

# 运动干预对于人体条件性疼痛调节系统的影响

张子平<sup>1</sup>,张新安<sup>1</sup>,冯蓓蓓<sup>2</sup>,郭穗敏<sup>3</sup>,赵彦巧<sup>4</sup>,王于领<sup>2</sup>

【关键词】 条件性疼痛调节;运动干预;运动类型;功能性核磁共振成像

【中图分类号】 R49 【DOI】 10.3870/zgkf.2020.11.010

条件性疼痛调节(conditioned pain modulation, CPM)是一种用来反映人体下行疼痛调节通路是否损害的实验范式。目前条件性疼痛调节被广泛应用于临床与实验室中。而人体的条件性疼痛调节效率受多种因素的影响,运动就是主要影响因素之一。既往研究表明,缺乏体育活动与慢性疼痛的发生有关,而通过进行适当的体育锻炼尤其是高强度的体育运动,能够改善个体的内源性疼痛调节效率<sup>[1]</sup>。然而,在实验中涉及到的诸多变量,例如:受试者的运动经历、运动类型、运动强度等变量,均会对实验结果产生影响。同时,运动改善人体条件性疼痛调节效率的机制尚不明确。现有研究通过 CPM 实验范式、功能性核磁共振(functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI)等方式发现运动干预对于人体 CPM 效应有显著的影响,然而,现有的研究结论由于样本量较小,甚至有部分研究结果得出了相反的结论。

## 1 条件性疼痛调节的潜在机制

内源性疼痛调节(endogenous pain modulation)泛指中央神经系统所具有的,不通过药物干预就能够减轻或增强个体疼痛感受的一系列内源性活动。目前,我们将内源性疼痛调节系统分为“自上而下”(即通过脊髓背外侧索从脊髓上结构传递到脊髓背角神经元的疼痛调节模式)和“自下而上”(即从脊髓腹外侧传递到脊髓上结构的疼痛调节模式)这两种疼痛调节模式<sup>[2]</sup>。条件性疼痛调节(conditioned pain modulation, CPM)是一种高信度的、用来反映个体“自上而下”的下行疼痛抑制通路是否损害的实验范式<sup>[3]</sup>。

条件性疼痛调节又被称为弥散性伤害抑制性控制

(diffuse noxious inhibitory controls, DNIC),是由 Le Bars 等人<sup>[4]</sup>于 1979 年首先在小鼠身上发现。CPM 也就是我们常说的“以痛镇痛”现象,即当条件性刺激,施加在身体上的某个部位引发适当的疼痛时,会缓解先前施加在身体上的试验性刺激所引发的疼痛,这种内源性镇痛现象已经在临床上被广泛证实。

CPM 的潜在机制涉及脊髓-延髓-脊髓神经循环的激活。在脊髓-延髓-脊髓神经循环中,脊髓背角神经元起到了关键性的作用,其中包括非特异性的多感受性广动力型(wide-dynamic range, WDR)神经元和特异性的伤害性神经元<sup>[5]</sup>。WDR 神经元主要分布在脊髓灰质板层第 V 层,可接收伤害性和非伤害性两种躯体感觉信息。此外,延髓网状背侧亚核(subnucleus reticularis dorsalis, SRD)损伤会导致个体 CPM 效率降低,这表明 SRD 在 CPM 中的重要作用。研究表明,SRD 可以被身体任意部位的伤害性刺激激活,并且通过脊髓背外侧索将信息传递到脊髓背角神经元,从而激活 CPM 系统。

CPM 系统对于疼痛的调节过程还涉及到一系列神经递质的参与,如血清素、阿片类物质和去甲肾上腺素。研究显示<sup>[6-7]</sup>,血清素受体阻断剂会显著降低 CPM 的镇痛效率,这表明血清素与 CPM 系统的激活有关。此外,患者在服用阿片拮抗药物后,其 CPM 镇痛效率会显著降低,这表明了阿片类物质与血清素在 CPM 镇痛过程中起到至关重要的作用。然而,关于镇痛药物(包括吗啡、他喷他多等)对于 CPM 效应的影响尚无统一的结论<sup>[7]</sup>。

