

Tratamiento con interferón y ribavirina de la hepatitis crónica por virus C en pacientes con infección por VIH

I. SANTOS GIL, J. SANZ SANZ

Servicio de Medicina Interna-Infeciosas. Hospital Universitario de la Princesa. Universidad Autónoma. Madrid

TREATMENT WITH INTERFERON AND RIBAVIRIN OF CHRONIC HEPATITIS C IN HIV-INFECTED PATIENTS

RESUMEN

Introducción: Actualmente, las complicaciones de la hepatitis crónica por virus C en pacientes infectados por el VIH son la causa más importante de morbilidad, mortalidad e ingreso hospitalario en estos pacientes. Estos hechos han conducido a que cada vez sea más prioritario el tratamiento de la hepatitis crónica en este tipo de pacientes.

Pacientes y método: Hemos evaluado la eficacia y seguridad del tratamiento de la hepatitis crónica por VHC en pacientes infectados por VIH, con interferón (IFN) 3 MU 3 veces por semana por vía subcutánea y ribavirina (RBV) en comprimidos de 200 mg en dosis dependiente del peso, durante 24 semanas para genotipo 2 ó 3 y 48 semanas para genotipo 1 ó 4. Todos los pacientes tenían más de 150 CD4/ μ l y carga viral de VIH <50.000 copias/ml, con o sin tratamiento antirretroviral. Se consideró respuesta sostenida si el ARN-VHC era indetectable 24 semanas después de finalizar el tratamiento.

Resultados: Hemos incluido 28 pacientes infectados por ambos virus, con edad media de 36,6 años. El 82% estaban con tratamiento antirretroviral que incluía AZT en el 60%. La distribución por genotipos fue: 1 en 14 (50%), 3 en 10 (35,7%), 4 en 3 (10,7%) y 2 en 1 (3%). Todos los pacientes tenían realizada biopsia hepática. Hubo 5 abandonos de tratamiento (17,8%) debido a efectos adversos. Se observó respuesta sostenida "por intención de tratamiento" en el 25,8% de los pacientes (50% para genotipo 3 y 14% para genotipo 1).

Discusión: La eficacia del tratamiento combinado con IFN y RBV en la hepatitis crónica de los pacientes coinfectados por VHC y VIH es menor que la descrita para pacientes VIH negativos, aunque la tolerancia y seguridad son similares. Las nuevas formas de IFN (pegilado) abren una nueva posibilidad para optimizar el tratamiento de estos pacientes.

PALABRAS CLAVE: Hepatitis crónica C. Virus de inmunodeficiencia humana. Interferón. Ribavirina.

ABSTRACT

Background: The rapid progression of chronic hepatitis C (CHC) in HIV-infected patients is now the most important cause of morbidity, mortality and hospital admissions. In order to avoid this evolution, the treatment of CHC is a major challenge in these patients.

Patients and method: The aim of this study is to evaluate the safety and efficacy of treatment of CHC in HIV-infected patients with subcutaneous IFN (3 MU 3 times a week) plus Ribavirin (RBV) administered per os depending on their body weight, for 24 weeks for genotype 2 or 3 and 48 weeks for genotype 1 or 4. All the patients have a CD4 count over 150 cells/ μ l and HIV viral load < 5,000 copies/ml, with or without antiretroviral treatment. We defined sustained response as RNA-VHC below level of detection 24 weeks after the end of treatment.

Results: We included 28 patients in the study, with median age of 36,6 y.o. 81% of the patients were on antiretroviral treatment, with AZT in 60% of them. Genotype distribution was HCV-1 in 50%, HCV-3 in 35,7%, HCV-4 in 10,7% and HCV-2 in 3%. Liver biopsy was performed in all the patients. Adverse events leading to treatment discontinuation occurred in 5 patients (17,8%). The overall sustained response rate in the intent-to-treat analysis was 25,8% (50% for genotype 3 and 14% for genotype 1).

Conclusion: This therapy provides cure in a rate significantly lower than that seen in HCV-monoinfected individuals, with a similar safety. The modern formulations of IFN (pegylated) will provide new expectatives in this group of patients.

