

Unidad 2A. Novedades en el diagnóstico del asma grave infantil

Ángel Mazón Ramos: Unidad de Neumología y Alergia Infantil. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia. España.

INTRODUCCIÓN

Ante un paciente pediátrico con síntomas respiratorios de vías bajas repetidos, dada su altísima prevalencia, se debe considerar el diagnóstico de asma.

Para el asma (y para muchas otras enfermedades) debemos considerar tres niveles de diagnóstico:

1. Diagnóstico de la enfermedad:
 - a. Si es en efecto la enfermedad sospechosa (diagnóstico diferencial).
 - b. Si se presenta aislada o asociada a otra enfermedad, que pudiera ser causa, consecuencia, o simplemente coincidencia.
2. Diagnóstico de su gravedad.
3. Diagnóstico de su etiología

¿QUÉ DICEN SOBRE EL DIAGNÓSTICO DEL ASMA LAS PRINCIPALES GUÍAS?

Según la última versión de la [Global Initiative for Asthma](#) (GINA), el diagnóstico de asma se debe basar en una historia de patrones de síntomas característicos y una evidencia de limitación variable al flujo de aire.

La [Guía Española para el Manejo del Asma](#) (GEMA), el diagnóstico de asma en un paciente con síntomas sospechosos se establece cuando una prueba de función pulmonar (preferiblemente la espirometría) demuestra una alteración compatible (habitualmente una obstrucción variable de los flujos espiratorios).

La GINA puntualiza que el asma generalmente se asocia a hiper-respuesta y a inflamación de las vías aéreas, pero ninguna de estas características es necesaria ni suficiente para el diagnóstico.

Tanto la [GINA](#) como la [GEMA](#) tienen los mismos criterios diagnósticos para niños que para adultos, pero admiten la dificultad de un diagnóstico de certeza en los niños más pequeños ya que no es posible valorar la limitación al flujo aéreo de modo rutinario.

Desde un punto de vista operativo, el mejor criterio para el diagnóstico de asma sería el del III Consenso Internacional Pediátrico sobre Asma, que data de 1998, que basa el diagnóstico en “sibilantes recurrentes o tos persistente en un contexto en el cual el asma es probable y se han excluido otras alternaciones menos frecuentes”.

Esto nos lleva a la realización de un diagnóstico diferencial.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL ASMA INFANTIL GRAVE

Los datos clínicos que nos deben hacer sospechar de una enfermedad alternativa o una enfermedad asociada son aquellos que no son típicos del asma “habitual”.

Entre ellos se pueden destacar los siguientes: sibilantes continuos, expectoración mucosa, signos pulmonares o cardiovasculares focalizados, comienzo neonatal o muy precoz, acropaquías, hipoxemia fuera de las exacerbaciones, fallo de medro, vómitos, fiebre recurrente e infecciones no respiratorias, falta de asociación a desencadenantes típicos, evolución a mayor gravedad, falta de respuesta a la medicación.

Si en todo niño con asma se debe realizar un diagnóstico diferencial básico, en el asma grave se debe ser más exhaustivo. Algunas alteraciones que se deben considerar son: inhalación de cuerpo extraño, displasia broncopulmonar, cardiopatías congénitas, fibrosis quística, tuberculosis, inmunodeficiencias, enfermedad por reflujo gastroesofágico, y otras de una larga lista.

VALORACIÓN DE LA GRAVEDAD EN EL ASMA

En el asma la gravedad y el control no son sinónimos.

El grado de control se valora, según la [GINA](#), considerando la frecuencia de los síntomas diurnos y nocturnos, del uso de medicación de rescate y de la limitación de actividades. El International Consensus on Asthma (ICON) para evaluar el control añade función pulmonar, exacerbaciones y efectos secundarios de la medicación. Existen otros métodos de valorar el control del asma como el Asthma Control Questionnaire (ACQ), Asthma Control Test (ACT), o el método validado en español Control del Asma en el Niño (CAN).

La gravedad tiene además en cuenta la medicación necesitada. El asma grave se puede definir como el asma que se controla con tratamiento en escalones 4-5 o que no se controla con esta medicación.

