

✧腹部影像学

MR elastography and DWI in staging hepatic fibrosis

LIU Ying, SHI Yu, YU Bing, LI Qiuju, GUO Qiyong*

(Department of Radiology, Shengjing Hospital of China

Medical University, Shenyang 110004, China)

[Abstract] **Objective** To explore the value of magnetic resonance elastography (MRE) and DWI in staging diagnosis of liver fibrosis for chronic liver disease. **Methods** Totally 37 patients with chronic liver disease underwent MRE and DWI ($b=0, 50, 100, 150, 200, 300, 500, 800 \text{ s/mm}^2$). Liver stiffness values and ADC values were measured. Correlation of liver stiffness values and ADC values with liver fibrosis stage were analyzed. The efficacy of liver stiffness values and ADC values in staging diagnosis of liver fibrosis were analyzed and compared using the ROC curve. **Results** There were significant linear correlation of liver stiffness value and ADC value with the stage of liver fibrosis ($r=0.932, -0.606$, both $P<0.001$). Liver stiffness and ADC of different fibrosis staging had statistical difference ($F=39.701, P<0.001$; $F=5.031, P=0.003$). For staging liver fibrosis $\geq F1, \geq F2, \geq F3$, the area under the ROC of MRE was higher than DWI, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The cutoff values of liver stiffness in diagnosis of liver fibrosis $\geq F1, \geq F2, \geq F3, F4$ were 2.80 kPa, 3.11 kPa, 3.66 kPa, 3.99 kPa, and the cutoff values of ADC were $1.16 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $1.03 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $0.97 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, respectively. **Conclusion** MRE is better than DWI for the stage of liver fibrosis, but ADC value also is valuable in diagnosis of advanced liver fibrosis or cirrhosis.

[Key words] Liver cirrhosis; Elasticity imaging techniques; Diffusion magnetic resonance imaging

DOI:10.13929/j.1003-3289.2016.09.018

磁共振弹性成像与 DWI 诊断肝纤维化分期

刘莹, 石喻, 于兵, 李秋菊, 郭启勇*

(中国医科大学附属盛京医院放射科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] **目的** 探讨磁共振弹性成像(MRE)与 DWI 诊断慢性肝病肝纤维化分期的价值。 **方法** 37 例慢性肝病患者均接受 MRE 与 DWI($b=0, 50, 100, 150, 200, 300, 500, 800 \text{ s/mm}^2$)检查, 分别测量肝组织弹性值与表观扩散系数(ADC)值, 分析其与肝纤维化分期的相关性, 采用受试者工作特征曲线(ROC)对二者诊断慢性肝病肝纤维化分期的效能进行比较。 **结果** 肝弹性值、ADC 值与肝纤维化分期呈线性相关($r=0.932, -0.606$, P 均 <0.001)。不同肝纤维化分期弹性值、ADC 值差异有统计学意义($F=39.701, P<0.001$; $F=5.031, P=0.003$)。诊断肝纤维化 $\geq F1, \geq F2, \geq F3$ 期, MRE 的 ROC 曲线下面积大于 ADC 值, 且差异有统计学意义($P<0.05$); 诊断 F4 期两者曲线下面积无统计学差异。弹性值诊断肝纤维化 $\geq F1, \geq F2, \geq F3, F4$ 期的临界值为 2.80、3.11、3.66、3.99 kPa, ADC 值诊断的临界值为 $1.16 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 、 $1.03 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 、 $0.97 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 。 **结论** MRE 对肝纤维化分期诊断价值优于 DWI 技术, 而 DWI 对进展期肝纤维化及肝硬化有一定的诊断价值。

[关键词] 肝硬化; 弹性成像技术; 扩散磁共振成像

[中图分类号] R575.2; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2016)09-1386-05

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81271566, 81471718)、国家自然科学基金青年科学基金项目(81401376)。

