

多中心评价银杏内酯注射液治疗重症缺血性脑卒中药物经济学

季传平, 何 纯, 李慧琴*

成都百裕制药股份有限公司, 四川 成都 610000

摘要: **目的** 研究多中心银杏内酯注射液治疗重症缺血性脑卒中的临床疗效、经济性、安全性, 评价药物经济价值。方法 采用前瞻性队列研究方法, 纳入了2013年8月—2013年12月各中心重症缺血性脑卒中患者共119例, 以银杏内酯注射液加常规治疗的患者为治疗组, 共78例; 对照组41例, 患者在常规治疗基础上可使用其他活血化瘀类药物。在出院后3、6、12个月对两组患者进行电话随访, 获取药效指标: 日常生活活动能力评价(ADL)评分、生活自理患者比例、痊愈率、复发率、全因死亡率; 经济学指标: 成本效果比(CER); 以及不良事件发生情况, 评估患者采用不同治疗方案的远期获益差异。**结果** 出院后3、6、12个月, 治疗组ADL评分、痊愈率和自理率均优于对照组, 且差异显著($P < 0.05$); 出院后6个月, 治疗组复发率优于对照组, 且差异显著($P < 0.05$); 出院后12个月, 治疗组复发率和死亡率优于对照组, 且差异显著($P < 0.05$); 出院后3、6、12个月, 治疗组的CER均明显小于对照组; 两组不良反应发生率均较低。**结论** 远期评估发现, 经银杏内酯注射液治疗患者较未接受其治疗患者临床效果更佳, CER更优, 证明了银杏内酯注射液治疗重症脑卒中的有效性及经济性。

关键词: 银杏内酯; 安全性; 药物经济学; 重症缺血性脑卒中; 经济性; 成本效果比(CER)

中图分类号: R962.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)07-1191-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.07.005

Multicenter evaluation on pharmacoeconomics of Ginkgolide Injection in treatment of severe ischemic stroke

Ji Chuanping, HE Chun, LI Huiqin

Chengdu Baiyu Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 610000, China

Abstract: Objective To study the clinical efficacy, economical efficiency, and security of Ginkgolide Injection in the treatment of severe ischemic stroke in multicenter, and evaluate the economic value of drugs. **Methods** A prospective cohort study was conducted in this study, a total of 119 patients with severe ischemic stroke were collected from August 2013 to December 2013. In the treatment group, 78 patients were treated with Ginkgolide Injection and routine treatment; In the control group, 41 patients were treated with routine treatment (other blood stasis drugs can be used). The patients were telephone followed-up visited 3, 6, and 12 months after discharge for pharmacodynamic indexes (ADL score, self-care rate, recovery rate, recurrence rate, and all-cause mortality), economic indicators (cost effectiveness ratio, CER), and adverse events, so as to assess the patients with long-term benefit differences after different treatments. **Results** Follow-up in 3, 6, and 12 months after discharge showed that ADL score, recovery rate and self-care rate of treatment group were better than control group, and the difference was significant ($P < 0.05$). In the 6 months after discharge, the recurrence rate of treatment group was superior to control group, and the difference was significant ($P < 0.05$). In the 12 months after discharge, the recurrence rate and death rate of the treatment group were superior to the control group, and the difference was significant ($P < 0.05$). In the 3, 6 and 12 months after discharge, the CER of the treatment group was less than the control group ($P < 0.05$). The incidence of adverse reactions was lower in both groups. **Conclusions** Long-term assessment found that Ginkgolide Injection had better clinical outcomes and better CER than those without it, which proved the effectiveness and economic efficacy of Ginkgolide Injection in the treatment of severe ischemic stroke.

