnego hormonalnie gruczolaka przytarczyc oraz przysadkowo-zależny hiperadrenokortycyzm. Autorzy omawianego opisu przypadku uznali, że odpowiada on zespołowi MEN 1 u człowieka (40).

Inne opisane w XXI wieku przypadki psów z podejrzeniem MEN również dotyczą starszych psów. W 2012 r. Proverbio i wsp. (41) opisali przypadek 14-letniego mieszańca z poliurią, polidypsją, polifagią i powiększonym obrysem brzucha, u którego wykryto obustronne guzy śródmiąższowe jąder, raka kory nadnerczy oraz rdzeniastego raka tarczycy (41). Natomiast w 2016 r. Soler Arias i wsp. (42) opisali przypadek 11-letniej samicy rottweilera ze słabością mięśniową, wzmożonym pragnieniem, wielomoczem, biegunką i wychudzeniem, u której rozpoznano zespół MEN 2 w oparciu o wykryte nowotwory, takie jak rdzeniasty rak tarczycy, obustronne guzy chromochłonne oraz gruczolak przytarczyc, przy czym u tego psa równocześnie występowała choroba Addisona (42). Feldman i Nelson (43) zwracają uwagę, że w rozpoznanych przez nich u 63 psów przypadkach należących do 27 ras z guzem tarczycy oraz innym jednym nowotworem lub więcej w innych narządach (na ogół gruczolach wydzielania wewnętrznego) przeciętny wiek wynosił 10 lat. Autorzy ci również zwracają uwagę, że nie jest jasne, czy u tych psów choroba miała charakter rodzinny, czy też jedynie przypominała zespoły MEN u człowieka (43).

U psów, podobnie jak u ludzi, również opisywane były autoimmunologiczne zespoły wielogruzołowe. Pierwsze przypadki zostały opisane u psów z niedoczynnością tarczycy i nadnerczy lub cukrzycą w latach 80. XX wieku (44, 45). Spośród typów PAS u psów, podobnie jak u ludzi, najczęściej występuje zespół Schmidta (APS typu 2), w którym, jak już wcześniej wspomniano, występuje autoimmunologiczna

niedoczynność nadnerczy wraz z autoimmunologiczną chorobą tarczycy (w przypadku psów niedoczynność tarczycy) lub cukrzycą insulinozależną (cukrzyca typu 1) bądź też zarówno z chorobą tarczycy, jak i cukrzycą (43). Peterson i wsp. (46) u 225 psów z niedoczynnością nadnerczy wykryli 11 przypadków psów ze współistniejącymi chorobami endokrynologicznymi: dziewięć psów miało niedoczynność tarczycy, jeden pies miał cukrzycę typu 1, jeden pies miał równocześnie cukrzycę, niedoczynność tarczycy oraz niedoczynność przytarczyc. Objawy PAS typu 2 ujawniały się u dorosłych psów różnych ras, na ogół u samic w średnim wieku (często w opisach przypadków klinicznych w wieku 6 lat). Najczęstszymi objawami były: apatia, niechęć do ruchu, obniżony apetyt, wymioty, postępujący spadek masy ciała, zaniki mięśniowe i słabość mięśniowa (47, 48, 49, 50, 51, 52, 53). U części psów występowały wyłysienia z hiperpigmentacją oraz spowolniony odrost włosów po goleniu do zabiegów diagnostycznych, poliuria, polidypsja i bradykardia (47, 48, 49, 50, 54). W pojedynczych przypadkach obserwowano przyrost masy ciała, hipotermię, obrzęk głowy i nieznaczną niezdolność (48, 54). U charcików włoskich wykazano, że PAS typu 2 ma najprawdopodobniej charakter dziedziczny, znacznie częściej występuje u samic w wieku od 2 do 15 lat, przy zarówno średniej, jak i medianie wynoszących ok. 8 lat (55). Autorzy jednego z opisów przypadków sugerują, że pomimo rozpoznania u psa choroby Addisona i cukrzycy typu 1, najprawdopodobniej mieli oni do czynienia z autoimmunologicznym zespołem wielogruzołowym odpowiadającym PAS 4 u ludzi, w związku z wykryciem u tego psa również innych nieendokrynologicznych chorób o podłożu autoimmunologicznym (52). Z kolei w innym przypadku, pomimo stwierdzenia niedoczynności nadnerczy i tarczycy z równoczesnym limfocytarnym zapaleniem gruczolowej części przysadki, autorzy uznali, że u psa występował PAS 2 (51).

