

Recomendaciones de la Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica, A. C., para el uso de hormona de crecimiento en niños y adolescentes

Raúl Calzada-León, Luis Miguel Dorantes-Álvarez, Margarita Barrientos-Pérez

A nombre de la Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica, A. C.

Resumen

El objetivo del presente trabajo es señalar consideraciones puntuales que permitan: a) recordar los mecanismos básicos de la acción de la hormona de crecimiento; b) establecer la sospecha diagnóstica de deficiencia de hormona de crecimiento; c) evaluar la utilidad de diferentes estudios de laboratorio para confirmar su existencia; d) conocer las características físicas y químicas de los diferentes productos comerciales; e) preparar y utilizar los diferentes productos comerciales para asegurar su eficacia; f) determinar los objetivos generales del tratamiento con hormona de crecimiento; g) verificar las indicaciones formales para el uso de hormona de crecimiento; h) administrar la dosis adecuada con un horario y periodicidad óptimos; i) evaluar los parámetros de eficacia de la hormona de crecimiento; j) identificar los factores que modifican la acción de la hormona de crecimiento, k) reconocer y vigilar los parámetros de seguridad durante el tratamiento con hormona de crecimiento; l) definir el momento en que debe terminar el tratamiento con hormona de crecimiento.

Palabras clave. Hormona de crecimiento; somatropina; talla baja.

Solicitud de sobretiros: Dr. Raúl Calzada León, Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica, A. C.
Fecha de recepción: 16-11-2004.
Fecha de aprobación: 13-10-2005.

La hormona de crecimiento (GH) es específica para cada especie animal, y por lo tanto, los humanos sólo podemos responder a la GH humana (hGH), codificada en el brazo largo del cromosoma 17 (17q22-24), donde existe una región que contiene cinco genes, cada uno con cinco exones. Si bien el gen 2 ó Variable, produce una GH que se expresa exclusivamente en la placenta, el gen 3 es necesario para el transporte de la hormona desde el retículo endoplásmico hacia la membrana celular, y los genes 4 (LP-1) y 5 (LP-2) son responsables de la síntesis de lactógeno placentario, sólo a través de la expresión del gen 1 ó Normal se permite la síntesis de una proteína con peso molecular de 22 kilodaltons (kD) constituida por 191 aminoácidos que adquiere, mediante dos puentes disulfuro, una configuración espacial en la que existen tres polipéptidos discontinuos que establecen una estructura cuaternaria caracterizada por cuatro hélices, cada una de las cuales tiene una función particular.

Los primeros 24 aminoácidos de la hélice I y toda la hélice IV, reconocen y se fijan a un receptor para la hormona (R), codificado en el brazo corto del cromosoma 15 y que una vez sintetizado se localiza en la membrana de las células sensibles a su efecto. Cuando se ha formado el binomio GH-R, la molécula de GH gira sobre un eje proporcionado por la hélice II, y permite que se realice un cambio de conformación espacial, de tal manera que los últimos 13 aminoácidos de la hélice I y toda la hélice III se pueden fijar a un segundo receptor, estableciéndose así la estructura de dos receptores para cada molécula de GH (R-GH-R), necesaria para que se inicien los procesos de fosforilación autóloga de ambos receptores, evento indispensable para activar las distintas vías intracelulares que producirán cambios en el metabolismo y en la expresión del crecimiento (Fig. 1).

Si la estructura cuaternaria no se mantiene incólume, los efectos de la molécula se pierden al dificultarse o evitarse la unión con los dos receptores, y de ahí la importancia de que cuando se produce hGH biosintética (bhGH), ésta contenga no solo los 191 aminoácidos y el peso molecular

de 22 kD sino que sea capaz de adquirir una orientación espacial en la que las cuatro hélices estén presentes.

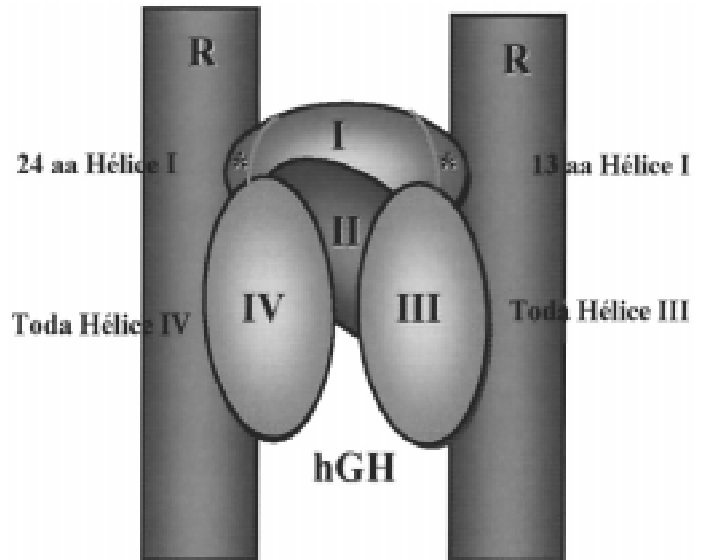


Figura 1. Unión de la GH con dos receptores para conformar el trinomio R-GH-R.

Los efectos de hGH sobre la regulación del crecimiento, a partir de los 18 a 24 meses de edad, dependen de la generación hepática (también conocida como endocrina) del factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1), pero se requiere de la síntesis y secreción de la proteína transportadora número 3 del IGF-1 (IGFBP-3) y de la subunidad ácido lábil (ALS), para formar un compuesto que regula el transporte y la disponibilidad de IGF-1. A través de un mecanismo que involucra a proteasas periféricas, IGF-1 es separado de su proteína transportadora, y atraviesa las fenestras endoteliales como IGF-1 libre, el cual promueve el crecimiento celular, con repercusiones en el crecimiento longitudinal de aproximadamente 75%. Existe otro sistema, denominado tisular, que es independiente de las acciones endocrinas de hGH, en el cual la síntesis de IGF-1 con acción paracrina se realiza en las células del resto de los tejidos del cuerpo, y que depende directamente de la cantidad de GH que llega a ellas, regulando 25% restante del crecimiento somático.