Key words: ginkgolide; security; pharmacoeconomics; severe ischemic stroke; economical efficiency; cost effectiveness ratio (CER)

收稿日期: 2018-05-17

第一作者: 季传平, 预防医学。E-mail: 41159399@qq.com

*通信作者: 李慧琴, 主要研究方向中药药理与临床。Tel: 18981993272

缺血性脑卒中是指脑组织局部动脉血流灌注减少或完全中断, 停止供血、供氧, 引起脑组织坏死、软化。该病是神经内科的常见病与多发病, 具有病死率高、致残率高、复发率高和医疗费用高的特点, 不仅严重影响患者及家属生存质量, 同时也耗费了大量的社会医疗资源。在地广人稀的加拿大, 每年卒中费用约 36 亿美元 (包括直接治疗费用和误工等造成的经济损失)^[1]。有资料显示, 脑卒中患者超过 20% 出院时需要转入康复机构, 而 30% 的则遗留永久残疾, 需要长期护理^[2]。积极干预缺血性脑卒中恢复期的治疗, 尽量减轻患者社会功能障碍, 尽早恢复患者社会角色, 成为缺血性脑卒中研究的重点。

“中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014”对于缺血性脑卒中恢复期的治疗主要推荐采用抗血小板、降纤、扩容、扩张血管、改善脑循环、神经保护及中医中药治疗, 治疗期间应有效控制血压、血糖, 并进行营养支持^[3]。目前治疗条件下, 缺血性脑卒中仍是一个致死率、致残率和复发率高的疾病, ≥65 岁的患者, 在卒中发生 6 个月后, 26% 的患者在日常生活中需要依赖他人, 46% 的患者出现认知功能障碍^[4]。

金阁莱®银杏内酯注射液于 2011 年经国家食品药品监督管理局批准上市, 是由成都百裕科技制药有限公司潜心研发的银杏制剂 (中药 5 类新药), 有效成分含量高达 99% 以上, 包含白果内酯 (48%)、银杏内酯 A (12%)、银杏内酯 B (34%)、银杏内

酯 C (5%), 具有活血化瘀、通经活络的功效^[5], 用于中风病中经络恢复期瘀血阻络证, 症见半身不遂、口舌歪斜、言语蹇涩、肢体麻木等。

目前, 银杏内酯注射液多中心 IV 期临床试验已完成, 合计 3 652 例, 证明了药物的有效性及安全性。前期药物对缺血性卒中患者的远期获益也已证明^[6], 本研究进一步确认其对亚组重症卒中患者远期获益的影响, 对天津中医药大学第二附属医院、福建医科大学附属第一医院、重庆市中医院、南充市中心医院、河南省中医院、川北医学院附属医院、贵阳医学院附属医院、南昌市第一医院、郑州大学第一附属医院、吉大一院等多个中心同一时期使用银杏内酯注射液的患者及未使用银杏内酯注射液的病情相匹配的患者进行面对面随访, 获取治疗效果信息及治疗费用信息, 进行真实世界条件下的药物经济学评价。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究是多中心、前瞻性队列研究, 选取 2013 年 8 月—2013 年 12 月在上述中心接受银杏内酯注射液治疗的, 以及和与之基线情况匹配的、未接受银杏内酯注射液治疗的重型脑卒中患者。本研究纳入的随访病例共 119 例, 治疗组 (应用银杏内酯注射液) 78 例, 对照组 (未应用银杏内酯注射液) 41 例。两组在性别、年龄、NIHSS 评分、复发病例比例、矫正 Rankin 评分^[7]分布以及合并疾病情况均无显著差异, 两组基线指标均可比, 见表 1。

表 1 两组基线比较表

Table 1 Baseline comparison between two groups

| 组别 | 年龄/岁 | 男/女 | 首发/复发病例 | NIHSS 评分 | 矫正 Rankin 评分 | | 合并疾病/例 | | | |
|----|--------------|-------|---------|------------|--------------|----|--------|-----|------|-------|
| | | | | | 4 | 5 | 高血压 | 糖尿病 | 高脂血症 | 颈动脉硬化 |
| 对照 | 62.64±15.405 | 19/22 | 32/9 | 19.73±4.32 | 30 | 11 | 28 | 20 | 13 | 7 |
| 治疗 | 69.19±10.703 | 41/37 | 57/21 | 21.13±3.21 | 57 | 21 | 54 | 37 | 25 | 13 |