### Współistniejące endokrynopatie u kotów

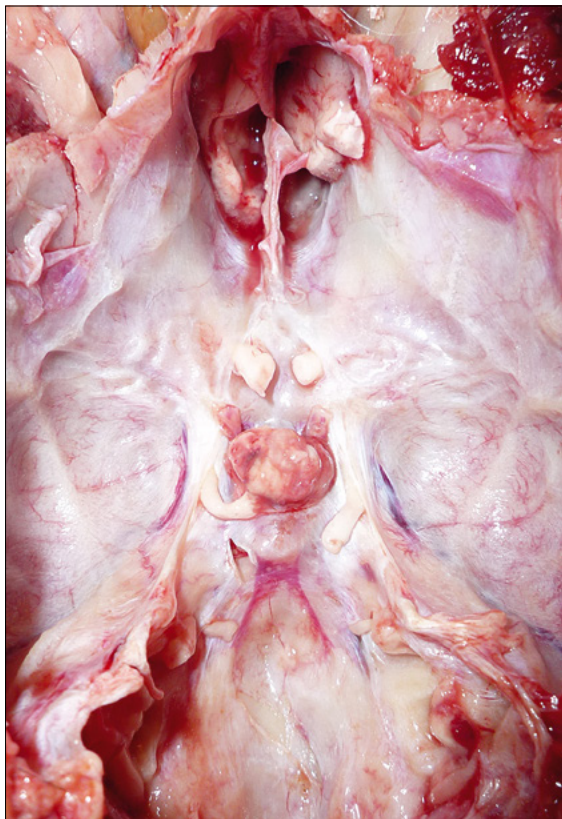
U kotów występowanie równocześnie dwóch lub więcej endokrynopatii stwierdzano rzadziej niż u psów, a endokrynopatie odpowiadające mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej wykrywane były niezmiernie rzadko (56, 57, 58). U kotów wykrywano guzy aktywne hormonalnie, takie jak guzy rdzenia i kory nadnerczy, guz gastrynowy, wyspiak, guz przysadki czy gruczolak przytarczyc; na ogół nie towarzyszyła im jednak inna nadczynność wewnątrzwydzielnicza (59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66). Według wiedzy autorów dotychczas u kotów opisano zaledwie trzy przypadki wyglądające jak zespół mnogiej gruczolakowatości wewnątrzwydzielniczej. U jednego kota stwierdzono obecnie gruczolaka przytarczyc, gruczolaka kory nadnerczy oraz wyspiaka (57). U pozostałych dwóch kotów wykryto raka z komórek beta trzustki, gruczolaka przysadki, raka rdzeniastego tarczycy oraz rozrost komórek głównych przytarczyc (58). Wszystkie trzy przypadki opisano u samców kotów domowych w wieku 12 i 13 lat, a autorzy tych opisów przypadków uznali je za podobne do zespołu MEN 1, jednak najprawdopodobniej nie miały one charakteru dziedzicznego (57, 58).

Według wiedzy autorów autoimmunologiczne zespoły wieloguczołowe nie były dotychczas opisywane u kotów. Wspomniano natomiast wcześniej, że endokrynopatie mogą być również związane z grasiczankami, których obecność stwierdzano u kotów (67, 68).

### Przypadki własne

Wszystkie potwierdzone własne przypadki współistniejących endokrynopatii autorzy obserwowali jedynie u psów. Zespoły zmian nowotworowych podobne do MEN 1 i/lub MEN 4 obserwowano u dwóch psów: 11-letniego niekastrowanego samca mieszańca oraz u 12-letniej niekastrowanej suki sznaucera

średniego. U obydwu psów występował objaw poliurii-polidypsji oraz osłabienia. Według właścicielki suki sznaucera średniego o masie ciała 20 kg przed leczeniem wypijała nawet 7 litrów wody w ciągu doby. U psów występowały wyłysienia wraz z przebarwieniami skóry. W badaniu klinicznym stwierdzono nadciśnienie tętnicze, u suki również niezborność. Przyżyciowo u obu psów rozpoznano przysadkowo-zależny zespół Cushinga oraz zespół Conna. Ponadto u suki sznaucera występowała niedoczynność tarczycy oraz rak gruczołu sutkowego. Pośmiertnie stwierdzono gruczolaka przysadki oraz raka nadnerczy z przerzutami do płuc i wątroby (ryc. 1, 2, 3, 4, 5).



