

# Fisiopatología de la hipoglucemia en la diabetes mellitus

A. ROVIRA

*Jefe Asociado del Servicio de Endocrinología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.*

Los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 necesitan un tratamiento intensivo con insulina para evitar el desarrollo o la evolución de las complicaciones microangiopáticas; sin embargo, este tratamiento lleva parejo un alto riesgo de hipoglucemia que limita, en la mayoría de los casos, la consecución de un estricto control glucémico. El organismo dispone de una serie de medidas de respuesta ante la disminución las concentraciones circulantes de glucosa con objeto de mantener un adecuado suministro de glucosa al cerebro. Estas respuestas se inician con la inhibición de la secreción de insulina, que se sigue inmediatamente de un aumento de la secreción de glucagón. A continuación, se produce la secreción de adrenalina y noradrenalina y, más tardíamente, se produce un aumento de la secreción de la hormona del crecimiento y de cortisol. En los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 de larga duración, con antecedentes de hipoglucemias frecuentes y con hipoglucemias no reconocidas, la secreción de hormonas contrarreguladoras se produce a concentraciones circulantes de glucosa más bajas que en sujetos no diabéticos. Estos pacientes pierden los síntomas simpáticos y parasimpáticos que les permiten tomar medidas apropiadas para corregir la hipoglucemia. La ausencia de reconocimiento de la hipoglucemia constituye no sólo un grave riesgo para la vida del paciente diabético, sino también una situación que compromete seriamente su calidad de vida. Las hipoglucemias inadvertidas pueden revertir evitando cuidadosamente la aparición de nuevas hipoglucemias. La prevención de la hipoglucemia requiere diferentes estrategias que incluyen la educación del paciente, la monitorización frecuente de la glucemia y la modificación de las pautas de insulina.

*Palabras clave:* Hipoglucemia. Diabetes mellitus tipo 1. Adrenalina. Noradrenalina. Glucagón. Insulina.

## PHYSIOPATHOLOGY OF HYPOGLYCEMIA IN DIABETES MELLITUS

**Patients with type 1 diabetes require intensive insulin therapy to prevent the development or progression of microangiopathic complications. However, this treatment has a high risk of hypoglycemia, which limits strict glycemic regulation. There are several reactions against decreased circulating glucose levels that are directed to supplying adequate glucose to the brain. The initial factor involved in hypoglycemia counter-regulation is suppression of insulin secretion, immediately followed by an increase in glucagon release. These responses are followed by adrenaline and noradrenaline secretion, and subsequently by an increase in growth hormone and cortisol release. In patients with longstanding type 1 diabetes and previous frequent hypoglycemic episodes with hypoglycemic unawareness, counter-regulatory hormone secretion occurs at lower glycemic levels than in healthy subjects. These patients lose the sympathetic and parasympathetic symptoms that allow them to take appropriate corrective measures. Hypoglycemic unawareness not only presents a serious risk to the patient's life, but also causes quality of life to deteriorate. Hypoglycemic unawareness can be reversed by carefully preventing new episodes. Prevention of hypoglycemia requires various strategies, including patient education, frequent glucose monitoring and changes in insulin regimen.**

*Key words:* Hypoglycemia. Type 1 diabetes mellitus. Adrenaline. Noradrenaline. Glucagon. Insulin.

La hipoglucemia es la complicación aguda más frecuente del tratamiento de la diabetes mellitus. Más del 35% de pacientes con diabetes mellitus tipo 1 experimenta durante la evolución de la enfermedad, al menos, un episodio de hipoglucemia grave que requiere atención por otra persona. Los resultados del Diabetes Control and Complications Trial han demostrado que el tratamiento intensivo con insulina aumenta 3,3 veces el riesgo de hipoglucemia grave frente al tratamiento convencional, y que más del 50% de los episodios de hipoglucemia se produce durante la noche<sup>1</sup>. Por otro lado, en este estudio prospectivo se demostró que el buen control glucémico puede prevenir la aparición de complicaciones microangiopáticas. Por tanto, el riesgo de hipoglucemia supone, hoy día, el factor limitativo en la consecución de un estricto con-