Recomendaciones

A continuación se presentan las conclusiones de las reuniones de discusión sobre el uso de GH en niños y adolescentes, en las que participaron todos los miembros de la Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica, A. C., y que se llevaron a cabo en la Ciudad de México el 13 de junio de 2004 y el 25 de agosto de 2004 en la ciudad de Oaxaca.

Diagnóstico de deficiencia de GH

Aunque la deficiencia de GH es una entidad endocrinológica clínicamente reconocible, tanto los pacientes con deficiencia total como aquellos que cursan con una secreción cuantitativa o cualitativamente baja de la hormona, pueden presentar características clínicas y bioquímicas diversas que impiden tener un parámetro único y universalmente aceptado (estándar de oro), para establecer un diagnóstico de certeza.¹

Desde el punto de vista clínico, más de 75% de los pacientes con deficiencia total o grave de GH se identifican por tener tres o más de las características que se enlistan a continuación, pero en 25% restante y hasta en 50-60% de aquellos con deficiencia leve o moderada, puede no encontrarse esta asociación, o incluso, si el lapso de tiempo que ha transcurrido desde que existe deficiencia funcional es relativamente corto, no presentar ninguna de ellas:²

1. Talla baja más de tres desviaciones estándar (DE) por debajo de la media poblacional.
2. Estatura de pie más de dos DE por debajo de la esperada para las estaturas epigenéticas.
3. Proporciones corporales armónicas.
4. Velocidad de crecimiento inferior a la centila 10 con respecto a los estándares poblacionales.
5. Pérdida corroborada de más de una DE en talla acumulada en el término de un año de observación.
6. Pérdida corroborada de más de 0.5 DE de velocidad de crecimiento durante un año de observación.

La determinación de la proteína transportadora de GH (GHBP), IGF-1, IGFBP-3, ALS y otros estudios de laboratorio que pretenden demostrar el estado del sistema de GH en condiciones fisiológicas, así como GH urinaria, factor de crecimiento tipo insulina-2 (IGF-2), proteínas transportadoras secundarias (IGFBP-1, IGFBP-2), GH basal al momento del nacimiento y secreción de GH en sueño o después de ejercicio intenso, no han mostrado resultados homogéneos en distintos estudios, y si bien la sospecha de deficiencia de GH se establece cuando varios de ellos se encuentran más de dos DE por debajo de la media, existen múltiples enfermedades somáticas y psicológicas que pueden alterar este sistema y hacer confusa su interpretación.

Un estudio reciente ha mostrado, mediante un análisis retrospectivo de 4 663 pacientes con talla baja por deficiencia incontrovertible de GH (agenesia o hipoplasia grave de la hipófisis, y tumores o cirugía de éstos que lesionaron en forma grave a esta glándula), que un valor de IGF-1 más de una DE por debajo de la media (-1 DE), o de IGFBP-3 sólo por debajo de la media (-0 DE) se puede encontrar hasta en 40% de los casos y que cuando se toman en cuenta ambas la sensibilidad para diagnosticar deficiencia de GH es de 86%, la especificidad de 76% y el valor predictivo positivo de 92%. Sin embargo no se ha validado esta observación en estudios prospectivos.^{3,4}

Por otro lado, la secreción máxima de GH inducida mediante por lo menos dos pruebas de estimulación farmacológica, ya sea que se hayan realizado por sensibilización previa con estrógenos o sin ella, presentan también resultados heterogéneos debido a que no siempre reflejan la capacidad fisiológica de secreción de la hipófisis; no existe aún un método estandarizado para determinar GH y además la reactividad inmunológica no refleja la actividad biológica de la hormona.^{3,4}

Por lo anterior, se recomienda que para fundamentar la sospecha diagnóstica se tome en consideración la suma de signos y síntomas, los estudios bioquímicos y los datos genéticos de cada paciente en particular.

Tipo de hormona

La bhGH, como todas y cada una de las sustancias biosintéticas que se producen mediante ingeniería genética, debe contar con estudios de seguridad, eficacia y equivalencia biológica que permitan tener la certeza de que el producto indicado por el médico tendrá sólo las acciones fisiológicas y farmacológicas que se han descrito y ninguna otra, y que la dosificación establecida producirá efectos cualitativos y cuantitativos predecibles con un índice de confianza mayor a 95%.

Las acciones que tiene la bhGH de las diversas marcas comerciales sobre el crecimiento y el metabolismo son prácticamente iguales, independientemente de que se utilicen técnicas de ingeniería genética para inserción del gen de la GH humana en cultivos de bacterias (*Escherichia coli*) o de células de mamífero (murinas), pero dado que en la actualidad se puede encontrar en el mercado bhGH que no cuenta con estudios de seguridad, eficacia y bioequivalencia en la elaboración de cada lote, el médico debe estar alerta sobre la existencia de estos productos y juzgar si su uso clínico es adecuado. En caso de que exista duda razonable sobre la calidad del producto a utilizar, se deben solicitar al fabricante o al distribuidor los estudios correspondientes antes de prescribirlo.

De igual manera, ante la existencia de un producto comercial nuevo y que teóricamente cuente con los requisitos de seguridad, eficacia y equivalencia biológica, es conveniente que el o los pacientes que lo reciben bajo indicación médica, puedan ser analizados por el médico tratante sin que exista interferencia alguna, motivo por el que no es recomendable proporcionar hormona de dos o más laboratorios farmacéuticos para administrar durante un mismo lapso de tiempo, a fin de que no se dificulte la cuantificación y calificación de los efectos biológicos de la presentación de bhGH que se pretende evaluar.

Presentación, preparación y administración

Las presentaciones comerciales de la bhGH pueden estar expresadas en miligramos o en unidades,

y el cálculo de la cantidad a administrar se puede realizar por kilo de peso o por metro cuadrado de superficie corporal, sabiendo que tres unidades equivalen a un miligramo.

