



М.М. Савула¹, І.А. Мартинюк¹, С.М. Похиляк²,
Н.М. Лопушанська²

¹ ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського»

² Тернопільський обласний комунальний протитуберкульозний диспансер

Вільний гістамін у плазмі крові хворих на туберкульоз легень з побічними реакціями на протитуберкульозні препарати

Мета роботи — вивчити рівень вільного гістаміну у плазмі крові хворих на туберкульоз легень, у яких виникли побічні реакції на протитуберкульозні препарати (ПТП).

Матеріали та методи. Рівень вільного гістаміну в плазмі визначали за імуноферментним методом у 20 хворих на туберкульоз легень з побічними реакціями (19 отримували препарати I ряду) і у 10 пацієнтів контрольної групи.

Результати та обговорення. Побічні реакції виявляли частіше в осіб старших вікових груп і з супровідними захворюваннями. Переважали алергійні і диспепсичні симптоми. Підвищений рівень гістаміну встановлено у 50 % осіб, які добре переносили лікування, і у 80 % хворих з побічними реакціями на ПТП, хоча в останніх рівень гістаміну в плазмі крові був у середньому вищим. Обговорено механізми підвищення рівня гістаміну в плазмі крові пацієнтів обох груп.

Висновки. З огляду на підвищення рівня гістаміну як у хворих з побічними реакціями на протитуберкульозні препарати, так і у тих, що добре переносили лікування, а також можливий вплив ізоніазиду на інактивацію цього медіатора, доцільне подальше детальне вивчення метаболізму гістаміну при туберкульозі, зокрема у хворих, які не отримують ізоніазиду.

Ключові слова

Протитуберкульозні препарати, побічні реакції, гістамін.

Гістамін — важливий біогенний амін, який утворюється в процесі декарбоксилювання гістидину гістидин-декарбоксилазою. Бере участь у регулюванні багатьох функцій організму, зокрема процесів запалення, імунних реакцій. Як місцевий регулятор кровопостачання тканин миттєво вивільняється у відповідь на брак кисню в будь-якій ділянці, забезпечуючи притілів крові [3, 4]. Важливий медіатор алергії негайного типу (поряд із серотоніном, брадикиніном, гепарином), хоча, власне, всі типи алергійних реакцій супроводжуються підвищенням його рівня [6, 10, 13]. У різних концентраціях міститься в мозку, внутрішніх органах, рідинах організму, крові, секретах. Найбільша кількість гістаміну зосереджена в легенях, шкірі, а також травному каналі, в мастоцитах і базофілах, де він

перебуває в комплексі з гепарином і протеоглікановим матриксом цитоплазматичних гранул. У процесі активації або руйнування цих клітин вивільнюється разом із медіаторами запалення — лейкотрієнами, цитокінами, ферментами [3].

Фармакологічну дію гістаміну опосередковують 4 типи гістамінових receptorів. У алергійних реакціях беруть участь H₁- і H₂-гістамінові receptorи [2, 4], що містяться в різних органах і тканинах. Стимулювання H₁-receptorів супроводжується скороченням гладеньких м'язів бронхів, жовчного міхура, травного каналу (спазми), збільшенням проникності судин (набряк), секреції залоз слизової оболонки носа, розширенням судин і свербінням шкіри. Стимулювання H₂-receptorів спричиняє підвищення секреції слизи і шлункового соку та його кислотності, скорочення м'язів стравоходу, збільшення утворення слизу в дихальних шляхах, розслаблення м'язів матки і жовчного міхура та ін.