[第一作者] 刘莹(1989—), 女, 河北衡水人, 在读硕士。研究方向: 肝脏磁共振成像。E-mail: dreamflytir@163.com

[通信作者] 郭启勇, 中国医科大学附属盛京医院放射科, 110004。E-mail: guoqy@sj-hospital.org

[收稿日期] 2015-12-10 **[修回日期]** 2016-06-03

磁共振弹性成像(magnetic resonance elastography, MRE)是通过机械波定量测量组织弹性/硬度的动态成像方法^[1-3],其诊断肝纤维化的优势明显。DWI通过检测活体组织内水分子的弥散运动状态,反映水分子运动受限的程度^[4-6],可预测肝纤维化/肝硬化程度。MRE需要额外配置外部刺激器,而DWI不需额外设备,简便、易行^[1-2,4],故两种方法各有优势。本研究通过分析慢性肝病患者MRE与DWI的定量指标,比较二者诊断肝纤维化分期的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2014年1月—2015年3月在我院就诊的肝纤维化患者37例,其中男20例,女17例,年龄22~59岁,平均 (44.6 ± 9.4) 岁。所有患者均经肝脏穿刺病理活检确诊,并经超声或MR检查排除肝脏占位病变(包括较大囊肿、脓肿、血管瘤、肝癌等可影响组织弹性值或ADC值的病变)。所有患者均签署知情同意书。37例患者中慢性乙型肝炎24例,丙型肝炎8例,非酒精性脂肪肝5例。

1.2 仪器与方法 采用GE Signal HDxt 3.0T超导型MR成像系统,8通道相控阵Torsopa体部线圈,联合阵列空间敏感编码技术(array spatial sensitivity encoding technique, ASSET)。对所有患者均于肝穿刺病理活检前1个月内行MRE、DWI检查。扫描前嘱患者禁食、禁水至少8h,扫描时取仰卧位。

MRE扫描:将被动激发器的前端中心置于右上腹部,以腹带固定,用于传递主动刺激器(位于扫描间外部,发出机械波)向肝脏发出的机械波;扫描序列为2D梯度回波序列,TR 50 ms,TE 24 ms,振动频率60 Hz,FOV 36~42 cm,翻转角 30° ,层厚10 mm,层间隔10 mm,层数4,触发次数4,屏气扫描时间共60 s,以肝门为中心,获得相应的幅度图及波形图,如波形图的机械波传播质量较差,则重复扫描。

DWI扫描:b值采用0、50、100、150、200、300、500、800 s/mm²,TR 8 571.4 ms,TE 98.9 ms,翻转角 90° ,矩阵 256×256 ,视野36~42 cm,层厚8 mm,层间隔10 mm,层数14,根据图像的SNR将NEX设定为2~8。

肝脏穿刺病理活检:术前患者需禁食6 h以上,超声引导下确定穿刺点、穿刺方向和深度,一般选在腋前线或腋中线第8~9

肋间。依据METAVIR分期标准,将慢性肝病引起的肝纤维化过程分为0~4期:0期(F0),无纤维化;1期(F1),汇管区纤维化无纤维间隔;2期(F2),汇管区纤维化伴少量纤维间隔;3期(F3),大量纤维间隔形成;4期(F4),肝硬化。

1.3 图像后处理

1.3.1 肝脏弹性值 采用GE AW 4.4工作站专用软件处理弹性图像,由获得的波形图通过反演拟合算法生成肝脏弹性图。以弹性图为准测量弹性值,在信号清晰的部位放置ROI,面积为 $1\,500 \sim 2\,000\text{ mm}^2$ 的不规则形或椭圆形^[3]。并尽可能包含更多的肝实质,避开肉眼可见的血管、胆管及肝脏边缘。弹性图的选择标准:区域内颜色较均匀,波形图的传播波方向明确、振幅良好,幅度图上的内部解剖结构以肝实质为主。肝弹性值以kPa为单位。每幅弹性图绘制一个ROI并测量,患者的肝弹性值取测量结果的均值。

1.3.2 肝脏ADC值 于GE AW 4.4工作站测量ADC值,采用b值为0、50、100、150、200、300、500、800 s/mm²的合成图像计算ADC值,选取肝门层面以上连续3层图像,在DWI图像上分别于肝右前叶、右后叶放置3处类圆形ROI(面积 $80 \sim 150\text{ mm}^2$)^[6,7],尽量避开大的血管区域及肝脏边缘,计算ADC值的均值。