1.2 纳入标准

①符合西医缺血性脑卒中诊断标准^[3]; ②符合中医中风病中经络诊断标准^[8]; ③符合瘀血阻络证辨证标准; ④既往 Rankin (mRS) 评分 ≥4; ⑤签署知情同意书。

1.3 排除标准

①脑梗死后脑出血以及脑动脉炎患者; ②由脑肿瘤、脑外伤、脑寄生虫病、风湿性心脏病、冠心病及其他心脏病合并房颤而引起的脑栓塞者; ③有

恶性肿瘤或其他重症器官衰竭等直接影响患者寿命的疾病; ④有出血倾向或有出血性疾病的患者; ⑤有自身免疫性疾病的患者; ⑥有影响患者功能评估的外伤性疾病的患者。

1.4 治疗方法

治疗组除常规治疗 (使用溶栓、抗血小板、抗凝、改善循环等药物) 外, 给予银杏内酯注射液 (成都百裕制药股份有限公司, 规格 2 mL/支, 批号 20130506), 10 mL 加入 250 mL 生理盐水中, 静脉

滴注, 1次/d, 连续用药 14 d, 治疗期间禁止使用所有中药注射剂和活血化瘀类中成药; 对照组为常规治疗, 另外可给予灯盏花素、丹参川芎嗪、参芎注射液、血栓通注射液、苦碟子注射液等活血化瘀类药物。在患者出院后 3 个月、6 个月以及 1 年对两组患者进行随访, 获取患者卒中复发情况、恢复情况及治疗费用情况, 评估真实世界中两组患者的远期获益。

1.5 观察指标

1.5.1 药效指标 日常生活活动能力评价 (ADL) 评分^[6]、生活自理患者比例、痊愈率 (mRS=0^[9])、复发率、全因死亡率。

1.5.2 经济学指标 进行成本效果分析, 分析两组患者各随访点平均成本效果比 (CER), CER=C/E, C 代表成本, E 代表效果^[10]。成本包括患者住院治疗期间的所有费用、院外卒中相关药物费用、康复治疗费用及卒中复发再次住院治疗费用, 效果指相应随访时间点两组患者的能自理患者所占比例。

1.5.3 安全性指标 统计治疗组及对照组住院期间不良事件发生率及不良事件严重程度, 评估银杏内酯注射液的安全性。

1.5.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验; 计数资料采用 χ^2 检验; Fisher 确切概率法计算 *P* 值。

2 结果

2.1 出院后 3 个月随访结果

2.1.1 药效指标 治疗组纳入病例 78 例, 对照组纳入 41 例。治疗组 ADL 评分显著优于对照组 ($P < 0.01$); 治疗组痊愈患者为 29/78 (37.18%), 对照组为 7/41 (17.07%), 治疗组效果优于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗组能自理患者为 47/78 (60.26%), 对照组能自理患者 16/41 (39.02%), 治疗组优于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 两组在 3 个月时均无复发和死亡病例出现。见表 2。

表 2 随访 3 个月结果分析表

Table 2 Results of follow-up visits for three months

| 组别 | n/例 | ADL 评分 | 痊愈率/% | 自理率/% |
|----|-----|---------------|--------|--------|
| 对照 | 41 | 77.32±13.28 | 17.07 | 39.02 |
| 治疗 | 78 | 89.72±21.23** | 37.18* | 60.26* |

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

2.1.2 经济学指标 治疗组平均住院治疗费用为 (36 523.57±457.2) 元, 院外治疗费用为 (1 523.27±102.1) 元, 在 3 个月时能自理患者比例为 60.26%; 对照组住院治疗费用为 (34 276.69±354.2) 元, 院外治疗费用为 (3 215.23±357.6) 元, 在 3 个月时能自理患者比例为 39.02%。对两组进行成本效果分析, 治疗组 CER=631.38, 对照组 CER=960.84。

