

# Inhibitory sodíkovo-glukózového kontransportéra 2 u pacientov s chronickou chorobou obličiek bez transplantácie a po transplantácii obličky

## Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors in patients with chronic kidney disease without and after kidney transplantation

Patricia Kleinová<sup>1,2</sup>, Tímea Blichová<sup>1,2</sup>, Matej Vnučák<sup>1,2</sup>, Karol Graňák<sup>1,2</sup>, Monika Beliančinová<sup>1,2</sup>, Ivana Dedinská<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Transplantačno-nefrologické oddelenie UNM, Martin

<sup>2</sup>I. interná klinika JLF UK a UNM, Martin

✉ MUDr. Tímea Blichová | timea.blichova@gmail.com | www.unm.sk

Doručené do redakcie | Received 1. 2. 2024

Prijaté po recenzii | Accepted 4. 4. 2024

### Abstrakt

Inhibitory sodíkovo-glukózového kontransportéra 2 (SGLT2i) predstavujú prvolíniovú liečbu diabetickej choroby obličiek, a taktiež sa stali súčasťou liečebného algoritmu chronickej choroby obličiek. Gliflozíny majú významné kardio-renoprotektívne účinky s redukciou albuminúrie a stabilizáciou glomerulovej filtrácie u pacientov s chronickou chorobou obličiek. Sekundárne účinky (redukcia hmotnosti, stimulácia erytropoézy, inhibícia prozápalových parametrov) robia z SGLT2i širokospektrálne preparáty s možnosťou rozšírenia preskripčných obmedzení. Otázkou však aj naďalej zostáva benefit a bezpečnosť použitia u pacientov po transplantácii obličky.

**Kľúčové slová:** chronická choroba obličiek (CKD) – inhibitory sodíkovo-glukózového kontransportéra 2 (SGLT2i) – transplantácia obličky

### Abstract

Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors (SGLT2i) represent the first-line treatment for diabetic kidney disease, and have also become part of the treatment algorithm for chronic kidney disease. Gliflozin have significant cardio-renoprotective effects with reduction of albuminuria and stabilization of glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease. Secondary effects (weight reduction, stimulation of erythropoiesis, inhibition of pro-inflammatory parameters) make SGLT2i broad-spectrum agents with the possibility of expanding prescribing restrictions. However, the benefit and safety of use in patients after kidney transplantation remains a question.

**Key words:** chronic kidney disease (CKD) – kidney transplantation – sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors (SGLT2i)

### Úvod

Chronická choroba obličiek (CKD – Chronic Kidney Disease) predstavuje globálny problém s celosvetovou prevalenciou 850 miliónov ľudí. V etiológii stále dominuje diabetická choroba obličiek a artériová hypertenzia, ktoré spolu vedú vo > 50 % prípadov ku konečnému štádiu choroby obličiek (ESKD – End Stage Kidney Disease) s potrebou transplantácie alebo dialýzy. CKD predstavuje rizikový faktor rozvoja kardiovaskulárnych

ochorení (KVO), doterajšia terapia sa opierala o inhibitory systému renín-angiotenzín-aldosterón, prípadne blokátory angiotenzínového receptora. Revolúciu priniesli hypoglykemizujúce preparáty s objavením ich kardio-renálnych protektívnych účinkov – inhibitory sodíkovo-glukózového kontransportéra 2 (SGLT2i – Sodium-GLucose coTransporter 2 inhibitors) [1].