En la actualidad la mayoría de las distintas presentaciones comerciales contienen dos recipientes, uno con bhGH liofilizada (denominada comúnmente somatotropina o somatropina humana) y otra que contiene agua estéril (para uso inmediato), o en aquellos productos que sirven para aplicar varias dosis después de su preparación, una mezcla de agua estéril y un preservativo para evitar la contaminación bacteriana o la degradación de la bhGH por éstas (metacresol 3-9 mg/mL, fenol 2.5-3 mg/mL o alcohol benzílico 3-9 mg/mL), un buffer que mantenga el pH de la formulación reconstituida entre 6 y 7 (histidina y citratos) o entre 7 y 8 (carbonatos o fosfatos), y en algunas formulaciones poloxamer 188 como cicatrizante.⁵⁻⁷

Es extremadamente raro que los preservativos produzcan reacciones tóxicas o alérgicas (0.000025 eventos por paciente por año), pero la aplicación de más de 1 mL, concentraciones mayores a 4 U/mL, inyección del medicamento a una temperatura menor de 15° C, el metacresol y los citratos, causan, de manera independiente cada uno y potencialmente aditiva, una sensación de dolor y ardor leves y transitorios que no se observan con volúmenes pequeños, concentraciones bajas, uso de fenol, alcohol benzílico, histidina, carbonatos ni fosfatos. Cuando la concentración de metacresol es mayor de 3 mg/mL o superior a 15 mg/mL de alcohol benzílico, se pueden producir hemorragias subcutáneas, así como engrosamiento, fibrosis e incluso necrosis de la piel.⁸

Se requiere que la hormona se reconstituya mediante la adición del diluyente inmediatamente antes de aplicar la primera dosis de cada frasco, ya sea de manera manual o bien como parte del mecanismo de preparación automática de algunos dispensadores automáticos o semiautomáticos. En el futuro es probable que la bhGH se pueda adquirir ya reconstituida.

Cuando la hormona es diluida en agua estéril, la duración de los efectos biológicos es de máximo dos días, en tanto que cuando el diluyente contiene, además del agua estéril, un porcentaje bajo de fenol, metacresol o alcohol benzílico el lapso de utilidad aumenta hasta siete o incluso 28 días, siempre y cuando, en cualquier caso, se mantenga a temperatura de 4 a 10° C una vez que se ha reconstituido el producto. Esta consideración es importante para asegurar la efectividad del medicamento, particularmente por la existencia de productos comerciales de 18 U (6 mg) para aplicación inmediata del total del contenido en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), pero que pierden su efecto si se utilizan después de 24 horas de la reconstitución en niños o adolescentes que requieren modificaciones en la velocidad de crecimiento.

El uso de un dispensador automático o semiautomático o de una jeringa para insulina, que en cualquier caso contienen una aguja 0.33 x 12 mm (29 G x 1/2") ó 0.31 x 8 mm (31 G x 8 mm), o bien de un dispensador que utiliza presión de aire, no modifica la efectividad, eficacia, biodisponibilidad ni vida media del producto, por lo que su utilización deberá indicarse con base a las características del paciente y la comodidad y confianza que tenga cada familia para el uso de uno u otro.^{9,16}

La hormona se puede administrar por vía subcutánea o intramuscular, pero se recomienda la primera para garantizar que las concentraciones plasmáticas permanezcan estables y que la vida media sea de por lo menos 22 horas (o cercana a 14 días en las preparaciones de depósito), independientemente de la temperatura corporal y de la realización o no de actividad física.

No existe hasta el momento ningún tipo de bhGH que pueda ser administrada por vía oral, nasal, bronquial, rectal ni transdérmica.

Objetivos del tratamiento

1. Acelerar la velocidad y normalizar el patrón de crecimiento de tal manera que se pueda alcanzar la talla mediana familiar en el menor tiempo posible.

2. Lograr una talla final dentro de parámetros normales de expresión para una población sana.
3. Minimizar la posibilidad de que existan efectos secundarios adversos.
4. Administrar la dosis acumulativa total más baja posible para optimizar la relación costo-beneficio.

Indicaciones

La bhGH sólo debe administrarse a un paciente cuando se haya establecido el diagnóstico etiológico de la enfermedad o condición que dio origen a la alteración del crecimiento.^{17,18}

Las indicaciones formales de su uso son:¹⁹⁻³⁰

- a) Deficiencia genética, congénita o adquirida de GH.
- b) Disfunción en la neurosecreción de GH, particularmente en pacientes con antecedente de radioterapia.
- c) Insuficiencia renal crónica, durante diálisis peritoneal o hemodiálisis y después del trasplante renal.
- d) Retardo de crecimiento intrauterino con talla baja a los cuatro años de edad, con o sin deficiencia de GH.
- e) Síndrome de Noonan.
- f) Síndrome de Prader Willi.
- g) Síndrome de Silver Russell.
- h) Síndrome de Turner.
- i) Talla baja familiar o idiopática que curse con niveles bajos de IGF-1 e IGFBP-3.

Algunas de las entidades que se encuentran actualmente en evaluación para definir la utilidad de bhGH y que requieren para su uso de un estudio prospectivo de seguridad y eficacia son:^{31,32}

- a) Acondroplasia.
- b) Deficiencia del gen SHOX.
- c) Displasia epifisiaria múltiple.

- d) Hipocondroplasia.
- e) Picnodisostosis.
- f) Síndrome de Aarskog.
- g) Síndrome de Shekel.
- h) Mielomeningocele.
- i) Talla baja familiar o idiopática sin niveles bajos de IGF-1 ni de IGFBP-3.

Dosis

La dosis recomendada por kilo de peso o por metro cuadrado de superficie corporal varía en función de la etiología de la talla baja, desde 0.5 hasta 1.7 ó incluso 2.4 U por kilo por semana (0.166, 0.566 y 0.8 mg por kg por semana, respectivamente).²⁰⁻²²

Se debe utilizar la dosis ponderal más alta que ha demostrado utilidad mediante estudios prospectivos de seguridad y eficacia o bien, aquella que carezca de efectos adversos y produzca mayor velocidad de crecimiento en análisis retrospectivos realizados a partir de bases de datos internacionales y multicéntricos, ya que se logra la misma ganancia de talla pero en mucho menos tiempo que con dosis bajas, con lo que la cantidad total de hormona recibida por los pacientes al término del tratamiento es menor y mejora la relación entre el costo y el beneficio.²²

Sin embargo, dado que la respuesta a una misma dosis ponderal puede variar de un individuo a otro, o en el mismo paciente en distintos momentos de su vida, se debe realizar una evaluación particular en cada caso para definir la dosis óptima.