Correspondencia: Dra. A. Rovira.  
 Servicio de Endocrinología. Fundación Jiménez Díaz.  
 Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid.  
 Correo electrónico: arovira@fjd.es

Manuscrito recibido el 10-12-2001; aceptado para su publicación el 25-2-2002.

trol glucémico. Las causas de hipoglucemia en los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 son múltiples y se recogen en la tabla 1. Algunas causas se relacionan con un exceso absoluto o relativo de insulina que incluyen la dosis, el tipo de insulina y el momento de su administración, el horario de las comidas y de los suplementos, el ejercicio físico, la ingestión de alcohol y la función renal. Otros factores de riesgo de hipoglucemia se relacionan con mecanismos de contrarregulación inadecuados que incluyen historia previa de hipoglucemia grave o de hipoglucemias asintomáticas, insulino-terapia intensiva, hipoglucemia reciente y neuropatía autónoma establecida.

La incidencia de hipoglucemia grave en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 es de 1 a 3 por 100 pacientes por año<sup>2</sup>. Esta frecuencia se triplica en pacientes mayores de 75 años, con ingresos hospitalarios recientes y que reciben múltiples fármacos<sup>3</sup>. Si bien la incidencia de hipoglucemia es inferior en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que en los de tipo 1, se trata de una complicación temida y, en líneas generales, limita, incluso con más intensidad, la consecución de un estricto control en estos individuos.

El organismo dispone de medidas de emergencia para combatir la hipoglucemia, como son la aparición de una serie de síntomas de alarma que incitan a la ingestión de alimento y la secreción de diferentes hormonas dirigidas a aumentar las concentraciones de glucosa en sangre a través de distintos mecanismos. Todas estas medidas son necesarias ya que el cerebro necesita obligadamente un aporte continuo de glucosa como sustrato energético. Estos mecanismos de defensa ante la caída de la glucosa en sangre pueden estar alterados en los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 y, por tanto, la hipoglucemia puede convertirse en un riesgo grave para sus vidas.

### MECANISMOS DE CONTRARREGULACIÓN DE LA HIPOGLUCEMIA

Ante una situación de disminución de las concentraciones de glucosa en sangre se produce una serie de acontecimientos tendentes a normalizar la glucemia. Esta serie de respuestas que tiene el organismo sigue un proceso escalonado y va apareciendo en función de un umbral de glucosa que puede variar en escasos mg/dl de una persona a otra (tabla 2). Utilizando el método de pinzamiento de la glucemia a valores progresivamente menores (desde 90 a 40 mg/dl) mediante infusión simultánea de insulina y de glucosa intravenosa, diferentes autores han establecido que en individuos no diabéticos tan sólo una reducción de la glucemia de 10 mg/dl es capaz de disminuir la secreción endógena de insulina<sup>4,5</sup>. Esta primera respuesta es fundamental para que se produzca la segunda respuesta, que es la secreción de glucagón por las células alfa del islote pancreático. El glucagón estimula la producción hepática de glucosa al aumentar la glucogenólisis y

**TABLA 1. Causas de hipoglucemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 1**

Exceso absoluto o relativo de insulina	Contrarregulación comprometida
Insulina: dosis, momento y tipo	Historia de hipoglucemia grave
Comidas y suplementos	Hipoglucemia asintomática
Ejercicio	Terapia intensiva
Interacción drogas y alcohol	Hipoglucemia reciente
Sensibilidad a la insulina	$\beta$ -bloqueadores (?)
Insuficiencia renal	Neuropatía autónoma establecida

**TABLA 2. Umbral glucémico de respuesta a la disminución de la glucemia (mg/dl) en sujetos normales y en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 con insulino-terapia intensiva**

	Normales	Diabetes mellitus tipo 1
↓Insulina	80	
↑Glucagón	70	
↑Adrenalina	68	45
↑Hormona del crecimiento	65	50
↑Noradrenalina	65	47
↑Cortisol	55	44
Síntomas autónomos	60	
Síntomas neuroglucopénicos	50	
Deterioro cognitivo	49	

también la gluconeogénesis. La secreción de glucagón está regulada de forma negativa por el ambiente de insulina existente en el islote. El mecanismo de secreción de glucagón ante la hipoglucemia parece ser múltiple<sup>6</sup>. La hipoglucemia *per se* estimula directamente la secreción de glucagón e indirectamente a través de impulsos simpáticos y parasimpáticos. Además, la supresión de la secreción de insulina mediada por el descenso de glucosa desinhibe el efecto tónico frenador que la insulina ejerce sobre las células alfa.