© М.М. Савула, І.А. Мартинюк, С.М. Похиляк,
Н.М. Лопушанська, 2014

Вивільнення гістаміну з мастоцитів і базофілів у разі алергії може відбуватися внаслідок як імунологічних механізмів (JgE-залежних), так і неімунологічних впливів (псевдоалергія). Неімунологічні чинники можуть безпосередньо діяти на мастоцити і базофіли, спричинюючи їхнє руйнування і вивільнення гістаміну та інших медіаторів (неселективні чинники), або ж впливають на клітини через їхні рецептори (селективні). Неселективну дію можуть мати такі фізичні чинники, як іонізуюча радіація, рентгенівські та ультрафіолетові промені, ультразвук [1]. Серед хімічних чинників – детергенти, кислоти, органічні розчинники. Селективний ефект характерний для деяких антибіотиків, кровозамінників, бджолиної отрути, продуктів життєдіяльності глистів, протеаз, рентгеноконтрастних препаратів тощо. Так, уже через 1 хв після введення рентгеноконтрастної речовини концентрація гістаміну в крові збільшується в 14–64 рази. Причиною збільшення концентрації гістаміну в крові може бути споживання продуктів гістаміноліберантів – риби, томатів, яєчного білка, полуниці, суніці, шоколаду. У багатьох продуктах міститься гістидин, похідним якого є гістамін. До них зараховують низку сирів, риби, кальмари, шпинат, консервовані м'ясні і рибні продукти [7].

За нормального функціонування механізмів інактивації рівень вільного гістаміну в крові швидко знижується, в разі ж їхнього порушення виникають хворобливі симптоми. Лише 3 % вільного гістаміну виводиться із сечею, інша частина метаболізується шляхом метилування імідазолтрансферазою або окислення за допомогою діамінооксидази (гістамінази) і лише тоді виводиться із сечею. Важливу роль відіграє також гістамінопексія – зв'язування гістаміну білками крові й глікопротеїдами. Отже, рівень вільного гістаміну в крові, який в нормі не перевищує 1 нг/мл, може зростати в разі надмірної його продукції в організмі, надходження ззовні або зниження інактивації.

У процесі вивчення обміну гістаміну виявили його порушення за низки захворювань [5, 11, 14] – пухлин шлунка і кишок, вірусних гепатитів, цирозу печінки (порушення інактивації), стенокардії, вегето-судинної дистонії (підвищена чутливість мозку до гістаміну), хронічної крапив'янки (зниження активності гістамінази) та ін. [19, 20].

Роль гістаміну в патогенезі туберкульозного запалення вивчено в експерименті на двох групах мишей, одна з яких була позбавлена гістамінсintéзуючого ферменту – гістидиндекарбоксилази [18]. Встановлено, що після інфіку-

вання МБТ в зоні специфічного ураження легень у гостру фазу запалення (28 діб) у інтактних мишей вміст гістаміну зростав у 5 разів порівняно з початковим і лише незначно – у тварин, позбавлених гістамінсintéзуючого ферменту. У гістамінодефіцитних мишей (порівняно з контрольною групою) помічено менший приплив у легені нейтрофілів і знижене вивільнення прозапальних медіаторів (IL-6, TNF- α). Натомість у осередку запалення у них спостерігається рясна лімфоцитарна інфільтрація і вищий вміст CD4 $^{+}$ Т-клітин, а кількість МБТ була меншою. Зростала також продукція IL-12, гамма-інтерферону, азоту оксиду. Все це ілюструє тісний взаємозв'язок між гістаміном і імунологічними реакціями. Автори доходять висновку, що мікобактеріальна інфекція індукує синтез гістаміну, який послаблює захисний Th1 імунітет і посилює запальну реакцію.

З результатами цього експерименту співзвучні дані дослідження, проведеного у хворих на туберкульоз, під час якого виявлено підвищений рівень вільного гістаміну в крові [15]. Одночасно помітно зростала активність діамінооксидази і незначно – гістамінопексії, що вказує на одночасне ввімкнення механізмів інактивації гістаміну. У разі алергійних реакцій на протитуберкульозні препарати (стрептоміцин, етамбутол, фтивазид, ПАСК-натрію) рівень гістаміну підвищувався ще більше і одночасно знижувався показник гістамінопексії, що вказує на порушення інактивації гістаміну шляхом його зв'язування з білками [16].

На сьогодні такі препарати, як фтивазид, ПАСК-натрію, практично не використовують для лікування вперше діагностованого туберкульозу, а стрептоміцин застосовують рідко, тому доцільно вивчати рівень гістаміну в плазмі крові хворих, яких лікують за сучасними уніфікованими протоколами.

Мета роботи – вивчити рівень вільного гістаміну в плазмі крові хворих на туберкульоз легень, у яких виникли побічні реакції на протитуберкульозні препарати.