Desde el inicio y durante todo el desarrollo de la pubertad se requieren dosis más elevadas de bhGH por kilo de peso o metro cuadrado de superficie corporal, frecuentemente del doble de las empleadas en pacientes prepuberales, para lograr una aceleración de la velocidad de crecimiento similar a la observada durante esta etapa en pacientes sin deficiencia de GH.³³⁻⁴²

Debido a que la generación de IGF-1 por GH disminuye con la administración de estrógenos por vía oral o transdérmica a dosis altas, en todas

las pacientes que requieran tratamiento de reemplazo estrogénico se debe aumentar la dosis de bhGH.^{41,42}

Los ajustes ponderales a la dosis total de bhGH deben realizarse cada tres meses antes del inicio de la pubertad y cada dos a tres meses durante el desarrollo espontáneo o inducido de ésta. En ausencia de efectos secundarios, la dosis ponderal de bhGH debe mantenerse sin cambio durante todo el tratamiento, realizando los ajustes correspondientes al iniciarse el desarrollo fisiológico o farmacológico de la pubertad.

Horario y periodicidad

En condiciones de salud y crecimiento adecuados, los episodios de secreción de GH son más altos y amplios durante la madrugada que durante el día. Para tratar de simular este patrón fisiológico se aconseja que la bhGH se administre en la noche, preferentemente entre las 21 y las 23 horas, independientemente de que se haya o no ingerido alimento, el sujeto se encuentre en reposo o actividad y esté dormido o despierto.^{21,22}

La administración de bhGH debe hacerse los siete días de la semana, sin descanso alguno, ya que se ha demostrado que su efectividad disminuye notablemente entre menos días de la semana se aplique. Así por ejemplo, con siete días semanales es de 100%, baja a 80% con seis días a la semana, a 65-70% con cinco días a la semana, hasta 60% con cuatro días a la semana, de 40% con tres días a la semana, de 20% con dos días a la semana y de 0% con un día a la semana o lapsos mayores (cada 15 días, cada mes, etc.).²⁰⁻²²

Por otro lado, el uso crónico de bhGH produce un aumento proporcional de IGF-1 y de IGFBP-3, pero disminuye las concentraciones séricas de IGFBP-1. A las 22 horas de la aplicación previa, los valores de IGF-1 empiezan a descender y a las 26 horas se encuentran por debajo de los límites fisiológicos en pacientes con GHD, lo que aunado a valores bajos de IGFBP-1, produce hipoglucemia prolongada entre moderada y grave que tarda en corregir hasta 12 a 24 horas. La única forma de

evitar estos episodios recurrentes de hipoglucemia, que pueden limitar el desarrollo psicomotor, es la aplicación diaria del medicamento.^{20,22}

La administración en períodos alternos (por tres, seis ó 12 meses), con descansos entre ellos, produce igualmente una disminución de la efectividad, y por lo tanto una menor ganancia total de estatura o una talla final más baja que la administración continua del medicamento.^{21,22}

Parámetros de eficacia

El uso de bhGH debe obligar a evaluar periódicamente su efectividad durante todo el lapso de aplicación.

Los dos mejores parámetros para calificar los efectos de bhGH son la velocidad de crecimiento en centímetros ganados cada 365 días (cm/año) o en DE con respecto a la media para la edad y sexo, y la progresión de la edad ósea en comparación con individuos no tratados y del mismo sexo.²⁰⁻²²

Por ello se recomienda determinar la ganancia de talla trimestral en prepúberes y bimestral en púberes, y calcular la velocidad de crecimiento anualizada en cada visita, y la progresión de la maduración esquelética cada 6 a 12 meses durante la etapa prepuberal y cada cuatro a seis meses durante el desarrollo de la pubertad.

Si bien no existe aceleración de la maduración ósea con el uso de dosis bajas ni altas antes del inicio de la pubertad, existe duda de que la administración de dosis altas durante la pubertad pueda favorecer su aceleración y ocasionar un término más temprano del período natural de crecimiento.

La proporción corporal (relaciones entre segmento superior e inferior, entre la brazada y la talla de pie, etc.) debe vigilarse por lo menos una vez al año, pero en pacientes con antecedente de radiación profiláctica, cráneo-espinal o corporal total, esta valoración debe realizarse por lo menos cada seis meses, debido al riesgo que tienen estos pacientes de que el segmento superior crezca a menor velocidad.

La determinación de los valores séricos de IGF-1 e IGFBP-3 puede ser útil desde el punto de vista académico o de investigación, pero para la atención de los pacientes no sustituyen al análisis de la velocidad de crecimiento y edad ósea como parámetros de eficacia.

La densidad mineral ósea o el contenido mineral óseo no se consideran variables adecuadas para evaluar la efectividad del tratamiento, ya que de manera universal los pacientes que reciben bhGH muestran una disminución de la primera sin cambios en el segundo durante los seis primeros meses del tratamiento, y a partir de este punto se observa un incremento paralelo de ambos parámetros con la velocidad de crecimiento. Sin embargo debe considerarse que la ganancia de masa ósea no termina con la adquisición de la estatura final, por lo que en todos los pacientes se debe valorar la necesidad de determinar la densidad mineral ósea antes de decidir la suspensión del tratamiento, y muy particularmente en pacientes con deficiencia aislada de GH, hipopituitarismo y síndrome de Turner.⁴³

Por otro lado deben considerarse las condiciones que favorecen o dificultan el efecto de bhGH.

Las variables que se asocian con mejor respuesta son:^{3,4,18,20-22,44-50}

- a) Menor edad al inicio del tratamiento.
- b) Menor edad ósea al inicio del tratamiento.
- c) Mayor talla diana familiar.
- d) Menor talla al inicio del tratamiento.
- e) Mayor peso al inicio del tratamiento.
- f) Mayor gravedad del déficit de GH.
- g) Mayor aumento de talla durante el primer año del tratamiento.
- h) Mayor aumento de peso durante el primer año del tratamiento, siempre y cuando no exista obesidad.
- i) Mayor dosis ponderal.

- j) Mayor edad de inicio espontáneo o inducido de la pubertad.
- k) Ajustes periódicos a la dosis ponderal.
- l) Uso de medicamentos que potencian o promueven el crecimiento, siempre y cuando no adelanten la maduración esquelética.

