

· 临床研究 ·

腰背痛对静息状态下岛叶神经功能连接的影响

张珊珊 吴文 刘自平 郭世贵 杨建明

【摘要】目的 利用功能磁共振成像(fMRI)技术探讨静息状态下腰背痛受试者岛叶功能活动及连接特点。**方法** 采用飞利浦 3.0T Achieva 磁共振成像仪分别采集 12 例健康志愿者在正常状态及腰背部疼痛时(向腰背部肌肉注射 3% 高渗盐水)静息态 fMRI 数据。利用 DPARSF 软件计算受试者在不同状态下双侧前、后岛叶的功能连接情况,选用 spm8 软件对所得数据进行配对 *t* 检验,得到疼痛状态下静息态岛叶的功能连接数据,并比较前、后岛叶的功能连接差异。**结果** 受试者在腰背痛状态下其疼痛视觉模拟评分(VAS)为(6.02 ± 1.96)分。受试者在腰背痛状态下岛叶与额叶、丘脑、海马旁回的功能连接增强,与后扣带回、楔前叶、颞叶、中央旁小叶、小脑扁桃体的功能连接减低;此外顶下小叶与前岛叶功能连接增强,与后岛叶功能连接减低($P < 0.001, K \geq 10$)。**结论** 静息态下腰背痛受试者的岛叶功能连接存在异常,这可能与疼痛刺激引起一系列认知及情绪功能改变有关。

【关键词】 腰背痛; 静息态; 功能磁共振成像; 功能连接; 岛叶

Changes in the functional activity and connectivity of the insular cortex in patients with low back pain

ZHANG Shan-shan*, WU Wen, LIU Zi-ping, GUO Shi-gui, YANG Jian-ming. * Department of Rehabilitation Medicine, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China

Corresponding author: WU Wen, Email: wuwen66@163.com

【Abstract】Objective To investigate the functional activity and connectivity of the insular cortex at rest in persons with low back pain (LBP). **Methods** Twelve healthy subjects (male 6, female 6; age 24.8 ± 3.3 years) were given fMRI 3.0T scans at rest. Back muscle pain was then induced with an intramuscular injection of 3% hypertonic saline solution and a second scan was performed. The pain-free and in-pain fMRI data were compared using paired *t*-tests to highlight any changes in the functional connectivity of the anterior and posterior insular cortex on both sides. Pain severity was quantified using a visual analogue scale (VAS). **Results** Ratings of LBP severity peaked at 6.02 ± 1.96 on the VAS. The functional connectivity of the inferior insular cortex with the frontal cortex, the thalamus and the parahippocampal gyrus was enhanced when the subjects were in pain, but connectivity with the posterior cingulate cortex, the precuneus, the temporal cortex, the paracentral lobule and the cerebellar tonsil was reduced. The inferior parietal lobule exhibited significantly enhanced connectivity with the anterior insular cortex, but reduced connectivity with the posterior insular cortex. In addition, the medial cingulate cortex displayed decreased functional connectivity with the anterior insular cortex, but increased functional connectivity with the posterior insular cortex when the subjects were in pain. **Conclusion** This study has revealed impeded functional connectivity of the insular cortex when experiencing LBP at rest. This may possibly be related to pain's disruption of cognition and emotion.

【Key words】 Low back pain; Functional magnetic resonance imaging; Functional connectivity; Insular lobe; Brain

疼痛是与文化、病理、生物等多种因素有关的一种不愉快主观感觉与情绪体验。腰背痛具有渐进性特点,涉及感觉、情感、认知等多种属性脑功能改变^[1],可导致患者抑郁、焦虑、睡眠紊乱、决策失误等^[2]。静息态功能连接研究的是静息状态下各脑区间低频涨落

信号波动间的相关性,已成为观察人脑功能活动的有效工具,如用于研究正常机体的运动觉、视觉、听觉等连接网络,同时还应用于肌纤维痛、偏头痛、复杂性区域疼痛综合征、糖尿病神经痛及脑卒中等疾病的病理机制研究中^[3],但目前针对腰背痛患者静息态时的功能连接研究较少,尤其是各个脑区间的功能联系机制尚未明确。为进一步探讨疼痛感知及疼痛相关过程中岛叶激活的大脑机制,本研究拟应用功能磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)技术观察腰背痛受试者静息状态下脑功能连接特点及变化,并分析前岛叶(anterior insula, aIC)、后岛叶(posterior in-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.09.005