Puede existir asma no controlada que en realidad no sea grave porque no se utiliza la medicación, o no es la adeudada o no se administra con la técnica adecuada, o hay alguna otra enfermedad asociada. La gravedad del asma puede ir cambiando por efecto de los diversos tratamientos y por evolución espontánea.

DIAGNÓSTICO DE LA CAUSA DEL ASMA

El tercer paso, tras confirmar que se trata de asma y que se ha valorado su gravedad, sería investigar la posible causa.

Los síntomas del asma se deben a hiperactividad bronquial, que origina una broncoconstricción cuando un desencadenante actúa sobre una inflamación subyacente. Las guías se ocupan bastante de los desencadenantes, pero muestran muy escasa (o ninguna) información sobre la causa de esa inflamación subyacente.

En el consenso PRACTALL y la guía ICON se distinguen unos fenotipos del asma infantil que traslucen cierto papel etiológico. La obesidad se asocia a casos de asma en los cuales no se identifica ninguna otra causa. La clasificación de asma como inducida por virus, inducida por ejercicio, por contaminantes, o como no resuelta se hace por exclusión, tras descartar una causa alérgica, de modo que un estudio alergológico se considera indispensable en el asma, especialmente si es de carácter grave.

FACTORES DESENCADENANTES Y CAUSANTES DE INFLAMACIÓN EN EL ASMA

Por la anamnesis, los pacientes pueden identificar algunos factores desencadenantes de su asma, como los catarros, el ejercicio, la exposición a tabaco o a contaminantes, la exposición a alérgenos, cambios en las condiciones meteorológicas...

Algunos de esos factores son capaces de desencadenar asma cuando actúan sobre una vía aérea previamente inflamada, pero no cuando no existe una inflamación subyacente. Otros de esos factores, además de su papel desencadenante, pueden causar esa inflamación crónica subyacente.

Se identifican clínicamente algunos de esos factores porque son evidentes y de efecto inmediato, pero no se identifican aquellos cuya presencia no se detecta a simple vista. En el caso de alérgenos, es fácil identificar la exposición a un caballo si se sigue de síntomas bruscos, pero no es fácil, por ejemplo, identificar la exposición a ácaros.

Algunos estudios demuestran que los alérgenos, a dosis bajas que no desencadenan síntomas agudos, son capaces de actuar como inductores de inflamación de la vía aérea.

EFFECTOS DE ALÉRGENOS A DOSIS BAJAS

En un estudio ya clásico, de Sulakvelidze *et al.*, en pacientes alérgicos, se determinaba una dosis de alérgeno que, inhalada, producía una disminución del VEMS del 5%, que no se reflejaba en aparición de síntomas.

Los pacientes, durante 5 días consecutivos, se sometían a una prueba de exposición diaria a esa dosis baja de alérgenos inhalados, y en otra fase, a la misma exposición con diluyente.

Como se ve en la gráfica, se apreciaba un aumento progresivo de los eosinófilos en esputo, de la interleucina 5 (IL-5) y de la proteína catiónica del eosinófilo, y un empeoramiento de la hiperreactividad bronquial medida con el test de metacolina. Además, aparecía un aumento de los síntomas nocturnos de asma y del consumo de broncodilatadores. Los parámetros se normalizaban al interrumpir la exposición. Dichos cambios no aparecían con el diluyente.

Resultados equivalentes se han visto en otro estudio similar que encontraba un empeoramiento de la hiperreactividad bronquial y un aumento de la fracción espirada de óxido nítrico (FeNO) tras la exposición repetida a dosis bajas de alérgeno.

ESTUDIO DE LA SENSIBILIZACIÓN ALÉRGICA

La sensibilización a alérgenos se viene diagnosticando desde hace muchos años por medio de pruebas cutáneas, que detectan la IgE específica fijada en los mastocitos de la piel.

Posteriormente se desarrolló la técnica para medir IgE específica en suero, es decir, la IgE que va circulando por sangre sin haberse fijado a las células.

El médico interpreta esos resultados, junto con los restantes datos de la historia clínica, para determinar la importancia de esa sensibilización en la clínica del paciente. Para determinar dicho papel, a veces se necesita hacer pruebas de provocación, que no se realizan de forma rutinaria.