Las variables que se asocian con una pobre respuesta y aquellas que producen una disminución de la velocidad de crecimiento con respecto a períodos previos, son:^{3,4,18,20-22,44-51}

- a) Mayor déficit de peso con relación a la talla al momento del nacimiento.
- b) Mayor déficit de peso con relación a la talla al momento de iniciar el tratamiento.
- c) Hemoglobina inferior a 12 g/L.
- d) Mala absorción intestinal (*Giardia*, *Strongiloides*, enfermedad celiaca, intolerancia a lactosa, etc.).
- e) Procesos inflamatorios intestinales crónicos (reflujo gastroesofágico, gastritis, Crohn, CUCI, etc.).
- f) Procesos inflamatorios crónicos de vías aéreas (amigdalitis, adenoiditis, rinitis, bronquitis, asma, etc.).
- g) Infecciones crónicas (vías urinarias, sinusitis, otitis, etc.).
- h) Desnutrición.
- i) Limitaciones en la ingesta de calorías o proteínas.
- j) Deprivación emocional, maltrato o ambos, de intensidad moderada a grave.
- k) Desarrollo temprano de la pubertad.
- l) Uso de estrógenos de manera concomitante sin ajustar la dosis ponderal.
- m) Uso previo o concomitante de glucocorticoides en dosis altas y por tiempos prolongados.
- n) Antecedentes de radioterapia profiláctica, cráneo-espinal o corporal total.

- o) Alteraciones inmunológicas.
- p) Insuficiencia hepática.
- q) Mayor frecuencia de enfermedades agudas intercurrentes durante el tratamiento.
- r) Existencia o desarrollo de enfermedades crónicas durante el tratamiento.
- s) Falta de aplicación diaria o periódica del medicamento por parte de los pacientes (32% lo aplican de manera intermitente y hasta 19% terminan prematuramente el tratamiento, si no reciben una orientación adecuada por parte del médico y no se les refuerza en cada consulta la necesidad de continuar utilizando el producto en base a los resultados obtenidos).

Parámetros de seguridad

En pacientes supervivientes de neoplasias que requieren manejo con bhGH, se recomienda iniciar éste hasta que haya transcurrido un lapso de dos años sin evidencia de enfermedad activa, aunque en la actualidad se está evaluando mediante estudios prospectivos el inicio con sólo un año libre de neoplasia activa.

En modelos animales de experimentación, aunque no en humanos, se ha demostrado que mantener niveles séricos de IGF-1 superiores a dos DE por arriba de la media, puede favorecer la progresión, volumen y metástasis de tumores preexistentes o incluso el desarrollo de neoplasias, particularmente si se pierde la relación entre IGF-1 e IGFBP-3.⁵²

Aunque la evidencia actual no es concluyente, por el momento no se recomienda utilizar bhGH en pacientes que presentan enfermedades críticas agudas concomitantes o secundarias a.^{53,54}

- a) Cirugía a corazón abierto.
- b) Cirugía abdominal.
- c) Trauma accidental múltiple.
- d) Insuficiencia respiratoria.

En todos los pacientes que reciben bhGH se observa un aumento estadísticamente significativo en las concentraciones plasmáticas de insulina que regresan a la normalidad al término del tratamiento, sin que ello conlleve a alteraciones funcionales en el metabolismo de carbohidratos.

La existencia de diabetes mellitus tipo 1 ó 2 no es una contraindicación para el uso de bhGH, pero se debe evaluar la necesidad de realizar ajustes al tratamiento farmacológico.^{3,4,22}

El metabolismo de lípidos no sufre por lo general cambios con el uso de bhGH, y en todo caso, cuando los hay parecen ser benéficos, ya que se observa una disminución del colesterol total, del transportado por lipoproteínas de baja densidad y de los triglicéridos.^{4,18,20,21}

Se ha reportado ocasionalmente la existencia de hipertensión intracraneal benigna y transitoria al inicio del tratamiento con bhGH, por lo que en todos los casos se debe estar alerta sobre la presencia de cefalea grave y persistente, náuseas, vómitos o edema papilar, y en caso de existir, suspender el tratamiento durante por lo menos un mes, hasta la recuperación clínica y tomográfica del paciente, y posteriormente se puede reiniciar a dosis menores. Si hay recurrencia del aumento de presión intracraneal, debe evaluarse la suspensión definitiva del tratamiento.^{3,4,18,20,22}

En pacientes con deficiencia de GH se ha reportado deslizamiento de la epísis de la cabeza femoral asociada a traumatismos graves.^{3,4,22}

En los pacientes con síndrome de Prader Willi debe vigilarse la aparición o empeoramiento de escoliosis, en cuyo caso debe suspenderse el manejo. Aun cuando la evidencia actual no es concluyente, el tratamiento está contraindicado por el momento si existen datos de apnea obstructiva nocturna en estos pacientes, ya que se ha reportado un aumento en la incidencia de muerte súbita nocturna en estas condiciones.²⁸

En algunos pacientes se produce disminución de la concentración plasmática de cortisol, pro-

bablemente por aumento en la remoción hepática de sus proteínas transportadoras, por lo que en pacientes que se encuentran bajo tratamiento con esteroides deben evaluarse ajustes a la dosis de éstos.^{3,4,18,21,22}

A diferencia de lo reportado en adultos, en niños no se ha demostrado que exista retención de líquidos, mialgias ni artralgias leves a moderadas, durante los primeros meses del tratamiento y que ceden al disminuir la dosis, no requiriéndose la suspensión del tratamiento.

Finalmente, cuando hay alteraciones de los genes involucrados en la génesis, desarrollo y crecimiento de la hipófisis, puede existir deficiencia hormonal hipofisaria múltiple (particularmente de TSH, LH y FSH), que al tener poca representación clínica suelen pasar desapercibidos, y evidenciarse al aumentar la velocidad de crecimiento (TSH) o alcanzar la edad habitual de inicio de la pubertad (LH y FSH).⁵⁵⁻⁵⁹

Por ello se recomienda vigilar de manera periódica los siguientes parámetros en todo individuo que se encuentre recibiendo bhGH:

- a) Glucosa preprandial y dos horas postprandial, así como hemoglobina glucosilada A1c (HbA1c) al inicio del tratamiento y cada año, en ausencia de hiperglucemia, o más frecuentemente si existen riesgos para el desarrollo de resistencia a la insulina, como sucede en aquellos con sobrepeso u obesidad con depósito de tejido adiposo a nivel abdominal y acantosis nigricans, y en los que tienen un riesgo intrínseco para desarrollar diabetes (antecedentes familiares de diabetes mellitus o de síndrome metabólico, retardo de crecimiento intrauterino, síndrome de Turner, síndrome de Prader Willi, etc.).
- b) Niveles séricos de IGF-1 e IGFBP-3 cada seis meses en sobrevivientes de neoplasias malignas o en aquellos con antecedentes familiares de éstas, o bien si se utilizan dosis altas de bhGH.