Матеріали та методи

Вільний гістамін у плазмі крові визначали за імуноферментним методом (HISTAMINE – ELISA LDN, Німеччина) у 20 хворих на активний туберкульоз легень, у яких протягом липня – листопада 2013 р. виникали побічні реакції на протитуберкульозні препарати (ПТП). З метою контролю аналогічне дослідження проведено у 10 пацієнтів, які добре переносили лікування (контроль). Для уникнення можливого впливу на результати дослідження додаткових чинників

у цю групу не вводили осіб із тяжкими супровідними захворюваннями і таких, що зловживали алкогольними напоями. В обох групах переважали чоловіки. 29 осіб з уперше діагностованим туберкульозом легень (ВДТБЛ) зараховано до 1-ї категорії, і лише у 1 (із групи пацієнтів з побічними реакціями) виявлено мультирезистентний туберкульоз легень (МРТБЛ) – 4-та категорія. Бактеріовиділення констатовано у 9 із 20 хворих з побічними реакціями на ПТП і у 5 із 10 осіб контрольної групи. Отже, за характеристиками специфічного процесу вони були практично ідентичними.

Результати та обговорення

Під час аналізу складу групи осіб, у яких в процесі хіміотерапії виникли побічні реакції, встановлено, що серед них було 7 хворих віком понад 60 років (середній вік $(55,90 \pm 3,79)$ року), у 10 (50 %) діагностовано супровідні захворювання (ІХС – у 4, артеріальну гіпертензію – у 3, вторинну кардіоміопатію – у 2, множинні кісті печінки – у 1, цироз печінки – у 1, хронічний гастрит – у 1, бронхіальну астму – у 1), троє зловживали алкогольними напоями. Отже, незадовільна переносність ПТП спостерігалася часто у людей старших вікових груп з різноманітними супровідними захворюваннями. 19 із 20 пацієнтів цієї групи отримували ПТП I ряду, переважно у вигляді комбінованого препарату, який містив ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол, тому не завжди було легко розпізнати, який туберкулостатик є причиною небажаних реакцій.

Серед побічних реакцій найчастішими (9) були алергійні симптоми – висипка на шкірі й свербіж, часто в поєднанні з еозинофілією, на артраптії скаржилися 2 пацієнти, нудота, блювання та інші диспепсичні розлади були у 6, токсичний гепатит з підвищеним рівнем білірубіну та активності амінотрансфераз – у 2, токсичний нефрит і вестибулопатія – у 1.

Класифікації побічних реакцій, які постійно удосконалюються і одночасно ускладнюються [12], не завжди доступні для повсякденного користування. З огляду на складний механізм виникнення побічних реакцій не завжди можна навіть відрізнити без додаткових досліджень алергійні від токсичних симптомів. Такі традиційно «токсичні» вияви, як нудота, блювання, діарея та інші, можуть бути наслідком опосередкованої дії гістаміну на H₂-рецептори, хоча вони можуть бути зумовлені й подразною дією препарату, особливо за наявності супровідних захворювань шлунка чи кишок.

Встановлено, що рівень вільного гістаміну в плазмі крові буввищим від норми (до 1 нм/мл)

Таблиця. Рівень вільного гістаміну в плазмі хворих

Група хворих	n	Особи з рівнем гістаміну > 1 нм/мл, %	M ± m	p*
Без побічних реакцій	10	50	$1,27 \pm 0,40$	
З побічними реакціями	20	80	$2,38 \pm 0,39$	0,06

Примітка. * Показник достовірності різниці між середніми значеннями рівня гістаміну в плазмі двох обстежених груп хворих.

у 5 з 10 (50 %) хворих контрольної групи, які добре переносили лікування. Це співзвучно з результатами експериментального дослідження [18] про індукувальний вплив туберкульозного запального процесу на синтез гістаміну.

Підвищений рівень гістаміну в плазмі констатовано у 16 із 20 (80 %) пацієнтів з побічними реакціями на ПТП. Середні значення рівня вільного гістаміну в обох групах наведено у таблиці.