2.2 出院后 6 个月随访结果

2.2.1 药效指标 本次随访治疗组对照组均无失访。治疗组纳入病例 78 例, 对照组纳入 41 例, 其中治疗组死亡 3 例, 对照组死亡 5 例, 全因死亡率分别为 3/78 (3.85%)、5/41 (12.20%), 两组无明显差异。治疗组 ADL 评分优于对照组, 两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗组痊愈患者为 23/75, 对照组为 4/36, 治疗组效果优于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗组能自理患者为 46/75, 对照组能自理患者为 14/36, 治疗组优于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗组 3/75 患者卒中复发, 对照组 6/36 患者卒中复发, 治疗组低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果见表 3。

2.2.2 经济学指标 治疗组平均住院治疗费用为 (37 265.23±351.3) 元, 院外治疗费用为 (1 574.38±57.63) 元, 在 6 个月时能自理患者比例为 61.33%; 对照组住院治疗费用为 (39 527.32±532.1) 元, 院外治疗费用为 (3 257.35±37.51) 元, 在 6 个月时能自理患者比例为 38.89%。对两组进行成本效果分析, 治疗组 CER=633.29, 对照组 CER=1 100.15。

表 3 随访 6 个月结果分析表

Table 3 Results of follow-up visits for six months

| 组别 | n/例 | ADL 评分 | 痊愈率/% | 自理率/% | 复发率/% | 全因死亡率/% |
|----|-----|--------------|--------|--------|-------|---------|
| 对照 | 36 | 85.21±12.32 | 11.11 | 38.89 | 16.67 | 12.20 |
| 治疗 | 75 | 92.32±16.27* | 30.67* | 61.33* | 4.00* | 3.85 |

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

2.3 出院后 12 个月随访结果

2.3.1 药效指标 本次随访治疗组失访 1 例, 对照组失访 2 例, 治疗组纳入病例 77 例, 对照组纳入 39 例, 其中治疗组和对照组死亡人数分别是 11 例和 14 例, 全因死亡率分别是 11/77(14.29%)和 14/39(35.90%), 两组比较治疗组显著低于对照组 ($P < 0.01$)。治疗组 ADL 评分显著优于对照组 ($P <$

0.001); 治疗组痊愈患者为 29/66, 对照组为 4/25, 治疗组效果优于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗组能自理患者为 45/66, 对照组能自理患者为 7/25, 治疗组显著优于对照组 ($P < 0.01$); 治疗组 5/66 (7.58%) 患者卒中复发, 对照组 6/25 (24%) 患者卒中复发, 治疗组复发率低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。详见表 4。

表 4 随访 12 个月结果分析表

Table 4 Results of follow-up visits for twelve months

| 组别 | n/例 | ADL 评分 | 痊愈率/% | 自理率/% | 复发率/% | 全因死亡率/% |
|----|-----|----------------|--------|---------|-------|---------|
| 对照 | 25 | 82.71±11.27 | 16.00 | 28.00 | 24.00 | 35.90 |
| 治疗 | 66 | 93.27±11.24*** | 43.94* | 68.18** | 7.58* | 14.29** |

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group

2.3.2 经济学指标 治疗组平均住院治疗费用为 (39 574.37±461.7) 元, 院外治疗费用为 (2 746.89±87.31) 元, 在 12 个月时能自理患者比例为 68.18%; 对照组住院治疗费用为 42 573.76±87.33, 院外治疗费用为 (5 759.32±98.37) 元, 在 12 个月时能自理患者比例为 28.00%。对两组进行成本效果分析, 治疗组 CER=620.73, 对照组 CER=1 726.18。

2.4 不良反应

住院用药治疗期间, 治疗组和对照组均发生了 1 例轻微不良事件, 治疗组为面部潮红, 未做特殊处理, 治疗结束后自行缓解。对照组为浅静脉炎, 予停用舒血宁, 并进行对症治疗。