KEY WORDS: Chronic hepatitis C. Human immunodeficiency virus. Interferon. Ribavirin.

Santos Gil I, Sanz Sanz J. Tratamiento con interferón y ribavirina de la hepatitis crónica por virus C en pacientes con infección por VIH. An Med Interna (Madrid) 2004; 21: 369-372.

INTRODUCCIÓN

Debido a las vías de transmisión similares tanto para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) como para el virus de la hepatitis C (VHC), la asociación de ambas infec-

ciones en el mismo paciente es una situación que se observa con elevada frecuencia en la práctica clínica. Esta frecuencia varía según la vía de transmisión de ambos virus, y aparece hasta en el 95% de los pacientes en los que la transmisión ha sido por vía parenteral (fundamentalmente drogadictos por vía

Trabajo aceptado: 17 de marzo de 2004

Correspondencia: Ignacio Santos Gil. Servicio de Medicina Interna-Infeciosas. Hospital Universitario de la Princesa. C/ Diego de León, 62. e-mail: isantosg@hotmail.com. 28006 Madrid

Trabajo realizado en el marco de la cooperación de la Red Temática Cooperativa de Investigación en SIDA (RIS) (Red de grupos 173) del FISs.

intravenosa) y es del 4-8% cuando la vía de transmisión ha sido por relaciones sexuales (homosexuales o heterosexuales) (1-3). En nuestro medio, la mayor frecuencia de pacientes VIH+ corresponde a drogadictos, por lo que la tasa de infección simultánea por VHC es muy elevada.

Antes de la introducción del tratamiento antirretroviral de gran eficacia, la causa más frecuente de morbilidad y mortalidad de los pacientes con infección por VIH era la asociada a la inmunodepresión. Actualmente, las complicaciones de la hepatitis crónica por virus C son las causas más importantes de morbilidad y mortalidad y de ingreso hospitalario en estos pacientes en los países desarrollados (4-7), donde también se ha documentado una progresión más rápida a cirrosis y a aparición de hepatocarcinoma (8). Todos estos hechos motivan que el tratamiento de la hepatitis crónica por virus C se considere en una gran cantidad de pacientes infectados por VIH. Y de aquí han surgido diversas publicaciones que recogen los resultados del tratamiento de esta hepatitis. El objetivo del presente artículo es comunicar nuestra experiencia en el tratamiento de la hepatitis crónica por virus C de pacientes infectados por el VIH.

PACIENTES Y MÉTODOS

PACIENTES

El estudio se realizó entre diciembre de 2000 y julio de 2002 en nuestra consulta de pacientes VIH, que atiende una población de 800 pacientes infectados por este virus. Ningún paciente había sido tratado previamente con interferón (IFN) y los criterios para iniciar tratamiento incluyeron: edad mayor de 18 años, aumento de transaminasas durante más de 6 meses, serología positiva para VHC, determinación positiva en suero de ARN del VHC y biopsia hepática donde se demostrara la presencia de hepatitis crónica.

Los criterios para no iniciar tratamiento fueron los que se definen en las fichas técnicas de IFN y ribavirina (RBV), entre los que destacan plaquetas < 75.000 células/ μ L, hemoglobina <11 g/dL en mujeres y 12 en varones, recuento de neutrófilos <1.500 células/ μ L, historia de enfermedad psiquiátrica grave no controlada o de enfermedad autoinmune. Los pacientes con cirrosis descompensada se excluyeron del tratamiento y también si estaban consumiendo más de 40 g de alcohol al día o con adicción activa a drogas (se permitió el tratamiento sustitutivo con metadona).

Con respecto a la infección por VIH, sólo se indicó tratamiento para la hepatitis C si estaban bien controlados, con los siguientes criterios: cifra de CD4 > 150 células/ μ L y carga viral del VIH <50.000 copias/ml, con o sin tratamiento antirretroviral.