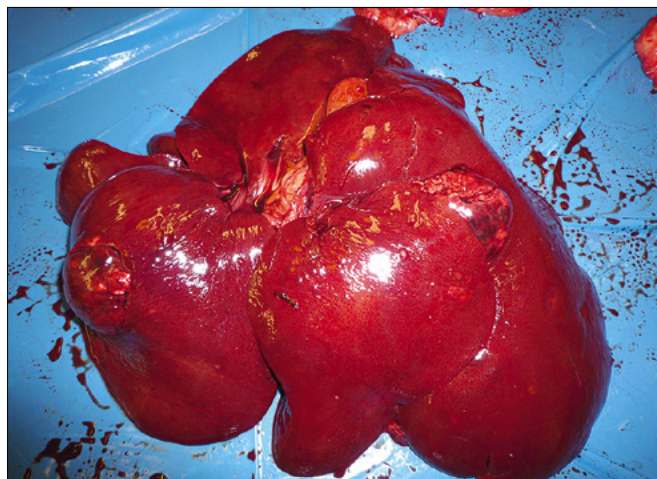
Ryc. 1. Gruczolak przysadki u psa z zespołem podobnym do MEN 1 lub MEN 4



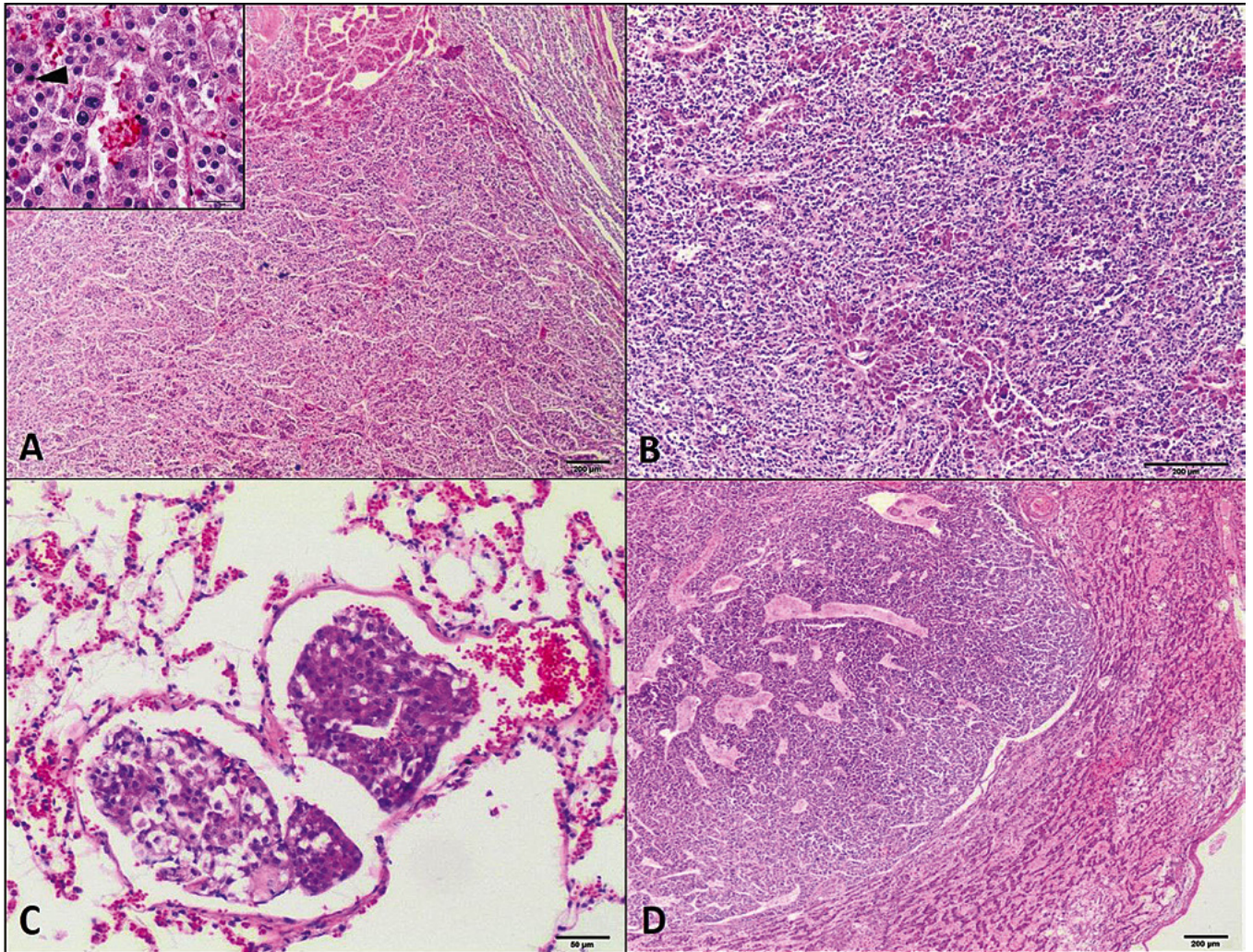
Ryc. 2. Powiększone nadnercza u psa z zespołem podobnym do MEN 1 lub MEN 4