基金项目:广东省科技计划项目(2007B031402007、2012B031800305)

作者单位:510282 广州,南方医科大学珠江医院康复医学科(张珊珊、吴文、刘自平、郭世贵),影像诊断科(杨建明)

通信作者:吴文,Email: wuwen66@163.com

sula, pIC) 与其功能相关脑区的连接方式是否存在差异,从而探讨腰背痛患者中枢作用机制及疼痛相关的脑网络功能。

对象与方法

一、研究对象

通过广告征集方式选取居住地相同或相近且性别、年龄、受教育程度相匹配的健康志愿者 12 例,其中男 6 例,女 6 例;年龄 21 ~ 30 岁,平均 (24.8 ± 3.3) 岁;受教育年限 15 ~ 20 年,平均 (17.0 ± 2.1) 年;均为右利手。受试者纳入标准包括:①无先天性疾病、内分泌疾病、精神或神经系统疾病、严重心、肝、肺、肾等重要脏器疾病;②近 2 周内未使用解热镇痛类、镇静催眠或激素类药物;③近 1 个月内无疼痛经历;④焦虑自评量表 (self-rating anxiety scale, SAS) 及抑郁自评量表 (self-rating depression scale, SDS) 评定结果均为正常。为保证研究结果的一致性,由同一位研究者在实验前向受试者说明研究目的、方法、可能存在的风险及不适,并详细解答受试者疑问;同时本研究已获得了南方医科大学珠江医院伦理委员会认可,所有受试者均签署知情同意书。

二、腰背痛模型制模及数据扫描

实验开始前 10 min,每位受试者在 L_4 棘突水平右侧旁开 2.0 cm 处植入连接有 1 ml 注射器 (内含 3% 高渗盐水) 的 24 号软管。所有受试者首先完成结构像扫描及正常状态时静息态扫描,然后通过留置软管向腰背部肌肉注入 0.3 ml 3% 高渗盐水,20 s 后开始第 2 次静息态功能扫描。待实验完成后,采用改良视觉模拟评分法 (visual analogue scale, VAS) 对其扫描过程中的疼痛开始时间、最强时间点与强度、结束时间等进行评定,并采用情绪量表对实验过程中的各种疼痛体验 (包括放松、压力、恐惧等方面) 进行评估,分值范围为 0 ~ 10 分,0 分为无,10 分表示无法忍受^[4]。

三、数据采集

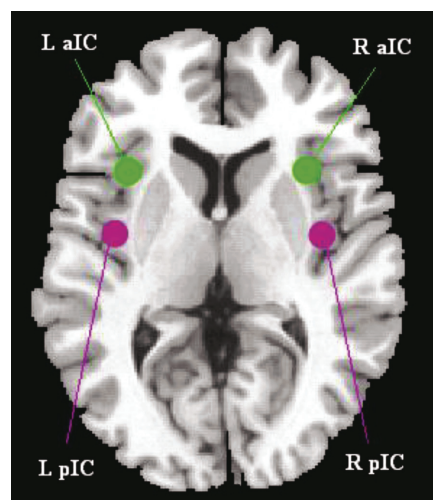
采用飞利浦 3.0T Achieva 磁共振仪进行图像数据采集,在一个正交头颅线圈内完成扫描。磁共振扫描时受试者取仰卧位,头部摆放舒适并使用泡沫垫以减少头动,嘱受试者保持清醒、放松、闭目,脑海中尽量不思考问题。结构像扫描采用快速自旋回波序列获得 T1 加权图像。静息态功能扫描采用单次激发梯度回波-平面回波成像 (single shot GRE-EPI) 序列获得 T2 加权图像。

四、数据预处理及感兴趣区选择

采用静息态 fMRI 数据处理助手 (data processing assistant for resting-state fMRI, DPARSF) 软件对获得数据进行预处理及功能连接分析。预处理包括去掉前

