

人体運動ニューロンプールの閾下縁に関する研究

千葉大学医学部第 1 生理学教室

本間 三郎・三浦 光彦・近藤 正治

SABURO HOMMA・MITSUHIKO MIURA・SEIJI KONDO

(昭和 39 年 8 月 10 日受付)

筋紡錘の第 1 種終末からの感覚発射は、運動ニューロンに単シナプス性に伝達される。このように発射する運動ニューロンの他に、発射しないけれども、反射伝達が促進された状態となる運動ニューロンがある。運動ニューロンプール内で、前者が発射帯に入ったもの、後者は閾下縁に入った運動ニューロンといわれている⁽¹⁾。

末梢神経の刺激強度を高めて行くと、興奮する第 1 種終末からの第 I 群 a 線維が増す。感覚発射の増量と発射帯、閾下縁の増加の関係がネコにおいて求められている⁽²⁾。

人体において脛骨神経を電気刺激すると、上述の第 I 群 a 線維が興奮し、単シナプス反射が成立して、ヒラメ筋、腓腹筋より、H 波が記録される⁽³⁾⁽⁴⁾。H 波の振巾は、運動ニューロン発射帯の大きさを示してくれるであろうから、人体においても刺激強度と発射帯、閾下縁の関係を求めることができよう。ただ、人体では脛骨神経の刺激強度を高めると、そのなかに含まれている運動神経あるいは他の感覚神経も刺激されるので動物実験と違って実験条件にいくつかの制限を受ける⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾。

本研究は正常人について、発射帯および閾下縁の測定方法を吟味し、脛骨神経の刺激強度と両者の量的関係を測定した。

実験方法

正常人男子を腹臥位とし、下肢を特別に定位固定することなく、楽な姿勢をとらせた。

刺激電極は直径 1 cm の銀円板電極で食塩水をひたしたガーゼで包んである。これを膝窩部の脛骨神経上にあて、後述するように下腿伸筋から H 波がもつともよく導出できるような、いわゆる脛骨神経の刺激点に固定する。これに対して無関電極は 3×10 cm の銀板電極で、反対側の下肢に接着する。

H 波の導出電極は直径 1 cm の銀円板電極を 2 ケ、ヒラメ筋体の皮膚上に食塩水をひたしたガーゼを介して接着する。その間隔は約 5 cm である。導出電極に対する無関電極は 1.5×10 cm の銀板電極で、これを導出電極と刺激電極の中間に巻き付ける。この電極のみ接地し、導出電極間の電位は差動式に増巾され、記録される。

刺激電極を通じて、直角波脈波が 2 秒に 1 回の割りで与えられ、人体の皮膚を通ることにより歪められた電流波形は平衡回路法⁽⁹⁾により直角波に補正される。また脛骨神経に与えられた刺激電流強度は平衡回路法にしたがいブラオン管オッシロスコープの一つのビームに導かれ計測される。

刺激電流の出力は接地より完全に遊離され、電位増巾の記録に障害となるその人工的変位を極度に小さくしてある。これらの装置は電気刺激分析装置として別に報告されている⁽¹⁰⁾。

実験成績

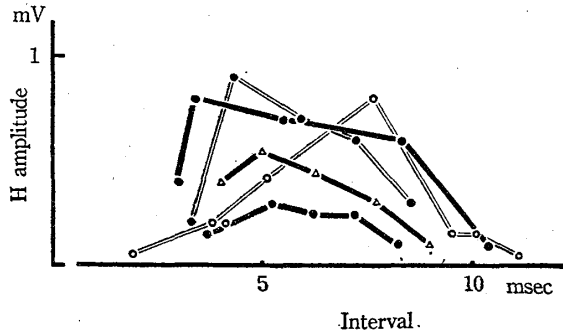
1. 人体運動ニューロンの閾下縁

ヒラメ筋および腓腹筋より H 波を導出するよう脛骨神経の刺激点を定める。ついでその刺激強度を低め、H 波が丁度なくなる刺激強度に装置する。そのように調整された刺激強度の直角波を二発連続して与える。両刺激間隔が数ミリ秒とひらいてくると、かすかな H 波が、第 2 の刺激から約 30 m sec 遅れて現われる。間隔がひらくとともにこの H 波の振巾は大きくなり、それがふたたび減じ、間隔が 10 m sec をこえると H 波がみられなくなる。