Ryc. 3. Utrwalone w formalinie nadnercza u psa z zespołem podobnym do MEN 1 lub MEN 4



Ryc. 4. Przerzuty nowotworowe do wątroby u psa z zespołem podobnym do MEN 1 lub MEN 4



**Ryc. 5.** Badanie histopatologiczne wycinków pobranych od psa z zespołem podobnym do MEN 1 lub MEN 4. Parafinowe skrawki tkankowe barwiono metodą hematoksylina-eozyna (H-E)

**A.** Rak kory nadnerczy (*carcinoma corticis glandulae suprarenalis*). Widoczne rozległe ognisko nowotworowe, nieotorbione, słabo ograniczone zbudowane z różnej wielkości gniazd, beczek tworzących struktury lite i pseudogruzołowe, o *naciekającym* typie wzrostu, ze skąpym podścieliskiem łącznotkankowym. W lewym górnym rogu widoczne poligonalne komórki nowotworowe wykazujące pleomorfizm jądrowy, kwasochłonną ziarnistą cytoplazmę niekiedy z małymi *wakuolami*. Grot wskazuje na figurę mitotyczną; pow. 20×, wstawka: pow. 400×

**B.** Gruczolak przysadki (*adenoma hypophysis*). Widoczne rozsiarne, dobrze zróżnicowane komórki głównie o słabo barwiącej się cytoplazmie, miejscami komórki o kwasochłonnej cytoplazmie, układające się w struktury zrazikowe, cewkowe różnej wielkości, porozidzielane wąskimi pasmami tkanki łącznej; pow. 40×

**Komentarz:** W rozpoznaniu typu komórek pomocne są badania histochemiczne i immunohistochemiczne. Badanie immunohistochemiczne jest przydatne zarówno w różnicowaniu gruczolaków czynnych vs. nieczynnych („niemych”), jak również w ocenie ekspresji hormonów swoistych dla danego typu gruczolaka

**C.** Zatory nowotworowe widoczne w płucach; pow. 100×

**D.** Przerzut nowotworowy w wątrobie. Widoczny zanik mięszu wątroby przylegającego do ogniska nowotworowego; pow. 20×

Autorzy rozpoznali również u psów zespoły odpowiadające PAS u człowieka. U trzech psów stwierdzono współwystępowanie niedoczynności tarczycy wraz z chorobą Addisona współwystępujące w zespole Schmidta u ludzi. Psy należały do ras chihuahua, pudel i labrador, były w wieku od 5 do 7 lat. U żadnego z tych psów nie rozpoznano cukrzycy. Dominującymi objawami były apatia, wyłysienia, obniżony apetyt, bolesność brzucha i nawracające biegunki.