De forma solapada a la secreción de glucagón ante el descenso de la glucemia se produce un aumento en la secreción de adrenalina. El umbral de glucemia estimado para que se produzca esta respuesta se encuentra en torno a los 68 mg/dl. El umbral glucémico de secreción de noradrenalina se encuentra en torno a 65 mg/dl. Estas hormonas aumentan los valores de glucemia a través de diferentes mecanismos: *a*) aumentan la producción hepática de glucosa promoviendo la gluconeogénesis y la glucogenólisis; *b*) disminuyen la captación periférica de glucosa, y *c*) inhiben la secreción de insulina.

Tras la estimulación del sistema autónomo simpático y parasimpático se sucede la aparición de síntomas autonómicos a un valor de glucemia algo inferior, en torno a los 58 mg/dl. Los síntomas de respuesta adrenérgica son palpitations, nerviosismo y temblor, y los de respuesta parasimpática son sudación, sensación de hambre y hormigueo.

Todas estas respuestas de secreción hormonal se suceden de forma rápida y consiguen normalizar las ci-

fras de glucemia en cuestión de unos 10-20 min. Ante la hipoglucemia también se segregan otras hormonas hiperglucemiantes como la hormona del crecimiento y el cortisol, si bien estas respuestas son más tardías y no decisivas para combatir de forma aguda la hipoglucemia, sí ejercen un papel cuando la hipoglucemia es mantenida.

Las funciones corticales del sistema nervioso central no se ven afectadas hasta que las cifras de glucemia descienden a valores en torno a 50 mg/dl. Entonces aparecen los denominados "síntomas neuroglicopénicos", que consisten en dificultad en concentrar la atención, enlentecimiento en la respuesta verbal, visión borrosa y obnubilación. En el caso de progresar, puede aparecer coma, convulsiones y muerte. En la tabla 2 se recogen los umbrales glucémicos de respuesta hormonal y sintomática ante la disminución de valores de glucemia en sujetos normales y en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 sometidos a tratamiento intensivo, recogidos de diversas fuentes.

## DEFENSA DEL CEREBRO ANTE LA HIPOGLUCEMIA

El cerebro tiene un consumo continuo de glucosa que representa más del 50% del consumo corporal total en el estado postabsortivo. La glucosa circulante atraviesa la barrera hematoencefálica a través de los capilares mediante difusión facilitada por el glucotransportador GLUT1 presente en la membrana de las células endoteliales<sup>7</sup>. La entrada de glucosa en el cerebro, generalmente, excede los requerimientos energéticos, es decir, existe un mecanismo que facilita la disponibilidad de glucosa en el cerebro. Las neuronas, a su vez, disponen de un glucotransportador específico, el GLUT3, presente en sus membranas plasmáticas<sup>8</sup>.

En sujetos diabéticos que sufren episodios repetidos de hipoglucemia se ha observado que el umbral de respuesta secretora de catecolaminas, así como de la aparición de síntomas autónomos, desciende de forma importante<sup>9</sup>. Estos pacientes no presentan síntomas neuroglicopénicos hasta que sus valores de glucemia descienden a valores en torno a 40 mg/dl. Es decir, estos pacientes soportan bien valores bastante bajos de glucemia. Esta situación de mayor tolerancia a la hipoglucemia se ha explicado como un mecanismo de adaptación cerebral. En estudios realizados en ese tipo de pacientes se ha comprobado que durante los episodios de hipoglucemia el cerebro mantiene un flujo sanguíneo normal, mientras que la captación de glucosa aumenta<sup>10</sup>. Esta situación de mayor extracción de glucosa plasmática podría explicarse por un aumento de la expresión del GLUT1 en el endotelio vascular cerebral y del GLUT3 en las propias neuronas, como se ha demostrado en estudios experimentales en ratas sometidas a hipoglucemia<sup>11-13</sup>.