H 波の振巾と両刺激間隔の関係を求めると、図 1 のごとくである。図 1 は 5 例の測定例を示す。H 波の振巾は両刺激間隔が約 5 m sec のところでもつとも大きくなっている。

両刺激ともそれが単独に与えられた場合には H 波

図1



閾下刺激間隔とH波。H波誘発に対する閾下の2発刺激を経骨神経に与える。第2発目の刺激後30 msec後にH波をみる。両刺激間隔が10 msec以内になると現われる。

を生じない閾下刺激強度であるから、両刺激が与えられたことでみられたH波の成生は明らかに閾下両刺激の加重的効果によるものと思われる。

両刺激のうち先行するものを条件刺激、つぎの刺激を試験刺激とみなすと、図1の経過は条件刺激によつて生じた伝達の促進効果の経過とみることが出来る。このように伝達の促進効果とみなした理由は、この効果が図1にみるごとく10 msecといった具合に比較的長い期間にわたつて存在しているためである。一方間隔が数m sec内であると、H波の出現はみられず、効果が生じていない。このことはつぎのように考えられる。条件刺激は閾下であつても、それはH波成生に対して閾下であることで、第I群a線維のあるものはこの強度で刺激され、感覚発射は上向していると考えなくてはならない。しかしただそれだけの感覚発射量では運動ニューロンを発射せしめるには不十分であり、反射伝達に対して閾下であるとするのである。したがつて条件刺激後ただちに試験刺激が与えられた場合、第I群a線維はまだ不応期となつており、試験刺激によつて第I群a線維は興奮しないこととなる。不応期の間は試験刺激による感覚発射は上向せず、伝達の加重など起りえないとするのである。第I群a線維の不応期を過ぎればすなわち数m sec以上の間隔となれば、こんどは感覚発射は相ついで上向し、それが伝達に対して加重効果を起してくれるものと考えられる。

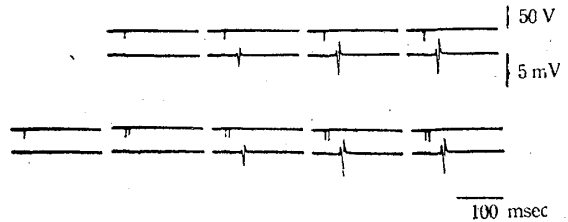
図1に示されたように条件刺激によつて伝達に促進効果を残す閾下縁の成生とその経過を知ることができた。

2. 閾下縁による促進

1. の成績は試験刺激を閾下の強度で行なつたものであるが、試験刺激を閾上にして促進効果を検し、同様の条件刺激によつて生じた閾下縁がどの程度まで運動ニューロンプールの範囲におよんでいるかをしらべた。

図2の上段は試験刺激のみの場合で、左から右へその刺激強度を高めた際にみられるH波を示した。

図2

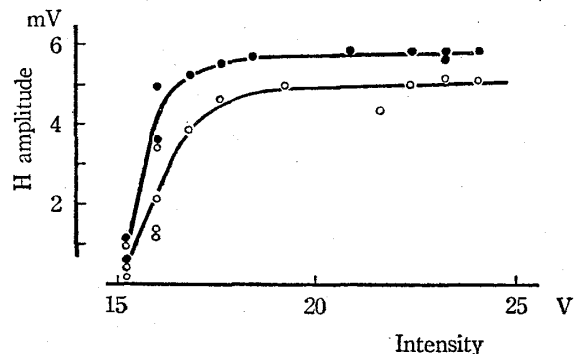


閾下条件刺激によるH波振巾の増高。上段は試験刺激の強度(上線)とH波振巾(下線)を示す。左より右へと刺激強度が高まる。下段の最左端は条件刺激の強度とそれではH波を生じていないことを示す。この閾下条件刺激を上段の各強度の試験刺激の前に与える。上段のH波に比べ、いづれも下段の方が大きくなつてゐる。

刺激強度を高めて行くと、H波の振巾は次第に大きくなる。図2下段についてみると、まずその左端では閾下の条件刺激の強度とそれによつてはH波がみられないことを示した。このような条件刺激を試験刺激の前約5 msecのところと与えてやる。図2上段でえられた各種強度の試験刺激によるH波の振巾が、閾下条件刺激によりそれぞれが幾分大きくなつてゐる。