3 讨论

2018 年 Katan 等^[11]发表的卒中全球负担的文章中提出, 卒中是世界第二死因, 是残疾的主要原因; 而 2017 年王文志^[12]在 Circulation 发表的中国卒中流行病学指出, 中国是全球最大的脑卒中负担国, 且是导致死亡的第一病因。其中重型脑卒中占全部卒中的 13%~24%^[13], 其预后较差, 且会延迟住院时间并导致高死亡率^[13-14]。

虽然前期研究通过随访发现, 早期治疗会给缺血性脑卒中患者带来远期获益, 并证明了银杏内酯注射液的安全性、有效性及经济性^[6], 但未对患者类型做获益分析。而本次研究主要分析亚型重症患者的获益, 研究选取 NIHSS 评分≥15 分/mRS 评分≥4 分的患者, 这与 Bill^[13]和 Kang^[14]等研究对重型脑卒中患者划分基本一致。本研究结果显示, 针对重

症脑卒中患者, 随访 3、6、12 个月后其各项指标治疗均优于对照组, ADL 评分、痊愈率、自理率等疗效指标治疗组显著优于对照组。另外针对经济学指标, 对照组的住院期间和院外用药种类明显多于治疗组, 造成对照组住院期间和院外用药平均费用高于治疗组, 院外费用升高尤其显著。因治疗组恢复情况显著优于对照组, 故治疗组院外过度用药的情况相对较少, 多数患者能完全依照医生处方进行用药, 而对照组很多患者因恢复情况不佳, 容易换药或者乱联合用药物。治疗组远期 CER 均明显低于对照组, 与前期对缺血性脑卒中患者随访结果^[6]比较, 银杏内酯注射液治疗亚型重症患者 CER 降低更明显, 证明了其治疗重症脑卒中患者获益更好。

传统的银杏叶制剂 EGB761 主要成分是 24%的黄酮和 6%萜内酯, 研究显示, 黄酮不易通过血脑屏障^[15], 而萜内酯在银杏提取物对中枢神经系统的作用中发挥了作用^[16]。银杏内酯注射液主要成是 99%萜内酯, 所含的 48%白果内酯, 能够抑制缺血区域的 ATP 下降以及增强线粒体呼吸链功能从而改善缺血后脑组织的能量代谢^[17-18], 同时它具有抗炎症免疫^[19]和兴奋性氨基酸神经毒性作用^[20], 能抑制神经细胞的凋亡、促进神经元的增殖分化^[21], 并能减轻脑水肿的发生^[22-24], 综合起到保护神经元、保护胶质细胞的作用; 所含的 51%银杏内酯 ABC, 是天然 PAF 受体拮抗剂, 可以抑制血小板聚集和抗炎, 起到保护血管和胶质细胞的作用^[25]。因此, 银杏内酯注射液可以拮抗 PAF, 保护神经血管单元, 具有双效合一的作用。另外还有研究结果表明: 银