Autorzy nie stwierdzili dotychczas ani jednego przypadku współwystępowania endokrynopatii u kotów, choć rozpoznali u 12-letniego kota grasiczaka z autoimmunologicznym zapaleniem skóry, któremu towarzyszyć mogą również inne choroby autoimmunologiczne, takie jak: miastenia, cukrzyca typu 1, choroba Addisona czy autoimmunologiczna choroba

tarczycy (13, 68). Ponadto autorzy niniejszego artykułu rozpoznali pierwotną niedoczynność tarczycy u kota, jednak w tym przypadku nie stwierdzono innej niedoczynności wewnątrzwydzielniczej.

### Podsumowanie

Przegląd literatury oraz własnych przypadków pokazuje, że współwystępujące endokrynopatie zdarzają się rzadko, zwłaszcza u kotów. W oparciu o własne obserwacje oraz dane literaturowe spośród omawianych chorób najczęściej występować może zespół Schmidta u psów, którego objawy są nieswoiste, a do najczęstszych należą osłabienie, apatia, spadek masy ciała oraz objawy ze strony przewodu pokarmowego.

## Piśmiennictwo

- Callender G.G., Rich T.A., Perrier N.D.: Multiple Endocrine Neoplasia Syndromes. *Surgical Clinics of North America*, 2008, 88(4), 863–895.
- Kahaly G.J.: Polyglandular autoimmune syndromes. *European Journal of Endocrinology*, 2009, 161, 11–20.
- Frommer L., Kahaly G.J.: Autoimmune Polyendocrinopathy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2019, 104, 4769–4782.
- Marini F., Falchetti A., Del Monte F., Carbonell Sala S., Gozzini A., Luzi E., Brandi M.L.: Multiple endocrine neoplasia type 1. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2006, 1, 38. Doi: 10.1186/1750-1172-1-38.
- Moline J., Eng C.: Multiple endocrine neoplasia type 2: An overview. *Genetics in Medicine*, 2011, 13(9), 755–764.
- Włoch J., Oczko-Wojciechowska M., Szpak-Ulczoł S., Jarzab B.: Rak rdzeniasty tarczycy: od badań molekularnych do kliniki. *Endokrynologia Polska*, 2005, 56(3), 362–369.
- Dharmshaktu P., Garg A., Manglani D., Dhanwal D.: MEN2B syndrome presenting as an acute respiratory emergency. *BMJ Case Reports*, 2013, bcr2013201080. Doi: 10.1136/bcr-2013-201080.
- Tonelli F., Giudici F., Giusti F., Marini F., Cianferotti L., Nesi G., Brandi M.L.: A heterozygous frameshift mutation in exon 1 of *CDKN1B* gene in a patient affected by MEN4 syndrome. *European Journal of Endocrinology*, 2014, 171(2), K7-K17.
- Morrison P.J., Nevin N.C.: Multiple endocrine neoplasia type 2B (mucosal neuroma syndrome, Wagenmann-Froboese syndrome). *Journal of Medical Genetics*, 1996, 33(9), 779–782.
- Kraheil J.A., Baran A., Flisiak I.: Skórne manifestacje w przebiegu autoimmunologicznego zespołu niedoczynności wielogrzuczołowej typu 1 – opis przypadku i przegląd piśmiennictwa. *Przegląd Dermatologiczny*, 2016, 103, 354–361.
- Proust-Lemoine E., Saugier-Verber P., Wémeau J.-L.: Polyglandular Autoimmune Syndrome Type I. *La Presse Médicale*, 2012, 41(12), e651-e662.
- Dittmar M., Kahaly G.J.: Polyglandular Autoimmune Syndromes: Immunogenetics and Long-Term Follow-Up. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2003, 88(7), 2983–2992.
- Cutolo M.: Autoimmune polyendocrine syndromes. *Autoimmunity Reviews*, 2014, 13, 85–89.
- Niedziela M.: Autoimmunologiczne zespoły wielogrzuczołowe – od badań naukowych do zastosowań klinicznych. *Endokrynologia Pediatryczna*, 2005, 4(2), 55–63.
- Thakker R.V.: Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) and type 4 (MEN4). *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2014, 386, 2–15.
- Wermer P.: Genetic aspects of adenomatosis of endocrine glands. *American Journal of Medicine*, 1954, 16(3), 363–371.