これを図3にて、横軸に試験刺激の強度を、縦軸

図3

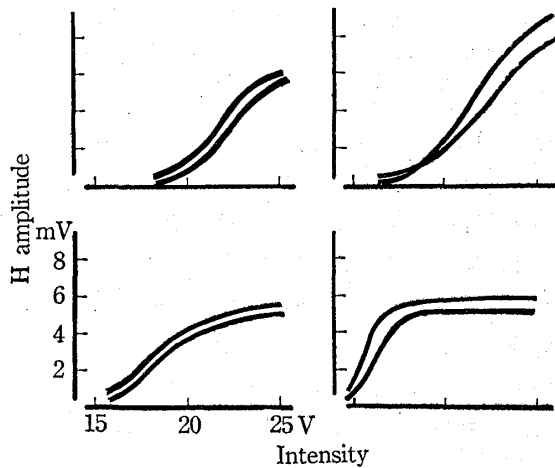


閾下条件刺激によるH波振巾の増高。図2に示した測定より、横軸に試験刺激強度を縦軸にその振巾をとる。白丸は試験刺激のみによるH波振巾、黒丸は閾下条件刺激を与えたときのH波振巾。

に H 波の振巾をとつてその関係を示した。閾下の条件刺激が与えられると、黒円で示すように H 波の振巾は大きくなる。白円で示した曲線との差が、閾下の条件刺激によつて生じた閾下縁の伝達促進効果を示してくれることになる。試験刺激強度が高まるにつれ、この閾下縁も次第に大きくなる。しかし試験刺激の強度が一定程度以上となり、H 波振巾も高まらないようになると閾下縁も増さなくなる。

図 4 に 4 例の測定例を示した。いずれの例においても条件刺激によつて閾下縁が生じ、これが試験刺激の閾下縁と加重して新たに H 波を生じ、それ

図 4



閾下条件刺激による H 波振巾の増高。第 3 図の測定を 4 例について示した。閾下条件刺激を与えた方が、いずれの例でも H 波振巾は増高している。したがつてその際の曲線はいずれも上方のものがそれに相当する。

だけ H 波振巾が増高したことを示している。図 4 の右側の 2 例は、刺激強度が高まると一層 H 波の増高がいちじるしいことを示しているが、これは刺激の増強とともに試験刺激によつて生じる閾下縁が一層増してきていることを示している。

以上 1 および 2 によつて、閾下縁が人体にも存在していることが確かめられた。しかも、この閾下縁が 2 の成績によつて、刺激強度の増強とともに一層増大するものであるという予想がたてられた。つぎに刺激強度と閾下縁の関係を求めてみよう。

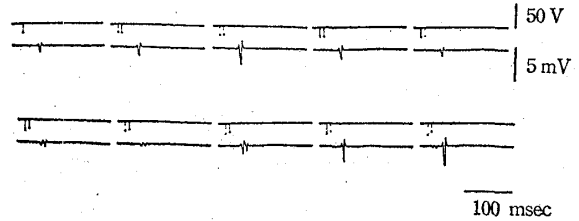
3. 第 I 群 a 線維刺激強度と閾下縁との関係。

経骨神経の刺激強度を増大して行なつた際に、閾下縁がどのようにして生成され、閾下縁が運動ニューロンプール内をどの程度占めてくるかを測定することは簡単でない。本研究はつぎの方法によつて、刺激強度と閾下縁の量的関係を求めた。この方法の当

