

Résumé de thèse de doctorat

Application de l'échographie et de l'imagerie par résonance magnétique à l'examen de l'appareil podotrochléaire du cheval

Application of ultrasonography and magnetic resonance imaging in the evaluation of the equine podotrochlear apparatus

CANDIDAT : **Valeria Busoni**

PROMOTEUR : **Professeur F. Snaps**

CO-PROMOTEUR : **Professeur J.-M. Denoix**

Département et Service

Département des Sciences cliniques des Grands et Petits Animaux, Service d'Imagerie médicale, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, Belgique

Date de la défense publique : 17 novembre 2004

Composition du Jury

• MEMBRES EXTÉRIEURS À LA FACULTÉ :

Professeur J.-M. Denoix, CIRALE Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, France

Professeur R. Dondelinger, CHU Liège, Belgique

Professeur M. Pepe, Università degli Studi di Perugia, Italie

Docteur J. Saunders, Universiteit Gent, Belgique

• MEMBRES INTERNES À LA FACULTÉ DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE :

Professeur P. Lekeux, Professeur D. Serteyn, Professeur F. Snaps, Docteur D. Desmecht, Docteur A. Gabriel, Docteur S. Grulke

DESCRIPTION DU SUJET DE RECHERCHE ABORDÉ

La maladie naviculaire, mieux définie aujourd'hui comme syndrome podotrochléaire, représente une des causes les plus fréquentes de boiterie du membre antérieur chez le cheval et certainement une des pathologies les plus étudiées, discutées et controversées en médecine vétérinaire équine. Dans cette entité clinique, une ou plusieurs structures de l'appareil podotrochléaire peuvent être atteintes et être responsables des symptômes. Chez les chevaux atteints, une large variété de lésions de sévérité et de nature (os ou tissus mous) différentes peut donc être

rencontrée et requiert par conséquent l'adaptation des moyens diagnostiques.

Parmi les modalités diagnostiques appliquées en orthopédie équine, l'imagerie occupe une place incontournable pour l'identification de la nature, de la localisation, de l'étendue et de la sévérité des lésions responsables de boiteries. Toutefois, si la radiologie est la technique d'imagerie la plus utilisée pour l'exploration du pied équin, l'impossibilité de diagnostiquer les lésions des tissus mous par cette méthode représente une limitation majeure dans l'exploration d'une pathologie complexe comme le syndrome podotrochléaire. Deux

modalités permettant le diagnostic des lésions des tissus mous ont donc fait leur apparition en orthopédie équine : l'échographie et l'imagerie par résonance magnétique (IRM).

L'échographie est répandue en médecine vétérinaire équine grâce à son coût limité et à la portabilité des appareils. Elle est désormais considérée indispensable pour l'examen des structures tendineuses et articulaires chez le cheval. Cette technique d'imagerie représente un excellent complément à l'examen radiographique, vu sa capacité d'exploration des tissus mous. Son application aux structures de l'appareil podotrochléaire est toutefois considérée très difficile à

cause de la boîte cornée et seule une approche par le creux du paturon a été suggérée par Hauser en 1982.

L'IRM est devenue la technique reine en orthopédie humaine par sa nature d'imagerie en coupes, son excellente résolution en contraste et sa capacité à détecter aussi bien les lésions des tissus mous que celles de l'os. Vu les difficultés techniques d'application et le coût de l'équipement, son application chez le cheval est récente mais en plein développement. L'évolution continue des connaissances, les progrès techniques et les développements récents de cette modalité d'imagerie en médecine humaine font de l'IRM une technique au potentiel grandissant mais aussi d'une grande complexité. Les connaissances en IRM du pied équin restent aujourd'hui relativement limitées.

Une étude portant sur l'application de l'échographie et de l'IRM à l'appareil podotrochléaire équin, se révélait donc intéressante. Ainsi les recherches faisant partie de cette thèse ont été menées afin :

1. d'étudier la faisabilité de l'échographie de l'appareil podotrochléaire équin ;
2. d'établir des images de référence de l'appareil podotrochléaire équin par échographie et par IRM ;
3. de déterminer les informations complémentaires qui peuvent être gagnées par l'application de l'échographie et de l'IRM sur la nature des lésions responsables du syndrome podotrochléaire et de justifier leur application *in vivo*.