Si bien este mecanismo adaptativo del cerebro para tolerar la hipoglucemia es beneficioso para preservar las funciones cognitivas, resulta perjudicial para el pa-

ciente diabético, ya que le introduce en un círculo vicioso de hipoglucemias no reconocidas como veremos más adelante.

## MECANISMOS DE CONTRARREGULACIÓN EN EL PACIENTE CON DIABETES MELLITUS TIPO 1

Al comienzo de la enfermedad las respuestas de contrarregulación ante la hipoglucemia que presenta el paciente con diabetes mellitus tipo 1 son superponibles a las del sujeto no diabético. En los 5 años siguientes se observa una disminución de la secreción de glucagón ante la hipoglucemia y, generalmente, la secreción de esta hormona es inexistente tras 15 años de enfermedad. Así pues, en el paciente con diabetes tipo 1 se desarrolla una alteración, claramente adquirida, en la respuesta de glucagón ante la hipoglucemia. Este defecto de la célula alfa es específico para la hipoglucemia, ya que la secreción de esta hormona en respuesta a la arginina se mantiene normal, y la secreción de glucagón está elevada en las situaciones de hiperglucemia en estos pacientes. El mecanismo de la alteración en la secreción del glucagón ante la hipoglucemia en el paciente diabético sigue siendo poco conocido. Se considera que la pérdida de las células beta debe desempeñar un papel importante al desaparecer el efecto tónico inhibitor local de la insulina. Es posible también que se deba a una disfunción del sistema autónomo, quizá por la hiperglucemia o, como en algunos estudios se ha documentado, por hipoglucemias de repetición<sup>6</sup>.

Como se ha indicado con anterioridad, la secreción de glucagón es fundamental para defenderse de la hipoglucemia, por lo que los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 dependen de una adecuada respuesta de catecolaminas ante esta situación. La respuesta del sistema nervioso autónomo falla en muchos pacientes con diabetes mellitus tipo 1, no sólo en los que desarrollan la complicación de la neuropatía autónoma sino también en pacientes que no perciben los síntomas autónomos de hipoglucemia, fundamentalmente tras episodios repetidos de hipoglucemia<sup>9,14,15</sup>. En estos pacientes el dintel de glucemia para presentar síntomas es mucho más bajo y, en ocasiones, entran directamente en situación de neuroglucopenia. El número de episodios graves de hipoglucemia que pueden llegar a presentar es de 2,8 por paciente al año frente a 0,5 en pacientes con percepción normal de la hipoglucemia<sup>16</sup>.

El mecanismo que produce la disfunción del sistema nervioso autonómico en el paciente con diabetes mellitus tipo 1 no está claro. La presentación de episodios recurrentes de hipoglucemia predispone a disminuir el umbral glucémico de respuesta<sup>17</sup>. Se ha comprobado que en sujetos normales la inducción de hipoglucemia mantenida durante 2 h produce una disminución de respuesta del glucagón, la adrenalina, la noradrenalina y el polipéptido pancreático a una segunda inducción de hipoglucemia. Los síntomas autó-

nomos aparecían con valores de glucemia más bajos y las funciones cognitivas se mantenían<sup>18</sup>. En sujetos diabéticos con hipoglucemias de repetición se ha comprobado que una vigilancia estrecha que evite la aparición de hipoglucemia a lo largo del tiempo revierte el defecto en la secreción de catecolaminas y restaura levemente la respuesta del glucagón ante la hipoglucemia. Esta intervención también restaura la apreciación de los síntomas autónomos<sup>19-21</sup>.