否については考察の項目で論ずることとする。

図 5 によつて実際の測定法を述べる。図 5 上段の

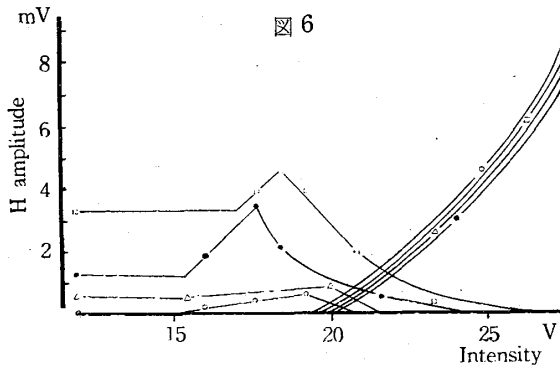
図 5



条件刺激強度と試験刺激 H 波との関係。上段とも上線は刺激強度を下線は H 波を示す。上段最左端はこの例の試験刺激強度とそれによる H 波を示す。上段の左から右へ、条件刺激の強度を高めて行く。最初試験刺激による H 波振巾は次第に増高する。条件刺激の強度がさらに高まると振巾は減少する。下段の左に移るとほとんど H 波はなくなる。下段の左より 2 番目、そのときには条件刺激の強度も相当となり、かすかにそれによる H 波が出現する。右へ進むにつれ条件刺激の強度の増大とともにその H 波の振巾は大となる。これらの間、試験刺激による H 波発生はみられない。

左端は一定強度の試験刺激とそれによつて生じた H 波を示す。この試験刺激に約 5 m sec 先行して条件刺激を与える。条件刺激の強度を次第に高めて行くと、まず試験刺激による H 波の振巾は大となる。しかし条件刺激の強度がさらに増すとその振巾は減少する。上段の左から右へ、条件刺激をもつと増すと、H 波の振巾はまったく小さくなりついに消失する。この時には、強くなつた条件刺激によつて作られた H 波が現われてくる。図 5 の下段へと移る。このように条件刺激が強くなると試験刺激による H 波は完全になくなり、条件刺激による H 波のみがみられ、それが条件刺激の強度とともに増高する。条件刺激による H 波か試験刺激による H 波かは応答時の長短 (5 m sec の差) で区別できる。

図 6 の横軸は条件刺激の強度を縦軸には試験刺激による H 波振巾と条件刺激による H 波振巾 (4 本の斜線) を示した。黒丸についてみると、この試験刺激は約 22 V の刺激強度で、1.3 mV の H 波振巾をえた。試験刺激に先行して条件刺激が与えられ、その強度が 15 V 以上となると、試験刺激による H 波振巾が増し、約 18 V の条件刺激で H 波振巾は 3 倍の 3.2 mV となつた。その後 H 波振巾は減少し、条件刺激が、24 V となると H 波は完全に消失してしまう。このときには条件刺激による H 波のみが



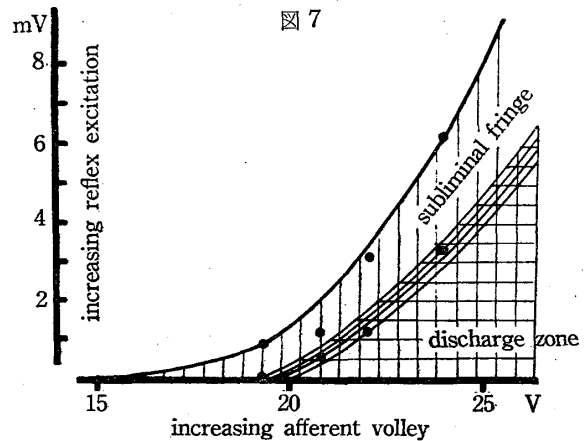
条件刺激強度と H 波振巾。条件刺激が 20 V 以上となると H 波が斜線で示すように出現し、増高する。黒丸について説明する。約 22 V の試験刺激で左側の黒丸が示すように約 1.3 mV の H 波をえた。これに条件刺激を与えると、条件刺激の強度が 10 V 以上となると H 波振巾が増す。しかし 15 V 以上で次第に減じ、24 V となると H 波は消失する。H 波が消失したときの条件刺激強度でその H 波振巾は斜線の高さから約 3 mV と計算される。この 3 mV から、この試験刺激のみで生じた H 波振巾すなわち 1.3 mV を差引いた値 1.7 mV が、この試験刺激で作られた閾下縁の量である。

4 段階の試験刺激強度における成績を示してある。

現われている。斜線の黒丸が条件刺激によつて生じた H 波の振巾である。ここで問題とするのは条件刺激によつて試験刺激の H 波が完全に消失せしめられた点、すなわち条件刺激が 24 V のときである。刺激が 24 V の強度で、それが単独では H 波振巾は図 6 の斜線の黒丸から約 3 mV と計算される。条件刺激によつて生じたこの H 波の大きさは、つぎに試験刺激によつて起るべきはずの H 波を完全に不応にせしめた大きさということになる。したがつて 3 mV という大きさは、逆からみれば試験刺激によつて実は生じたであろう発射帯と閾下縁を合せた量を示してくれることになる。この 3 mV から試験刺激（この黒丸の場合の強度 22 V は）単独で生ずる H 波振巾 1.3 mV を差引いた量が試験刺激によつて生じているであろう閾下縁を示してくれることになる。