La fuente alérgica completa (por ejemplo, un ácaro o un polen) tiene una mezcla de todas las proteínas presentes en la fuente, tanto las proteínas que son capaces de inducir IgE como las que no. No se conocen todas las proteínas alérgicas.

Para las pruebas cutáneas y para las primeras determinaciones de IgE específica en sangre se utilizan extractos comerciales obtenidos a partir de la fuente alérgica completa.

ESTUDIO DE LA SENSIBILIZACIÓN DE MODO CLÁSICO

Cuando un paciente tiene pruebas cutáneas o IgE sérica positiva frente a dicho polen, quiere decir que forma IgE frente a alguna de las proteínas presentes en la mezcla; puede ser una sola o varias de dichas proteínas.

Esas pruebas no discriminan frente a cuál o cuáles de las proteínas reacciona dicha IgE y, si son varias, no discrimina si tiene frente a una el doble, o la mitad, o qué proporción respecto a las demás.

Para poder discriminar disponemos actualmente del llamado diagnóstico resuelto por componentes (CRD por sus siglas en inglés).

ESTUDIO DE LA SENSIBILIZACIÓN ALÉRGICA POR CRD

El CRD se basa en que se pueden obtener las proteínas por separado, bien desde la fuente alérgica natural o por ingeniería genética.

Por técnicas de enzoinmunoensayo, se pueden medir los niveles de IgE frente a dichas proteínas, de modo que diferentes pacientes, con respuestas iguales en los test clásicos, muestran diferentes perfiles cuando se miden por separado. No existen preparados comerciales para todas las proteínas, si bien se van incorporando al mercado.

Esos perfiles tienen consecuencias diagnósticas y terapéuticas diferentes y permiten una medicina más personalizada, como se verá en algunos ejemplos.

Esas diferencias se explican por alguna característica de las proteínas como son su estructura, su estabilidad y el lugar donde están presentes.

ESTRUCTURA PRIMARIA Y TERCIARIA DE LAS PROTEÍNAS

Las proteínas están formadas por la unión de aminoácidos. La secuencia unidimensional de estos es lo que se denomina estructura primaria y se suele describir por una sucesión de letras que representan a los distintos aminoácidos.

Omitimos la estructura secundaria, y pasamos a la terciaria. Esta se debe a que se forman distintos enlaces químicos (puentes disulfuro, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas...) entre aminoácidos no consecutivos, y ello origina un plegado tridimensional de la proteína, la estructura terciaria.

EPÍTOPOS DE LAS PROTEÍNAS

Los epítomos son secuencias de aminoácidos (representadas en colores en la imagen) que el organismo identifica como extrañas, que no son propias, y frente a las cuales las personas alérgicas sintetizan IgE.

Esos epítomos pueden ser secuenciales, cuando están consecutivos en la estructura primaria de las proteínas. Otros son conformacionales; la secuencia de aminoácidos no se debe a que estén consecutivos en la estructura primaria sino a que el plegamiento tridimensional de la proteína hace que estén seguidos en su configuración espacial.

Tanto unos como otros pueden ser identificados por la IgE específica fijada en mastocitos y dar origen a una respuesta inmunológica tipo I de Gell y Coombs.

REACTIVIDAD CRUZADA

El fenómeno de reactividad cruzada se debe a que proteínas de diferentes especies pueden tener una estructura muy similar, debido a que tienen unas funciones muy parecidas en ambos organismos.

Si un paciente tiene IgE frente a una de dichas tropomiosinas, dicha IgE puede reaccionar secundariamente frente a tropomiosinas de otras especies similares, aunque el paciente nunca haya tenido contacto con estas últimas.

Un ejemplo paradigmático es el de algunos judíos ortodoxos, sensibilizados frente a tropomiosina de ácaros, que presentan reactividad cruzada frente a la tropomiosina de gambas, alimento que nunca consumen por motivos religiosos.

PROTEÍNAS CON REACTIVIDAD CRUZADA

Se conocen varias familias de proteínas con homología estructural que puede dar origen a reactividad cruzada.

En general las de origen animal tienen reactividad cruzada con las de otros animales, y las de origen vegetal con las de otros vegetales, aunque algunas especies nos parezcan muy alejadas unas de otras.