## 2 运动类型对于 CPM 的影响

2.1 一次性运动对于 CPM 的影响 目前,有部分研究发现<sup>[8]</sup>,急性运动能够激活个体的内源性疼痛调节系统,即运动诱发痛觉减退(exercise-induced hypoalgesia, EIH),且运动越剧烈,诱发的镇痛效果越明显。Alsouhibani 等<sup>[9]</sup>对比了健康受试者在是否经过运动干预(股四头肌最大随意等长收缩)后 CPM 效率的差别。实验结果表明,受试者经过运动后产生 EIH 效应,然而,经过运动干预的受试者 CPM 效率明显低于

基金项目:国家自然科学基金面上项目资助(81472155)

收稿日期:2020-02-04

作者单位:1. 沈阳体育学院运动人体科学学院,沈阳 110102;2. 中山大学附属第六医院康复医学中心,广州 510655;3. 广州体育学院研究生院,广州 510500;4. 上海体育学院运动科学学院,上海 200438

作者简介:张子平(1996-),男,硕士生,主要从事人体内源性疼痛调节机制方面的研究。

通讯作者:王于领, wangyul@mail.sysu.edu.cn

未经过运动干预的受试者。这表明 EIH 与 CPM 有可能同属于一种内源镇痛系统。然而, Vaegter 等<sup>[10]</sup>在研究中却得出了相反的结论, 研究分别对比了在全身性运动与局部运动的干预下, EIH 效应对于 CPM 的影响。实验结果表明, CPM 镇痛现象仅仅出现在条件性刺激施加的过程中, 当条件性刺激撤销后 CPM 效应消失, 而 EIH 镇痛效应则能持续 15 min 左右, 因此, 表明 EIH 与 CPM 的潜在机制不同。此外, Lemley 等<sup>[11]</sup>对比了健康男性青年与健康男性老年 CPM 与 EIH 效应之间的相关关系的差异。研究发现, CPM 效应可以用来预测 EIH 效应, 也就是说较弱的 CPM 效应也意味着较弱的 EIH 效应。

**2.2 有氧运动和无氧运动对于 CPM 的影响** 有氧运动也可以表述为中等强度的连续运动。Geva<sup>[12]</sup>、Assa<sup>[13]</sup>与 Flood 等<sup>[14]</sup>的研究表明, 长期运动能够显著改善人体的疼痛表达能力, 有氧运动员表现出更高的疼痛耐受力与 CPM 效率。虽然, 在 Peterson<sup>[15]</sup>与 Tesarz 等<sup>[16]</sup>的研究发现, 运动员的 CPM 效率与普通人无异, 甚至是表现为 CPM 受损, 这有可能受到了以下两个因素的干扰: ①天花板效应: 在 Tesarz 等<sup>[15]</sup>的研究中, 出现了运动员 CPM 受损的结果, Tesarz<sup>[16]</sup>认为这可能是由于, 耐力型运动员长期处于高身体负荷与高心理负荷的环境中, 导致耐力型运动员的疼痛耐受力提高、疼痛阈值提高。此外, 在焦虑、抑郁等负性情绪的评分上, 耐力型运动员也要优于普通人。且 CPM 的镇痛效率在一定范围内与条件性刺激强度呈正相关, 即在一定范围内, 条件性刺激的强度越强, CPM 的镇痛效果越好<sup>[17]</sup>。因此, 在同等强度条件性刺激的干预下, 运动员的 CPM 系统无法被充分激活, 而在实验结果上则表现为 CPM 受损。②样本差异: 既往研究表明, 人体的 CPM 效率会随着年龄的增加而减小<sup>[18]</sup>。在 Geva<sup>[12]</sup>的研究中, 运动员年龄为  $24.40 \pm 5.28$  岁, 而在 Peterson 等<sup>[15]</sup>的实验中, 运动员的年龄较小, 为  $20.8 \pm 1.2$  岁, 而 Tesarz 等<sup>[16]</sup>测试的参与者年龄较大, 为  $27.8 \pm 4.1$  岁, 且存在统计学差异。无氧运动也可以表述为高强度的间歇运动。Siewe 等<sup>[19]</sup>对举重运动员与耐力型运动员对于疼痛的主观报告与损伤情况进行了相关性研究, 结果发现相比于耐力型运动员, 举重运动员有着更低的损伤率, 但是举重运动员却有着更高的主观疼痛评分, 并且抱怨疼痛会影响他们的运动表现。排除主观情绪与个体差异, 耐力运动员与力量运动员身体成分上的差别有可能是影响个体 CPM 效率的因素<sup>[13]</sup>。相较于力量型运动员, 耐力型运动员体脂含量较低, 肌肉量较少而力量型运动员则有着更大的肌肉含量, 而不同运动员身体结