図 6 には 4 種の刺激強度の試験刺激でえられた閾下縁を示した。それぞれの強度における H 波振巾と、それを完全に消失せしめる条件刺激の強度によつて生ずる H 波振巾を図 6 より求めることができる。両 H 波振巾の差が、そのときの試験刺激によつて生じた閾下縁の量を示す。

図 7 には試験刺激強度を横軸に、それによつて生



刺激強度と発射帯、閾下縁関係。横軸に試験刺激強度を縦軸にその強度で作られた発射帯と閾下縁の大きさを示した。計算法は図 6 の説明および本文参照。

じた H 波の振巾を縦軸にとつた（4 本の斜線）。まず目は H 波振巾によつて与えられる発射帯を示す。この発射帯に、図 6 によつて求めた閾下縁の量を加えると縦線で示される量だけ閾下縁が生じていることになる。縦軸は mV となるが、mV で示される量は運動ニューロンプール中で興奮するニューロンの数に相当しているから、図 7 に書いたように、反射活動 (reflex activity) の増量を与えてくれることになるであろう。

図 7 が感覚神経刺激の強度と運動ニューロンの発射帯と閾下縁の量的関係を示している。しかし図 7 に求められた刺激強度以上の高い刺激のところの関係は、人体の実験である限り求めることができない。この理由は考察の項で述べる。

考 察

経骨神経を電気刺激して下腿伸筋よりいわゆる H 波を導出できるが、これは伸筋内の緊張筋線維の活動電位であるとされている⁽⁴⁾。刺激個所からこの活動電位までのニューロン回路は、伸筋からの第 I 群 a 線維と小アルファ運動ニューロンであり、それらの単シナプス反射弓であるとされている。経骨神経の電気刺激によつてまず第 I 群 a 線維が興奮する。この感覚発射は上向し、一方では運動ニューロンを発射し、発射帯をつくり、他方では運動ニューロンに閾下縁をつくると考えられる。刺激強度と発射帯の量的関係は H 波の振巾を示標とすれば簡単に求めることができる⁽⁵⁾。ただ刺激強度が高まり、経骨神経内の運動神経が刺激されるようになると、反射弓を逆方向に上向するインパルスで H 波のインパルスが

遮断されて H 波振幅が小さくなる。したがってこの刺激強度までは、刺激強度を発射帯の量的関係を図示できることになる。

H 波を発生する刺激より弱く、いわゆる閾下刺激を二発経骨神経に与えると、第2の刺激のあとに H 波をみることが出来る。これは各閾下刺激で発射帯に準ずる状態がどこかに生じ、それらが時間加重を行なつて発射帯に達したとみることが出来る。本研究では、この加重の個所を閾下刺激によつて生じた運動ニューロンプールの閾下縁によると考えた。

運動ニューロンプール以外の個所における加重現象でないということはつぎのことによつて確かめることができる。まず刺激電極下の末梢神経の場合であるが、与えられた刺激の直角波の期間は 1 m sec であるから、図 1 でみられるように、加重効果が 10 m sec も、末梢神経で持続しているとは考えられない。末梢神経での刺激電圧そのものの加重は考えられない。つぎに運動神経より筋へのインプルス伝達の場合であるが、人体における筋の神経多重支配⁽¹²⁾⁽¹³⁾はいまだ確かめられていない。したがつて、運動神経から筋にインプルスがやつてきた場合には非常に高い安全率をもつて筋にインプルスは伝達されていると考えるのが至当である。ここでも加重が起つていると考えることができない。したがつて H 波を生ずる単シナプス反射弓内において、第 I 群 a 線維と運動ニューロンの伝達の場合において上述の加重が起つているとみるしかない。