- Sipple J.H.: The association of pheochromocytoma with carcinoma of the thyroid gland. *American Journal of Medicine*, 1961, 31(1), 163–166.
- Williams E.D., Pollock D.J.: Multiple mucosal neuromata with endocrine tumours: A syndrome allied to von Recklinghausen's disease. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 1966, 91(1), 71–80.
- Khatami F., Tavangar S.M.: Multiple Endocrine Neoplasia Syndromes from Genetic and Epigenetic Perspectives. *Biomarker Insights*, 2018, 13, 1177271918785129. Doi: 10.1177/1177271918785129.
- Fritz A., Walch A., Piotrowska K., Rosemann M., Schäffer E., Weber K., Timper A., Wildner G., Graw J., Höfler H., Atkinson M.J.: Recessive Transmission of a Multiple Endocrine Neoplasia Syndrome in the Rat. *Cancer Research*, 2002, 62(11), 3048–3051.
- Alrezk R., Hannah-Shmouni F., Stratakis C.A.: MEN4 and *CDKN1B* mutations: the latest of the MEN syndromes. *Endocrine-Related Cancer*, 2017, 24(10), T195-T208.
- Peterson P., Peltonen L.: Autoimmune polyendocrinopathy syndrome type 1 (APS1) and *AIRE* gene: New views on molecular basis of autoimmunity. *Journal of Autoimmunity*, 2005, 25, 49–55.
- Colobran R., Giménez-Barcons M., Marín-Sánchez A., Porta-Pardo E., Pujol-Borrell R.: *AIRE* genetic variants and predisposition to polygenic autoimmune disease: The case of Graves' disease and a systematic literature review. *Human Immunology*, 2016, 77(8), 643–651.
- Ten S., New M., MacLaren N.: Clinical review 130: Addison's disease 2001. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001, 86(7), 2909–2922.
- Twiggs S.R.F., Lloyd D., Jenkins D., Elçioglu N.E., Cooper C.D., Al-Sanna N., Annagür A., Gillesen-Kaesbach G., Hüning I., Knight S.J., Goodship J.A., Keavney B.D., Beales P.L., Gileadi O., McGowan S.J., Wilkie A.O.: Mutations in Multidomain Protein MEGF8 Identify a Carpenter Syndrome Subtype Associated with Defective Laterization. *American Journal of Human Genetics*, 2012, 91(5), 897–905.
- Ben-Skowronek I., Michalczyk A., Piekarski R., Wysocka-Łukasik B., Baneka B.: Type III Polyglandular Autoimmune Syndromes in children with type 1 diabetes mellitus. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2013, 20(1), 140–146.
- Wildin R.S., Smyk-Pearson S., Filipovich A.H.: Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X linked (IPEX) syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 2002, 39(8), 537–545.
- Ochs H.D., Gambineri E., Torgerson T.R.: IPEX, FOXP3 and regulatory T-cells: a model for autoimmunity. *Immunologic Research*, 2007, 38(1–3), 112–121.
- Bacchetta R., Barzaghi F., Roncarolo M.G.: From IPEX syndrome to FOXP3 mutation: a lesson on immune dysregulation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2018, 1417(1), 5–22.
- Blois S.L., Dickie E., Kruth S.A., Allen D.G.: Multiple endocrine diseases in dogs: 35 cases (1996–2009). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2011, 238(12), 1616–1621.
- Pivonello R., De Leo M., Vitale P., Cozzolino A., Simeoli C., De Martino M.C., Lombardi G., Colao A.: Pathophysiology of Diabetes Mellitus in Cushing's Syndrome. *Neuroendocrinology*, 2010, 92(Suppl 1), 77–81.
- Miceli D.D., Pignataro O.P., Castillo V.A.: Concurrent hyperadrenocorticism and diabetes mellitus in dogs. *Research in Veterinary Science*, 2017, 115, 425–431.
- Hofer-Inteeworn N., Panciera D.L., Monroe W.E., Saker K.E., Davies R.H., Refsal K.R., Kemnitz J.W.: Effect of hypothyroidism on insulin sensitivity and glucose tolerance in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 2012, 73(4), 529–538.
- Howard E.B., Nielsen S.W.: Neoplasia of the boxer dog. *American Journal of Veterinary Research*, 1965, 26(114), 1121–1131.