SGLT2i (gliflozíny) patria medzi selektívne hypoglykemizujúce lieky, ktoré inhibujú jeden z niekoľkých

členov SGLT-rodiny. Prvým gliflozínom izolovaným z kôry koreňa jablone bol v roku 1835 florizín, ktorý sa používal na liečbu horúčky a infekcií [2]. Vzhľadom na jeho neselektivitu spôsoboval závažné gastrointestinálne nežiaduce účinky, ako je hnačka, ktorá viedla k dehydratácii. Éra selektívneho SGLT2i začala v roku 2013 a momentálne máme k dispozícii kanagliflozín, dapagliflozín, empagliflozín a ertugliflozín schválené Úradom pre kontrolu potravín a liečiv (FDA – Food and Drug Administration). Kanagliflozín, ako prvý gliflozín, je indikovaný u pacientov s diabetes mellitus 2. typu (DM2T). V máji minulého roku FDA rozšírila indikačné obmedzenie pre dapagliflozín. Okrem pacientov s DM2T je možná preskripcia aj u pacientov so srdcovým zlyhaním (SZ) so stredne redukovanou ejekčnou frakciou (HFmrEF – Heart Failure mildly reduced Ejection Fraction) a zachovanou ejekčnou frakciou (HFpEF – Heart Failure with preserved Ejection Fraction). Najnovšie schváleným SGLT2i z roku 2017 je ertugliflozín. Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO) publikoval v tomto roku aktualizované postupy pre manažment pacientov s CKD, ktoré podporujú odporúčania z roku 2022, podľa ktorých SGLT2i (dapagliflozín, empagliflozín a kanagliflozín) sú 1. líniou liečby spolu s metformínom pre pacientov s diabetickou chorobou obličiek (DKD – Diabetic Kidney Disease) [3–5]. Aktualizované postupy boli doplnené o rozšírené kritériá pre pacientov s CKD [1]. V literatúre však stále nie je dostatok dostupných výsledkov štúdií sledujúcich renoprotektívny efekt SGLT2i u pacientov po transplantácii obličky bez diabetes mellitus [6,7].

Cieľom publikácie je poskytnúť prehľad randomizovaných štúdií s preukázaním kardio-renoprotektívneho efektu SGLT2i a bezpečnosti použitia u pacientov s CKD a pacientov po transplantácii obličky.

### Mechanizmus účinku

Efekt gliflozínov je pleiotropný. Renoprotektívne účinky sa delia na primárne a sekundárne. Blokáda SGLT2 kotransportérov lokalizovaných na kefkovom leme tubulárnych buniek v segmentoch proximálneho tubulu (S1 a S2) vedie ku glykozúrii a natriuréze [8]. Zvýšenie natriurézy je rozhodujúce pre ochranu obličiek. Zvyšujúca sa koncentrácia sodíka v juxtaglomerulárnom aparáte vedie k zníženiu a normalizácii tubuloglomerulárnej spätnej väzby z macula densa. Výsledkom je vazokonstrikcia aferentných arteriol s poklesom intraglomerulárneho tlaku a dočasným znížením rýchlosti glomerulárnej filtrácie [4,8]. Zvýšenie diurézy s následným znížením tlaku krvi však nevedie k tachykardii, preto sa predpokladá priamy sympatolytický efekt SGLT2i. Zvýšená koncentrácia glukózy v tubuloch vedie k zvýšeniu aktivácie SGLT1 s poklesom koncentrácie kyslíka v dreni a stimuláciou erytropoézy [1]. Inhibíciou SGLT2 kotransportérov sa taktiež znižuje aktivita Na-K ATPázy lokalizovanej na bazolaterálnej membráne. Výsledkom je zníženie koncentrácie glukózy v bunkách proximálnych tubulov s poklesom tvorby koncových produktov pokročilej glykácie

(AGEs – Advanced Glycation End products) a znížením oxidačného stresu. Zlepšenie albuminúrie je multifaktoriálne a tiež asociované so znížením intraglomerulárneho tlaku a glykozúrie, čo redukuje glukotoxický účinok na podocyty [8].