Otro aspecto que hay que tener en cuenta es la mayor predisposición a la hipoglucemia tras el ejercicio físico. Se sabe que el ejercicio físico aumenta la sensibilidad a la insulina, por lo que los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 deben siempre ajustar la dosis de insulina o incrementar la ingestión de carbohidratos, no sólo antes y durante la realización del ejercicio, sino también cuando éste ha finalizado. Además, el antecedente de hipoglucemia puede disminuir la respuesta de hormonas contrarreguladoras que tiene lugar durante el ejercicio, como se ha documentado en sujetos normales<sup>22</sup>. Este mecanismo podría acontecer en el paciente diabético con antecedentes de hipoglucemia, y la realización de ejercicio físico podría aumentar el riesgo de hipoglucemia ulterior.

## TRATAMIENTO DE LA HIPOGLUCEMIA

Las hipoglucemias leves o moderadas deben tratarse con la ingestión de glucosa (10-20 g) e hidratos de carbono complejos. Es importante evitar un exceso de glucosa para no producir hiperglucemia. Las hipoglucemias graves, en las que el paciente es incapaz de ingerir glucosa, deben tratarse con glucagón (0,5 mg en niños y 1 mg en adultos) por vía subcutánea o intramuscular. La recuperación se observa en unos 10 min y en ese momento se debe ingerir hidratos de carbono complejos. La alternativa al glucagón es la glucosa intravenosa (10-25 g).

Las hipoglucemias inducidas por sulfonilureas se tratan habitualmente con glucosa intravenosa. No obstante, es frecuente observar hipoglucemia recurrente al retirar la infusión de glucosa debido a que la sulfonilurea aún no eliminada sigue estimulando la secreción de insulina. Una alternativa al tratamiento con glucosa es el octreótido, administrado por vía subcutánea, que inhibe la secreción de insulina.

La prevención de la hipoglucemia es, sin duda, el gran reto en el tratamiento del paciente diabético en el que se instaura un tratamiento intensivo. Los diferentes regímenes de insulina de que disponemos no consiguen un perfil fisiológico y las múltiples variables que existen en el día a día –raciones de hidratos de carbono con sus diferentes índices glucémicos, vaciamiento gástrico, actividad física, emociones– dificultan la consecución de un control de la glucemia en rangos óptimos. La introducción de análogos de insulina, como la Lispro, está demostrando beneficios al inducir menos hipoglucemias<sup>23,24</sup>. Otro análogo aún no comercializado, la insulina Glargina, que tiene una ab-

sorción lenta y produce un perfil de insulina plano durante unas 22 horas, ha demostrado reducción de hipoglucemias nocturnas en algunos ensayos clínicos<sup>25</sup>. Algunos autores apoyan el uso de insulina subcutánea continua mediante bombas de infusión, al encontrar menos episodios de hipoglucemia<sup>26</sup>. Próximamente, dispondremos de medidores de glucosa continuos, con sistema de alarma para concentraciones predeterminadas de glucosa, que sin duda serán de mucha utilidad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1997;46:271-86.
2. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;837-52.
3. Shorr R, Ray WA, Daugherty JR, Griffin MR. Incidence and risk factors for serious hypoglycemia in older persons using insulin or sulfonylureas. *Arch Intern Med* 1997;157:1681-6.
4. Schwartz NS, Clutter WE, Shah SD, Cryer PE. Glycemic thresholds for activation of glucose counterregulatory systems are higher than the thresholds for symptoms. *J Clin Invest* 1987;79:777-81.
5. Mitrakou A, Ryan C, Veneman T, Mokan M, Jenssen T, Kiss, et al. Hierarchy of glycemic thresholds for counterregulatory hormone secretion, symptoms, and cerebral dysfunction. *Am J Physiol* 1991;260:E67-74.
6. Taborsky GJ, Ahrén B, Havel PJ. Autonomic mediation of glucagon secretion during hypoglycemia. Implications for impaired alpha-cell responses in type 1 diabetes. *Diabetes* 1998;47:995-1005.
7. Pardridge WM, Boado RJ, Farrell CR. Brain-type glucose transporter (GLUT-1) is selectively localized to the blood-brain barrier. *J Biol Chem* 1990;265:18035-40.
8. Nagamatsu S, Kornhauser JM, Burant CF, Seino S, Mayo KE, Bell GI. Glucose transporter expression in brain: cDNA sequence of mouse GLUT3, the brain facilitative glucose transporter isoform, and identification of sites of expression by in situ hybridization. *J Biol Chem* 1992;267:467-72.
9. Cryer PE. Hypoglycemia the limiting factor in the management of IDDM. *Diabetes* 1994;43:1378-89.
10. Boyle PJ, Kempers SF, O'Connor AM, Nagy RJ. Brain glucose uptake and unawareness of hypoglycemia in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1995;333:1726-31.
11. Boado RJ, Pardridge WM. Glucose deprivation causes post-transcriptional enhancement of brain capillary endothelial glucose transporter gene expression via GLUT1 mRNA stabilization. *J Neurochem* 1993;60:2290-6.
12. Kumagai AK, Kang Y-S, Boado RJ, Pardridge WM. Upregulation of blood-brain barrier GLUT1 glucose transporter protein mRNA in experimental chronic hypoglycemia. *Diabetes* 1995;44:1399-404.
13. Uehara Y, Nipper V, McCall AL. Chronic insulin hypoglycemia induces GLUT-3 protein in rat brain neurons. *Am J Physiol* 1997;272:E716-9.
14. Cryer PE. Iatrogenic hypoglycemia as a cause of hypoglycemia-associated autonomic failure in IDDM. *Diabetes* 1992;41:255-60.
15. Dagogo-Jack SE, Craft S, Cryer PE. Hypoglycemia-associated