第 I 群 a 線維からのインプルスは運動ニューロンの膜電位を脱分極し、その脱分極は 1.5 m sec で最大となり、それから略指数函数的に約 4 m sec の時定数で脱分極は減少し、もとの膜電位に帰るとされている⁽¹⁴⁾。この脱分極の成生されている間に、つぎのインプルスによつてさらに脱分極が生じれば、それらは加重して運動ニューロンは発射するとされている⁽¹⁵⁾。人体における運動ニューロンに生ずる脱分極生成過程が、ネコの値と同等であるとはいきれないが、加重現象そのものについては本研究の基礎を与えてくれる。膜がインプルスによつて脱分極された状態、これを閾下縁と呼ぶことは大きな誤りがないように思われる。ネコの研究からこの脱分極を、膜電位の点からこれを興奮性後シナプス電位とし、その経過についても著者の一人は人体について推定している⁽¹⁶⁾。

二つの閾下刺激によつて生じた閾下縁の加重効果は、両刺激間隔が 5 m sec で最大であつた。脱分

極の経過から予想すると両刺激間隔が 5 m sec 以内の方がもつと実は加重効果が著明でなければならぬように思われる。しかし実験成績の項でも述べたように人体の刺激では経骨神経上にあてた一つの刺激電極を通じて二発刺激が与えられるため、最初の刺激によつて興奮した第 I 群 a 線維の不応期によつて、試験刺激が達成されないという事態が起つているのである。したがつて両刺激の間隔の短いところでは、試験刺激によるインプルスは上向していないのであつて、これでは到底運動ニューロンは発射しない。実際に閾下縁による加重効果のみられるのは間隔が 5 m sec を最高とするような経過となつてしまうのである。したがつて本研究における実験は、見掛上加重効果が最大である両刺激間隔 5 m sec を用いて行なつている。

条件刺激の閾下刺激を一定とし、試験刺激を高めて行くと、閾下縁による H 波の増大分は測定例の半数においてみられた。これは試験刺激によつて生ずる閾下縁の大きさも、刺激の強度とともに、次第に増すしたことを意味している。しかしこの関係は、そのとき用いられた条件刺激は閾下刺激の状態であつて、刺激強度と閾下縁の真の量的関係を与えるものでなかつた。このため本研究はつぎの方法を選んだ。まずある一定強度の試験刺激を与えると、これによつて生じた H 波の振幅は発射帯の量を示してくれる。このときこの発射帯と別に運動ニューロンプール内には閾下縁が生じているはずである。この閾下縁の量を知ることが必要なのである。もしこの試験刺激に先行して条件刺激を与えれば両刺激によつて生じている閾下縁は加重し、試験刺激の発射帯は増大し、H 波振幅は大となるはずである。条件刺激の強度を高めるとそれによる閾下縁も増し、試験刺激による閾下縁はすべてこれと加重し、ますます試験刺激によつて生じた H 波が高まつてくる。条件刺激を高めて行くことにより最高を示した H 波と、条件刺激を与えない試験刺激のみによる H 波の差というものが、そのときの試験刺激の強度によつて生じた閾下縁の全量を示してくれることになる。このようにして測定できれば、刺激強度と閾下縁の量的関係は簡単に求められるはずである。しかし残念ながら、上述のごとく条件刺激を高めて行くとその刺激で運動ニューロンのあるものは発射してしまう。その分量だけ運動ニューロンは不応の状態となり試験刺激によつて生ずるはずの発射が不応となり H 波振幅がかえつて減少してしまうものである。条

件刺激を高めたことで単純に閾下縁の場のみを増大させることができないのである。

このような理由から本研究はつぎの方法をとった。条件刺激を高めて行くと閾下縁も増し、その量は試験刺激による閾下縁の悉くと加重する場を占めてくれるようになる。そして試験刺激のH波は最高を取るに至るであろう。

この予想される最高のH波を、条件刺激によつて生じたH波の不応期に入れてしまい、H波の悉くを不応せしめるようにする。そんな条件刺激の強度が、予想される最高のH波と相等しいと考えたのである。すなわち試験刺激によるH波を完全に消失する条件刺激の強度、これを求め、この強度の刺激で生ずるH波の大きさというものが、あらかじめ定めた試験刺激によつて生ずる発射帯と閾下縁の総和を与えてくれるものである。この総和を示すH波からあらかじめ定めた試験刺激にのみよるH波を差引いた値が閾下縁の大きさを与えてくれるものである。本研究はこのようにして種々の定められた試験刺激強度における発射帯と閾下縁の大きさを求め、刺激強度と閾下縁の関係を図示した(図7に示す)。

