

^{18}F -FDG-PET/CT MUSKULOSKELETÁLNÍCH NÁDORŮ

^{18}F -FDG-PET/CT OF THE MUSCULOSKELETAL TUMORS

původní práce

Eva Ferdová
Jiří Ferda

Klinika zobrazovacích metod
LF UK a FN v Plzni

Přijato: 10. 1. 2010

Korespondenční adresa:

MUDr. Eva Ferdová
Klinika zobrazovacích metod –
úsek hybridních metod LF UK a FN
Alej Svobody 80, 306 40 Plzeň
e-mail: ferdovae@fnplzen.cz

SOUHRN

Ferdová E, Ferda J. ^{18}F -FDG-PET/CT muskuloskeletálních nádorů

Cíl. Zhodnotit význam ^{18}F -FDG-PET/CT pro staging, restaging a hodnocení účinku terapie u nádorů kostí a měkkých tkání

Materiál a metoda. Byla provedena retrospektivní analýza souboru 81 vyšetření u 63 nemocných (32 mužů, 31 žen, průměrný věk 51,14 let, rozpětí 15–78. Všechna vyšetření byla provedena pomocí hybridního systému PET/CT se šestnáctiřadým CT subsystémem, intravenózně byla podána ^{18}F -FDG v dávce 5 MBq/kg hmotnosti nemocného, pokud nebylo kontraindikací, CT vyšetření bylo provedeno po intravenózní aplikaci kontrastní látky. Všechna CT byla provedena jako plně diagnostická se submilimetrovým izotropním rozlišením.

Výsledky. Nejčastěji bylo prováděno restagingové vyšetření (44 případů), méně často primární staging (21 případů), jen 16 vyšetření bylo provedeno z důvodu diferenciálně diagnostických. Při primárním stagingu byly nalezeny známky generalizace v 62%, u restagingu nebyly nalezeny známky aktivity onemocnění ve 43%. V diferenciální diagnostice dignity bylo dosaženo specificity 78,9% a senzitivity 100%.

Závěr. ^{18}F -FDG-PET/CT je významným nástrojem v rozhodování v léčbě nádorů kostí a měkkých tkání.

Klíčová slova: ^{18}F -FDG-PET/CT, nádory kostí, nádory měkkých tkání.

SUMMARY

Ferdová E, Ferda J. ^{18}F -FDG-PET/CT of the musculoskeletal tumors

Aim. To assess the feasibility of the ^{18}F -FDG-PET/CT in the staging, restaging and therapy response evaluation of the tumors of the bones and soft tissues

Method. The retrospective analyses of the cohort of 81 examinations in the 63 patients (32 males, 31 females, mean age 51.14 years, ranging 15–78 years) were performed. All procedures were performed using hybrid PET/CT with sixteen-detector-row CT subsystem after intravenous application of ^{18}F -FDG in the dose of 5 MBq per kilogram of body weight. CT examination was performed as full diagnostic CT with sub-millimeter isotropic resolution after intravenous application of 100 ml of iodine contrast material, except cases of serious adverse reactions in patient history.

Results. The most frequent procedure was restaging in 44 cases, followed by primary staging in 21 cases, only in 16 cases the examination was performed due to the differential diagnostic reasons. According to the primary staging, the generalization of the tumor was present 62% examinations of primary staging; no residual disease activity was found in 19 cases (43%) of restaging. In differential diagnosis of dignity, the specificity of 78.9% was reached, the sensitivity of 100% respectively.

Conclusion. The ^{18}F -FDG-PET/CT examination in tumor soft bones and soft tissue is valuable imaging tool in therapeutic decision making algorithm.

Key words: ^{18}F -FDG-PET/CT, soft tissue tumors, bone tumors.

ÚVOD

Nádory muskuloskeletálního aparátu jsou relativně málo časté. Přestože tvoří méně než 1 % malignit, jedná se o závažnou skupinu nádorů, která se vyskytuje ve všech věkových kategoriích. Podle tkání, ze kterých nádory muskuloskeletální vycházejí, se dělí na nádory kostí a nádory měkkých tkání. Léčba muskuloskeletálních nádorů závisí na dvou faktorech: na histologické diagnóze a rozsahu diseminace nádoru. Nejvýznamnější primárními nádory pohybového aparátu jsou vysoce maligní sarkomy – osteogenní sarkom a Ewingův sarkom mezi nádory kostí a liposarkom, pleomorfní nediferencovaný sarkom a synoviální sarkom mezi nádory měkkých tkání. Klasifikace obou skupin nádorů je poměrně složitá, vyjadřuje jejich histogenezi (1, 2). Kromě nádorů vycházejících z pojiva a tukové tkáně jsou v muskuloskeletálním systému přítomny i nádory vycházející z nervových struktur, kožních adnex a některé hematologické malignity (1). Pozitronová emisní tomografie s 18-F-fluorodeoxyglukózou (¹⁸F-FDG) byla klinicky zkoušena v diagnostice maligních nádorů kostí a měkkých tkání již od devadesátých let 20. století (3), nicméně až spojení v hybridním zobrazení PET/CT dosáhla kvalitativní úrovně, která dovoluje její nasazení do vyšetřovacích algoritmů nádorů kostí a měkkých tkání.

Cílem prezentované práce je zhodnotit vlastní výsledky s ¹⁸F-FDG-PET/CT ve stagingu, restagingu a diferenciální diagnostice muskuloskeletálních nádorů a posoudit efektivitu jednotlivých indikací.

MATERIÁL A METODIKA

V našem souboru je zahrnuto 81 vyšetření u 63 nemocných, což tvoří pouze 1,3 % mezi 6000 provedenými vyšetřeními PET/CT. V souboru je zastoupeno 32 mužů a 31 žen, průměrný věk pacientů byl 51,14 let v rozpětí 15–78 let.