## Rovira A. Fisiopatología de la hipoglucemia en la diabetes mellitus

- autonomic failure in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1993;91:819-38.
16. Gold AE, MacLeod KM, Frier BM. Frequency of severe hypoglycemia in patients with type 1 diabetes with impaired awareness of hypoglycemia. *Diabetes Care* 1994;17:697-703.
  17. Amiel SA, Sherwin RS, Simonson DC, Tamborlane WV. Effect of intensive insulin therapy on glycemic thresholds for counterregulatory hormone release. *Diabetes* 1988;37:901-7.
  18. Heller SR, Cryer PE. Reduced neuroendocrine and symptomatic responses to subsequent hypoglycemia after 1 episode of hypoglycemia in nondiabetic humans. *Diabetes* 1991;40:223-6.
  19. Fanelli CG, Epifano L, Rambotti AM, Pampanelli S, Di Vincenzo A, Modarelli F, et al. Meticulous prevention of hypoglycemia normalizes the glycemic thresholds and magnitude of most of neuroendocrine responses to, symptoms of, and cognitive function during hypoglycemia in intensively treated patients with short-term IDDM. *Diabetes* 1993;42:1683-9.
  20. Fanelli C, Pampanelli S, Epifano L, Rambotti AM, Di Vincenzo A, Modarelli F, et al. Long-term recovery from unawareness, deficient counterregulation and lack of cognitive dysfunction during hypoglycaemia, following institution of rational, intensive insulin therapy in IDDM. *Diabetologia* 1994;37: 1265-76.
  21. Cranston I, Lomas J, Maran A, Macdonald I, Amiel SA. Restoration of hypoglycemia awareness in patients with long-duration insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1994;344:283-7.
  22. Davis SN, Galassetti P, Wasserman DH, Tate D. Effects of antecedent hypoglycemia on subsequent counterregulatory responses to exercise. *Diabetes* 2000;49:73-81.
  23. Heller SL, Amiel SA, Mansell P. Effect of the fast-acting insulin analog lispro on the risk of nocturnal hypoglycemia during intensified insulin therapy. *Diabetes Care* 1999;22:1607-11.
  24. Gale EAM for the UK Trial Group. A randomized, controlled trial comparing insulin lispro with human soluble insulin in patients with type 1 diabetes on intensified insulin therapy. *Diabet Med* 2000;17:209-14.
  25. Gillies PS, Figgitt DP, Lamb HM. Insulin glargine. *Drugs* 2000;59:253-60.
  26. Boland EA, Grey M, Oesterle A, Fredrickson L, Tamborlane WV. Continuous subcutaneous insulin infusion. A new way to lower risk of severe hypoglycemia, improve metabolic control, and enhance coping in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1779-84.