10 个时间点、时间校正、头动校正、配准、平滑、去线性漂移和滤波等,考虑到扫描开始阶段由于机器磁场未稳定及受试者不适应扫描环境,故去掉前 10 个时间点数据,采用后 90 个时间点数据纳入分析。通过头动校正获得受试者的平移与旋转移动图,将旋转移动 $< 2^\circ$ 、平移 < 2 mm、疼痛强度 ≥ 3 分的数据纳入后续分析。每位受试者的图像配准到标准平面回波成像模板并重新采样 (每体素 $3 \times 3 \times 3$ mm³),最后将配准过的图像进行空间平滑处理。

本研究感兴趣区 (regions of interest, ROI) 选择基于既往的磁共振成像研究结果^[5],进行岛叶 ROI 选择时以各脑区蒙特利尔神经研究所 (Montreal Neurological Institute, MNI) 坐标为中心,以 6 mm 为半径选择左侧前岛叶、右侧前岛叶、左侧后岛叶、右侧后岛叶为 ROI (图 1)。以 ROI 中各体素的时间信号平均值作为种子点的时间信号,去除 6 个头动参数、全脑信号、脑白质和脑脊液信号,通过分析种子点与全脑各体素时间序列 Pearson 相关系数,利用 Fisher Z 变换将相关系数转化为 Z 值而使其标准化,最终获得每位受试者的脑功能相关图像。



注:L aIC 为左侧前岛叶,R aIC 为右侧前岛叶,L pIC 为左侧后岛叶,R pIC 为右侧后岛叶

图 1 人体岛叶解剖示意图

五、统计学分析

本研究所得计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 SPSS 13.0 版统计学软件包对受试者一般资料、VAS 评分及情绪量表评分进行数据分析。为比较受试者处于腰背痛状态或正常状态时其静息态下脑功能变化情况,本研究选用统计参数图 (statistical parametric mapping, spm8) 软件对 Z 值进行单样本 t 检验比较,从而获得各个种子点功能连接图。采用 FDR (false discovery rate) 校正检验分析组内单样本数据激活区阈值,将 $P <$

0.05、激活体素范围 $K \geq 10$ 的连续激活区域考虑为具有统计学意义的激活区。组间比较采用配对 t 检验,以获得各个种子点在腰痛状态或正常状态时的正负激活差异脑功能图像。以 $P < 0.001$ (未校正) 及体素 $K \geq 10$ 为组间差异具有统计学意义;利用 xjview 软件确定有统计学意义脑区在对应 MNI 坐标上的具体位置,并以 rest 软件中高分辨率图像形式进行结果呈现。

结 果

一、受试者疼痛感知功能分析

入选对象腰背部肌肉经注射高渗盐水后,受试者在 10 ~ 15 s 后开始有疼痛感觉,约 20 s 后疼痛感觉最强烈,持续 5 ~ 6 min 后疼痛开始减弱,8 min 后完全消失。采用 VAS 评分对受试者疼痛强度进行评定,发现 VAS 分值在 3 ~ 9 分范围内,平均为 (6.02 ± 1.96) 分。所有受试者在实验开始前、实验进行中及实验结束后均有轻微的紧张及恐惧情绪,以实验进行过程中的紧张评分 $[(2.92 \pm 1.78)$ 分] 及恐惧评分 $[(1.50 \pm 1.62)$ 分] 相对较显著,但受试者在实验开始前、实验进行中、实验结束后 3 个时间段的紧张及恐惧评分经方差分析比较后发现,其间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