Sekundárne účinky gliflozínov zahŕňajú redukciiu telesnej hmotnosti, pokles koncentrácie prozápalových cytokínov (TNF, IL6, IFN) a inhibíciu hepcidínu so zlepšením erytropoézy. Redukcia telesnej hmotnosti je spojená s využívaním lipidov ako zdroja energie v dôsledku glykozúrie, čo vedie k redukcii lipotoxicity a bunkového stresu [8]. SGLT2i sú asociované s poklesom koncentrácie leptínu a zvýšením adiponektínu a ketogenézy. Výsledkom je zvýšenie sirtuínu 1 a adenosínmonofosfátom aktivovanej proteínkinázy, čo následne znižuje oxidačný a endoplazmatický retikulový stres a zápal. Menované zmeny vedú k zníženiu renálneho poškodenia a fibróze [1]. Napriek významným benefitom gliflozínov všetky veľké randomizované štúdie vylúčili pacientov po transplantácii obličky (KTRs – Kidney Transplant Recipients) z dôvodu rizika vzniku neočakávaných komplikácií. Postupne sa však v odbornej literatúre objavujú výsledky štúdií realizovaných s pacientami po transplantácii obličky s DM2T alebo potransplantačným diabetes mellitus (PTDM – Post-Transplant Diabetes Mellitus), ktoré potvrdzujú závery randomizovaných štúdií [6,7].

### Štúdia EMPA-KIDNEY

Štúdia EMPA-REG (The Empagliflozin Cardiovascular Outcome Event Trial in Type 2 Diabetes Mellitus Patients–Removing Excess Glucose) realizovaná v rokoch 2019–2021 bola prvou štúdiou poukazujúcou na možnosť renálneho efektu gliflozínov, hoci primárnym cieľom štúdie bolo preukázať KV-bezpečnosť empagliflozínu [9]. Vzhľadom na menované bola zrealizovaná paralelna štúdia EMPA-KIDNEY (Study of Heart and Kidney Protection with Empagliflozin) u pacientov s chronickou chorobou obličiek s DM a bez DM2T s cieľom zhodnotiť efekt na odhadovanú glomerulovú filtráciu (eGFR – estimated Glomerular Filtration Rate) a albuminúriu. Táto štúdia však bola predčasne zastavená nezávislým výborom pre monitorovanie údajov a bezpečnosti pri mediáne sledovania 2 roky pre významne priaznivé výsledky s dosiahnutím redukcie primárneho koncového ukazovateľa o 28 % a sekundárneho ukazovateľa o 14 % oproti placebo skupine [10].

### Štúdia DAPA–CKD

Jednalo sa randomizovanú dvojito zaslepenú, placebo kontrolovanú štúdiu, do ktorej ako prvej boli zaradení aj pacienti bez DM2T. Primárny predšpecifikovaný koncový ukazovateľ predstavoval ktorúkoľvek z nasledujúcich udalostí: progresia CKD, t. j. konečné štádium choroby obličiek (ESKD – End Stage Kidney Disease) s trvalým poklesom eGFR na < 10 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, potreba chronickej dialýzy alebo transplantácie obličky, trvalý pokles eGFR o ≥ 50 % oproti východiskovej

hodnote), ďalej úmrtie z renálnych príčin alebo úmrtie z KV-príčiny. Predšpecifikovaný sekundárny koncový ukazovateľ bol doplnený o hospitalizáciu pre srdcové zlyhávanie (SZ) alebo úmrtie z KV- alebo inej príčiny [11].

V štúdií DAPA-CKD (Dapagliflozin and Prevention of Adverse Outcomes in Chronic Kidney Disease) bol zaznamenaný pokles eGFR počas 32 mesiacov sledovania s postupnou stabilizáciou eGFR. Avšak ani v 36. mesiaci randomizácie eGFR nedosiahla východiskovú hodnotu. Aj táto štúdia však bola z etických príčin predčasne ukončená v mediáne sledovania 2,4 roka z dôvodu jasného prínosu liečby dapagliflozínom. Podstatným výsledkom pracovnej skupiny DAPA-CKD bolo zníženie primárneho zloženého cieľa o 39 % v porovnaní so skupinou s placebom [11].