U 21 nemocných šlo o primární staging nádoru, u 44 nemocných o restaging a v 16 případech byla vyšetření indikována kvůli diferenciální diagnóze u lézí neznámého původu.

Vyšetření byla prováděna na přístroji Biograph 16 (Siemens, USA/Německo), který v sobě integruje PET subsystém s detektorovou soustavou z luteciumortosilikátu (LSO) a plně diagnosticky využitelný šestnáctiřadý výpočetní tomograf.

PET/CT provádíme nalačno po kontrole glykémie, kdy její hodnota nepřesahuje úroveň 10 mmol/l. Aplikujeme intravenózně antekubitální žilou ¹⁸F-FDG v dávce 5 MBq/kg a po 60 minutách akumulace je u nemocného provedeno vlastní vyšetření. Akvizice dat MDCT zahrnuje lebku, trup a končetiny v závislosti na lokalizaci tumoru. Vyšetření zahrnuje buď celé horní, nebo dolní končetiny, je-li tumor uložen v oblasti distálně od kolene nebo lokte, nebo končetinu po kolenní, nebo loketní kloub, je-li postiženo stehno nebo paže.

MDCT část vyšetření je provedena s použitím kolimace 16 × 0,75 mm, expozičními hodnotami 120 kV a 240 efektivních mAs jak v arteriální tak i v portální fázi. Bylo podáno 100 ml jódové kontrastní látky intravenózně (Iomeron 350, Bracco, Milano, Itálie) průtokem 3 ml/s s proplachem 50 ml fyziologického roztoku dvoupístovým přetlakovým injektorem (Stellant, Indianola, Medrad, USA). Data byla rekonstruována v poli 700 mm v šíři vrstvy 5 mm pro korekci atenuace PET zobrazení, dále diagnostické CT obrazy v poli 450 mm ve

vrstvě 5 mm a 1 mm s rekonstrukčním algoritmem pro měkké tkáně a ve vrstvě 1 mm algoritmem pro HRCT. Rekonstrukcí tenkých vrstev s rekonstrukčním incrementem 0,7 mm je cíleno pro hodnocení MDCT submilimetrového izotropního zobrazení. Následující akvizice dat PET byla rozložena na celkem sedm pozic (postelí – beds), z nichž akvizice v jedné pozici trvala 3 minuty. Prostorové rozlišení PET dosahovalo 5 mm.

K vlastnímu hodnocení vyšetření bylo použito korigovaných i nekorigovaných PET obrazů, CT vyšetření včetně HRCT plic a fúze PET/MDCT.

VÝSLEDKY

Nádory byly nejčastěji lokalizovány na končetinách, histologicky byly nejčastější nádory ze skupiny primitivních neuroektodermálních nádorů a osteosarkom mezi nádory kostí a nádory zahrnované dříve pod souhrnnou diagnózu maligní fibrózní histiocytom u nádorů měkkých tkání. Lokalizace nádorů je shrnuta v tabulce 1, histologické nálezy ve skeletu jsou uvedeny v tabulce 2, v měkkých tkáních v tabulce 3.

Tab. 1. **Lokalizace nádorů**
Table 1. **Localisation of the tumors**

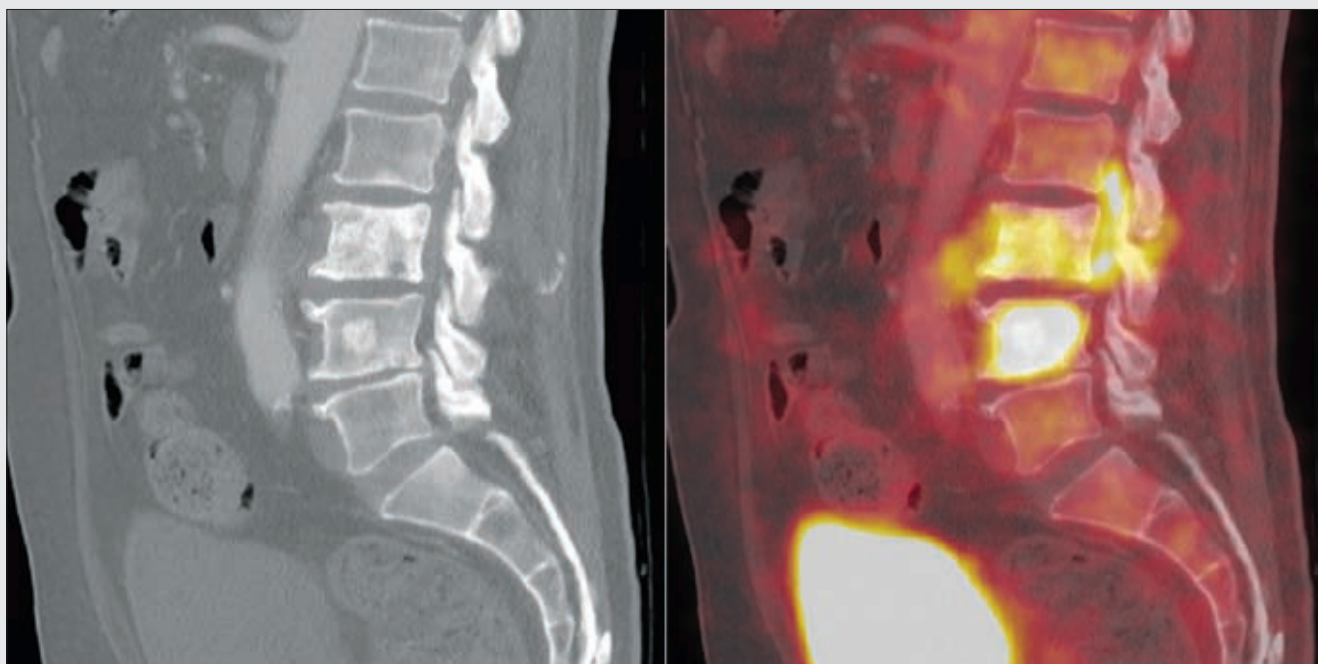
stěna hrudní, stěna břišní	7
měkké tkáně končetin	29
klouby	1
axiální skelet	5
paravertebrální tkáně	2
apendikulární skelet	12
pánev, rameno	14