- c) Perfil tiroideo a los tres y seis meses de iniciada la administración de bhGH en todos los pacientes, y posteriormente de manera anual en ausencia de hipotiroidismo.
- d) Niveles séricos de LH y FSH si al alcanzar una edad ósea de 11 años en mujeres ó 13 años en varones no existe evidencia clínica de desarrollo puberal.

Término del tratamiento

Con fines de incremento de estatura final, y en pacientes sin deficiencia de GH, el tratamiento puede suspenderse cuando se presentan una o más de las siguientes condiciones.^{3,4,18,20-22}

- a) Ganancia de estatura menor a 2 cm por año.
- b) Velocidad de crecimiento menor a 0.5 DE por año.
- c) Edad ósea igual o mayor a 14 años en mujeres y 16 años en varones.
- d) Adquisición de densidad mineral ósea normal para la edad.
- e) Desproporción entre el costo y la ganancia esperada de estatura en el siguiente año de tratamiento.
- f) Efectos secundarios indeseables.

En pacientes con deficiencia de GH el tratamiento debe continuar de por vida, siempre y cuando la carencia hormonal se corrobore en la vida adulta. Por ello, durante el período de transición entre la etapa pediátrica y la atención por un endocrinólogo de adultos, es conveniente que exista un acuerdo entre ambos médicos tratantes para

definir el tipo de estudios que se realizarán tras tres meses de suspensión del tratamiento. La normatividad actual recomienda que las pruebas más útiles son: niveles séricos de IGF-1 e IGFBP-3 y prueba de estimulación de la secreción hipofisaria de GH con hipoglucemia inducida mediante aplicación de insulina intravenosa, pero cada caso requiere una evaluación individual. Estas pruebas no son necesarias si el paciente presenta deficiencia hormonal hipofisaria múltiple, si la deficiencia de GH es secundaria a cirugía que involucró a la hipófisis, al hipotálamo o ambos, o si se recibió radioterapia profiláctica a cráneo mayor de 18 Gy, radioterapia cráneo-espinal mayor de 20 Gy o radioterapia corporal total mayor de 7 Gy.⁶⁰⁻⁷¹

En pacientes con retardo de crecimiento intrauterino, la suspensión del tratamiento se asocia a pérdida de por lo menos una DE de talla en los siguientes cinco años con respecto a lo ganado durante el tratamiento, que repercute en una menor talla final, particularmente cuando ésta se suspende a menor edad cronológica y maduración esquelética, por lo que se debe considerar la continuación del tratamiento, a dosis de mantenimiento, hasta el término del crecimiento, haciendo los ajustes necesarios durante el desarrollo de la pubertad.⁷²

Todo paciente que haya terminado el tratamiento de bhGH o que sea transferido para su atención con un endocrinólogo de adultos debe recibir un informe detallado por escrito que contenga el diagnóstico y los estudios que se realizaron para confirmarlo, el tiempo de tratamiento, la o las dosis utilizadas, los parámetros de eficacia y seguridad verificados durante el tratamiento, las recomendaciones para el futuro y, en caso de existir, los riesgos a vigilar.

MEXICAN SOCIETY FOR PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY'S RECOMMENDATIONS FOR THE USE OF HUMAN BIOSYNTHETIC GROWTH HORMONE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

The aim of this paper is to present consensus guidelines for the diagnosis and treatment of children and adolescents with growth hormone deficiency, and to alert on several crucial points regarding the use of human biosynthetic growth hormone: a) the mechanism of action of natural human growth hormone; b) how to establish clinical suspicious of growth hormone deficiency; c) utility of different biochemical studies to confirm growth hormone deficiency; d) physical and chemical characteristics of the commercial kits of growth hormone; e) how to prepare and use the growth hormone kits to ensure their efficacy; f) general objectives of growth hormone treatment; g) formal indications for the use of human growth hormone; h) define dose, time and periodicity during treatment; i) efficacy parameters of growth hormone treatment; j) factors that modify the efficacy of growth hormone treatment; k) safety parameters during growth hormone treatment; l) when, how and in who stop the treatment with growth hormone.

Key words. Growth hormone, pituitary; somatotropin; short stature.