由2名具有5年以上腹部诊断经验的放射科医师经培训后,采用单盲法测量肝脏的弹性值与ADC值,间隔1周后再次测量取平均值。

1.4 统计学分析 采用SPSS 19.0统计分析软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用组内相关系数(intra-class correlation coefficient, ICC)评价测量者间和测量者自身的一致性,ICC >0.75 认为一致性良好^[8]。采用Spearman等级相关检验弹性值、ADC值与肝纤维化分期的相关性。各病理分期的弹性值、ADC值的

表1 2名测量者测得的弹性值、ADC值一致性分析

测量者	弹性值(kPa)		ICC(95%CI)
	1周前	1周后	
测量者1	3.34 ± 0.93	3.33 ± 0.89	0.987(0.975, 0.993)
测量者2	3.34 ± 0.95	3.32 ± 0.89	0.974(0.950, 0.987)
ICC(95%CI)	0.990(0.981, 0.995)	0.988(0.976, 0.994)	—
测量者	ADC值($\times 10^{-3}\text{ mm}^2/\text{s}$)		ICC(95%CI)
	1周前	1周后	
测量者1	1.14 ± 0.17	1.12 ± 0.17	0.967(0.936, 0.983)
测量者2	1.14 ± 0.18	1.14 ± 0.18	0.922(0.848, 0.960)
ICC(95%CI)	0.964(0.931, 0.982)	0.955(0.913, 0.977)	—

多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验。采用独立样本 t 检验进行各合并纤维化分期的组间比较。采用 ROC 曲线评价弹性值、ADC 值诊断肝纤维化分期的效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 测量数据一致性分析 2 名测量者间及测量者内间隔 1 周测得患者的弹性值、ADC 值一致性良好,见表 1。

2.2 肝纤维化不同病理分期的弹性值、ADC 值分布及其与分期的相关性 肝纤维化患者各病理分期的肝脏弹性值、ADC 值见表 2,不同肝纤维化分期的弹性值、ADC 值差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。除

F0 与 F1、F2 与 F3 期外,余分期组间两两比较肝弹性值差异均有统计学意义(P 均 < 0.05),弹性值与肝纤维化分期呈正相关($r = 0.932, P < 0.001$)。F0 与 F3(图 1)、F0 与 F4(图 2)、F1 与 F3、F1 与 F4、F2 与 F4 期组间比较 ADC 值差异有统计学意义(P 均 < 0.05),ADC 值与肝纤维化分期呈负相关($r = -0.606, P < 0.001$)。

2.3 弹性值、ADC 值诊断各期肝纤维化的效能 各合并分期(F0 与 $\geq F1, \leq F1$ 与 $\geq F2, \leq F2$ 与 $\geq F3, \leq F3$ 与 F4 期)样本数及弹性值、ADC 值的结果见表 3。在诊断 $\geq F1, \geq F2, \geq F3$ 期肝纤维化时,弹性值的 ROC 的曲线下面积均大于 ADC 值,差异有统计学意义(P 均 < 0.05),诊断 F4 期肝纤维化时,弹性值的 ROC