RÉSULTATS

Les travaux de cette thèse ont permis de démontrer la faisabilité d'un examen échographique à travers la face solaire du pied en utilisant la fourchette comme fenêtre acoustique (échographie transcunéale). L'échographie transcunéale s'est révélée utile pour détecter les modifications de la *facies flexoria*. Vu sa haute valeur prédictive négative (94,12 %) pour les modifications de la *facies flexoria*, l'échographie transcunéale peut donc être utilement réalisée sur le terrain pour élucider les signes radiographiques douteux lorsque les deux incidences radiographiques de base (latéromédiale et dorsoproximale-palmarodistale oblique) ne sont pas concluantes.

L'examen échographique transcunéal a également permis de mettre en évidence des atteintes des tissus mous sur un lot de pieds isolés de chevaux atteints d'un syndrome podotrochléaire. Les changements de profil palmaire (anormalement convexe ou ondulé) sont les signes échographiques les plus fréquemment rencontrés sur les tendons présentant des lésions à la face palmaire de l'os sésamoïde distal (OSD). L'association d'un changement du profil palmaire du tendon avec une anomalie de surface de la *facies flexoria* permet un diagnostic de certitude de forme tendineuse du syndrome podotrochléaire. De plus la sensibilité de l'échographie pour les remodelages osseux permet le diagnostic échographique des enthésopathies de l'appareil podotrochléaire.

Les travaux de cette thèse en IRM ont permis la standardisation des paramètres pour l'examen du pied équin dans un aimant à haut champ. Utilisant une épaisseur de coupe de 3 mm, ce protocole d'examen, incluant les séquences spin écho pondérée en T1 (SE T1), turbo spin écho pondérée en densité de proton (TSE PD) et en T2 (TSE T2) avec saturation de graisse (FS TSE PD et FS TSE T2), permet d'obtenir des images de qualité diagnostique de l'appareil podotrochléaire avec un temps d'acquisition court applicable *in vivo*. Les plans de coupes les plus utiles pour la détection des anomalies de l'appareil podotrochléaire sont le plan sagittal et le plan transversal. L'examen doit être réalisé en positionnant le pied dans le champ magnétique statique selon un axe qui permette d'éviter l'artéfact d'angle magique. Cette condition est obtenue en positionnant les pieds isolés sur la muraille dorsale (face dorsale vers le bas) et peut être reproduite *in vivo* en alignant la muraille dorsale du sabot dans l'axe du champ magnétique statique. Afin d'identifier les lésions des structures de l'appareil podotrochléaire sur les séquences SE T1, FS TSE PD et FS TSE T2, deux variantes normales visibles dans les séquences pondérées en T1 doivent être connues: la présence, chez certains chevaux, de zones ponctiformes de signal augmenté au sein du tendon du muscle fléchisseur profond du doigt (TFPD) sur les images transversales et d'une zone linéaire de signal élevé au sein de l'os compact palmaire de l'OSD.

L'IRM permet le diagnostic des anomalies tendineuses de l'appareil podotrochléaire et des altérations de signal de l'OSD. Des lésions tendineuses ont été identifiées à l'IRM sur des pieds isolés provenant de chevaux présentant des signes radiographiques de syndrome podotrochléaire et confirmées à l'examen nécropsique. La plupart de ces lésions était mieux visible sur les séquences pondérées en T1 et était localisée en regard de l'OSD et du récessus proximal de la bourse podotrochléaire. Les lésions tendineuses ont été classifiées en lésions centrales, lésions dorsales, abrasions dorsales et fissures longitudinales. Des anomalies de la surface de glissement tendineux de l'OSD étaient souvent associées aux lésions tendineuses. A l'examen histopathologiques les lésions au signal anormal à l'IRM correspondent à des zones de dégénérescence, œdème, nécrose avec comme conséquence la formation de lacs à contenu liquidien éosinophilique ou amphophilique et la désorganisation de la structure tendineuse normale.

L'IRM est capable de mettre en évidence différents types de lésions de l'os trabéculaire qui sont démontrés par une altération du signal. Deux types d'altération de signal ont été rencontrés dans les OSD utilisés dans les études de cette thèse :

- réduction du signal dans les séquences pondérées en T1 et augmentation du signal dans les séquences pondérées en T2 ;

- réduction de signal dans toutes les séquences.