Tab. 2. **Postižení skeletu – histologické nálezy**
Table 2. **Pkeletal involvement – histological findings**

PNET/Ewingův sarkom	5
chondrosarkom	5
osteosarkom kosti	4
pseudotumory kostí	2
rhabdomyosarkom	2
osteomyelitida	2
osteochondrom	2
Pagetova nemoc	1
nezařaditelný sarkom	1
osteoblastom	1

Tab. 3. **Postižení měkkých tkání – histologické nálezy**
Table 3. **Involvement of the soft tissues, histological findings**

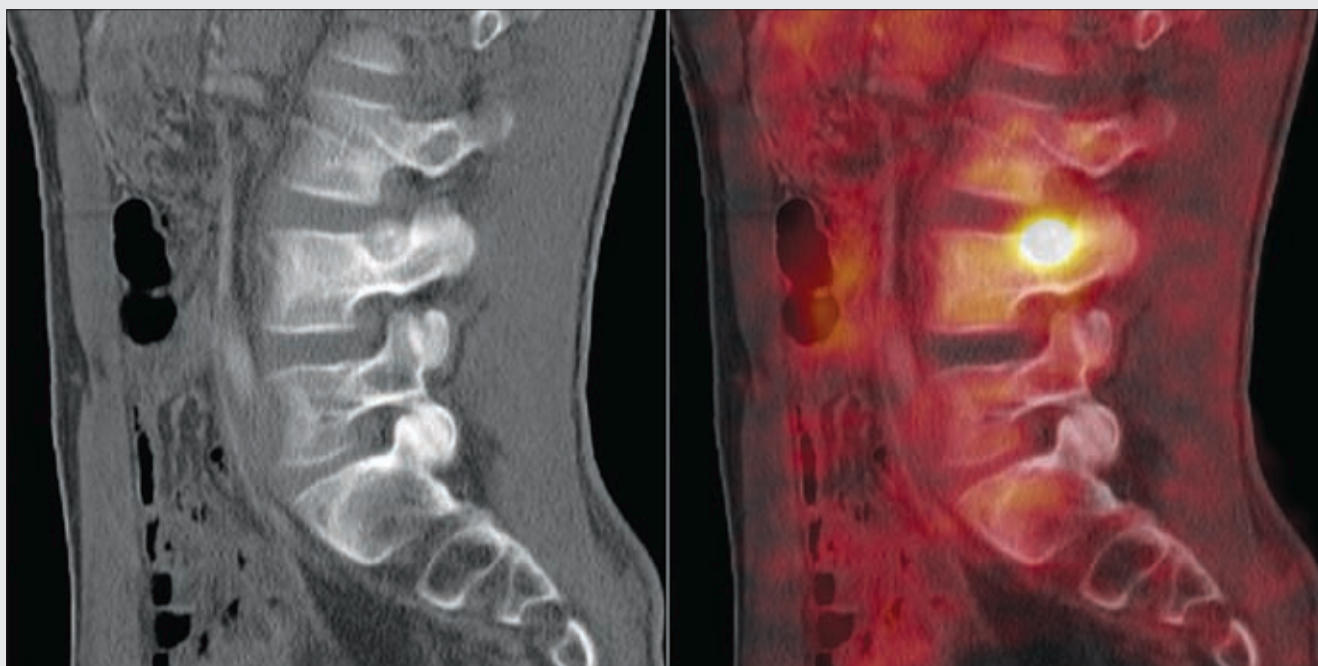
pleomorfní dediferencovaný Sa + fibrosarkom	13
leiomyosarkom	3
adenokarcinom adnex	2
pseudotumory	3
neurofibrosarkom	1
světlobuněčný sarkom šlach a aponeuróz	1
alveolární sarkom	1
osteosarkom měkkých tkání	1
adenokarcinom plic	1
kloubní chondromatóza	1



▲ Obr. 1

Obr. 1. Osteogenní sarkom bederních obratlů, vysoký obrat ^{18}F -FDG

Fig. 1. Osteogenic sarcoma of the lumbar vertebral bodies, high accumulation of ^{18}F -FDG



▲ Obr. 2

Obr. 2. Osteoblastom, úroveň obratu ^{18}F -FDG v benigním nádoru je srovnatelná s maligním nádorem – osteogenním sarkomem díky vysokému obsahu aktivních osteoblastů