Las principales familias con interés alergológico son las proteínas de almacenamiento, las proteínas transportadoras de lípidos (LTP), las proteínas *pathogenesis-related* (PR-10), las profilinas, las polcalcinas, las albúminas séricas, las lipocalinas, las parvalbúminas y las tropomiosinas.

ESTABILIDAD DE LAS PROTEÍNAS

La estructura terciaria de las proteínas depende de diversos enlaces químicos entre distintos aminoácidos. Estos enlaces tienen diferente fuerza y pueden conferir distinta resistencia a la acción del calor y de las enzimas.

El calor hace que se rompan esos enlaces y “se estira” la proteína, lo cual hace perder la configuración de los epítomos conformacionales (derecha) mientras que se mantienen los epítomos secuenciales (izquierda).

La acción de las enzimas rompe la proteína en péptidos de distinto tamaño, y se pueden destruir los epítomos secuenciales, aunque si los péptidos son de gran tamaño algunos epítomos pueden mantener su integridad.

Las diferentes familias de proteínas tienen también distinta estabilidad.

Las menos estables tienen menor alergenicidad. Al degradarse con más facilidad, se asocian a síntomas más leves, más localizados o incluso no producen ningún síntoma en personas sensibilizadas.

Las más estables se asocian a síntomas más graves, sistémicos. En el caso de proteínas que se encuentran en alimentos, pueden desencadenar síntomas de asma no solo por ingestión, sino también por respirar vapores producidos durante el cocinado o en puntos de venta.

Un ejemplo es el de aquellas personas con alergia al arroz, que reaccionan cuando tocan o inhalan el polvo del arroz (en una boda) pero toleran el arroz cocinado.

Más difícil de sospechar es en el paciente que empeora de su asma cuando en el domicilio cocinan un alimento al cual tiene alergia. La alergia a alimentos entra así en las posibles causas de asma grave que se deben considerar cuando no hay explicación para dicha gravedad.

UTILIDAD DEL CRD

En el caso del asma el CRD tiene aplicaciones prácticas con consecuencias diagnósticas y terapéuticas.

Consideremos dos pacientes, A y B, con fibrosis quística y asma asociada, con mala evolución, en quienes se contempla la posibilidad de afectación por *Aspergillus*.

En estos pacientes es frecuente la sensibilización alérgica, a *Aspergillus* entre otros alérgenos, y también la infección, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA).

Ambos pacientes tienen test cutáneos positivos e IgE sérica específica convencional positiva frente a *Aspergillus*. Utilizando el CRD vemos que el paciente A está sensibilizado a todos los alérgenos moleculares testados, mientras que el paciente B no lo está frente a los Asp f 2, 4 y 6.

Se ha visto que la ABPA tiene tendencia a positivizar dichos alérgenos, mientras que la sensibilización alérgica no lo hace, y por tanto el diagnóstico, y el tratamiento a utilizar serán totalmente diferentes en pacientes que *a priori* parecían iguales.

Este hallazgo no está contemplado en los clásicos criterios diagnósticos de ABPA del año 1977, sino que es actualmente una propuesta pendiente de más investigación.

La sensibilización a *Alternaria* se asocia a menudo a cuadros asmáticos de gravedad, con aparición brusca de síntomas y evolución desfavorable.

Tenemos de nuevo dos pacientes, A y B, con asma, que presentan ambos pruebas cutáneas positivas e IgE sérica específica convencional frente a *Alternaria*.

El diagnóstico molecular del paciente A muestra sensibilización frente a Alt a 6 y negativo frente a Alt a 1, mientras que es al contrario en el paciente B.

Aunque ambos están sensibilizados, si se contempla administrar un tratamiento inmunoterápico con vacunas, hemos de tener en cuenta que en los preparados comercializados actualmente el alérgeno estandarizado es el Alt a 1, mientras que no lo está el Alt a 6.

De este modo tendríamos actitudes terapéuticas diferentes en pacientes *a priori* similares, pues sí que podría estar indicada la inmunoterapia en la paciente B pero no en el paciente A.

En la sensibilización a ácaros puede darse un caso similar. El paciente A está sensibilizado a Der p 1 y Der p 2, alérgenos que sí que se estandarizan en las vacunas actuales, y podría ser candidato para recibir inmunoterapia para su asma, pero no serían candidatos los pacientes B y C.