- réduction de signal dans toutes les séquences.

Dans le premier cas, chez les chevaux atteints d'un syndrome podotrochléaire avancé, la graisse est remplacée par un contenu fibrocollagénique lâche, par des zones d'hémorragie ou par un développement kystique contenant un liquide plasmatique amphophilique qui peut être associé à un œdème des espaces trabéculaires. Le signal est alors élevé dans les séquences pondérées en T2 (signal liquidien). Dans les zones qui montrent un signal faible et/ou absent dans toutes les séquences, les espaces trabéculaires (et donc le contenu graisseux) sont de taille réduite à cause d'une augmentation du tissu osseux. Les travées osseuses sont plus développées et s'organisent en *nidus* et le signal est alors diminué dans toutes les séquences à cause de la réduction de la graisse et des protons résonnants. Ces lésions de l'os trabéculaire visibles à l'IRM sont, selon leur gravité, responsables des signes

radiographiques de lyse médullaire et de sclérose de l'OSD, caractéristiques des formes sclérosante et kystique (formes osseuses) du syndrome podotrochléaire mais peuvent être rencontrées chez des chevaux sans anomalie radiographique.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les travaux de cette thèse ont permis de mettre en évidence les avantages et les limites de deux techniques d'imagerie d'application récente au pied du cheval : l'échographie transcunéale et l'imagerie par résonance magnétique (IRM).

L'examen échographique à travers la face solaire du pied en utilisant la fourchette comme fenêtre acoustique (échographie transcunéale) n'avait jamais été utilisée auparavant. Avec l'évolution technologique des appareils échographiques, son application sur le terrain est possible. L'échographie transcunéale est utile pour détecter les modifications de la *facies flexoria* de l'OSD car cette modalité d'imagerie est plus sensible que l'examen radiographique pour la mise en évidence précoce de toute irrégularité de surface osseuse. Toutefois l'examen échographique réalisé avec les équipements utilisés dans cette thèse, semble peu sensible pour la détection de lésions du TFPD à la face palmaire de l'OSD à cause de la difficulté d'accès des portions abaxiales du tendon et sa normale hypoéchogénéicité.

Les limites de l'examen échographique de l'appareil podotrochléaire par approche transcunéale sont la difficulté d'application sur des pieds à fourchette étroite, à lacune centrale profonde et corne sèche. Une préparation attentive du pied (parage de la fourchette et humidification de la corne) est indispensable avant de procéder à l'examen échographique transcunéal en particulier si des sondes de fréquence élevée (7,5 MHz) sont utilisées.

Pour un examen échographique de l'appareil podotrochléaire le plus complet possible, la combinaison de l'examen par l'approche transcunéale avec un examen échographique à travers le creux du paturon est nécessaire.

L'échographie s'est révélée un complément utile à l'examen radiographique lors du bilan lésionnel du syndrome

podotrochléaire. Son développement futur est lié aux développements technologiques qui permettent d'améliorer la qualité de l'image obtenue. Sa facilité d'application permet d'envisager des études sur un nombre plus élevé de cas cliniques avec un groupe de contrôle afin de déterminer la valeur prédictive positive de chaque signe échographique rencontré et sa relation avec la progression de la maladie et la réponse au traitement.

L'IRM ouvre de nouveaux horizons pour le diagnostic du syndrome podotrochléaire. La capacité de cette technique à mettre en évidence, simultanément et avec un contraste optimal, les anomalies osseuses et celles des tissus mous la privilégie par rapport à toute autre méthode d'imagerie pour le diagnostic des affections orthopédiques. Les limites d'application de l'IRM au pied du cheval restent aujourd'hui le coût élevé de l'examen et la nécessité d'une anesthésie générale dans la plupart des institutions. En effet un seul aimant à bas champ (0,2 Tesla) dédié au cheval et utilisable sur un animal debout tranquilisé est actuellement effectif au Royaume Uni. Les autres installations vétérinaires équipées d'une IRM utilisable chez le cheval utilisent des aimants à haut ou bas champ conçus pour la médecine humaine et qui permettent d'introduire le membre en position horizontale uniquement.