构上的差异可能会改变皮肤与肌肉内伤害感受器的排布顺序, 进而表现为两者不同的疼痛表达能力。而在上述的实验中, 研究者均采用了浅感觉刺激作为条件性刺激(接触热痛、冷痛刺激), 而浅感觉感受器大量存在于人体的皮肤与粘膜中, 因此不同的身体成分与组织结构可能是影响 CPM 实验结果的因素之一。

**2.3 身-心运动对于 CPM 的影响** Liu 等<sup>[20-21]</sup>对比了年龄在 40~70 岁之间的中老年膝关节炎患者, 在 12 周的时间内, 4 组受试者分别在太极拳、八段锦、功率自行车和疼痛管理宣教(控制组)干预的情况下, 对比膝关节炎患者的疼痛缓解情况, 与 fMRI 脑区连通性、灰质容量和相应的血清标志物的变化发现: 经过运动干预后(太极拳、八段锦、功率自行车), 受试者疼痛症状显著缓解, 疼痛调节相关脑区, 诸如: 眶内侧前额叶皮质(medial orbital prefrontal cortex, MOPFC)、背外侧前额叶皮质(Dorsolateral Prefrontal Cortex, DLFPC)与辅助运动区(supplementary motor area, SMA)、扣带回(cingulate cortex, CC)与导水管周围灰质(periaqueductal grey, PAG)的功能连通性增强; MOPFC 与 SMA 的灰质体积容量增加; 同时, 受试者体内血清内的程序性死亡蛋白-1(serum programmed death 1, PD-1)浓度升高, 干扰素- $\gamma$  蛋白(IFN- $\gamma$ )的浓度发生改变。而相比于疼痛管理宣教与功率自行车干预, 身-心运动(太极拳、八段锦)干预降低了受试者腹侧被盖区(ventral tegmental area, VTA)与 MOPFC 的静息态功能连通性。其中 PD-1 的增加尤以功率自行车干预组最为显著, 这可能是由于膝关节炎的病理特性与有氧运动的代谢特点导致的。

### 3 运动强度对于 CPM 的影响

在 Geva 等<sup>[12]</sup>的研究中, 运动员样本的纳入标准为每周训练时长超过 13 h, 且均为铁人三项运动员, 其中 80% 的运动员曾经参与到国家级的比赛当中。而在 Tesarz 等<sup>[15]</sup>的研究中, 运动员样本仅仅是从当地的运动俱乐部中选取, 运动水平无客观评价标准, 且每周运动时长为 9.6 h。运动员样本的差距也很好的体现在了实验结果上。Tesarz 等<sup>[15]</sup>发现, 在高水平运动员当中, 训练量越高的运动员的疼痛调节能力就越强。而对于非运动员人群的研究却得出了与运动员人群完全相反的结论。Flood 等<sup>[14]</sup>的研究发现, 非运动员人群的运动强度越大, 表现出的疼痛抑制能力就越弱, 这表明, 运动强度与人体的疼痛调节能力可能是非线性关系, 这也与 Lemming 等<sup>[22]</sup>的结论类似。

这就表明, 通过适当强度的运动干预, 伴随诱发出定期的疼痛刺激能够改善个体的内源性疼痛调节能

力。然而,虽然慢性疼痛患者与运动员类似,长时间暴露在疼痛刺激下,但这种刺激却起到了相反的效果,这表明长期的疼痛刺激与个体的疼痛表达之间并不是简单的线性关系。造成这种现象的原因可能是由于运动员与慢性疼痛患者对于疼痛的主观意愿不同。Edwards等<sup>[23]</sup>认为:虽然,慢性疼痛患者与铁人三项运动员类似,每天都会经历不同程度的疼痛侵袭,但是,二者的CPM效率不尽相同,这可能是由于运动员与慢性疼痛患者对于疼痛的主观态度与情绪不同造成的。既往研究已经证明<sup>[24-25]</sup>,术后疼痛与抑郁、焦虑等负性情绪的评分呈正相关关系,而慢性疼痛患者往往对于疼痛保持着一种恐惧与厌恶的负性情绪,而且患者无法预见疼痛的发生,而铁人三项运动员对于疼痛往往保持着一种积极的正向情绪,且能够主观的接纳和控制疼痛的发生,这一点很好的体现在了慢性疼痛患者与运动员的疼痛灾难化评分与疼痛恐惧评分上。