El tratamiento se llevó a cabo con IFN alfa-2b y RBV. El IFN se administró a dosis de 3 millones de unidades, por vía subcutánea, 3 días en semana (lunes, miércoles y viernes) y la RBV se administró en comprimidos de 200 mg, diariamente por vía oral a dosis de 1.000 mg/día si el paciente pesaba menos de 75 kg, y 1.200 mg/día si el peso era mayor de 75 kg. Este tratamiento se mantuvo durante 6 meses en los pacientes con genotipo 2 ó 3, y durante 12 meses en los infectados con los genotipos 1 ó 4 si al sexto mes de tratamiento la determinación del ARN-VHC era indetectable. Si en ese momento era positiva esta determinación, se suspendía el tratamiento.

Determinaciones analíticas. La determinación basal del ARN del VHC se realizó con un método comercial (Cobas Amplicor HCV Monitor; Roche, Barcelona), con límite de detección de 600 UI/ml. El genotipo del virus C también se realizó con una técnica comercial (LiPA HCV II; Bayer, Barcelona). Las determinaciones posteriores del ARN-VHC se realizaron con una técnica cualitativa (Cobas Amplicor HCV; Roche, Barcelona) con límite de detección de 60 UI/ml. Esta determinación se realizó al finalizar el tratamiento y 6 meses después. Si al finalizar el tratamiento la viremia del VHC era indetectable, se consideraba como respuesta de fin de tratamiento. Si a los 6 meses después de finalizar el tratamiento la viremia del VHC era indetectable, se consideraba como respuesta sostenida.

Después de iniciado el tratamiento, los pacientes se revisaron en la semana 2, 4, 6 y 8 y posteriormente cada 2 meses hasta los 6 meses siguientes a la finalización del tratamiento, realizándose determinaciones de hemoglobina, plaquetas, leucocitos y transaminasas. El recuento de linfocitos CD4 y la carga viral del VIH se determinaron cada 2 meses hasta los 6 meses siguientes a la finalización del tratamiento. También se determinaron las hormonas tiroideas antes de iniciar el tratamiento, al finalizarlo y 6 meses después.

Análisis estadístico. Los resultados se expresan en valores absolutos y porcentaje. El porcentaje de respuesta se estima por "intención de tratamiento" (abandonos=fracasos).

RESULTADOS

Durante el periodo de estudio se han tratado un total de 28 pacientes (82% varones, 18% mujeres) con una edad media de 36,6 años. 24 pacientes habían contraído la infección a través del consumo de drogas por vía parenteral y 4 por relaciones heterosexuales. El 82% de los pacientes (23) estaban con tratamiento antirretroviral, 17 de ellos con triple terapia y 6 con doble terapia, que incluía: AZT en 14 (60%), 3TC en 16 (69%), D4T en 9 (39%), DDI en 5 (21%), Nelfinavir en 5 (21%) y otros fármacos en menor porcentaje. La distribución de pacientes por genotipo del VHC fue: genotipo 1 en 14 (50%), 3 en 10 (35,7%), 4 en 3 (10,7%) y 2 en 1 (3%). La media del ARN-VHC al comienzo del tratamiento fue de 2.300.000 UI/ml. Todos los pacientes tenían biopsia hepática previa al inicio del tratamiento, la mayoría con fibrosis grado 2 (20 pacientes, 71%), 6 con fibrosis grado 3 y 2 con fibrosis grado 1. La media de linfocitos CD4 al comienzo del tratamiento fue de 606, con un rango entre 180 y 1.186 células/ μ L. La carga viral del VIH era indetectable (<50 copias/ml) en 19 pacientes (67%) y en el resto no pasaba de 5.000 copias/ml.

Ningún paciente fue pérdida de seguimiento y hubo un total de 5 abandonos (17,8%), debido a efectos adversos de la medicación (Tabla I). El efecto adverso más grave ocurrió en un paciente que se suicidó al 5º mes de tratamiento, tras presentar cuadro depresivo que motivó su ingreso en el Servicio de Psiquiatría. Durante este ingreso, se suspendió el tratamiento con IFN y RBV. Después del alta del hospital, el paciente se suicidó.

Prácticamente todos los pacientes presentaron algún efecto adverso, de mayor o menor intensidad, que en algunos pacientes se prolongaron hasta finalizar el tratamiento e incluso algunas semanas después. Los más frecuentes fueron los síntomas pseudo-gripales o "flu-like", según se expone en la tabla II.