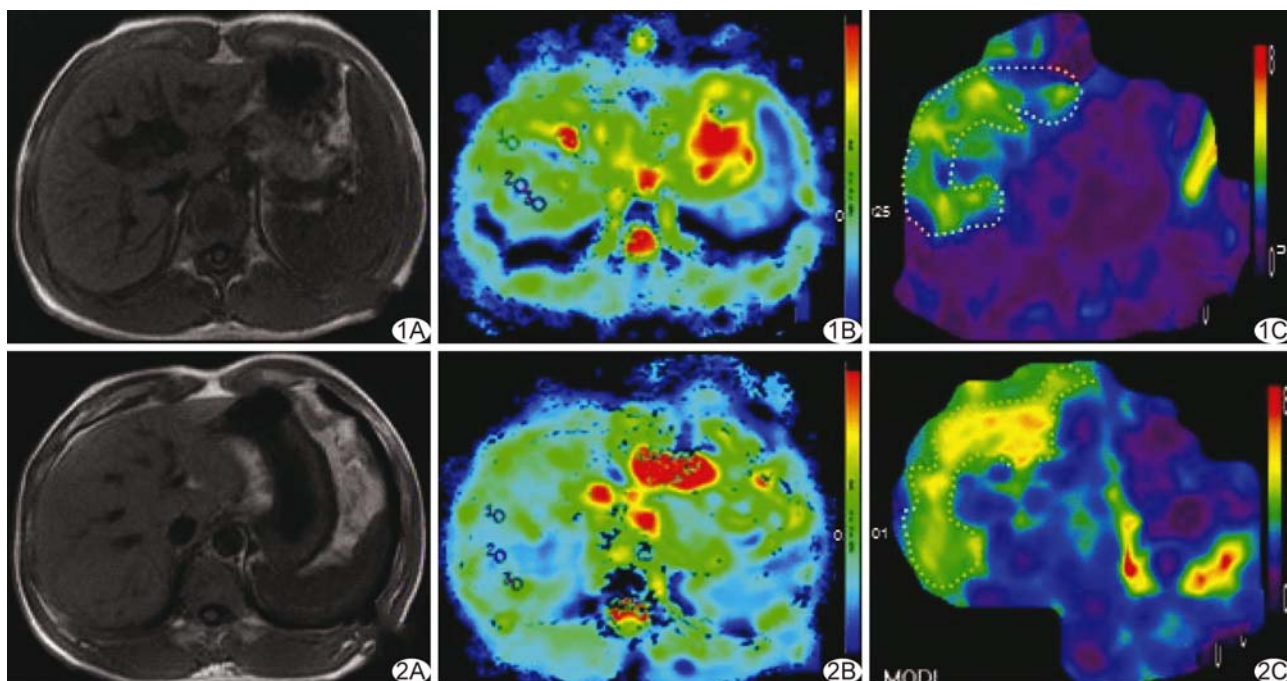


图 1 患者男,25 岁,肝纤维化 F3 期 A. 轴位 T1WI 图像; B. ADC 图,ADC 值为 $0.98 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; C. 弹性图,弹性值为 3.90 kPa 图 2 患者男,46 岁,肝纤维化 F4 期 A. 轴位 T1WI 图像; B. ADC 图,ADC 值为 $0.90 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; C. 弹性图,弹性值为 4.27 kPa

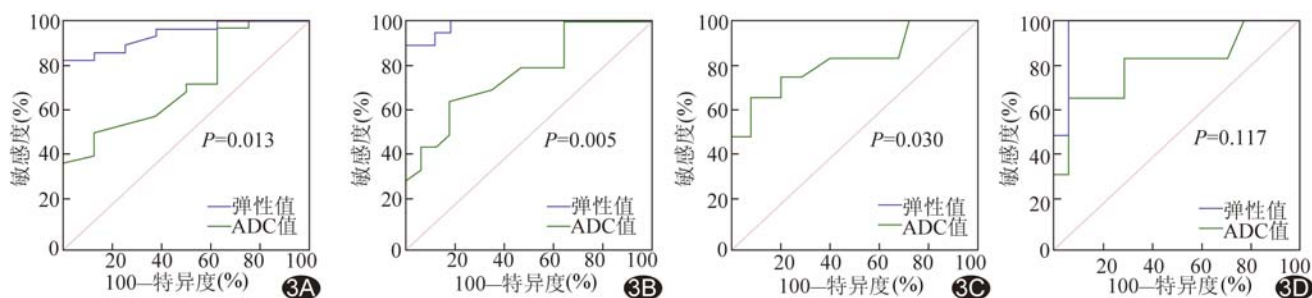


图 3 弹性值及 ADC 值诊断肝纤维化 $\geq F1$ (A)、 $\geq F2$ (B)、 $\geq F3$ (C)及 F4 期(D)的 ROC 曲线