Wheeler et al vykonali predšpecifickú analýzu štúdie DAPA-CKD v roku 2021 s pacientmi s IgA-nefropatiou. Výsledok potvrdil priemerný percentuálny pokles pomeru albumín/kreatinín v moči o 35 % v skupine s SGLT2i v porovnaní so skupinou s placebom v 4. mesiaci sledovania. Zároveň klesajúci trend pretrvával počas celého obdobia sledovania (36 mesiacov) [12].

Výsledky uvedených štúdií poukazujú na fakt, že pokles eGFR je len počiatočným problémom na začiatku liečby gliflozínmi a súvisí s pozitívnymi hemodynamickými zmenami v glomeruloch. Základnú charakteristiku menovaných štúdií zobrazuje tab. [13,14].

## SGLT2i v nefrológii dnes

Hradená liečba SGLT2i je indikovaná dospelým pacientom na liečbu chronickej choroby obličiek s eGFR  $\geq 25$  až  $\leq 75$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> a albuminúriou (UACR  $\geq 200$  až  $\leq 5\,000$  mg/g) podmienenej inou chorobou ako geneticky podmienenou polycystickou chorobou obličiek, systémovým lupusom, ANCA-asociovanou vaskulitídou alebo DM1T, liečených stabilnou dávkou RAAS (systém renín-angiotenzín-aldosterón) inhibítora alebo pri kontraindikácii liečby RAAS-inhibítormi [15].

Najnovšie odporúčania KDIGO z roku 2024 podporujú publikované prepracované postupy diabetického

manažmentu u pacientov s CKD z roku 2022, v ktorých prvotnou liečbou spolu s metformínom sú práve SGLT2i. Indikované sú pre pacientov s diabetickou chorobou obličiek s CKD a s eGFR  $\geq 20$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Vyraďenie z liečby sa odporúča len pri významnej intolerancii alebo po transplantácii obličky. Pokles eGFR nie je markerom vyradenia z liečby. U pacientov s CKD sú SGLT2i odporúčané pri eGFR  $\geq 20$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> a súčasne s UACR  $\geq 200$  mg/g (20  $\geq$  mg/mmol) alebo so srdcovým zlyhávaním bez ohľadu na albuminúriu. Indikačné kritériá s úrovňou odporúčania 2B boli rozšírené o preskripciu SGLT2i pre dospelých pacientov s eGFR v rozmedzí 20–45 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> a s UACR  $< 200$  mg/g. Na zváženie je však prerušenie liečby SGLT2i na 48–72 hodín v prípadoch s rizikom rozvoja ketoacidózy (elektívne chirurgické výkony, prolongované lačnenie). Zaujímavý je tiež výsledok 2 veľkých randomizovaných štúdií realizovaných post hoc s redukciou sérovej koncentrácie kyseliny močovej s perspektívou eliminácie symptómov dnaveho záchvatu prípadne iniciácie liečby [1].

## SGLT2i v kontexte transplantácie obličky

Okrem diabetickej choroby obličiek sa približne u 15–30 % nediabeticov rozvinie v potransplantačnom období PTDM. Potransplantačný DM, spôsobený najmä vplyvom imunosupresívnej terapie, je asociovaný so zvýšeným výskytom kardio-renálnych ochorení, infekčných komplikácií, či rizikom zhoršenia funkcie štepu [16].