TABLA I

EFECTOS SECUNDARIOS QUE OBLIGARON A SUSPENDER EL TRATAMIENTO

Paciente	Efecto secundario	Tiempo de tratamiento
1	Síntomas pseudogripales	Semana 1
2	Anemia	Semana 1
3	Fiebre	Semana 6
4	Cefalea intensa	Semana 8
5	Suicidio	Mes 5

TABLA II

EFECTOS SECUNDARIOS MÁS FRECUENTES

Efecto secundario	Frecuencia
Astenia	67%
Mialgias	50%
Insomnio	32%
Fiebre	53%
Pérdida de peso	28%
Anorexia	7%
Náuseas	14%
Cefalea	10%
Depresión	3%

Sólo una paciente abandonó el tratamiento por anemia, llegando a 7 g/dl de hemoglobina tras la primera semana de tratamiento, aunque no fue necesaria transfusión. Otros 3 pacientes necesitaron disminuir temporalmente la dosis de RBV a la mitad por aparición de anemia, con descenso mayor de 3 g/dl en la cifra de hemoglobina, entre la segunda y tercera semana de tratamiento, pudiendo volver a aumentarla a la dosis inicial entre 3 y 4 semanas después. Estos 4 pacientes estaban con tratamiento antirretroviral que incluía AZT entre otros.

En ningún caso hubo progresión de la infección por VIH, no apareciendo ningún tipo de infección oportunista, aunque la cifra absoluta de linfocitos CD4 disminuyó en todos los pacientes, permaneciendo estable el porcentaje, con vuelta a los valores basales a las pocas semanas de suspender el tratamiento de la hepatitis C. La cifra de carga viral del VIH no sufrió ninguna modificación.

Se observó respuesta al final del tratamiento en 10 pacientes (43%) de 23 que finalizaron el tratamiento, ocurriendo recaída en 2 pacientes en los 6 meses siguientes a finalizar el tratamiento, uno con genotipo 2 y otro con genotipo 3, por lo que la respuesta sostenida fue del 34,7% (8 de 23). Si se analizan los datos por intención de tratamiento, la respuesta al final del tratamiento fue del 35,7% (10 de 28) y la respuesta sostenida del 28,5% (8 de 28) (Tabla III).

Al analizar los datos según el genotipo del virus C, de los 10 pacientes que respondieron al final del tratamiento, 6 eran de genotipo 3 (60%), 2 de genotipo 1, 1 de genotipo 4 y otro de genotipo 2. Y de los 8 pacientes con respuesta sostenida, 5 eran de genotipo 3 (62%), 2 de genotipo 1 y 1 de genotipo 4. En datos por intención de tratamiento, de los 14 pacientes con genotipo 1, sólo 2 tuvieron respuesta sostenida (14%), mientras que de los 10 pacientes con genotipo 3 que empezaron tratamiento, 5 presentaron respuesta sostenida (50%) (Tabla IV).

TABLA III

RESPUESTA VIROLÓGICA CON PORCENTAJE DE PACIENTES CON ARN-VHC INDETECTABLE (< 60 UI/ML)

Tiempo	Análisis "en tratamiento"	Análisis por "intención de tratamiento"
Final del tratamiento (24 semanas para genotipo 2-3 y 48 para genotipo 1-4)	10/23 (43%)	10/28 (35,7%)
Respuesta sostenida (6 meses después de finalizar el tratamiento)	8/23 (34,7%)	8/28 (28,5%)

TABLA IV

RESPUESTA VIROLÓGICA CON PORCENTAJE DE PACIENTES CON ARN-VHC INDETECTABLE (< 60 UI/ML), SEGÚN GENOTIPO

Genotipo	Nº	Respuesta fin de tratamiento	Respuesta sostenida
Genotipo 1	14	2 (14,2%)	2 (14,2%)
Genotipo 2	1	1 (7,1%)	0
Genotipo 3	10	6 (60%)	5 (50%)
Genotipo 4	3	1 (33%)	1 (33%)