表 2 肝纤维化各分期的弹性值、ADC 值比较($\bar{x} \pm s$)

肝纤维化分期	弹性值(kPa)	ADC 值($\times 10^{-3}$ mm ² /s)
F0(<i>n</i> =8)	2.41 $\pm$ 0.23	1.25 $\pm$ 0.11
F1(<i>n</i> =9)	2.71 $\pm$ 0.28	1.21 $\pm$ 0.13
F2(<i>n</i> =8)	3.36 $\pm$ 0.30* [#]	1.16 $\pm$ 0.10
F3(<i>n</i> =6)	4.04 $\pm$ 0.26* [#]	1.03 $\pm$ 0.18* [#]
F4(<i>n</i> =6)	4.77 $\pm$ 0.81* [#] Δ ^{&}	0.96 $\pm$ 0.21* [#] Δ
F 值	39.701	5.031
P 值	<0.001	0.003

注: * : 与 F0 比较, $P<0.05$; # : 与 F1 比较, $P<0.05$; Δ : 与 F2 比较, $P<0.05$; & : 与 F3 比较, $P<0.05$

表 3 肝纤维化各合并分期弹性值、ADC 值比较($\bar{x} \pm s$)

分期	弹性值(kPa)	ADC 值($\times 10^{-3}$ mm ² /s)
F0 期(<i>n</i> =8)	2.41 $\pm$ 0.23	1.25 $\pm$ 0.11
$\geq$ F1 期(<i>n</i> =29)	3.59 $\pm$ 0.88	1.10 $\pm$ 0.18
<i>t</i> 值	-6.458	2.202
P 值	<0.001	0.034
$\leq$ F1 期(<i>n</i> =17)	2.57 $\pm$ 0.29	1.23 $\pm$ 0.12
$\geq$ F2 期(<i>n</i> =20)	3.99 $\pm$ 0.76	1.06 $\pm$ 0.18
<i>t</i> 值	-7.688	3.442
P 值	<0.001	0.002
$\leq$ F2 期(<i>n</i> =25)	2.82 $\pm$ 0.47	1.21 $\pm$ 0.12
$\geq$ F3(<i>n</i> =12)	4.41 $\pm$ 0.68	1.00 $\pm$ 0.19
<i>t</i> 值	-8.223	3.621
P 值	<0.001	0.002
$\leq$ F3 期(<i>n</i> =31)	3.06 $\pm$ 0.66	1.17 $\pm$ 0.15
F4 期(<i>n</i> =6)	4.77 $\pm$ 0.81	0.96 $\pm$ 0.21
<i>t</i> 值	-4.895	3.064
P 值	0.002	0.004

曲线下面积数值大于 ADC 值,但差异无统计学意义($Z=1.569$, $P=0.117$),弹性值和 ADC 值诊断不同肝纤维化分期 ROC 曲线分析结果及 ROC 曲线图见表 4、5,图 3。

表 4 弹性值诊断不同肝纤维化分期的 ROC 曲线分析

分期	临界值	曲线下面积(95%CI)	敏感度(%)	特异度(%)
$\geq$ F1	2.80	0.94(0.81,0.99)	82.76	100
$\geq$ F2	3.11	0.99(0.88,1.00)	90.00	100
$\geq$ F3	3.66	1.00(0.91,1.00)	100	100
F4	3.99	0.97(0.85,1.00)	100	93.55

3 讨论

MRE、DWI 及超声弹性成像均为目前较为成熟的诊断肝纤维化分期的影像学方法^[1,3,5,9]。慢性肝病导致纤维细胞增生,形成大量的胶原纤维,肝细胞内、

表 5 ADC 值诊断不同肝纤维化分期的 ROC 曲线分析

分期	临界值	曲线下面积(95%CI)	敏感度(%)	特异度(%)
$\geq$ F1	1.16	0.73(0.56,0.86)	51.72	87.50
$\geq$ F2	1.16	0.78(0.61,0.90)	65.00	82.35
$\geq$ F3	1.03	0.83(0.67,0.93)	66.67	92.00
F4	0.97	0.80(0.64,0.92)	66.67	93.55