Différentes anomalies de signal de l'os trabéculaire avec une localisation caractéristique au sein de l'OSD ont été mises en évidence dans cette thèse : les anomalies distales centrales, localisées proximale aux fosses synoviales, de signal réduit en T1 et augmenté en T2 ; les anomalies proximales diffuses, de signal réduit dans toutes les séquences ; les anomalies dans la région de l'insertion proximale du ligament sésamoïdien distal impair, de signal réduit dans toutes les séquences. La localisation et la nature histopathologique des anomalies rencontrées dans la partie distale de l'OSD correspondent aux changements décrits par Pool et collaborateurs (1989). L'anomalie histopathologique prédominante est le remplacement de la moelle grasseuse par un tissu fibrocollagénique lâche et une légère prolifération vasculaire. Les lésions décrites sont caractérisées par des zones de fibrose, petites zones de nécrose et remodelage osseux important, parfois associées à la formation

de pseudokystes. Un nombre élevé d'anomalies osseuses et d'anomalies des tissus mous a été identifié, suggérant un stade avancé de la maladie chez les chevaux dont provenaient les pieds utilisés. L'incidence élevée de l'association de lésions osseuses et de lésions des tissus mous, en particulier du TFPD, signifie vraisemblablement que les formes sévères de la maladie sont pour la plupart des formes mixtes. Ces formes mixtes impliquent une atteinte de l'os trabéculaire et compact sous-jacent à la surface de glissement tendineux, du TFPD et fréquemment du ligament sésamoïdien distal impair. La haute incidence des anomalies tendineuses dans les études de cette thèse concorde avec les études précédentes reportant des lésions dégénératives distales du TFPD et montre la complexité du processus pathologique. Les épisodes de stress mécanique responsables des lésions dégénératives tendineuses à la face palmaire de l'OSD sont probablement les mêmes que celles qui induisent le remodelage et les lésions osseuses.

L'IRM permet chez l'homme une détection précoce des anomalies de la moelle osseuse, avant que la résorption osseuse non équilibrée par la formation osseuse ne provoque l'apparition de signes radiographiques. Des études d'IRM *in vivo* sur des chevaux souffrant d'une douleur dans la partie palmaire du pied ont déjà été réalisées. Des études ultérieures focalisées sur les anomalies de signal de la moelle osseuse sur des chevaux sains et des chevaux présentant des symptômes cliniques de syndrome podotrochléaire pourraient fournir des renseignements intéressants sur la pathogenèse de la maladie. La détection précoce des lésions distales du TFPD sur des chevaux sans signe radiographique, le traitement et le suivi par IRM de ces mêmes chevaux, pourraient fournir des renseignements importants sur l'apparition de ces lésions et leurs relations avec les anomalies osseuses dans la progression de la maladie.

Maintenant que les anomalies en IRM ont été décrites et interprétées sur des pieds isolés atteints par des formes sévères et mixtes de syndrome podotrochléaire, la recherche future *in vivo* aura comme but d'étudier : la présence d'anomalies, des tissus mous ou osseuses, sur des chevaux présentant une douleur palmaire dans le pied mais sans signe radiographique ; l'évolution de ces anomalies dans le temps

et lors de la mise en place d'un traitement orthopédique et/ou médical (ex: biphosphonates) ; la corrélation entre les anomalies à l'IRM, la présence de la douleur et l'aplomb du pied.

L'étude des signes IRM capables de différencier les os sésamoïdes distaux atteints de lésions irréversibles de ceux en phase initiale de déséquilibre du

remodelage osseux est essentielle pour la prévention de la maladie et pour les essais thérapeutiques. Si la détection de certaines anomalies à l'IRM se révélait prédictive de la progression du syndrome podotrochléaire, ces résultats pourraient avoir des implications majeures pour le design des études cliniques sur l'efficacité de certains

traitements comme les biphosphonates. La capacité de l'IRM à détecter les anomalies précoces ou réversibles, avec la diffusion d'unités d'IRM utilisables sur le cheval debout, pourrait permettre un diagnostic hâtif de la maladie et avoir ainsi des retombées économiques importantes.