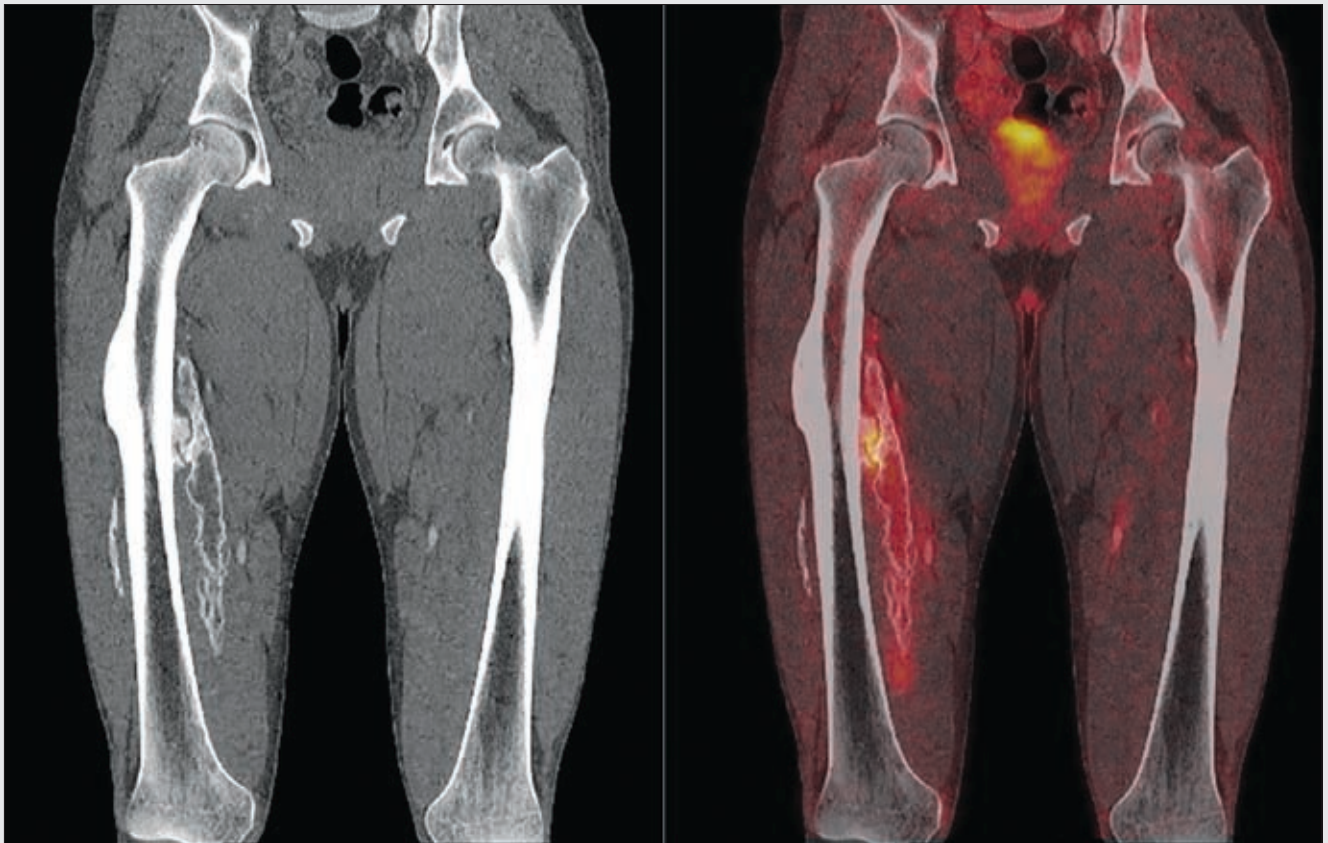
Fig. 2. Osteoblastoma, the level of ^{18}F -FDG accumulation in the benign tumor reaches the same levels like in the malignant osteogenic sarcoma due to the high content of the active osteoblasts

Obecným rysem maligních muskuloskeletálních nádorů je časná tvorba metastáz, z 21 primárních stagingových vyšetření jsme vzdálené metastázy prokázali u 62 % nemocných, bez metastáz bylo z 38 % nemocných.

Při posuzování odpovědi na terapii a při restagingu jsme u 43 % zaznamenali kompletní remisi onemocnění. Ve třech případech (6,81 %) došlo k parciální regresi nádorového pro-

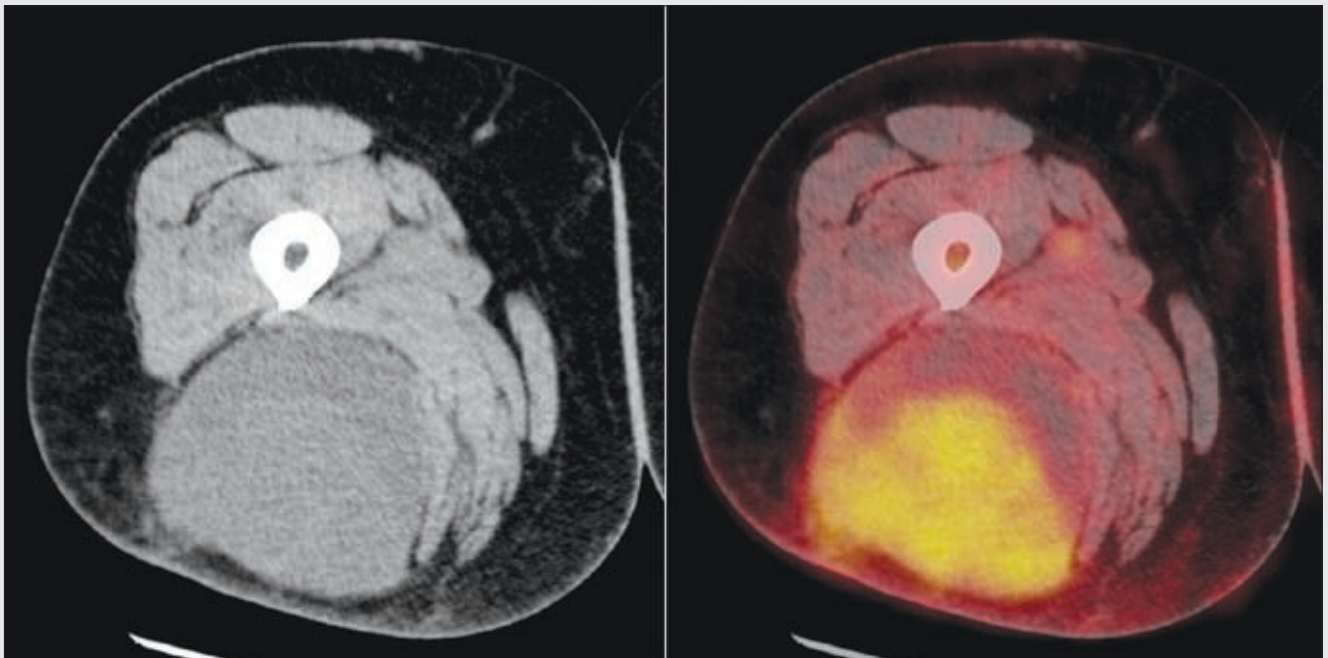
cesu. U sedmi (15,91 %) nemocných byla přítomna lokální recidiva či reziduum nádoru, u 9 (20,45) se objevili buď známky progresu reziduálního onemocnění, nebo šlo dokonce v šesti případech (13,63 %) o nově se objevenou metachronní diseminaci hematogenních metastáz.