El paciente B no aparece sensibilizado a ninguno de los tres alérgenos moleculares testados, y podría estarlo a alguno de los más de 30 identificados para el *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Pero el paciente B se diferencia del C en que este último está sensibilizado a Der p 10. Este alérgeno es una tropomiosina, con reactividad cruzada frente a otras tropomiosinas, presentes en cucarachas.

Habrá que investigar si está sensibilizado a las cucarachas. La sensibilización a cucarachas es una causa importante de asma en niños urbanos y la disminución de dicho alérgeno se ha asociado a mejoría del asma.

Además, habrá que investigar la tolerancia a mariscos, ya que también contienen tropomiosina, y podrían causar asma u otros síntomas de alergia por su ingestión o por respirar sus vapores durante el cocinado. Si tuviera una verdadera alergia al marisco la positividad de pruebas frente a ácaros podría ser debida a reactividad cruzada.

La alergia al perro también puede mostrar diferentes perfiles de sensibilización.

El paciente A, sensibilizado a un alérgeno que está presente en caspa y saliva, puede desarrollar síntomas si el animal le lame o por tocar al animal que previamente se ha lamido a sí mismo, y además por inhalación de caspa también puede desarrollar síntomas o inflamación crónica.

El paciente B solo está sensibilizado a Can f 3, presente en suero sanguíneo, posiblemente por reactividad cruzada con albúmina sérica de algún otro animal, como la que está presente en leche y carne de mamíferos. Este paciente probablemente tolerará el contacto habitual con perros.

El paciente C está sensibilizado a Can f 5, calicreína prostática, que se puede encontrar en orina y en caspa. Este alérgeno se genera bajo el influjo de hormonas masculinas, y aparece en perros macho, pero no en hembras. Este alérgeno tiene reactividad cruzada con la calicreína humana, y se pueden producir reacciones alérgicas al contacto con semen humano y originar problemas de fertilidad.

En el caso del polen, puede haber pacientes sensibilizados a Phl p 7, una polcalcina, proteína con reactividad cruzada. Esta proteína o alguna muy similar existe en muchos pólenes, y determina que las pruebas cutáneas y la IgE sérica específica convencionales sean positivas frente a muchos pólenes sin relevancia, pero de entrada hablaríamos de pacientes polisensibilizados.

Los alérgenos Phl p 1 y 5 (de *Phleum pratensis*) son específicos de gramíneas e indican una verdadera sensibilización, no simple reactividad cruzada, a estas plantas.

El alérgeno Cup a 1 es específico de ciprés, y Par j 2 es específico de *Parietaria*, e indican una verdadera sensibilización a esas plantas.

Si consideramos inmunoterapia en pacientes aparentemente polisensibilizados, el CRD nos indicaría que la potencial vacunación en un paciente podría ser frente a un solo polen, frente a dos, o frente a más, según el perfil de alérgenos, y podría ser que un aparentemente “polisensibilizado” sea en realidad oligosensibilizado o monosensibilizado, según tenga resultados positivos frente a alérgenos específicos o no.

RECURSOS

Son innumerables las guías sobre el asma elaboradas por distintas sociedades científicas de todo el mundo. La más conocida es la *Global Initiative for Asthma* (GINA) y en español la *Guía Española de Manejo del Asma* (GEMA) mencionadas a lo largo de este curso.

Específicamente sobre el asma grave en Pediatría destacamos el “Consenso para la práctica clínica rutinaria en asma pediátrica grave”, publicado en *Anales de Pediatría*.

Para consultar datos de las proteínas y su papel como alérgenos existen páginas web de varias entidades, con datos en general muy técnicos:

- www.allergen.org
- www.allergome.org
- www.allergenonline.com
- <http://pfam.xfam.org>
- <http://fermi.utmb.edu>
- www.meduniwien.ac.at/allfam

Desde el punto de vista clínico, probablemente la mejor guía sobre CRD sea la [Guía del usuario de Alergología Molecular](#) de la [European Academy of Allergy & Clinical Immunology \(EAACI\)](#), de acceso libre.

Como página web con información general y específica sobre el asma y otras alergias para clínicos y pacientes se recomienda la [web de la Sociedad Española de Inmunología Clínica, Alergología y Asma Pediátrica \(SEICAP\)](#).