Отже, середній рівень вільного гістаміну в плазмі крові в обох групах був більшим від норми, проте в контрольній він перевищував її незначно, а у хворих з небажаними реакціями на ПТП – більш ніж удвічі. Проте цю різницю статистично не доведено ($p = 0,06$). Показники, які перевищували норму втричі й більше, констатовано лише в другій групі хворих. Індивідуальний аналіз засвідчив, що підвищений рівень гістаміну був у всіх 9 хворих з виразно алергійними симптомами (висипка на шкірі, свербіж). За даними деяких досліджень [16], в таких випадках, крім стимулювального впливу туберкульозного запалення на вивільнення гістаміну, має значення послаблення механізмів інактивації його, зокрема гістамінопексії.

Підвищеним був рівень гістаміну в обох хворих, які скаржилися на артраптії. Причиною артраптії може бути порушення реабсорбції сечової кислоти в ниркових канальцях, а відомо, що кристали натрію моноурату своєю чергою є тригерами прозапальних медіаторів, зокрема й гістаміну [17].

Перевищував норму рівень вільного гістаміну у двох хворих з токсичним гепатитом (4,9 і 2,4 нм/мл), один із яких зловживав алкогольними напоями. Рівень гістаміну не виходив за межі норми у хворого з МРТБЛ, у якого розвинулися токсичний нефрит і вестибулопатія на тлі лікування препаратами II ряду, зокрема канаміцином. Нормальними були його показники також у 3 (із 6) хворих, що скаржилися на нудоту і блювання, в яких не виявлено супровідної патології.

Цілком можливо, що однією з причин зростання рівня гістаміну в плазмі крові хворих на туберкульоз (як тих, що добре переносили лікування,

так і з побічними реакціями) може бути безпосередній вплив деяких ПТП на його метаболізм.

Ще в 1977 р. описані симптоми отруєння у 20 хворих на туберкульоз, які приймали ізоніазид і одночасно споживали сорти риби з високим умістом гістаміну [21]. Причиною симптомів хвороби вважали гальмування інактивації гістаміну через інгібуючий вплив ізоніазиду на активність ферменту гістамінази. В пізніших працях і сучасних інструкціях до препарату ізоніазид [8, 9] вказано, що в разі його застосування слід уникати споживання продуктів (особливо певних сортів сиру, риби), що вміщують багато гістаміну і тираміну. Симптоми, які можуть виникнути (нудота, діарея, напікірна висипка, припливи крові, головний біль, серцебиття, запаморочення) характерні для отруєння гістаміном через гальмування ізоніазидом його інактивації (пригнічення МАО і діаміноксидази). Тому доцільно звертати увагу на особливості харчування під час лікування ПТП, тим паче що отримано позитивний досвід у разі призначення дієти, вільної від гістаміну, у хворих на хронічну кропив'янку (зниження гістаміну в крові, зменшення хворобливих симптомів) без додаткового призначення медикаментів [20].

Відомостей про подібну дію інших ПТП не знайдено. Лише один наш пацієнт з МРТБЛ не отримував ізоніазиду. На тлі токсичного нефриту і вестибулопатії, які розвинулися в разі застосування препаратів II ряду, підвищення рівня гістаміну не помічено. Цього, очевидно, недостатньо для будь-яких висновків, потрібне подальше дослідження у більшої кількості хворих, яких лікують препаратами II ряду.

Хворим, у яких виникали побічні реакції на ПТП, тимчасово відміняли відповідний препарат і після ліквідації побічних реакцій призначали послідовно по одному ПТП. У разі показань вони отримували антигістамінні засоби, дезінтоксикаційну, гепатопротекторну і симптоматичну терапію, в одному випадку (у хворої з

бронхіальною астмою) — дексаметазон. Після корекції у більшості хворих вдалося продовжити повноцінну хіміотерапію. Найскладніше було відкоригувати лікування хворих з токсичним гепатитом і нефритом.

Що стосується серйозних алергійних ускладнень, то найбільш обґрунтованим було б лікування їх за наявності відомостей як про рівень вільного гістаміну в плазмі, так і стан систем, що беруть участь у його інактивації, а також з урахуванням інших медіаторів, які одночасно вивільняються. З антигістамінних препаратів найефективніші ті, які блокують як H_1 , так і H_2 -рецептори, а також спрямовані на інактивацію гістаміну в кров'яному руслі і тканинах.