杏内酯注射液及其组分促进周细胞、血管内皮细胞分泌血管内皮生长因子(VEGF),保护血管内皮细胞、促进受损血管内皮细胞生成并形成网状、管状结构^[26]。

银杏内酯注射液治疗重症脑卒中患者远期获益显著优于对照组,与银杏内酯注射液多靶点脑保护机制有关。

参考文献

- [1] Krueger H, Lindsay P, Cote R et al. Cost avoidance associated with optimal stroke care [J]. *Stroke*, 2012, 43: 2198-2206.
- [2] 中华医学会神经病学分会. 中国重症脑血管病管理共识 2015 [J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49(3): 192-202.
- [3] 中华医学会神经病学分会. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014 [J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4): 246-257.
- [4] 卒中一级预防指南: 美国心脏协会/美国卒中协会致医疗专业者的声明(第一部分) [J]. *中国卒中杂志*, 2015, 10(2): 157-164.
- [5] 张学非, 曹泽或, 许治良, 等. 银杏内酯治疗脑缺血作用机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2016, 47(16): 2943-2948.
- [6] 孙毅, 李慧琴. 多中心评价银杏内酯注射液治疗缺血性脑卒中药物经济学 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(06): 759-763.
- [7] 肖世富. 神经心理测验和评定量表在阿尔茨海默病的应用及价值 [J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2005, 5(3): 137-140.
- [8] 任战利, 王顺道, 高颖. 中风病辩证诊断标准(试行) [J]. *北京中医药大学学报*, 1994, 17(3): 64-66.
- [9] 饶明俐. 中国脑血管病防治指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [10] 张顺国, 陈敏玲, 唐跃年, 等. 药物经济学研究方法 [J]. *医药导报*, 2000, 19(5): 495-496.
- [11] Katan M, Luft A. Global Burden of Stroke [J]. *Semin Neurol*, 2018, 38(2): 208-211.
- [12] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in china: results from a nationwide population-based survey of 480687 adults [J]. *Circulation*, 2017, 135(8): 759-771.
- [13] Bill O, Zufferey P, Faouzi M, et al. Severe stroke: patient profile and predictors of favorable outcome [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11(1): 92-99.
- [14] Kang J H, Bae H J, Choi Y A, et al. Length of hospital stay after stroke: A Korean nationwide study [J]. *Ann Rehabil Med*, 2016, 40(4): 675-681.
- [15] Chen F, Li L, Xu F, et al. Systemic and cerebral exposure to and pharmacokinetics of flavonols and terpene lactones after dosing standardized *Ginkgo biloba* leaf extracts to rats via different routes of administration [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 170(2): 440-457.
- [16] Strömgaard K, Nakanishi K. Chemistry and biology of terpene trilactones from *Ginkgo biloba* [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2004, 43(13): 1640-1658.
- [17] Schwarzkopf T M, Koch K A, Klein J. Neurodegeneration after transient brain ischemia in aged mice: Beneficial effects of bilobalide [J]. *Brain Res*, 2013, 1529: 178-187.
- [18] Janssens D, Michiels C, Delaive E, et al. Protection of hypoxia-induced ATP decrease in endothelial cells by ginkgo biloba extract and bilobalide [J]. *Biochem Pharmacol*, 1995, 50(7): 991-999.
- [19] Zhou J M, Gu S S, Mei W H, et al. Ginkgolides and bilobalide protect BV2 microglia cells against OGD/reoxygenation injury by inhibiting TLR2/4 signaling pathways [J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2016 21(6): 1037-1053.
- [20] Davies J A, Johns L, Jones F A. Effects of Bilobalide on cerebral amino acid neurotransmission [J]. *Pharmacopsychiatry*, 2003, 36 Suppl 1: 84-88.
- [21] 华骏. 白果内酯对缺血性脑损伤的神经保护作用及其机制研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2017.
- [22] Mdžinarishvili A, Kiewert C, Kumar V, et al. Bilobalide prevents ischemia-induced edema formation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Neuroscience*, 2007, 144(1): 217-222.
- [23] 纪雪飞, 孙明亮, 贺晓露, 等. 白果内酯对缺血性脑水肿的保护作用及其机制探讨 [C]. 河北石家庄, 2014 年中国药学会暨第十四届中国药师周论文集, 2014.
- [24] 秦海明, 宋福林, 袁鹏程, 等. 白果内酯对大鼠栓塞后脑水肿模型脑内水通道蛋白 9 的影响 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2012, 29(8): 630-634.
- [25] Fang W, Deng Y, Li Y, et al. Blood brain barrier permeability and therapeutic time window of Ginkgolide B in ischemia-reperfusion injury [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2010, 39(1-3): 8-14.
- [26] Zheng S X, Zhou L J, Chen Z L, et al. Bilobalide promotes expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor in rat astrocytes [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(2): 151-155.