DISCUSIÓN

Los objetivos del tratamiento de la hepatitis C crónica son, por un lado, la disminución de la morbimortalidad asociada a enfermedad hepática terminal y la disminución del riesgo de transmisión, y por otro, la erradicación de la infección por VHC y la mejora de la lesión histológica. Con este propósito, se realizaron hace varios años estudios con IFN en monoterapia, obteniendo unos resultados muy pobres, con respuesta sostenida entre el 6 y el 13 % de los pacientes (9,10). Posteriormente se investigó con la terapia combinada con IFN y RBV y el porcentaje de respuesta sostenida se elevó al 41% (11).

Estos resultados pusieron de manifiesto que un elevado porcentaje de pacientes podrían beneficiarse del tratamiento, por lo que comenzaron a hacerse estudios en pacientes coinfectados por VIH y VHC, en principio con IFN en monoterapia, con respuesta sostenida de apenas un 15%, y posteriormente con la combinación de IFN y RBV. Entre estos estudios cabe destacar el realizado por Landau y cols. (12) sobre 51 pacientes, con respuesta sostenida global del 20%, el de Saulea y cols. (13) en 20 pacientes que llega a una respuesta sostenida del 40%, y el de Nasti y cols. (14) con respuesta sostenida del 19% en 17 pacientes. Posteriormente se han comunicado otras series en forma de abstracts de congresos con respuestas sostenidas que oscilan entre 18-23%.

En nuestra serie, el porcentaje de respuesta sostenida fue del 28,5%, similar a las series comentadas, con mejor respuesta para el genotipo 3, como ya también se ha publicado. En cuanto al porcentaje de pacientes que tienen que abandonar el tratamiento por efectos secundarios, también nuestra serie se iguala a otras publicadas, que oscilan entre el 15-20%.

Recientemente se han publicado los resultados del tratamiento con una nueva forma de IFN, el IFN pegilado, en combinación con RBV, en pacientes no infectados por VIH, y el porcentaje de respuesta sostenida se ha elevado de manera significativa, llegando al 54-56% para el genotipo 1 y al 76-82% para el genotipo 3 (15,16). Esto ha llevado a empezar ensayos con esta combinación en pacientes coinfectados VHC-VIH, como el publicado por Pérez-Olmeda M y cols. (17) en 68 pacientes, donde obtienen una tasa de respuesta sostenida global del 35%. Otras series de pacientes se han comunicado en diversos Congresos, con resultados similares, entre el 20-26% (18,19).

Como vemos, estos porcentajes son sensiblemente inferiores a los obtenidos en pacientes no infectados por el VIH, y se han barajado diversas causas para su explicación: grado de fibrosis hepática más avanzado, mayor frecuencia de esteatosis hepática, valores mayores de viremia, retraso en el aclaramiento inicial del ARN-VHC, mayor frecuencia de recidivas, mayor frecuencia de efectos adversos y peor cumplimiento de la medicación.

En cualquier caso, está claro que los pacientes coinfectados por el VHC y por el VIH presentan un riesgo aumentado de

progresión de su enfermedad hepática, no sólo por las posibles interacciones patogénicas entre ambos virus, sino también por el aumento de la supervivencia en la infección por VIH. Todo esto hay que tenerlo en cuenta a la hora de enfrentarnos a este tipo de pacientes, y pensar en la necesidad de tratar de forma precoz la infección por el VHC, como ya se ha puesto de manifiesto en los diferentes Consensos de Tratamiento que se han publicado sobre este tema (20,21). Aún hay muchos puntos sin aclarar sobre el tratamiento óptimo en estos pacientes, y partiendo de la base de los estudios realizados en pacientes sin infección por VIH, las futuras investigaciones deben incluir el análisis cuidadoso del efecto del VIH sobre la fibrosis hepática, las interacciones "in vitro" e "in vivo" entre el VIH y el VHC, así como las interacciones entre el tratamiento antirretroviral y el de la hepatitis C, estudiar la historia natural de la infección por VHC en los pacientes con infección por VIH, seguir con los estudios con el tratamiento combinado actual, y otros aspectos como la posibilidad de incluir a los pacientes con cirrosis descompensada en los programas de trasplante hepático (22). Actualmente, nuestro grupo está trabajando con la combinación de IFN pegilado y RBV y esperamos tener datos de respuesta sostenida en un breve plazo.