外水分子的热运动受到限制,肝脏弹性值增加^[1,10]。与肝脏穿刺相比,影像评估不仅简单、无创,还可全面、整体地评价肝弹性值,预测肝纤维化分期^[11]。与超声相比,MRE 检查时肝脏测量面积大,且不受肥胖、腹腔积液及肝脏占位、造影剂的影响,结果更客观准确。研究^[12-13]表明,MR 诊断纤维化的效能优于超声弹性成像。

王威等^[14]采用 Meta 分析的方法研究显示,MRE 的弹性值诊断不同分期肝纤维化的准确率均在 95% 以上,诊断肝纤维化 $\geq$ F1、 $\geq$ F2、 $\geq$ F3、F4 期的临界值分别为 2.30~3.02 kPa、2.18~5.37 kPa、3.10~6.47 kPa、4.0~6.47 kPa^[14-15]。本研究显示 MRE 的弹性值诊断肝纤维化 $\geq$ F1、 $\geq$ F2、 $\geq$ F3、F4 的界值分别为 2.80、3.11、3.66、3.99 kPa,其中 F4 期临界值较其他研究偏低^[14],这可能与本研究人群以病毒性肝炎较多,而脂肪肝患者较少有关。美国肝脏疾病研究协会指出,肝纤维化分期 $\geq$ F2 期时,应予以抗病毒治疗,尤其对于丙型肝炎患者;当肝纤维化分期 $\geq$ F3 时,应对肝纤维化并发症门静脉高压、肝癌等患者筛查^[16],因此对 $\geq$ F2 期、 $\geq$ F3 的诊断具有临床意义。与 DWI 相比,MRE 所测弹性值范围跨度大,随着纤维化程度的加重变化更为显著,且组间重叠较小,有利于对肝纤维化进行个体化分期。

与 MRE 相比,DWI 结果尽管存在一定重叠性,但仍能在一定程度上诊断进展期的肝纤维化及肝硬化。ADC 值诊断肝纤维化 $\geq$ F2、 $\geq$ F3 期时的敏感度较低,为 65.00%、66.67%,但特异度均高于 80.0%(分别为 82.35%、92.00%),其在诊断肝硬化时 DWI 与 MRE 效能相当。Taouli 等^[7]研究结果显示,ADC 值诊断肝纤维化分期 $\geq$ F2、 $\geq$ F3 时,其敏感度为 83.3%、88.9%,特异度为 83.3%、80.0%,略高于本研究结果,可能与本研究病例数较少,F0、F1 期患者比例较高(21.6%、24.3%)有关。研究^[7,17-18]报道,b 值差异及扫描设备、患病人群的不同均可引起 DWI 序列 ADC 值的不同。如 Taouli 等^[7]研究认为正常人群与肝纤

维化患者 ADC 界值为 $(1.14 \pm 0.07) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, Kim 等^[17]认为是 $(0.88 \pm 0.26) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, Girometti 等^[18]认为是 $(1.11 \pm 0.16) \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, 本研究为 $1.16 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 。尽管不同研究者测得的 ADC 值不同, 但是随着肝纤维化分期的进展, 其 ADC 值均呈下降趋势, 并对中、重度肝纤维化、肝硬化具有诊断价值^[7,16-19]。

本研究的局限性: ①样本量较小, 肝纤维化各期患者均小于 10 例, 其确立的肝纤维化分期的临界值可能存在一定的数据偏移。②尽管本研究的数据由 2 名放射科医师测得, 仍可能存在测量误差。③肝纤维化属于弥漫性病变, 虽然本研究尽量增大了 ROI 面积、测量部位及次数, 但仍存在肝脏自身 ADC 值、弹性值的差异。④未考虑肝炎、铁沉积等对弹性值、ADC 值的影响。⑤只计算了 DWI 序列 8 个 b 值的 ADC 均值, 对于灌注分数的影响有待进一步研究。