#### 4 运动改善人体条件性疼痛调节系统的潜在机制

既往研究发现<sup>[26-27]</sup>,疼痛下行调节系统与多巴胺奖赏系统均参与到了运动改善关节炎疼痛症状的过程中,而且这两系统之间既相互独立又相互影响。Liu等<sup>[20-21]</sup>的研究发现MOPFC与右侧PAG的功能联通性和MOPFC与左侧VTA的功能联通性高度相关,这表明MOPFC在下行阿片类药物疼痛调节系统与多巴胺奖赏系统相互作用中起到关键作用。内侧前额叶皮质(medial prefrontal cortex, mPFC)则作为这两系统之间的介导脑区。

在Liu等<sup>[20-21]</sup>的研究发现,相比功率自行车干预下的有氧运动,身心运动的镇痛作用更加显著。这可能是因为,与功率自行车这种传统身体活动不同,太极拳与八段锦是一种身心运动,它是一种结合冥想与身体活动的运动。这种差异也很好的反应在实验结果中:相比于功率自行车,八段锦受试者的双侧PAG与楔前叶的静息态功能联通性显著增强;左侧PAG与右侧后扣带回皮质(posterior cingulate cortex, PCC)的功能连通性增强。而楔前叶与PCC是大脑中默认模式网络(default mode network, DMN)的重要组成部分<sup>[28]</sup>。既往研究表明,DMN的紊乱和异常活动是形成慢性疼痛症状的潜在原因。因此,身心运动除了能够改善脊髓下疼痛调节系统,还有大脑高级中枢的重塑作用,帮助调节疼痛。对比八段锦与太极拳,八段锦受试者在左侧PAG和右侧丘脑之间又更强的功能联通性。在实际操作过程中,八段锦对于老年人是一种更容易掌握的身-心运动,受试者更容易掌握动作要

领(呼吸节奏、身体控制等等)。同时,作为大脑“门户”的丘脑,更强的丘脑-PAG的联通性也意味着更强的注意力控制能力<sup>[29]</sup>。在Kong等<sup>[30]</sup>的研究中发现,在3个月的太极拳干预后DLFPC与喙侧前扣带回(rostral anterior cingulate cortex, rACC)的功能联通性显著增强,这与Liu等<sup>[20-21]</sup>的研究结果相同。此外,既往研究发现<sup>[31]</sup>,正常人经过重复经颅电刺激ACC, PAG与运动皮质等脑区后,疼痛阈得到显著提升,这也证明了ACC与PAG在疼痛调节过程中的作用。

除了疼痛表达信号的处理,DLFPC也是处理情绪的关键皮质。Morawetz等<sup>[32]</sup>对比了积极情绪与消极情绪受试者之间DLFPC活跃程度的差别,结果发现,负面情绪的受试者有着更低的DLFPC募集程度,而通过非侵入式刺激,刺激DLFPC,可以改善受试者的负面情绪<sup>[33]</sup>。

SMA是人体支配身体进行不同类型运动的关键区域。Kohn<sup>[34]</sup>等认为,DLFPC与SMA均参与到人体的认知与情绪调节过程中,DLFPC可能是处理人体认知调节过程的区域,而SMA则是执行由DLFPC发出的调节指令。因此,运动干预对于两区域的改变很可能就是运动改善人体疼痛调节系统的机制所在。