RÉFÉRENCES

- DENOIX J.M., THIBAUD D., AUDIGIE F., COUDRY V. Le syndrome podotrochléaire, ou maladie naviculaire. I Clinique, diagnostic et pronostic. *Prat. Vét. Equine*, 2002, **34**, 61-68.
- DENOIX J.M., THIBAUD D., RICCIO B. Tiludronate as a new therapeutic agent in the treatment of navicular disease: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *Equine Vet. J.*, 2003, **35**, 407-413.
- DIK K.J. Comparative radiographic-ultrasonographic imaging of recent navicular disease : report of 7 cases. In : Proceeding 9th Annual Conference Europ. Assoc. Vet. Diagn. Imaging, 2002, 36.
- DYSON S.J., MURRAY R., SCHRAMME M., BRANCH M. Magnetic resonance imaging of the equine foot: 15 horses. *Equine Vet. J.*, 2003a, **35**, 18-26.
- DYSON S.J., MURRAY R., SCHRAMME M., BRANCH M. Lameness in 46 horses associated with deep digital flexor tendonitis in the digit: diagnosis confirmed with magnetic resonance imaging. *Equine Vet. J.*, 2003b, **35**, 681-690.
- FELSON D.T., MC LAUGHLIN S., GOGGINS J., LAVALLEY M.P., GALE M.E., TOTTERMAN S., LI W., HILL C., GALE D. Bone marrow edema and its relation to progression of knee osteoarthritis. *Ann. Intern. Med.*, 2003, **139**, 330-336.
- GRASSI W., FILIPPUCCI E., FARINA A., SALAFFI F., CERVINI C. Ultrasonography in the evaluation of bone erosions. *Ann. Rheum. Dis.*, 2001, **60**, 98-103.
- HAUSER M.L., RANTANEN N.W., MODRANSKY P.D. Ultrasound examination of distal interphalangeal joint, navicular bursa, navicular bone and deep digital tendon. *Equine Vet. Sci.*, 1982, **2**, 95-97.
- KHAN K.M., COOK J.L., BONAR F., HARCOURT P., ASTROM M. Histopathology of common tendinopathies: update and implications for clinical management. *Sports Med.*, 1999, **27**, 393-408.
- KINNS J., MAIR T.S. Diagnosis of deep digital flexor tendonitis in the foot using MRI in the standing horse. Proc. 13th Meet. Int. Vet. Radiol. Assoc., 2003, 26.
- MAIR T.S. Magnetic Resonance Imaging of the distal limb in the standing horse. Proc. XIV Tagung Pferdekrankheiten Equitana, 2003, 78-79.
- MURRAY R., ROBERTS B.L., SCHRAMME M.C., DYSON S.J., BRANCH M. Quantitative evaluation of equine deep digital flexor tendon morphology using magnetic resonance imaging. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 2004, **45**, 103-111.
- PETERFY C.G., LINARES R., STEINBACH L.S. Recent advances in magnetic resonance imaging of the musculoskeletal system. *Radiol. Clin. North Am.*, 1994, **32**, 291-309.
- POOL R.R., MEAGHER D.M., STOVER S.M. Pathophysiology of navicular syndrome. *Vet. Clin. North Am. : Equine Pract.*, 1989, **5**, 109-129.
- SADRO C., DALINKA M. Magnetic Resonance Imaging of the tendons of the ankle and foot. *Univ. Pennsylvania Orthop. J.*, 2000, **13**, 1-9.
- SAGE A.M., TURNER T.A. Ultrasonography of the soft tissue structures of the equine foot. *Equine Vet. Educ.*, 2002, **14**, 221-224.
- SCHRAMME M., DYSON S., MURRAY R., BRANCH M. Soft tissue pathology in horses with navicular syndrome – MRI results. Proc. 1st World Orthop. Vet. Congr., 2002a, 177.
- SCHRAMME M., MURRAY R., DYSON S., WHITTON C., BUCKLEY C., WALES A., BLUNDEN A. Midfield Magnetic Resonance Imaging (MRI) of navicular syndrome in cadaver limbs of horses. Proc. Europ. Coll. Vet. Surg. Conf., 2002b, 187-191.
- SCHNEIDER R.K., GAVIN P.R., TUCKER R.L. What MRI is teaching us about navicular disease? [en ligne] (21/11/2003) Adresse URL : http://www.ivis.org/proceedings/AAEP/2003/schneider/chapter_frm.asp. Consulté le 08/03/04.
- SHALABIA., KRISTOFFERSEN-WIBERG M., ASPELIN P., MOVIN T. MR evaluation of chronic Achilles tendinosis. *Acta Radiologica*, 2001, **42**, 269-276.
- SOWERS M.F., HAYES C., JAMADAR D., CAPUL D., LACHANCE L., JANNAUSCH M., WELCH G. Magnetic resonance-detected subchondral bone marrow and cartilage defect characteristics associated with pain and X-ray-defined knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2003, **11**, 387-393.
- VANDE BERG B.C., MALGHEM J., LECOUVET F.E., MALDAGUE B. Classification and detection of bone