Висновки

- Серед 20 хворих на туберкульоз легень з побічним впливом протитуберкульозних препаратів найчастішими були алергійні вияви (9) і диспесичні симптоми (6), рідше — артраптії (2), токсичний гепатит (2), нефрит і вестибулопатія (1). У цій групі переважали особи старших вікових груп (у середньому $(55,9 \pm 3,79)$ року), у 50 % були супровідні захворювання.

- Підвищений рівень вільного гістаміну у плазмі крові виявлено у 80 % хворих з побічними реакціями на протитуберкульозні препарати, а також у 50 % осіб контрольної групи, які добре переносили лікування і не мали супровідних захворювань. Значення вільного гістаміну, що перевищували норму втрічі і більше, були лише в групі пацієнтів з побічними реакціями, зокрема він був підвищеним у всіх осіб із симптомами алергії.

- З огляду на стимулювальний вплив туберкульозного запалення на продукцію гістаміну, а також на пригнічення ізоніазидом його інактивації доцільне подальше дослідження з детальнішим вивченням його метаболізму у хворих на туберкульоз, зокрема й тих, хто не приймає ізоніазиду.

Список літератури

- Асмолов О.К., Полякова С.О., Герасимова Н.А. Застосування ультразвуку в комплексному лікуванні деструктивних форм туберкульозу // Клін. та експерим. патологія.— 2011.— Т. X, № 2 (36).— Ч. 2.— С. 3.
- Гистамин: алергические реакции [Електронний ресурс].— Режим доступу: [#000d466.c.htm">http://medbiol.ru/medbiol/allerg/000db96.htm](http://medbiol.ru/medbiol/allerg/000db96.htm)#000d466.c.htm.
- Гистамин: общие сведения. Биология и медицина [Електронный ресурс].— Режим доступу: <http://medbiol.ru/medbiol/allerg/000d3a2d.htm>.
- Гистамин и антагонисты H_1 -рецепторов [Електронний ре-
- урс].— Режим доступу: <http://farmius.org/antigistaminyc-sredstva/gistamin+antagonisty-n1-receptorov>.
- Гистамин как причина вегето-сосудистой дистонии... forum [Електронный ресурс].— Режим доступу: antivsd.ru/index.php?topic=8457.0.
- Гистамин... [Електронный ресурс].— Режим доступу: <http://www.analyz24.ru/intemanaliz-963.htm>.
- Иммунитет, причины и механизмы защиты организма [Електронный ресурс].— Режим доступу: www.medinfo.ru/sovety/imm/0503118.phtml.
- Изониазид, инструкция, применение и формула... [Електронный ресурс].— Режим доступу: www.rlsnet.ru/mnu_index_id_627.htm.

9. Ізоніазид, інструкція, застосування препарату... [Електронний ресурс].— Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=4845>.
10. Норейко Б.В., Норейко С.Б. Иммунная система легких. Лекция 2. Иммунологический аспект // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2013.— № 4.— С. 76–83.
11. Осторожно, гистамин! [Електронний ресурс].— Режим доступу: <http://gie.62.rospotrebnadzor.ru/info/96053>.
12. Пухлик Б.М. Побічна дія лікарських засобів у фтизіатричній практиці // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2011.— № 1.— С. 20–27.
13. Регеда Н.С., Кресюон В.Й., Федорів Я.М. Клінічна алергологія.— Львів: Сполом, 2004.— 210 с.
14. Сапожников М.Ю., Сапожникова А.А., Павлов А.Ф. Динамика содержания гистамина в форменных элементах крови больных стенокардией напряжения под влиянием низкоинтенсивного лазерного воздействия // Казанский мед. журн.— 2012.— Т. 93, Вып 1.— С. 95–99.
15. Система гистамин — диаминооксидаза — гистаминопексия при туберкулезе [Електронний ресурс].— Режим доступу: <http://salonaina.kz/?p=5095>.
16. Уровень гистамина в крови... [Електронний ресурс].— Режим доступу: <http://salonaina.kz/?p=5097>.
17. Шуба Н.Н. Гиперурикемия — мультиморбидная патология в ревматологии // Укр. ревматол. журн.— 2013.— № 2 (52).— С.14 – 22.
18. Carlos D., Fremond C., Samarina A. Histamine plays on essential regulatory role in lung inflammation and protective immunity in the acute phase of mycobacterium tuberculosis infection // Infect. Immun.— 2009.— Vol. 77 (12).— P. 5359–5368.
19. Cho H.J., Cho S.L., Kim H.O., Park C.W. Lack of association of plasma histamine with diamine oxidase in chronic idiopathic urticaria // Ann. Dermatol.— 2013.— Vol. 25 (2).— P. 189–195.
20. Guida B., DeMartino C.D., DeMartino S.D. Histamine plasma levels and elimination diet in chronic idiopathic urticaria // Eur. J. Clin. Nutr.— 2000.— Vol. 54 (2).— P. 156–158.
21. Uragoda C.G., Kotegoda S.R. Adverse reactions to isoniazid on ingestion of fish with histamine content // Tubercl.— 1977.— Vol. 58 (2).— P. 83–89.