二、受试者前岛叶功能连接改变

于腰背部注射 3% 高渗盐水能引起受试者前岛叶与其他脑区功能连接发现显著变化(图 2),其中左前

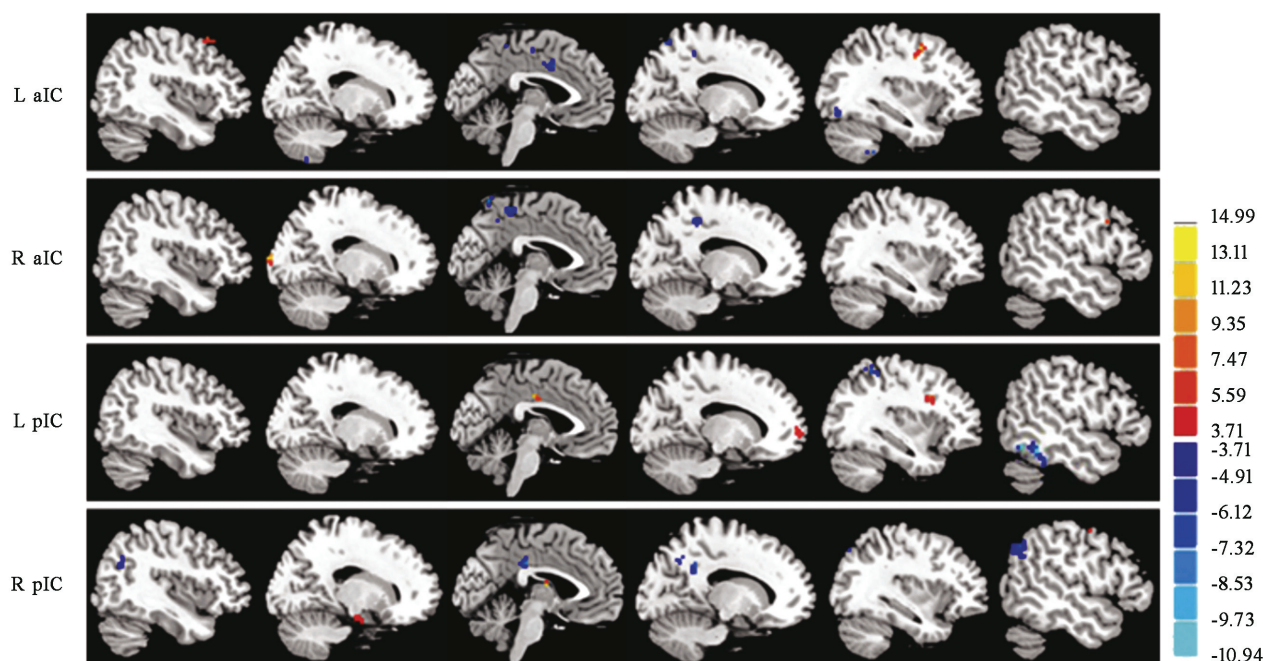
岛叶与双侧额中回、右顶下小叶功能连接增强,而与双侧中央旁小叶、双侧小脑扁桃体、左扣带中回、左楔前叶、左舌回功能连接减低;右前岛叶与左额下回、右枕中回功能连接增强,而与左中央旁小叶、左扣带中回、左楔前叶功能连接减低。

三、受试者后岛叶功能连接改变

以双侧后岛叶为种子点,发现受试者在腰痛状态及正常状态下其静息态功能连接存在明显改变(图 2),相关脑功能连接图谱显示受试者左后岛叶与左前额叶内侧(medial prefrontal cortex, mPFC)、左额中回、左扣带中回功能连接增强,而与左梭状回、左顶下小叶功能连接减低。腰痛受试者右后岛叶与双侧中央前回、左丘脑、右海马旁回、左颞中回功能连接增强,而与左顶下小叶、左后扣带回(posterior cingulate cortex, PCC)、左楔前叶功能连接减低。

讨 论

静息态 fMRI 因受试者无需实施特定任务,减少了由于心理过程个体差异以及动机等因素带来的误差,具有较好的临床应用价值。功能连接研究利用低频血氧水平依赖性信号的波动观察相关脑区同步性,其信号强度表明不同区域间的功能连接情况^[6]。相关研究表明,疼痛可导致大脑血流动力学改变^[2],使痛觉加工环路受损^[7];同时也有研究证明,疼痛状态与正常状态下机体的痛觉传导通路是相同的,因此在健康