Při porovnání výsledků diferenciální diagnostiky u útvarů indikovaných k ^{18}F -FDG-PET/CT kvůli nejisté povaze jsme



▲ Obr. 3

Obr. 3. Diskrétní zvýšení obratu ^{18}F -FDG v oblasti osiifikující myozitidy
Fig. 3. Slightly increased ^{18}F -FDG accumulation in the ossifying myositis



▲ Obr. 4

Obr. 4. Vysoká úroveň akumulace ^{18}F -FDG v histologicky špatně diferencovaném liposarkomu je známkou budoucí dobré odpovědi na chemoterapii, nemocná nyní v bezpříznakovém stadiu po radikálním odstranění tumoru
Fig. 4. High level of ^{18}F -FDG accumulation in the poor differentiated liposarcoma is the sign of the future well responsible tumor to the therapy, patient after radical resection of the tumor without signs of disease activity



▲ Obr.5

Obr. 5. Světlobuněčný sarkom šlach v oblasti Achillovy šlachy s vysokou akumulací ^{18}F -FDG
 Fig. 5. Clear cell tendinuous sarcoma of the Achilles tendon with high level of ^{18}F -FDG accumulation

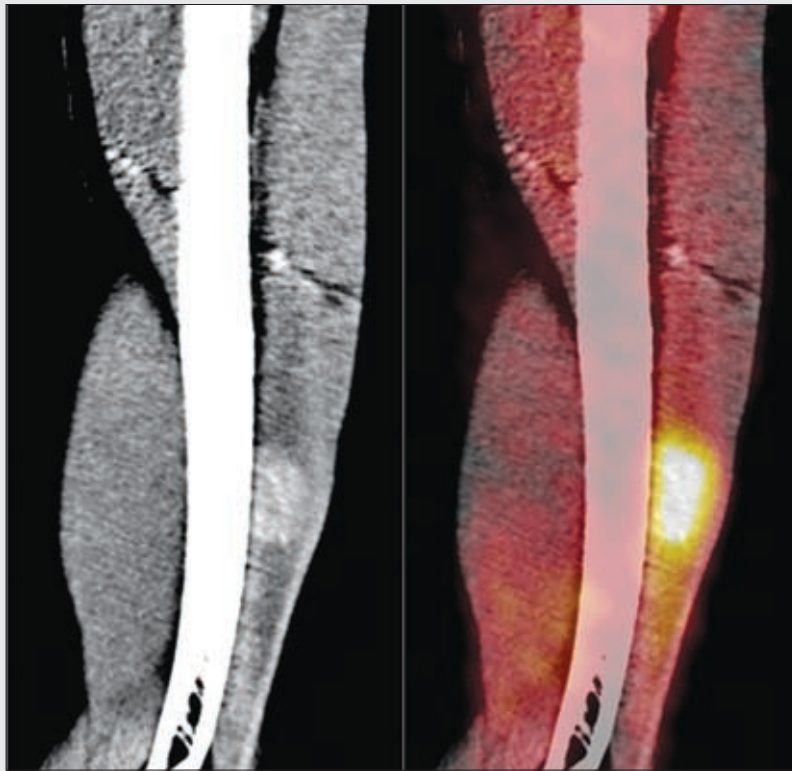
dosáhli ověřených hodnot. Biopsticky je zřejmá v souboru velmi vysoká senzitivita (100%) při odlišení maligní léze, specificita k odlišení malignity 78,14% je relativně nižší. Mezi správně hodnocenými benigními nálezy jsme našli například osifikující myozitidu a absces v měkkých tkáních, mezi správně pozitivní případy patřil parosální osteogenní sarkom, za maligní útvar jsme chybně považovali periartikulární kalcinózu řazenou v současnosti mezi fibroblastické nádory neagresivní povahy a dále chronický absces v měkkých tkáních předloktí.

DISKUSE

Mezi nádory skeletálními převažují v indikacích k ^{18}F -FDG-PET/CT dvě skupiny nádorů – jedná se především o skupinu primitivních neuroektodermálních nádorů, mezi jejichž variantu periferního primitivního neuroektodermálního nádoru je řazen Ewingův sarkom (tzv. pPNET) lokalizovaný v plochých kostech a v diafýzách dlouhých rourovitých kostí; a dále jde o osteogenní sarkom. Přestože jde o nádory spíše dětí a dospívajících, osteogenní sarkom v terénu pagetoidní přestavby kosti se objevuje i v 5. a 6. decéniu (1, 2). Nádory měkkých tkání indikované k ^{18}F -FDG-PET/CT jsou mnohem variabilnější skupinou. U mladších jedinců jsou častější synoviální sarkom a leiomyosarkom, u nemocných od středního věku výše převažují spíše nádory fibroblastické a fibrohistiocytární povahy (mezi ně patří nejčastěji pleomorfní dediferencovaný sarkom měkkých tkání), jež lze shrnout do dnes již neexistující