#### 5 小结

通过既往研究,我们能发现,运动干预对于人体内源性疼痛调节系统均有显著的影响。无论是对于运动员、健康人还是慢性疼痛患者,运动均能显著改善其疼痛表达能力,例如:疼痛阈、疼痛耐受力、条件性疼痛调节效率、疼痛恐惧评分、疼痛灾难化评分等等,这表明运动在改善人体内源性疼痛调节系统上有明确的优势,然而,现有研究的样本量较小,证据不足,仍有部分结论存在争议,例如:运动强度与疼痛表达能力之间的关系。此外,诸如运动强度、运动类型、运动持续时间、身体成分、年龄等相关因素对于运动改善人体内源性疼痛调节系统的影响尚无确切研究能够证明其中的潜在作用规律。而且,运动改善人体内源性疼痛调节系统的机制尚不明确,虽然现有研究证明了辅助运动皮质、前额叶皮质、扣带回、导水管周围灰质等脑区在运动改善人体疼痛调节系统过程中的重要作用,但其中的疼痛信号投射规律,脑区功能连通性与灰质体积的改变与运动表现、疼痛表达之间的关系尚未明确。因此,在未来的实验研究中,应聚焦于机制层面,在验证现有研究结论的同时探究疼痛矩阵、脑网络与体育运动之间的关系。