注:彩色区域显示受试者在疼痛状态下与正常状态下脑功能连接有统计学差异的脑区,图像右侧是 t 值的色度条;L aIC 为左侧前岛叶, R aIC 为右侧前岛叶, L pIC 为左侧后岛叶, R pIC 为右侧后岛叶

图 2 腰痛受试者岛叶功能连接变化图

者腰背部注射 3% 高渗盐水以模拟腰背痛患者并观察疼痛状态时脑功能变化的思路具有可行性。本研究以与痛觉辨别、认知及情感加工有关的皮质区域-岛叶作为种子点,通过静息态 fMRI 技术和功能连接分析方法研究腰背痛受试者岛叶与功能相关脑区间的连接特点。

目前临床普遍认为,人脑对痛觉的处理涉及多种功能,包括感知、辨别、记忆、情绪以及回避反应等。参与痛觉处理的脑区有很多,疼痛性疾病患者存在多个涉及痛觉调控的脑区功能受损。相关神经影像学研究表明,岛叶皮质具有感觉、情感、认知等多维属性,是急性实验性疼痛脑功能研究中最常见的激活脑区,且受试者痛阈强度增大,该区被激活的强度及范围亦显著增大^[7],提示岛叶在疼痛辨认、加工和机体内、外感受体验等方面具有重要作用^[8]。人体岛叶表面被岛中央沟分为较大的前部和较小的后部,前岛叶接收来自丘脑腹内侧核及杏仁核的投射纤维,后岛叶与次级感觉皮质相连,并与来自疼痛特异性区域-丘脑腹后下核间的脊髓丘脑束相连^[9]。前岛叶与自律、情感等功能密切相关,后岛叶则更多地参与听觉、躯体感觉以及运动功能等^[10]。本研究结果表明,静息态下腰背痛受试者岛叶与大脑皮质及皮质下区域存在广泛的功能连接异常,主要分布于额叶、顶叶、颞叶、扣带回、海马等区域,从而证明腰背痛对大脑功能的影响包括感觉、认知、情感等不同维度,牵涉到大脑皮质、边缘系统等若干相关结构,可能与中枢神经网络编码异常有关。

既往研究^[2,11]及本研究结果均表明,持续的疼痛能导致默认网络(default mode network, DMN)与岛叶间的功能连接异常。DMN 维持人脑在静息状态下的记忆、注意及认知功能^[12],是各脑区功能连接的关键节点。这个网络主要包括 mPFC、PCC、楔前叶、顶下小叶和颞叶内侧皮质等脑区。腰背痛受试者岛叶与上述脑区的功能连接均存在明显异常,提示疼痛破坏了 DMN 正常活动,使其认知及情绪功能受损。PCC 是默认网络的皮质枢纽,与大脑广泛皮质联系紧密,直接参与大脑内部认知活动,如记忆的回放等^[13]。楔前叶与视空间意象、情景记忆提取等有关,并参与注意/抑制网络,对干扰抑制发挥调节作用^[14]。本研究中岛叶与 PCC、楔前叶的功能连接减低,反映了大脑皮质功能异常,可能与抑制驱动增强或神经元异常放电有关。

在疼痛刺激下,机体额叶、丘脑、海马旁回、颞中回激活显著增强,这可能与包括丘脑和额叶皮质在内的感觉传导通路中脑区神经元间的内部联系紊乱有关^[15]。腰背痛受试者前岛叶与额下回、额中回存在显著功能连接,这与 Tagliazucchi 等^[11]研究结果相似;同时持续疼痛可使后岛叶与双侧 mPFC、双侧中央前回、左扣带回、左颞中回等广泛皮质及皮质下区域的功能