М.М. Савула¹, И.А. Мартынюк¹, С.Н. Похильjak², Н.Н. Лопушанская²

¹ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского»

²Тернопольский областной коммунальный противотуберкулезный диспансер

Свободный гистамин в плазме крови больных туберкулезом легких с побочными реакциями на противотуберкулезные препараты

Цель работы — изучить уровень свободного гистамина в плазме крови больных туберкулезом легких, у которых возникли побочные реакции на противотуберкулезные препараты (ПТП).

Материалы и методы. Уровень свободного гистамина в плазме определяли иммуноферментным методом у 20 больных туберкулезом легких с побочными реакциями на ПТП (19 из них получали препараты I ряда) и у 10 пациентов контрольной группы.

Результаты и обсуждение. Побочные реакции наблюдали чаще у лиц старших возрастных групп и при наличии сопутствующих заболеваний. Преобладали аллергические и диспептические симптомы. Повышенный уровень гистамина установлен у 50 % лиц, которые хорошо переносили лечение, и у 80 % больных с побочными реакциями на ПТП, хотя у последних средний уровень гистамина в плазме крови был выше. Обсуждались механизмы повышения уровня гистамина в плазме крови пациентов обеих групп.

Выводы. Учитывая повышение уровня гистамина как у больных с побочными реакциями на противотуберкулезные препараты, так и у тех, которые хорошо переносили лечение, а также возможное влияние изониазида на инактивацию этого медиатора, целесообразно провести дальнейшее детальное изучение метаболизма гистамина при туберкулезе, в том числе у больных, не получающих изониазид.

Ключевые слова: противотуберкулезные препараты, побочные реакции, гистамин.

М.М. Savula¹, И.А. Martynjuk¹, С.М. Pochyljak², Н.М. Lopushanska²

¹Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ternopil, Ukraine

²Ternopil Regional Municipal Tuberculosis Dispensary, Ternopil, Ukraine

Blood plasma free histamine in patients with pulmonary tuberculosis and adverse reactions associated with anti-tuberculosis drugs

Objective — to study the blood plasma free histamine (H) in patients with pulmonary tuberculosis and adverse reactions associated with anti-tuberculosis drugs (AD).

Materials and methods. 20 patients with pulmonary tuberculosis and adverse reactions associated with AD were included in the study. 1st-line anti-tuberculosis drugs were prescribed to nineteen patients from this group. Control group consisted of 10 patients. The level of free H was detected with Enzyme Immune Assay.

Results and discussion. The adverse reactions were observed more frequently in elderly and were associated with different comorbidity. The allergic and dyspeptic symptoms prevailed. The increase of H was detected in 50 % of patients of control group and in 80 % patients with different adverse reactions. The average level of H was higher in patients with adverse reactions. Possible mechanisms of H elevation in both groups were discussed.

Conclusions. The revealed increase of H level in patients with adverse reactions and without it and also possible effect of isoniazid on this mediator inactivation calls for more studies of H metabolism especially in patients without isoniazid treatment.

Key words: antituberculosis drugs, adverse reactions, histamine.

Контактна інформація:

Савула Марія Михайлівна, д. мед. н., проф. кафедри пропедевтики внутрішньої медицини та фтизіатрії
46000, м. Тернопіль, Майдан Волі, 3. Тел. (0352) 52-02-41.
E-mail: savula@mail.ru

Стаття надійшла до редакції 28 лютого 2014 р.