#### 【参考文献】

[1] Naugle KM, Riley JL 3rd. Self-reported physical activity predicts pain in-

- hibitory and facilitatory function [J]. *Med Sci Sports Exerc.* 2014; 46(3): 622-629.
- [2] Leone C, Truini A. The CPM Effect: Functional Assessment of the Diffuse Noxious Inhibitory Control in Humans [J]. *J Clin Neurophysiol.* 2019; 36(6): 430-436.
- [3] Kennedy DL, Kemp HI, Ridout D, et al. Reliability of conditioned pain modulation: a systematic review [J]. *Pain.* 2016; 157(11): 2410-2419.
- [4] Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat [J]. *Pain.* 1979; 6(3): 283-304.
- [5] Villanueva L, Bouhassira D, Le Bars D. The medullary subnucleus reticularis dorsalis (SRD) as a key link in both the transmission and modulation of pain signals [J]. *Pain.* 1996; 67(2-3): 231-240.
- [6] Niesters M, Proto PL, Aarts L, et al. Tapentadol potentiates descending pain inhibition in chronic pain patients with diabetic polyneuropathy [J]. *Br J Anaesth.* 2014; 113(1): 148-156.
- [7] Martini C, Velzen M, Drewes A, et al. A Randomized Controlled Trial on the Effect of Tapentadol and Morphine on Conditioned Pain Modulation in Healthy Volunteers [J]. *PLoS ONE.* 2015; 10(6): e0128997.
- [8] Koltyn KF, Brellenthin AG, Cook DB, et al. Mechanisms of exercise-induced hypoalgesia [J]. *J Pain.* 2014; 15(12): 1294-1304.
- [9] Alsouhibani A, Vaegter HB, Hoeger Bement M. Systemic Exercise-Induced Hypoalgesia Following Isometric Exercise Reduces Conditioned Pain Modulation [J]. *Pain Med.* 2019; 20(1): 180-190.
- [10] Vaegter HB, Handberg G, Graven-Nielsen T. Similarities between exercise-induced hypoalgesia and conditioned pain modulation in humans [J]. *Pain.* 2014; 155(1): 158-167.
- [11] Lemley KJ, Hunter SK, Bement MK. Conditioned pain modulation predicts exercise-induced hypoalgesia in healthy adults [J]. *Med Sci Sports Exerc.* 2015; 47(1): 176-184.
- [12] Geva N, Defrin R. Enhanced pain modulation among triathletes: a possible explanation for their exceptional capabilities [J]. *Pain.* 2013; 154(11): 2317-2323.
- [13] Assa T, Geva N, Zarkh Y, et al. The type of sport matters: Pain perception of endurance athletes versus strength athletes [J]. *Eur J Pain.* 2019; 23(4): 686-696.
- [14] Flood A, Waddington G, Thompson K, et al. Increased conditioned pain modulation in athletes [J]. *J Sports Sci.* 2017; 35(11): 1066-1072.
- [15] Tesarz J, Gerhardt A, Schommer K, et al. Alterations in endogenous pain modulation in endurance athletes: an experimental study using quantitative sensory testing and the cold-pressor task [J]. *Pain.* 2013; 154(7): 1022-1029.
- [16] Peterson JA, Schubert DJ, Campbell J, et al. Endogenous Pain Inhibitory Function: Endurance-Trained Athletes vs Active Controls [J]. *Pain Med.* 2019; 20(9): 1822 - 1830.
- [17] Moont R, Pud D, Sprecher E, et al. Pain inhibits pain mechanisms: Is pain modulation simply due to distraction? [J]. *Pain.* 2010; 150(1): 113-120.
- [18] Khan J, Korczeniewska O, Benoliel R, et al. Age and gender differences in mechanically induced intraoral temporal summation and conditioned pain modulation in healthy subjects [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018; 126(2): 134 - 141.
- [19] Siewe J, Rudat J, Rllinghoff M, et al. Injuries and overuse syndromes in powerlifting [J]. *Int J Sports Med.* 2011; 32(9): 703-711.
- [20] Liu J, Chen L, Chen X, et al. Modulatory effects of different exercise modalities on the functional connectivity of the periaqueductal grey and ventral tegmental area in patients with knee osteoarthritis: a randomised multimodal magnetic resonance imaging study [J]. *Br J Anaesth.* 2019; 123(4): 506-518.
- [21] Liu J, Chen L, Tu Y, et al. Different exercise modalities relieve pain syndrome in patients with knee osteoarthritis and modulate the dorsolateral prefrontal cortex: A multiple mode MRI study [J]. *Brain Behav. Immun.* 2019; 82: 253-263.
- [22] Lemming D, Borsbo B, Sjørs A, et al. Single-point but not tonic cuff pressure pain sensitivity is associated with level of physical fitness-a study of non-athletic healthy subjects [J]. *PLoS One.* 2015; 10(5): e0125432.
- [23] Edwards RR, Cahalan C, Calahan C, et al. Pain, catastrophizing, and depression in the rheumatic diseases [J]. *Nat Rev Rheumatol.* 2011; 7(4): 216-224.
- [24] Lewis GN, Leys A, Rice DA, et al. Subconscious manipulation of pain expectation can modulate cortical nociceptive processing [J]. *Pain Pract.* 2015; 15(2): 117-123.
- [25] van Wijk G, Veldhuijzen DS. Perspective on diffuse noxious inhibitory controls as a model of endogenous pain modulation in clinical pain syndromes [J]. *J Pain.* 2010; 11(5): 408-419.
- [26] Li Z, Liu M, Lan L, et al. Altered periaqueductal gray resting state functional connectivity in migraine and the modulation effect of treatment [J]. *Sci Rep.* 2016; 6: 20298.
- [27] Navratilova E, Atcherley CW, Porreca F. Brain Circuits Encoding Reward from Pain Relief [J]. *Trends Neurosci.* 2015; 38(11): 741-750.
- [28] Fransson P, Marrelec G. The precuneus/posterior cingulate cortex plays a pivotal role in the default mode network; Evidence from a partial correlation network analysis [J]. *Neuroimage.* 2008; 42(3): 1178-1184.
- [29] Schmitt LI, Wimmer RD, Nakajima M, et al. Thalamic amplification of cortical connectivity sustains attentional control [J]. *Nature.* 2017; 545(7653): 219-223.
- [30] Kong J, Wolcott E, Wang Z, et al. Altered resting state functional connectivity of the cognitive control network in fibromyalgia and the modulation effect of mind-body intervention [J]. *Brain Imaging Behav.* 2019; 13(2): 482-492.
- [31] 许惊飞, 郭铁成. 重复经颅磁刺激在慢性疼痛治疗中的应用[J]. *中国康复*, 2010, 25(2): 147-149.
- [32] Morawetz C, Bode S, Derntl B, et al. The effect of strategies, goals and stimulus material on the neural mechanisms of emotion regulation: A meta-analysis of fMRI studies [J]. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017; 72: 111-128.
- [33] Dilkov D, Hawken ER, Kaludiev E, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the right dorsal lateral prefrontal cortex in the treatment of generalized anxiety disorder: A randomized, double-blind sham controlled clinical trial [J]. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2017; 78: 61-65.
- [34] Kohn N, Eickhoff SB, Scheller M, et al. Neural network of cognitive emotion regulation-an ALE meta-analysis and MACM analysis [J]. *Neuroimage.* 2014; 87: 345-355.