能连接增强。额叶是负责机体认知和情感活动的主要脑区,该区域功能连接异常可能与其认知、情感异常后的代偿作用有关。颞中回参与注意、记忆和情绪等高级精神活动的调节过程,颞叶过度激活导致机体对痛觉的学习记忆功能及与负面情绪体验增强。相关研究表明,情绪不稳定与边缘系统过度反应及前额叶调节机制失衡有关,且疼痛刺激时若情绪波动较小,可缓解疼痛,反之亦然^[16]。边缘系统作为启动和调节情感反应的复杂环路中的重要组成部分,其扣带回与精神活动密切相关。腰背痛受试者在实验过程中均有轻度紧张和恐惧情绪,这种不稳定情绪在一定程度上可促进边缘系统过度反应,放大疼痛感知觉。此外腰背痛受试者后岛叶显示与丘脑、海马旁回功能连接增强,表明伤害性信息通过丘脑脊髓束持续不断传导至丘脑。而海马旁回在疼痛强度及情绪调节中具有重要作用,其显著激活表明腰背痛信息编码与整合功能明显增强,这可能与机体负责疼痛感知的认知情绪调控机制减弱有关^[17]。

本研究应用 fMRI 研究腰背痛受试者,发现向肌肉内注射高渗盐水能引起持续疼痛刺激,可导致受试者岛叶与梭状回、舌回、中央旁小叶和小脑等多个皮质区域功能连接减低,表明疼痛导致其神经元活动同步性减弱,提示抑制系统可能是腰背痛的一个关键致病因素^[8];其中前岛叶与双侧中央旁小叶、双侧小脑扁桃体、左舌回的功能连接减低,而后岛叶与左梭状回的功能连接减低。小脑通过小脑-丘脑-皮质、皮质-脑桥-小脑环路与额顶叶皮质发生功能联系,整合来自扣带回和杏仁核的情绪信息并参与认知情绪调节^[18]。本研究应用 fMRI 技术进一步证实了腰背痛患者静息状态下小脑功能连接存在异常,与国外正电子发射体层摄影(positron emission tomography, PET)研究结果基本一致^[19],提示静息状态下小脑在情感-认知加工及自我觉醒机制中具有重要作用。

本研究结果还发现,腰背痛受试者静息状态下扣带回、顶下小叶与前、后岛叶的功能连接方式存在明显不同,可能与前、后岛叶的信息编码及功能差异有关。相关研究表明,疼痛网络包括 parasyllian 皮质结构(如岛叶)、中额部皮质结构(如扣带回、前扣带回、辅助运动皮质)和初级感觉皮质。扣带回与岛叶功能连接异常提示腰背痛受试者疼痛网络功能紊乱。顶叶与感知觉加工、情景记忆提取及自我意识有关,本研究中受试者顶下小叶与前岛叶功能连接增强,与后岛叶功能连接减低,可能与顶下小叶整合来自扣带回的信息有关,导致情绪信息在相关脑区间传递时无法实现不同区域间正常的功能调控,出现一种与扣带回活动相反的代偿表现。

综上所述,本研究证实了腰背痛受试者静息状态下岛叶与皮质及皮质下结构存在广泛的功能连接异常,这可能是腰背痛患者认知与情绪功能改变的神经基础。岛叶可能参与认知、情感、注意、记忆等多项功能,特别是前岛叶在疼痛加工中具有重要作用。表明腰背痛不仅是大脑对疼痛信息的简单加工,同时可能导致认知及情绪等高级心理活动发生改变,通过明确疼痛引起的大脑潜在认知及行为改变,有助于增强对疼痛脑机制的理解,从而为临床腰背痛的治疗提供参考依据。