- Peterson M.E., Randolph J.F., Zaki F.A., Heath H. 3rd.: Multiple endocrine neoplasia in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1982, 180(12), 1476–1478.
- Wright K.N., Breitschwerdt E.B., Feldman J.M., Berry C.R., Meuten D.J., Spodnick G.J.: Diagnostic and therapeutic considerations in a hypercalcemic dog with multiple endocrine neoplasia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 1995, 31(2), 156–162.
- Hayden D.W., Henson M.S.: Gastrin-secreting pancreatic endocrine tumor in a dog (putative Zollinger-Ellison syndrome). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1997, 9(1), 100–103.
- Thuróczy J., van Sluijs F.J., Kooistra H.S., Voorhout G., Mol J.A., van der Linde-Sipman J.S., Rijnberk A.: Multiple endocrine neoplasias in a dog: corticotrophic tumour, bilateral adrenocortical tumours, and pheochromocytoma. *Veterinary Quarterly*, 1998, 20(2), 56–61.
- Kiupel M., Mueller P.B., Ramos Vara J., Irizarry A., Lin T.L.: Multiple Endocrine Neoplasia in a Dog. *Journal of Comparative Pathology*, 2000, 123(2–3), 210–217.
- Walker M.C., Jones B.R., Guildford W.G., Burbidge H.M., Alley M.R.: Multiple endocrine neoplasia type 1 in a crossbred dog. *Journal of Small Animal Practice*, 2000, 41(2), 67–70.
- Proverbio D., Spada E., Perego R., Grieco V., Lodi M., Di Giancamillo M., Ferro E.: Potential Variant of Multiple Endocrine Neoplasia in a Dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 2012, 48(2), 132–138.
- Soler Arias E.A., Castillo V.A., Trigo R.H., Caneda Aristarain M.E.: Multiple endocrine neoplasia similar to human subtype 2A in a dog: Medullary thyroid carcinoma, bilateral pheochromocytoma and parathyroid adenoma. *Open Veterinary Journal*, 2016, 6(3), 165–171.
- Feldman E.C., Nelson R.W.: *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St. Louis, 2004.
- Hargis A.M., Stephens L.C., Benjamin S.A., Brewster R.D., Brooks R.K.: Relationship of hypothyroidism to diabetes mellitus, renal amyloidosis, and thrombosis in purebred beagles. *American Journal of Veterinary Research*, 1981, 42(6), 1077–1081.
- Bowen D., Schaefer M., Riley W.: Autoimmune polyglandular syndrome in a dog: a case report. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 1986, 22, 649–653.
- Peterson M.E., Kintzer P.P., Kass P.H.: Pretreatment clinical and laboratory findings in dogs with hypoadrenocorticism: 225 cases (1979–1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1996, 208(1), 85–91.
- Furukawa S., Meguri N., Koura K., Koura H., Matsuda A.: A Case of Canine Polyglandular Deficiency Syndrome with Diabetes Mellitus and Hypoadrenocorticism. *Veterinary Sciences*, 2021, 8(3), 43. Doi: 10.3390/vetsci8030043.
- Pikula J., Pikulova J., Bandouchova H., Hajkova P., Faldyna M.: Schmidt's syndrome in a dog: a case report. *Veterinari Medicina*, 2007, 52(9), 419–422.
- Kooistra H.S., Rijnberk A., van den Ingh T.S.: Polyglandular deficiency syndrome in a boxer dog: thyroid hormone and glucocorticoid deficiency. *Veterinary Quarterly*, 1995, 17(2), 59–63.
- Vanmal B., Martlé V., Binst D., Smets P., Daminet S., Paepé D.: Combined atypical primary hypoadrenocorticism and primary hypothyroidism in a dog. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 2016, 85, 355–364.
- Adissu H.A., Hamel-Jolette A., Foster R.A.: Lymphocytic Adenohypophysitis and Adrenalitis in a Dog With Adrenal and Thyroid Atrophy. *Veterinary Pathology*, 2010, 47(6), 1082–1085.
- Hwang S.Y., An J.H., Lee J.H., Park S.M., Chae H.K., Kim K.B., Song W.J., Youn H.Y.: Autoimmune polyendocrine syndrome with