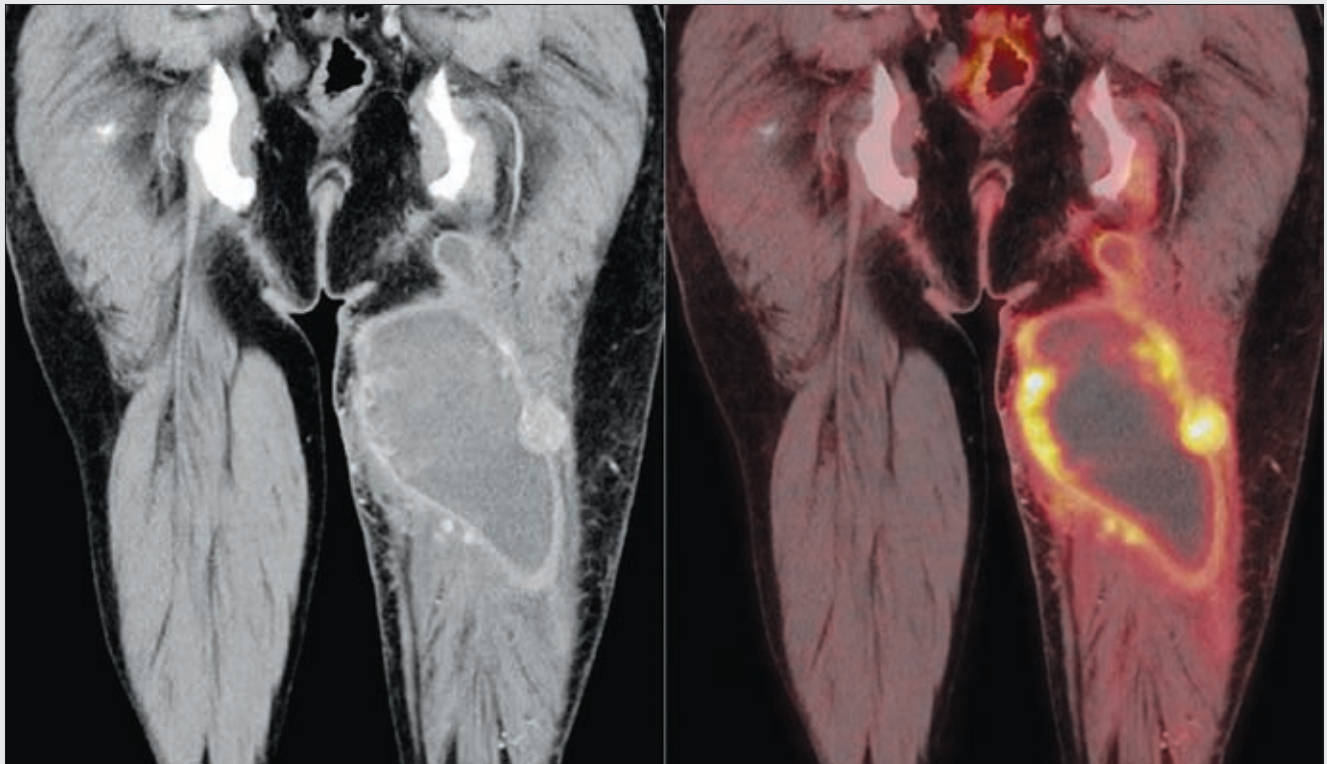
katégorie maligní fibrózní histiocytom. Kromě nádorů vycházejících z pojiva je dalším významnou skupinou tzv. adipocytický – skupina nádorů, jejichž nejvýznamnějším představitelem je liposarkom, nádor středního a vyššího věku, a nádory měkkých tkání chondro-osseálního původu. Kromě typických mezenchymálních nádorů se v měkkých tkání primárně vyskytují i maligní nádory vycházející z periferních nervů kožních adnex a některé hematologické malignity, především mimodřeňové formy akutní lymfatické leukémie (2). Nádory muskuloskeletálního původu jsou heterogenní skupinou. Společným rysem naprosté většiny všech maligních lézí je vysoká akumulace ^{18}F -FDG (3, 4), kterou lze využít k posouzení metabolismu vlastní nádorové tkáně i k posouzení přítomnosti vzdálených metastáz. Dle mezioborové konference o indikacích pozitronové emisní tomografie byly uznány maligní nádory kostí a měkkých tkání do kategorie Ib dle evidence based medicine, tedy potenciálně použitelné metody, u nichž dosud chybí sice rozsáhlejší poznatky ověřující skutečný přínos metody, ale publikované výsledky umožňují zařazení metody do klinických algoritmů. Výjimku tvoří Ewingův sarkom, u něž tato indikace byla uznána za nepochybnou, a proto byla tato diagnóza zařazena do skupiny indikací I (5) (obr. 8). Nicméně relevantní indikace jsou širší u hybridního zobrazení PET/CT, kdy je součástí zobrazení plně diagnostické CT ukazující navíc velmi dobře prostorové vztahy včetně šíření nádoru mezi kompartmenty.

Zobrazení muskuloskeletálních nádorů pomocí PET/CT využívá jejich rychlého obratu glukózy. Vysoká akumulace ^{18}F -FDG v nádorech kostí je důsledkem účinné extrakce



◀ Obr. 6

Obr. 6. Parosální osteosarkom, vysoká akumulace ^{18}F -FDG v oblasti sarkomatoidního osteoidu
 Fig. 6. Parosal osteosarcoma, high level of ^{18}F -FDG accumulation in the region of the sarcomatous osteoid