Referencias

1. Participants of the Scientific Weekend, Human Growth Hormone, Viena 10-11th October, 2003. Childhood growth hormone deficiency and idiopathic short stature: How far can a Consensus go? *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2004; 17: 251-6.
2. Werther GA, Wang M, Cowell CT. An auxology-based growth hormone program: update of the Australian experience. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2003; 16 Supl 3: 613-8.
3. Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society: Guidelines for the use of growth hormone in children with short stature. A report by the Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. *J Pediatr.* 1995; 127: 857-67.
4. American Academy of Pediatrics. Considerations related to the use of recombinant human growth hormone in children. *Pediatrics.* 1997; 99: 122-9.
5. Kappelgaard AM, Bojesen A, Skydsgaard K, Sjogren I, Laursen T. Liquid growth hormone: preservatives and buffers. *Horm Res.* 2004; 62 Supl 3: 1-6.
6. Jacobsen L, Rolan P, Christensen M. Bioequivalence between ready-to-use human recombinant growth hormone (rhGH) and GH for reconstitution. *Growth Horm IGF Res.* 2000; 10: 93-8.
7. Ryan B, Selby R, Gingell R. Two generation reproduction study and immunotoxicity screen in rats dosed with phenol via the drinking water. *Int J Toxicol.* 2001; 20: 121-42.
8. Svendsen O, Cartensen J. Antimicrobial excipients and local damage at injection sites. *J Vet Pharmacol Ther.* 1997; 20 Supl 1: 252-93.
9. Main K, Jorgensen J, Hertel N. Automatic needle insertion diminishes pain during growth hormone injection. *Acta Paediatr.* 1995; 84: 331-4.
10. Jorgensen JT. Improvement of patient convenience in treatment with growth hormone. *J Pediatr Endocrinol.* 1994; 7: 175-80.
11. Bojesen A, Hansen B, Laursen T. Perception of pain after injection of subcutaneous growth hormone in healthy volunteers. *Horm Res.* 2002; 58 Supl 2: 106.
12. Hansen B, Bojesen A, Laursen T. The perception of pain after subcutaneous injection of 5 different medias containing different solutions for use in the dissolution human growth hormone in healthy volunteers. *Horm Res.* 2002; 58 Supl 2: 106.
13. Laursen T, Bojesen A. Pain perception after injection of different excipients used in growth hormone formulations. *Growth Horm IGF Res.* 2002; 12 Supl: 234.
14. Hansen B. Assessment of pain experience by injection of solvents implying different buffers in healthy adult subjects. *Growth Horm IGF Res.* 2000; 10 Supl: 167.
15. Bojesen A, Hansen B, Laursen T. Perception of pain after subcutaneous injection of solutions with different protein concentrations. *Growth Horm IGF Res.* 2002; 12 Supl: 234.
16. Smith S, Hindmarch P, Brook C. Compliance with growth hormone treatment. *Arch Dis Child.* 1993; 68: 91-3.
17. Shalet SM, Toogood A, Rahim A, Brennan BMD. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. *Endocr Rev.* 1998; 19: 203-23.
18. Saggese G, Ranke MB, Saenger P, Rosenfeld RG, Tanaka T, Chaussain JL, et al. Diagnosis and treatment of growth hormone deficiency in children and adolescents; towards a consensus. *Horm Res.* 1998; 50: 320-40.
19. Gluckman PD. Growth hormone deficiency diagnosed and treated during the first 2 years of live: evidence for the role of

- growth hormone in human perinatal growth. En: Ranke MB, Gunnarsson R, editores. *Progress in growth hormone therapy – 5 years of KIGS*. Mannheim: J & J Verlag; 1994. p. 88-96.
20. Growth Hormone Research Society (GRS). Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of adult with GH deficiency. Statement of the GRS workshop on adult growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83: 379-81.
21. Growth Hormone Research Society. Consensus guidelines for the diagnosis and treatment of growth hormone deficiency in childhood and adolescence: Summary statement of the Growth Hormone Research Society. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 3990-3.
22. Growth Hormone Research Society. Critical evaluation of the safety of recombinant human growth hormone administration: Statement from the Growth Hormone Research Society. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 1868-70.
23. Ranke MB, Lindberg A, Chatelain P, Wilton P, Cutfield W, Albertsson-Wikland K, et al, on behalf of the KIGS International Board. Kabi International Growth Study. Prediction of long-term response to recombinant human growth hormone in Turner syndrome: development and validation of mathematical models. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 4212-8.
24. Saenger P, Albertsson-Wikland K, Conway GS. Recommendations for the diagnosis and management of Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 3061-9.
25. Van Pareren YK, de Muinck Keizer-Schrama SM, Stijnen T. Final height in girls with Turner syndrome after long-term growth hormone treatment in three dosages and low dose estrogens. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 1119-25.
26. Participants of the Scientific Weekend, Human Growth Hormone, Viena 10-11th October, 2003: Management of Turner's syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2004; 17 Supl 2: 257-61.
27. Vimalachandra D, Craig JC, Cowell C, Knight JF. Growth hormone for children with chronic renal failure. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001; 4: CD003264.
28. Obata K, Sakazume S, Yoshino A, Murakami N, Sakuta R. Effect of 5 years growth hormone treatment in patients with Prader-Willi syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2003; 16: 155-62.
29. Hintz RL, Attie KM, Baptista J, Roche A. Effect of growth hormone treatment on adult height for children with idiopathic short stature. Genentech Collaborative Group. *N Engl J Med*. 1999; 340: 502-7.
30. Wit JM, Rekes-Mombarg LT. Dutch Growth Hormone Advisory Group. Final height gain by GH therapy in children with idiopathic short stature is dose dependent. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 604-11.
31. Ogata T, Fukami M. Clinical features in SHOX haploinsufficiency: diagnostic and therapeutic implications. *Growth Genet Horm*. 2004; 2: 17-23.
32. Kofoed EM, Hwa V, Little B. Growth hormone insensitivity associated with STAT5b mutation. *N Engl J Med*. 2003; 349: 1139-47.
33. Carel JC, Huet F, Chaussain JL. Treatment of growth hormone deficiency in very young children. *Horm Res*. 2003; 60 Supl 1: 10-7.
34. Albertsson-Wikland K, Rosberg S, Karlberg J, Groth T. Analysis of 24-hour growth hormone profiles in healthy boys and girls of normal stature: relation to puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994; 78: 1195-201.
35. Olivé MAA, Garcia-Mayor RV, Lestón DG. Serum insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 and IGF-I levels during childhood and adolescence. A cross-sectional study. *Pediatr Res*. 1995; 38: 149-55.
36. Juul A, Dalgaard P, Blum WF. Serum levels of insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-1 (IGFBP-3) in healthy infants, children, and adolescents: the relation to IGF-1, IGF-2, IGFBP-1, IGFBP-2, age, sex, body mass index and pubertal maturation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995; 80: 2534-2.
37. Clayton P, Cowell C. Safety issues in children and adolescents during growth hormone therapy. *Growth Horm IGF Res*. 2000; 10: 306-17.
38. Ranke MB, Lindberg A, David AD. The mathematical model for total pubertal growth in idiopathic growth hormone (GH) deficiency suggests a moderate role of GH dose. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 4748-53.
39. Karlberg J, Kwan C, Glander L, Albertsson-Wikland K. Pubertal growth assessment. *Horm Res*. 2003; 60 Supl 1: 27-35.
40. Saenger P. Dose effects of growth hormone during puberty. *Horm Res*. 2003; 60 Supl 1: 52-7.
41. Ranke MB, Martin DD, Lindberg A, on behalf of the KIGS International Board. Prediction model of total pubertal growth in idiopathic growth hormone deficiency: analysis of data from KIGS. *Horm Res*. 2003; 60 Supl 1: 58-9.
42. Papagianni M, Stanhope R. Should the dose of growth hormone be increased during the growth spurt of children with isolated growth hormone deficiency? *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2003; 16: 1095-7.
43. Schweizer J. Cortical bone density is normal in pre-pubertal children with growth hormone (GH) deficiency, but initially decreases during GH replacement due to early bone remodeling. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 5266-72.
44. Amato G, Mazzioti G, Di Somma C. Recombinant growth hormone (GH) therapy in GH-deficient patients: a long-term controlled study on daily versus thrice weekly injection. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 178-85.
45. De Zegher F, Albertsson-Wikland K, Wollmann HA. Growth hormone treatment of short children born small for gestational age: growth response with continuous and discontinuous regimens over 6 years. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 2816-21.
46. Lee PA, Charnausek SD, Hokken-Koelega ACS, Czernichow P, on behalf of the International small for gestational age Advisory Board consensus development conference statement. Management of short children born small for gestational age. *Pediatrics*. 2003; 111: 1253-61.
47. Vicens-Calvet E, Espadero RM, Carrascosa A. Longitudinal study of the pubertal growth spurt in children born small for gestational age without postnatal catch-up growth. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 15: 381-8.
48. Ranke MB, Lindberg A, Cowell CT, Albertsson-Wikland K, Reiter EO, Wilton P, et al, on behalf of the KIGS International Board. Prediction of response to growth hormone treatment