综上所述, MRE 对肝纤维化分期的诊断价值优于 DWI, 且诊断早中期纤维化优势明显。与 MRE 相比, DWI 对进展期肝纤维化及肝硬化有一定的诊断价值, 在 MRE 不可行或失败的情况下仍可作为评估中、重度肝纤维化的指标之一。

[参考文献]

- [1] Venkatesh SK, Yin M, Ehman RL. Magnetic resonance elastography of liver: Technique, analysis, and clinical applications. *J Magn Reson Imaging*, 2013, 37(3):544-555.
- [2] 汪红志, 刘翔, 王鹤, 等. 磁共振弹性成像技术在肝纤维化检测中的研究. *波谱学杂志*, 2013, 30(2):213-226.
- [3] 石喻, 郭启勇, 张兰, 等. 正常人肝脏 3.0T 磁共振弹性成像. *中国医学影像技术*, 2013, 29(6):941-944.
- [4] Papalavrentios L, Sinakos E, Chourmouzi D, et al. Value of 3 tesla diffusion-weighted magnetic resonance imaging for assessing liver fibrosis. *Ann Gastroenterol*, 2015, 28(1):118-123.
- [5] Zou LQ, Chen J, Pan L, et al. Comparison of magnetic resonance elastography and diffusion-weighted imaging for staging hepatic fibrosis. *Chin Med J*, 2015, 128(5):620-625.
- [6] 李秋菊, 李加慧, 赵周社, 等. DWI 多 b 值水通道蛋白分子成像在肝纤维化早期诊断的价值. *中国临床医学影像杂志*, 2014, 25(10):719-723.
- [7] Taouli B, Tolia AJ, Losada M, et al. Diffusion-weighted MRI for quantification of liver fibrosis: Preliminary experience. *AJR Am J Roentgenol*, 2007, 189(4):799-806.
- [8] Bammer R. Basic principles of diffusion-weighted imaging. *Eur J Radiol*, 2003, 45(3):169-184.
- [9] Venkatesh SK, Wang G, Lim SG, et al. Magnetic resonance elastography for the detection and staging of liver fibrosis in chronic hepatitis B. *Eur Radiol*, 2014, 24(1):70-78.
- [10] Friedman SL. Liver fibrosis-from bench to bedside. *J Hepatol*, 2003, 38(Suppl 1):S38-S53.
- [11] Lee S, Kim do Y. Non-invasive diagnosis of hepatitis B virus-related cirrhosis. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(2):445-459.
- [12] Tang A, Cloutier G, Szevenyi NM, et al. Ultrasound elastography and MR elastography for assessing liver fibrosis: Part 2, diagnostic performance, confounders, and future directions. *AJR Am J Roentgenol*, 2015, 205(1):33-40.
- [13] Ichikawa S, Motosugi U, Morisaka H, et al. Comparison of the diagnostic accuracies of magnetic resonance elastography and transient elastography for hepatic fibrosis. *Magn Reson Imaging*, 2015, 33(1):26-30.
- [14] 王威, 温锋, 赵相轩, 等. 磁共振弹性成像评价肝纤维化分期的 Meta 分析. *中国临床医学影像杂志*, 2015, 26(5):329-333, 354.
- [15] Singh S, Venkatesh SK, Loomba R, et al. Magnetic resonance elastography for staging liver fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease: A diagnostic accuracy systematic review and individual participant data pooled analysis. *Eur Radiol*, 2016, 26(5):1431-1440.
- [16] Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: An update. *Hepatology*, 2009, 49(4):1335-1374.
- [17] Kim T, Murakami T, Takahashi S, et al. Diffusion-weighted single-shot echo planar MR imaging for liver disease. *AJR Am J Roentgenol*, 1999, 173(2):393-398.
- [18] Girometti R, Furlan A, Esposito G, et al. Relevance of b-values in evaluating liver fibrosis: A study in healthy and cirrhotic subjects using two single-shot spin-echo echo-planar diffusion-weighted sequences. *J Magn Reson Imaging*, 2008, 28(2):411-419.
- [19] Lewin M, Poujol-Robert A, Boëlle PY, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2007, 46(3):658-665.