Dostupná literatúra však poskytuje len limitované množstvo štúdií realizovaných u KTRs. Nevýhodou týchto štúdií je nízky počet pacientov s follow up menej ako 1 rok s predominantným zameraním sa na krátkodobé výsledky. Pokles eGFR kopíroval trend veľkých randomizovaných štúdií, ktorý je obzvlášť zaujímavý vzhľadom na fakt, že transplantovaný štep je denervovaný, čo môže oslabiť autonómu hemodynamickú odpoveď. Z nežiaducich účinkov, kvôli ktorým boli KTRs vylúčení z veľkých randomizovaných štúdií, boli obdobné ako u všeobecnej populácie pacientov po KTRs s dominanciou infekcie močových ciest – 11,5 %. Avšak

Tab. | Porovnanie multicentrických štúdií

	DAPA-CKD	EMPA-KIDNEY
status	multicentrická, dvojito-zaslepená, placebom kontrolovaná štúdia (n = 4 304)	multicentrická, paralelná, dvojito-zaslepená, placebom kontrolovaná štúdia (n = 6 609)
priemerný follow-up (roky)	dapagliflozín vs placebo 2,4	empagliflozín vs placebo 2
inklúzne kritériá:	s alebo bez DM2T	s alebo bez DM2T
eGFR	eGFR $\geq 25$ až $75$ ml/min/m <sup>2</sup>	eGFR $\geq 20$ až $45$ ml/min/m <sup>2</sup>
a	UACR $> 300$ až $\leq 5\,000$ mg/g	alebo eGFR $\geq 45$ – $90$ ml/min/m <sup>2</sup>
UACR	$\geq 4$ týždne užívania stabilnej dávky ACEi alebo ABR	a UACR $\geq 200$ mg/g ACEi/ABR v liečbe

ABR – antagonisti angiotenzínového receptora ACEi – inhibitor enzýmu konvertujúceho angiotenzín DAPA-CKD – Dapagliflozin and Prevention of Adverse Outcomes in Chronic Kidney Disease DM – diabetes mellitus eGFR – odhadovaná glomerulová filtrácia/estimated Glomerular Filtration Rate EMPA-REG – The Empagliflozin Cardiovascular Outcome Event Trial in Type 2 Diabetes Mellitus Patients–Removing Excess Glucose UACR – pomer albumín/kreatinín v moči/Urine Albumin Creatinine Ratio

ani v najnovších postupoch KDIGO 2024 nefigurujú odporúčania týkajúce sa SGLT2i v kontexte pacientov po transplantácii obličky [17,18].

Na našom pracovisku bola taktiež realizovaná krátka analýza s 56 pacientami a priemerným follow-up 5,2 mesiaca. V sledovanom súbore sme za daný follow-up zaznamenali pokles eGFR aj albuminúrie, avšak bez štatistickej signifikantnosti s návratom eGFR na pôvodnú hodnotu. Pacienti boli v kontexte transplantácie obličky rozdelení na 2 skupiny: u transplantovaných pacientov dominovala IgA-nefropatia (43,5 %) a DKD (21,7 %). U pacientov s IgA-nefropatiou sme zaznamenali pokles albuminúrie v sledovanom období. V asociácii s DM boli pacienti rozdelení na 2 skupiny – nediabetici a diabetici (DM2T a PTDM). Pacienti bez DM dosiahli štatisticky významný pokles albuminúrie ( $p = 0,0024$ ). V sledovanom súbore u jedného pacienta bola prítomná infekcia močových ciest, u ostatných pacientov sme nežiaduce účinky spojené s liečbou SGLT2i nezaznamenali.

## Záver

Vďaka svojim účinkom zažívajú gliflozíny renesanciu v klinickej praxi. KV-účinkom gliflozínov u pacientov s DM2T je známy už takmer 10 rokov. Na potvrdenie ich renoprotektívneho benefitu bolo potrebné zrealizovať ďalšie štúdie, ktorých výsledkom bolo rozšírenie preskripčných obmedzení, zaradenie SGLT2i do 1. línie liečby DKD a vytvorenie algoritmu pre pacientov s CKD. Ukazuje sa však, že účinky SGLT2i majú významnú širokospektrálnosť mechanizmu účinkov, preto otázkou do budúcnosti zostáva realizácia ďalších štúdií s následným rozšírením indikačných kritérií.