in short children born small for gestational age: Analysis of data from KIGS (Pharmacia International Growth Database). *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 125-31.

49. De Zegher F, Ong K, van Helvoirt M, Mohn A, Woods K, Dunger D. High-dose growth hormone (GH) treatment in non-GH deficient children born small for gestational age induces growth response related to pretreatment GH secretion and associated with a reversible decrease in insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 148-51.

50. Participants of the Scientific Weekend, Human Growth Hormone, Viena 10-11th October, 2003. How effective and safe is growth hormone therapy in children born small for gestational age? *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2004; 17 Supl 2: 263-6.

51. Van Pareren Y, Mulder P, Houdijk M, Jansen M, Reeser M, Hokken-Koelega A. Effect of discontinuation of growth hormone treatment on risk factors for cardiovascular disease in adolescents born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 347-53.

52. Cohen P, Clemmons D, Rosenfeld R. Does the GH-IGF axis play a role in cancer pathogenesis? *Growth Horm IGF Res.* 2000; 10: 297-305.

53. Swerdlow A. Design and interpretation of studies of the risk cancer and other long-term morbidity and mortality after GH treatment. *Growth Horm IGF Res.* 2000; 10: 318-23.

54. Powles T. Effect of human growth hormone in hematologic patients receiving intensive chemotherapy. A double blind randomized, placebo-controlled study. *Blood.* 2003; 11: 388a.

55. Gudmundsdottir A, Schlechte JA. Central hypothyroidism. *Endocrinology.* 2002; 12: 218-23.

56. Rose SR, Manasco PK, Pearce S, Nisula BC. Hypothyroidism and deficiency of the nocturnal thyrotrophin surge in children with hypothalamic-pituitary disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 70: 1750-5.

57. Lippe BM, van Herle AJ, LaFranchi SH, Uller RP, Lavin N, Kaplan SA. Reversible hypothyroidism in growth hormone-deficient children treated with human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1975; 40: 612-68.

58. Municchi G, Malozowski S, Nisula BC, Cristiano A, Rose SR. Nocturnal thyrotrophin surge in growth hormone-deficient children. *J Pediatr.* 1992; 121: 214-20.

59. Jorgensen JO, Ovesen P, Juul A, Hansen TK, Skakkebaek NE, Christiansen JS. Impact of growth hormone administration on other hormonal axes. *Horm Res.* 1999; 51 Supl 3: 121-6.

60. Chernausk SD. Managing the transition of adolescent with GH deficiency. *J Endocrinol Invest.* 2001; 24: 676-80.

61. Quigley CA. The patient with growth hormone deficiency: issues in the transition from childhood to adulthood. *Curr Opin Endocrinol Diabetes.* 2003; 10: 277-89.

62. Jennifer ME. Transition to the adult endocrine clinic: testing pituitary function—what tests and when? *Growth Horm IGF Res.* 2003; 13: 117-21.

63. De Boer H, van der Veen EA. Why retest young adults with childhood-onset growth hormone deficiency? *Growth Horm IGF Res.* 2001; 11: 137-65.

64. Hartman ML, Crowe BJ, Biller BM, Ho KK, Clemmons DR, Chipman JJ. Which patients do not require a GH stimulation test for the diagnosis of adult GH deficiency? *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 477-85.

65. Maghinie M, Strigazzi C, Tinelli C. Growth hormone (GH) deficiency (GHD) of childhood onset: reassessment of GH status and evaluation of the predictive criteria for permanent GHD in young adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 1324-8.

66. Clayton PE, Price DA, Shalet SM. Growth hormone state after completion of treatment with growth hormone. *Arch Dis Child.* 1987; 62: 222-8.

67. Wacharasindhu S, Cotterill AM, Camacho-Hubner C, Besser GM, Savage MO. Normal growth hormone secretion in growth hormone insufficient children retested after completion of linear growth. *Clin Endocrinol.* 1996; 45: 553-6.

68. Nicolson A, Toogood A, Rahim A, Shalet SM. Prevalence of severe growth hormone deficiency in adults who received growth hormone replacement in childhood. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 44: 311-6.

69. Shimon A. Growth hormone replacement for adult growth hormone deficiency. *Expert Opin Pharmacother.* 2003; 4: 1977-83.

70. Rosenfeld RG, Nicodemus BC. The transition from adolescence to adult life: Physiology of the "transition" phase and its evolutionary basis. *Horm Res.* 2003; 60 Supl 1: 74-7.

71. Leong GM, Johansson G. Growth hormone deficiency: Strategies and indications to continue growth hormone therapy in transition from adolescence to adult life. *Horm Res.* 2003; 60 Supl 1: 78-85.

72. Fjellestad-Paulsen A, Simon D, Czernichow P, on behalf of the SGA Study Group. Short children born small for gestational age and treated with growth hormone for three years have an important catch-down five years after discontinuation of treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 1234-9.