- hypoadrenocorticism and diabetes mellitus in a dog: A rare case. *Veterinary Medicine and Science*, 2021, 7(6), 2120–2123.
53. Kuijlaars M., Yool D.A., Ridyard A.E.: Autoimmune polyendocrine syndrome in a standard poodle with concurrent non-endocrine immune-mediated diseases. *Veterinary Record Case Reports*, 2021, 9, e90. Doi: 10.1002/vrc2.90.
  54. Cartwright J.A., Stone J., Rick M., Dunning M.D.: Polyglandular endocrinopathy type II (Schmidt's syndrome) in a Doberman pinscher. *Journal of Small Animal Practice*, 2016, 57(9), 491–494.
  55. Pedersen N.C., Liu H., Greenfield D.L., Echols L.G.: Multiple autoimmune diseases syndrome in Italian Greyhounds: Preliminary studies of genome-wide diversity and possible associations within the dog leukocyte antigen (DLA) complex. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2012, 145(1–2), 264–276.
  56. Beatrice L., Boretti F.S., Sieber-Ruckstuhl N.S., Mueller C., Kümmerle-Fraune C., Hilbe M., Grest P., Reusch C.E.: Concurrent endocrine neoplasias in dogs and cats: a retrospective study (2004–2014). *Veterinary Record*, 2018, 182(11), 323. Doi: 10.1136/vr.104199.
  57. Reimer S.B., Pelosi A., Frank J.D., Steficek B.A., Kiupel M., Hauptman J.G.: Multiple endocrine neoplasia type I in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 2005, 227(1), 101–104.
  58. Roccabianca P., Rondena M., Paltrinieri S., Pocacqua V., Scarpa P., Faverzani S., Scanziani E., Caniatti M.: Multiple Endocrine Neoplasia Type-I-like Syndrome in Two Cats. *Veterinary Pathology*, 2006, 43(3), 345–352.
  59. Eng J., Du B.H., Johnson G.F., Kanakamedala S., Samuel S., Raufman J.P., Straus E.: Cat gastrinoma and the sequence of cat gastrins. *Regulatory Peptides*, 1992, 37(1), 9–13.
  60. Peterson M.E., Taylor R.S., Greco D.S., Nelson R.W., Randolph J.F., Fodman M.S., Moroff S.D., Morrison S.A., Lothrop C.D.: Acromegaly in 14 cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1990, 4(4), 192–201.
  61. Hawks D., Peterson M.E., Hawkins K.L., Rosebury W.S.: Insulin-secreting pancreatic (islet cell) carcinoma in a cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 1992, 6(3), 193–196.
  62. Kallet A.J., Richter K.P., Feldman E.C., Brum D.E.: Primary hyperparathyroidism in cats: seven cases (1984–1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1991, 199(12), 1767–1771.
  63. Galac S., Rosenberg D.: Cushing's syndrome (hypercortisolism). W: Feldman E.C., Fracassi F., Peterson M.E.: *Feline Endocrinology*. Edra S.p.A., Milano 2019, s. 363–380.
  64. Kooistra H.S.: Primary hyperaldosteronism (Conn's syndrome). W: Feldman E.C., Fracassi F., Peterson M.E.: *Feline Endocrinology*. Edra S.p.A., Milano 2019, s. 381–391.
  65. Melián C., Pérez-López L.: Other adrenal cortical tumors and pheochromocytoma. W: Feldman E.C., Fracassi F., Peterson M.E.: *Feline Endocrinology*. Edra S.p.A., Milano 2019, s. 392–401.
  66. Kaplan E.: Primary hyperparathyroidism and concurrent hyperthyroidism in a cat. *Canadian Veterinary Journal*, 2002, 43, 117–119.
  67. Day M.J.: Review of thymic pathology in 30 cats and 36 dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 1997, 38(9), 393–403.
  68. Gójska-Zygnier O., Karaś-Łęcza J., Lechowski R., Rodo A., Dolka I.: Cutaneous paraneoplastic syndrome in a cat with thymoma. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe K Kleintiere/Heimtiere*, 2013, 41(4), 255–259.