ネコにおける閾下縁の成績は、刺激強度を高めると発射帯も閾下縁もある最大値に達する関係を示している⁽⁹⁾。発射帯が最大になる刺激強度の7~8%の強度で発射帯が現われ始める。発射帯が現われ始めるときにはすでに閾下縁はその最大の30%も生じている。図7に示した人体の成績とこのネコの成績とを量的面から直接比較することができない。人体では、発射帯が現われ始める頃には、閾下縁が相当量生じていること、刺激強度が高まるにつれ、発射帯も増大しそれとともに閾下縁もまた次第に増大するものであるということが指摘できるに過ぎない。人体では図7で示すような刺激強度すなわちこの場合には25V以内の刺激強度における関係が求められたに過ぎないのである。この制約は、人体では経骨神経中に運動神経が混在しており、刺激強度が高まると運動神経も刺激されてきてそのインパルスが逆行性に伝導し、反射してきた折角のH波のインパルスを遮断してしまうという事態が起きてくるからである。刺激強度が高まるとその理由でH波振幅がかえつて減少してくるもので、その強度では本研究方法を用いることができないのである。

結 論

人体H波を示標とし、第I群a線維刺激によつて生ずる運動ニューロンプール内閾下縁を測定した。

1. 閾下の二発刺激でH波を誘発できる両刺激間隔は10m sec以内である。閾下刺激によつて生ずる閾下縁の持続時間である。

2. 経骨神経中に含まれる第I群a線維に対する刺激強度と、それにより生ずる運動ニューロンの閾下縁および発射帯の量的関係を求めた。

文 献

- 1) Creed, R. S., Denny-Brown, D., Eccles, J. C. & Sherrington, C. S.: Reflex activity of the spinal cord. The Clarendon Press, Oxford, 1932.
- 2) Lloyd, D. P. C.: J. Neurophysiol., 6, 111, 1941. from Med. Physiol & Biophysics of Ruch & Fulton.
- 3) Hoffmann, P.: Die physiologischen Eigenschaften der Eigenreflex. *Ergebn. Physiol.*, 36, 15-108, 1934.
- 4) Homma, S.: The threshold of electric stimulation in human nerve and muscle. *Modern Electrotherapy* 57-63, Japan Soc. for Promotion of Science, Tokyo, 1956.
- 5) Magladery, J. W.: Some observations on spinal reflexes in man. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, 261, 302-321, 1955.
- 6) 藤森 聞一: 末梢神経刺激筋電図法の原理とその臨床応用, *日本医事新報*, 1700, 10-15, 1956.
- 7) Paillard, J.: Analyse électrophysiologique et comparaison chez l'Homme, du réflexe de Hoffmann et du réflexe myotatique. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.*, 260, 448-479, 1955.
- 8) 村越 康一: 誘発筋電図の基礎と臨床, *神経研究の進歩*, 7, 352-374, 1962.
- 9) Homma, S: Studies on the electric threshold in human nerve and muscle. *Jap. J. Physiol.*, 4, 314-323, 1954.
- 10) 鈴木正夫・本間三郎: 電気刺激分析装置 Electrostimuloanalyzer について, *生体の科学*, 8, 18-30, 1957.

- 11) 本間三郎：誘発筋電図の基礎とその応用，日本の医学の 1959, V, 398-407, 1959.
- 12) 鈴木正夫・本間三郎：人体の反射：単シナプス反射を中心として，興奮伝導の諸問題（若林内山編），357-371, 医歯薬出版，東京，1959.
- 13) 伊谷昭幸：運動単位導出の誘発筋電図による脊髄ならびに神経筋間シナプスにおける促進および抑圧の研究，日生理誌 22, 1087-1097, 1960.
- 14) Eccles, J. C.: The Neurophysiological Basis of Mind, The Charendon Press, Oxford, 1953.
- 15) Eccles, J. C.: The mechanism of synaptic transmission. *Ergebn. Physiol.*, 106, 299-430, 1961.
- 16) Homma, S.: Post-tetanic potentiation and temporal summation in motoneurons of man. Symposium on the Effect of Use and Disuse on Neuromuscular Function, The Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, 1963.