Bibliografía

- Alfonso R, Hurtado I, Espacio A et al. Risks behaviours and seroprevalence to HIV, HBV and HCV in patients of the AIDS information and prevention center in Valencia, Spain. *Gac Sanit* 1999; 13: 16-21.
- Jiménez X, Carballo A, Batalla C et al. The prevalence of infection by the hepatitis B, C and human immunodeficiency viruses in drug users. *Aten Primaria* 1999; 24: 368-371.
- Staples CT, Rimland D, Dudas D. Hepatitis C in the HIV (human immunodeficiency virus) Atlanta V.A. (Veterans Affairs Medical center) Cohort Study (HAVACS): the effect of coinfection on survival. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 150-154.
- Bica I, McGovern B, Dhar et al. Increasing mortality due to end stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 492-497.
- Graham CS, Baden LR, Yu E, et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 562-569.
- Puoti M, Spinetti A, Ghezzi A, et al. Mortality for liver disease in patients with HIV infection: a cohort study. *J Acquir Immun Def Syndr* 2000; 24: 211-7.
- Martín-Carbonero L, Soriano V, Valencia ME, García-Samaniego J, López M, González-Lahoz J. Impact of chronic viral hepatitis on hospital admission and mortality in HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2001; 17: 1467-71.
- Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in HIV and HCV coinfecting patients. *Hepatology* 1999; 30: 1054-1058.
- McHutchison J, Gordon S, Schiff E, et al. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485-1492.
- Poynard T, Marcellin P, Lee S, et al. Randomised trial of interferon alpha 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-1432.
- Zeuzem S, Feinman S, Rasenack J, et al. Peginterferon alpha-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000; 343: 1666-1672.
- Landau A, Batisse D, Piketty C et al. Long-term efficacy of combination therapy with interferon-a2b and ribavirin for severe chronic hepatitis in HIV-infected patients. *AIDS* 2001; 15: 2149-2155.
- Sauleda S, Juárez A, Esteban JI, et al. Interferon and Ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus-infected patients with congenital coagulation disorders. *Hepatology* 2001; 34: 1035-1040.
- Nasti G, Di Gennaro G, Tavio M et al. Chronic Hepatitis C in HIV infection: feasibility and sustained efficacy of therapy with interferon alpha-2b and ribavirin. *AIDS* 2001; 15: 1783-1787.
- Fried MW, Shiffman ML, Reddy R et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-982.
- Manns M, McHutchison J, Gordon S, et al. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin compared with interferon alpha-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 958-965.
- Pérez-Olmeda M, Núñez M, Romero M et al. Pegylated IFN-alpha2b plus ribavirin as therapy for chronic hepatitis in HIV-infected patients. *AIDS* 2003; 17: 1023-1028.
- Goelz J, Klausen G, Moil A et al. Efficacy and tolerance of therapy with IFN-alpha/RBV and pegIFN-alpha/RBV in HIV/HCV-coinfecting IVDUs. XIV International AIDS Conference. Abstract MoPeB3258. Barcelona 2002.
- Voigt E, Schulz C, Mauss S et al. Factors related to outcome of treatment with pegylated Interferon alpha 2b (PEG INF) plus Ribavirin (RBV) in HCV/HIV-co-infected patients. 2nd IAS Conference on HIV Pathogenesis and Treatment. Abstract 976. Paris 2003.
- García-Samaniego J, Soriano V, Miró JM et al. Management of chronic viral hepatitis in HIV-infected patients: Spanish Consensus Conference. *HIV Clin Trials* 2002; 3: 99-114.
- NIH Consensus Conference. Management of Hepatitis C: 2002. Bethesda, June 10-12, 2002.
- Thomas DL. Hepatitis C and Human Immunodeficiency Virus Infection. *Hepatology* 2002; 36: S201-S209.