BIBLIOGRAFÍA

- Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH, Eigenmann PA, Frischer T, Götz M, *et al.* Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report. [Allergy. 2008;63:5-34.](#)

- Carsin A, Romain T, Ranque S, Reynaud-Gaubert M, Dubus JC, Mège JL, *et al.* Aspergillus fumigatus in cystic fibrosis: An update on immune interactions and molecular diagnostics in allergic bronchopulmonary aspergillosis. [Allergy. 2017;72:1632-42.](#)
- Fernandes J, Reshef A, Patton L, Ayuso R, Reese G, Lehrer SB. Immunoglobulin E antibody reactivity to the major shrimp allergen, tropomyosin, in unexposed Orthodox Jews. [Clin Exp Allergy. 2003;33:956-61.](#)
- Global Initiative for Asthma (GINA) [en línea]. Disponible en: <http://ginasthma.org/gina-reports/> [consultado el 15/11/2017].
- Guía Española de Manejo del Asma (GEMA) [en línea]. Disponible en: <https://www.gemasma.com> [consultado el 15/11/2017].
- Ihre E, Gyllfors P, Gustafsson LE, Kumlin M, Dahlén B. Early rise in exhaled nitric oxide and mast cell activation in repeated low-dose allergen challenge. [Eur Respir J. 2006;27:1152-9.](#)
- Juniper EF, O'Byrne PM, Guyatt GH, Ferrie PJ, King DR. Development and validation of a questionnaire to measure asthma control. [Eur Respir. J 1999;14:902-7.](#)
- Kurup VP, Knutsen AP, Moss RB, Bansal NK. Specific antibodies to recombinant allergens of Aspergillus fumigatus in cystic fibrosis patients with ABPA. [Clin Mol Allergy. 2006;4:11.](#)
- Mattsson L, Lundgren T, Everberg H, Larsson H, Lidholm J. Prostatic kallikrein: a new major dog allergen. [J Allergy Clin Immunol 2009;123:362-8.](#)
- Morgan WJ, Crain EF, Gruchalla RS, O'Connor GT, Kattan M, Evans R, *et al.* Results of a home-based environmental intervention among urban children with asthma. [N Engl J Med. 2004;351:1068-80.](#)
- Papadopoulos NG, Arakawa H, Carlsen KH, Custovic A, Gern J, Lemanske R, *et al.* International consensus on (ICON) pediatric asthma. [Allergy. 2012;67:976-97.](#)
- Pérez-Yarza EG, Badía X, Badiola C, Cobos N, Garde J, Íbero M, *et al.* Development and validation of a questionnaire to assess asthma control in pediatrics. [Pediatr Pulmonol. 2009;44:54-6.](#)
- Plaza AM, Ibáñez MD, Sánchez-Solís M, Bosque-García M, Cabero MJ, Corzo JL, *et al.* Consensus-based approach for severe paediatric asthma in routine clinical practice. [An Pediatr \(Barc\) 2016;84:122.e1-122.e11.](#)
- Rosenstreich DL, Eggleston P, Kattan M, Baker D, Slavin RG, Gergen P, *et al.* The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. [N Eng J Med 1997;336:1356-63.](#)
- Sulakvelidze I, Inman MD, Rerecich T, O'Byrne PM. Increases in airway eosinophils and interleukin-5 with minimal bronchoconstriction during repeated low-dose allergen challenge in atopic asthmatics. [Eur Respir J 1998;11:821-7.](#)
- Vega JM, Badía X, Badiola C, López-Viña A, Olaguíbel JM, Picado C, *et al.* Validation of the Spanish versión of the Asthma Control Test (ACT). [J Asthma. 2007;44:867-72.](#)
- Vitte J, Ranque S, Carsin A, Gomez C, Romain T, Cassagne C, *et al.* Multivariate analysis as a support for diagnostic flowcharts in allergic bronchopulmonary Aspergillosis: a proof-of-concept study. [Front Immunol. 2017;8:1019.](#)
- Warner JO, Naspitz CK. Third International Pediatric Consensus statement on the management of childhood asthma. International Pediatric Asthma Consensus Group. [Pediatr Pulmonol. 1998;25:1-17.](#)