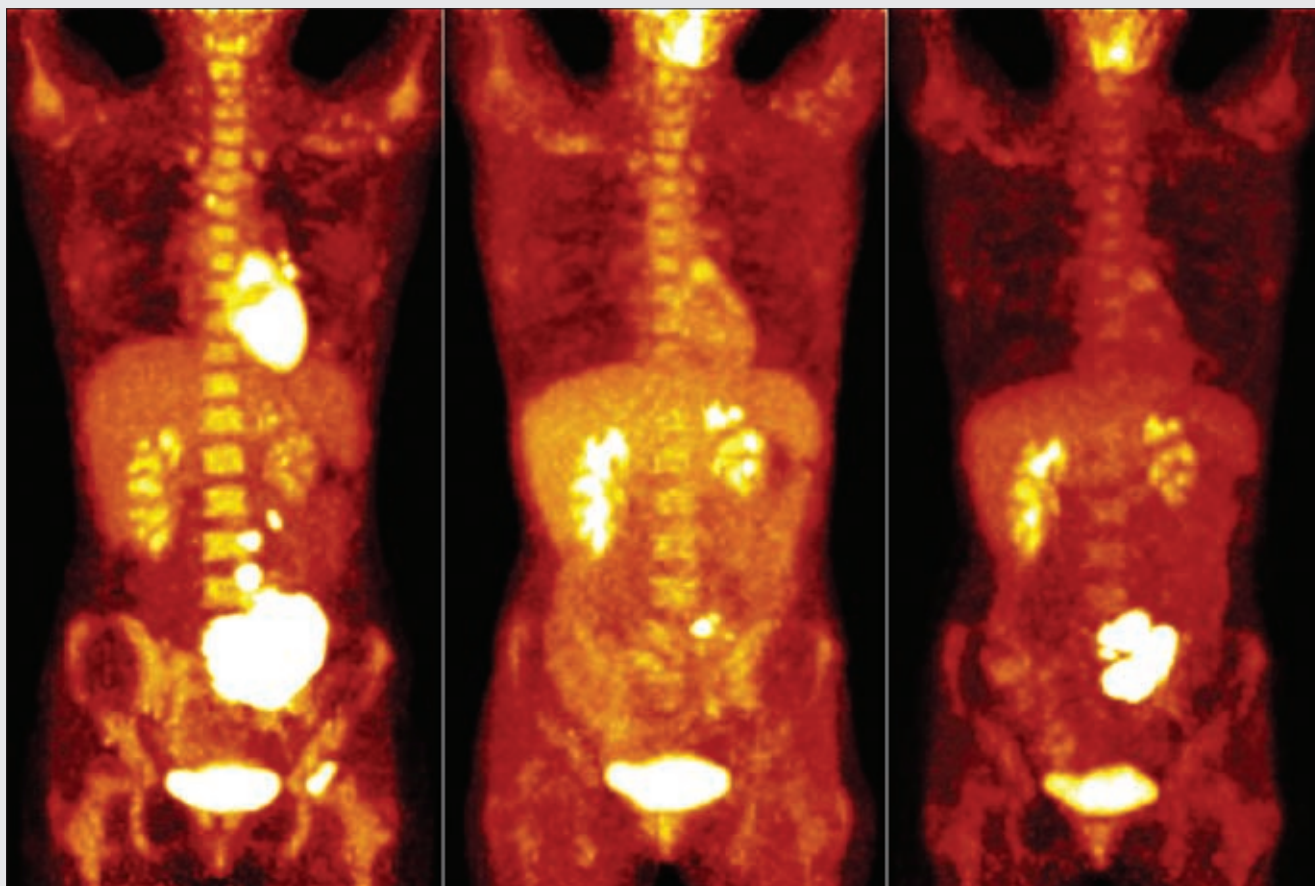


▲ Obr. 7

Obr. 7. Lokální recidiva nediferencovaného pleomorfního sarkomu stehna v seromatu po resekci nádoru
 Fig. 7. Local recurrence of the pleomorphic dedifferentiated sarcoma of the thigh in the seromatous collection after tumor resection

z krve, na které se podílí neovaskularizace společně s vysokou aktivitou glukózových transportérů a deficitu hexokinázy. Kromě toho je však pozorována vysoká akumulace ^{18}F -FDG také v tkáních, které obsahují aktivní osteoblasty (3), histiocytární elementy (včetně makrofágů), a také aktivované

fibroblasty či buňky leukocytární povahy: neutrofilní leukocyty a lymfocyty z populace natural killers. Kromě benigních kostních nádorů s přítomností nezralé kostní tkáně – metabolicky aktivního nevyzrálého osteoidu, jako jsou osteoblastické nádory (osteoid osteom a osteoblastom) a osteochondrom,



▲ Obr. 8

Obr. 8. Ewingův sarkom (pPNET) sakrální oblasti: vlevo primární staging s metastázami v hlavici levého femuru, v retroperitoneálních a v mediastinálních uzlinách; ve středu relativně – dobrá odpověď na radioterapii a chemoterapii, drobné reziduum, metastázy vymizely; vpravo druhé restagingové vyšetření ukazuje opětovné probuzení aktivity nádoru

Fig. 8. Ewing sarcoma (pPNET) of the sacral region, left: the primary staging with metastases in left femoral head, in mediastinal and retroperitoneal lymph nodes; in the middle: relatively good response to the radiation and chemotherapy, only small tumorous remnants, metastases disappeared; right: second restaging showing the recurrent activation of the tumor

se metabolicky aktivní tkáň s výraznou akumulací ^{18}F -FDG objevuje i oblasti růstových chrupavek u dětí a adolescentů a také u aktivovaných kostních tkání s aktivovanými osteoblasty, jako jsou reparativní změny u zlomenin nebo kostní tkáň reagující na zánět u osteomyelitidy. Porovnání akumulace v osteosarkomu a v osteoblastomu ukazuje, že obrat FDG dosahuje srovnatelných, velmi vysokých hodnot jak u maligních, tak benigních osteogenních lézí, kdy maximální hodnoty SUV přesahují hodnoty 15 (obr. 1, 2).

Mezi nádory měkkých tkání převažují vysoce maligní sarkomy. Vyznačují se rovněž výraznou neovaskularizací, vysokou aktivitou glukózových přenašečů i deficitem hexokinázy. Nižší extrakce v cystických a myxoidních částech tumorů je způsobena pasivním transportem. Příkladem je nehomogenní distribuce ^{18}F -FDG v nádorech s myxoidní přestavbou.