- marrow lesions with magnetic resonance imaging. *Skeletal Radiol.*, 1998, **27**, 529-545.
- VANDE BERG B.C., MALGHEM J.J., LECOUVET F.E., JAMART J. MALDAGUE B.E. Idiopathic bone marrow edema lesions of the femoral head: predictive value of MR imaging findings. *Radiology*, 1999, **212**, 527-535.
- WEBBON P.M. A post mortem study of equine digital flexor tendons. *Equine Vet. J.*, 1977, **9**, 61-67.
- WHITTON R.C., BUCKLEY C., DONOVAN L., WALES A.D., DENNIS R. The diagnosis of lameness associated with distal limb pathology in a horse: a comparison of radiography, computed tomography and magnetic resonance imaging. *Vet. J.*, 1998, **155**, 223-229.
- WIDMER W.R., BUCKWALTER K.A., FESSLER J.F., HILL M.A., VANSICKLE D.C., IVANCEVICH S. Use of radiography, computed tomography and magnetic resonance imaging for evaluation of navicular syndrome in the horse. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 2000, **41**, 108-116.
- WRIGHT I.M., KIDD L., THORP B.H. Gross, histological and histomorphometric features of the navicular bone and related structures in the horse. *Equine Vet. J.*, 1998, **30**, 220-234.
- ZANETTI M., BRUDER E., ROMERO J., HODLER J. Bone marrow edema pattern in osteoarthritic knees: correlation between MR imaging and histologic findings. *Radiology*, 2000, **215**, 835-840.
- ZUBROD C.J., SCHNEIDER R.K., TUCKER R.L., GAVIN P.R., RAGLE C.A., FARNSWORTH K.D. Use of magnetic resonance imaging for identifying subchondral bone damage in horses : 11 cases (1999-2003). *J. Am. Vet. Med Assoc.*, 2004, **224**, 411-418.

PUBLICATIONS ISSUES DU TRAVAIL DE THÈSE

- BUSONI V., DENOIX J.M. Ultrasonography of the podotrochlear apparatus in the horse using a transcuneal approach: technique and reference images. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 2001, **42**, 534-540.
- BUSONI V., MEAN M.N., BRIGNONE L., SNAPS F. Echographie de l'appareil podotrochléaire : étude *in vitro* sur 30 membres isolés de cheval. *Ann. Méd. Vét.*, 2002, **146**, 181-187.
- BUSONI V., SNAPS F. Effect of deep digital flexor tendon orientation on magnetic resonance imaging signal intensity in isolated equine limbs : the magic angle effect. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 2002, **43**, 428-430.
- BUSONI V., SNAPS F., TRENTÉSEAUX J., DONDELINGER R.F. Magnetic resonance imaging of the palmar aspect of the equine podotrochlear apparatus: normal appearance. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 2004, **45**, 198-204.
- BUSONI V., HEIMANN M., TRENTÉSEAUX J., SNAPS F., DONDELINGER R.F. Magnetic resonance imaging findings in the equine deep digital flexor tendon and distal sesamoid bone in advanced navicular disease : an *ex vivo* study. *Vet. Radiol. Ultrasound*, 2005, **46**, 279-286.
- BUSONI V., LAHAYE B., DENOIX J.M. Transcuneal ultrasonographic findings in the podotrochlear apparatus of horses with navicular syndrome. *J. Equine Vet. Sci.*, 2006, **26**, 113-119.