## Literatúra

1. Mark PB, Sarafidis P, Ekart R et al. SGLT2i for evidence-based cardiorenal protection in diabetic and non-diabetic chronic kidney disease: a comprehensive review by EURECA-m and ERBP working groups of ERA. *Nephrol Dial Transplant* 2023; 38(11): 2444–2455. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfad112>>.
2. Ehrenkranz JR, Lewis NG, Kahn CR et al. Phlorizin: a review. *Diabetes Metab Res Rev* 2005; 21(1): 31–38. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/dmrr.532>>.
3. Padda IS, Mahtani AU, Parmar M. Sodium-Glucose Transport Protein 2 (SGLT2) Inhibitors. [Updated 03–06–2023]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Dostupné z WWW: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK576405/>>.
4. Skrabec R, Kumric M, Vrdoljak J et al. SGLT2 Inhibitors in Chronic Kidney Disease: From Mechanisms to Clinical Practice. *Biomedicine* 2022; 10(10): 2458. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3390/biomedicine10102458>>.

5. Rossing P, Caramori ML, Chan JCN et al. Executive summary of the KDIGO 2022 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease: an update based on rapidly emerging new evidence. *Kidney Int* 2022; 102(5): 990–999. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2022.06.013>>.
6. Demir ME, Özler TE, Merhametsiz Ö et al. The results of SGLT-2 inhibitors use in kidney transplantation: 1-year experiences from two centers. *Int Urol Nephrol* 2023; 55(11): 2989–2999. Dostupné z DOI: <<https://doi.org/10.1007/s11255-023-03645-7>>.
7. Sánchez Fructuoso AI, Bedia Raba A, Banegas Deras E et al. Sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor therapy in kidney transplant patients with type 2 or post-transplant diabetes: an observational multicentre study. *Clin Kidney J* 2023; 16(6): 1022–1034. Dostupné z DOI: <<https://doi.org/10.1093/ckj/sfad007>>.
8. Fonseca-Correa JI, Correa-Rotter R. Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors Mechanisms of Action: A Review. *Front Med (Lausanne)* 2021; 8: 777861. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2021.777861>>.
9. Zinman B, Wanner C, Lachin JM et al. [EMPA-REG OUTCOME Investigators]. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2015; 373(22): 2117–2128. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1504720>>.
10. August P. Chronic Kidney Disease – Another Step Forward. *N Engl J Med* 2023; 388(2): 179–180. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMe2215286>>.
11. Heerspink HJ, Stefánsson BV, Correa-Rotter R et al. Dapagliflozin in patients with chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2020; 383(15): 1436–1446. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2024816>>.
12. Perkovic V, Jardine MJ, Neal B et al. [CREDESCENCE Trial Investigators]. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. *N Engl J Med* 2019; 380(24): 2295–2306. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1811744>>.
13. Herrington WG, Staplin N, Wanner C et al. [The EMPA-KIDNEY Collaborative Group]. Empagliflozin in Patients with Chronic Kidney Disease. *N Engl J Med* 2023; 388(2): 117–127. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2204233>>.
14. Wanner C, Inzucchi SE, Lachin JM et al. Empagliflozin and progression of kidney disease in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2016; 375(4): 323–334. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1515920>>.
15. Zoznam kategorizovaných liekov 1. 9. 2023–30. 9. 2023. [21–03–2024]. Dostupné z WWW: <<https://www.health.gov.sk/?zoznam-kategorizovanych-liekov>>.
16. Ramakrishnan P, Garg N, Pabich S et al. Sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor use in kidney transplant recipients. *World J Transplant* 2023; 13(5): 239–249. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.5500/wjt.v13.i5.239>>.
17. Ujjawal A, Schreiber B, Verma A. Sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors (SGLT2i) in kidney transplant recipients: what is the evidence? *Ther Adv Endocrinol Metab* 2022; 13: 20420188221090001. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1177/20420188221090001>>.
18. [Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group]. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney International* 2024; 105(Suppl 4S): S117–S314. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.kint.2023.10.018>>.