参 考 文 献

- [1] Peyron R, Laurent B, Garcia-Larrea L. Functional imaging of brain responses to pain: a review and meta-analysis. *Neurophysiol Clin*, 2000, 30:263-288.
- [2] Baliki MN, Geha PY, Apkarian AV, et al. Beyond feeling: chronic pain hurts the brain, disrupting the default-mode network dynamics. *J Neurosci*, 2008, 28:1398-1403.
- [3] 刘定华, 刘东柏, 洪珊珊, 等. 低频脉冲电刺激对脑卒中患者静息态脑功能网络连接的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2012, 34: 821-824.
- [4] Kong J, Gollub RL, Webb JM, et al. Test-retest study of fMRI signal change evoked by electroacupuncture stimulation. *Neuroimage*, 2007, 34:1171-1181.
- [5] Ichesco E, Quintero A, Clauw DJ, et al. Altered functional connectivity between the insula and the cingulate cortex in patients with temporomandibular disorder: a pilot study. *Headache*, 2012, 52:441-454.
- [6] Linnman C, Beucke JC, Jensen KB, et al. Sex similarities and differences in pain-related periaqueductal gray connectivity. *Pain*, 2012, 153:444-454.
- [7] Apkarian AV, Bushnell MC, Treede RD, et al. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain*, 2005, 9:463-484.
- [8] Seeley WW, Menon V, Schatzberg AF, et al. Dissociable intrinsic connectivity networks for salience processing and executive control. *J Neurosci*, 2007, 27:2349-2356.
- [9] Owen DG, Clarke CF, Ganapathy S, et al. Using perfusion MRI to measure the dynamic changes in neural activation associated with tonic muscular pain. *Pain*, 2010, 148:375-386.
- [10] Yi HM, Zhou Y, Zhang Q, et al. Functional MRI study of insula in the task-state and resting-state. *J Med Imaging Technol*, 2010, 26: 439-443.
- [11] Tagliazucchi E, Balenzuela P, Fraiman D, et al. Brain resting state is disrupted in chronic back pain patients. *Neurosci Lett*, 2010, 485:26-31.
- [12] Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, et al. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98:676-682.
- [13] Leech R, Braga R, Sharp DJ. Echoes of the brain within the posterior cingulate cortex. *J Neurosci*, 2012, 32:215-222.
- [14] Cavanna AE, Trimble MR. The precuneus: a review of its functional anatomy and behavioural correlates. *Brain*, 2006, 129:564-583.
- [15] Milak MS, Parsey RV, Keilp J, et al. Neuroanatomic correlates of psychopathologic components of major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry*, 2005, 62:397-408.
- [16] Banks SJ, Eddy KT, Angstadt M, et al. Amygdala-frontal connectivity during emotion regulation. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 2007, 2: 303-312.
- [17] Wiech K, Ploner M, Tracey I. Neurocognitive aspects of pain perception. *Trends Cognit Sci*, 2008, 12:306-313.
- [18] Habas C, Guillevin R, Abanou A. Functional connectivity of the superior human temporal sulcus in the brain resting state at 3T. *Neuroradiology*, 2011, 53:129-140.
- [19] Nusbaum F, Redouté J, Le Bars D, et al. Chronic low-back pain modulation is enhanced by hypnotic analgesic suggestion by recruiting an emotional network: a PET imaging study. *Int J Clin Exp Hypn*, 2011, 59: 27-44.

(修回日期:2013-07-20)

(本文编辑:易 浩)

· 外刊摘英 ·

Obesity and knee replacement outcome

BACKGROUND AND OBJECTIVE Previously, the ideal indications for unicompartmental knee replacement (UKR) included, among other restrictions, a body mass of less than 82 kg. However, few studies have evaluated the impact of body mass index (BMI) on the long-term outcome of this surgery. This study further explored the effect of BMI on the outcome of knee replacement surgery.

METHODS This prospective, single center study included all patients undergoing UKR with a minimum of seven years follow-up. A total of 290 UKRs were performed in 254 patients between January of 1990 and December of 2004. Of these, 185 patients were contacted.

RESULTS The mean BMI at the time of surgery was 27.9 kg/m² and the mean age was 66 years. The patients were divided into subgroups according to weight ($\geq$ or $<$ 82 kg) and BMI ($\geq$ or $<$ 30 kg/m²). The clinical outcome at the last follow-up was assessed using the Knee Society Score (KSS).

The mean follow-up was conducted at 11.6 years. The mean KSS score and the mean KSS function score were not significantly related to BMI ($P=0.56$ and $P=0.47$, respectively). While weight played a role in reducing the risk of revision, this finding did not reach statistical significance ($P=0.24$).

CONCLUSION This retrospective study found that the 10-year survival rate and functional outcome of patients undergoing knee replacement does not differ between those who are obese and those who are not the time of surgery.

[摘自:Cavaignac E, Lafontan V, Reina N, et al. Obesity has no adverse effect on the outcome of unicompartmental knee replacement at a minimum follow-up of seven years. *Bone Joint J*, 2013, 95-B: 1064-1068.]