Z hlediska prognózy onemocnění má význam hodnocení stupně akumulace ^{18}F -FDG u některých nádorů (6). U osteogenního sarkomu relativně nižší úroveň odpovídající low-grade sarkomu znamená mnohem horší pravděpodobnost úspěchu neoadjuvantní léčby. Druhým nádorem, u něhož je významné hodnocení akumulace ^{18}F -FDG, je liposarkom (7). Při histologicky stanovené diagnóze je významné porovnání akumulace ^{18}F -FDG a histologického gradingu, zatím-

co u low-grade liposarkomů je zvýšená akumulace ^{18}F -FDG špatným prognostickým faktorem, u high-grade jde naopak o známku dobré odpovědi na neoadjuvantní terapii.

Jak se podle rozsahu diseminace liší léčba maligních nádorů? V našem souboru dokumentují rozdílný přístup k terapii tři případy nádorů měkkých tkání. U světlobuněčného sarkomu Achillovy šlachy u ženy staršího středního věku byla možná radikální resekce nádoru, po adjuvantní terapii je 2 roky bez příznaků rekurence nádorového onemocnění. U mladého muže byl histologicky prokázán leiomyosarkom lýtky, při PET/CT bylo zásadní prokázání solitární vzdálené hematogenní metastázy do plic. Kromě amputace končetiny byla provedena klínovitá resekce plicní metastázy a provedena chemoterapie, nemocný dosáhl úplné remise trvající dosud 3 roky. Pokud je přítomná mnohočetná diseminace, je radikální chirurgická léčba nemožná a je indikována jen paliativní chemoterapie.

Zásadní je role ^{18}F -FDG-PET/CT v posuzování efektu terapie, a to jak časný restaging, resp. tzv. „therapy response assessment“, a dále restaging ve vlastním slova smyslu, tedy po ukončení onkologické léčby. Vzhledem k tomu, že sarkomy měkkých tkání rostou obvykle velmi rychle a také jsou schopny velmi rychle tvořit metastázy krevní cestou, bývá často

nutné provádět velmi časné kontroly již časné po provedení resekce nádoru (5, 8). I když hodnocení lokálního nálezu je do jednoho měsíce od operace výrazně snižené, objevuje-li se objemná kolekce tekutiny s nodulárním zesílením ve stěně a mírné zvýšení akumulace ^{18}F -FDG stejně jako zvýšení akumulace ^{18}F -FDG ve spádových lymfatických uzlinách, je možné usuzovat na možnost recurence. Při podezření na lokální reziduum či recidivu nádoru je výhodné k odlišení pooperačních změn je provést další doplňující kontrolu v odstupu 1–2 měsíce po časné kontrole (obr. 7) – jedná se především o nemocné s pleomorfním dediferencovaným sarkomem (dříve zahrnovaných pod souhrnnou diagnózu maligní fibrózní histiocytom). Pooperační změny bývají pruhovitého charakteru a jejich akumulace se při další kontrolním vyšetření snižuje. Pokud dochází u pleomorfních dediferencovaných sarkomů k lokální progresi, je častým jevem současná metachronní diseminace do plicní tkáně.

Alternativní radiofarmaka pro pozitronovou emisní tomografii nenalezla dosud u muskuloskeletálních nádorů větší uplatnění, neboť nevykazují vysoký obrat ve vlastní tkáni některých typů, akumulují se vysoce v kostní dřeni – oboje platí pro 18-F-fluorothymidin (^{18}F -FLT), nebo se akumulují jen v kostní tkáni s aktivitou kostní přestavby (^{18}F). Proto dominantním radiofarmakem současnosti a blízké budoucnosti zůstává ^{18}F -FDG.

ZÁVĚR

Závěrem lze shrnout, že pro PET/CT je vhodnou indikací staging PNET, staging a stanovení proliferativní aktivity osteogenního SA a dále staging, hodnocení účinku terapie tumorů měkkých tkání, význam má i pro odlišení maligní a benigní léze.

LITERATURA

1. **Murphey MD.** World Health Organization classification of bone and soft tissue tumors: modifications and implications for radiologists. *Semin Musculoskelet Radiol* 2007; 11(3): 201–214.
2. **Fletcher CD.** The evolving classification of soft tissue tumours: an update based on the new WHO classification. *Histopathology* 2006; 48(1): 3–12.
3. **Kole AC, Nieweg OE, Hoekstra HJ, van Horn JR, Koops HS, Vaalburg W.** Fluorine-18-fluorodeoxyglucose assessment of glucose metabolism in bone tumors. *J Nucl Med* 1998; 39(5): 810–815.
4. **Iagaru A, Masamed R, Chawla SP, Menendez LR, Fedenko A, Conti PS.** F-18 FDG PET and PET. CT evaluation of response to chemotherapy in bone and soft tissue sarcomas. *Clin Nucl Med* 2008; 33(1): 8–13.
5. **Franzius C, Schulte M, Hillmann A, Winkelmann W, Jürgens H, Bockisch A, Schöber O.** Clinical value of positron emission tomography (PET) in the diagnosis of bone and soft tissue tumors. 3rd Interdisciplinary Consensus Conference „PET in Oncology“: results of the Bone and Soft Tissue Study Group *Chirurg* 2001; 72(9): 1071–1077.
6. **Schulte M, Brecht-Krauss D, Heymer B, et al.** Grading of tumors and tumor-like lesions of bone: evaluation by FDG PET. *J Nucl Med* 2000; 41(10): 1695–1701.
7. **Brenner W, Eary JF, Hwang W, Vernon C, Conrad EU.** Risk assessment in liposarcoma patients based on FDG PET imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2006; 33(11): 1290–1295.
8. **Dimitrakopoulou-Strauss A, Strauss LG, Schwarzbach M, Burger C, Heichel T, Willeke F, Mechttersheimer G, Lehnert T.** Dynamic PET 18F-FDG studies in patients with primary and recurrent soft-tissue sarcomas: impact on diagnosis and correlation with grading. *J Nucl Med* 2001; 42(5): 713–720.