

УДК: 639.3.043.14

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.120

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ИСПЫТАНИЯ СОРБЦИОННОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

Попова О.С.^{1*} – канд. ветеринар. наук, доц. каф. фармакологии и токсикологии (ORCID 0000-0002-0650-0837); Алехин Ю.Н.² – д-р ветеринар. наук, гл. науч. сотр. отдела экспериментальной терапии (ORCID 0000-0003-0666-7722).

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

² ФГБНУ «ВНИИПФиТ»

* alef_z@mail.ru

Ключевые слова: радужная форель, сорбенты, кормовая добавка, кормовые отравления

Keywords: rainbow trout, sorbents, feed additive, feed poisoning

Поступила: 15.01.2024

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



РЕФЕРАТ

На фоне интенсификации технологий аквакультуры возрастает выраженность факторов сдерживания, из числа наиболее актуальных в данном вопросе следует отметить качество кормов, низкий уровень которых формирует риски кормовых отравлений, метаболических нарушений и инициации развития заболеваний. В условиях рыбоводческого хозяйства проведены исследования по изучению безопасности и эффективности применения рыбам сорбционно - метаболической кормовой добавки, разработанной сотрудниками ФГБОУ ВО СПбГУВ и ООО «ЭкоГрупп» (Россия). Объектом исследования была радужная форель, которая в период выращивания в течение 60 дней получала комбикорм с указной добавкой. Статистическая обработка полученных результатов, проводимая с использованием программ «Statistica 8.0» включала в себя расчёт среднюю арифметическую и её стандартной ошибки ($M \pm m$), а межгрупповое различие (p) оценивали по критерию Стьюдента. Результаты исследования показали, что разработанная кормовая добавка не оказывает негативного влияния на организм рыб, а её применение исключает возникновение нарушения обмена веществ и развитие патологии печени и почек, риск которых повышается при интенсификации технологии аквакультуры. На фоне дачи новой кормовой добавки не только увеличивается масса и размеры тела рыбы, но повышается её ростовой потенциал в периоды дальнейшего выращивания. Таким образом, разработанная сорбционно-метаболическая кормовая добавка безвредная для рыб, оказывает положительное влияние на их рост и развитие, снижает риски метаболических нарушений и развития патологий. Все это даёт основание для применения данной кормовой добавки в аквакультуре.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Аквакультура является одной из наиболее рентабельных и прогрессивно развивающихся подотраслей животноводства [1]. Из большого числа пресноводных рыб радужная форель является одним из наиболее коммерчески культивируемых видов, объём производства которой во всем мире превышает 916 000 тонн в год [2]. На фоне интенсификации технологий аквакультуры возрастает выраженность факторов сдерживания, из числа наиболее актуальных в данном вопросе следует отметить качество кормов [3,4], низкий уровень которых формирует риски кормовых отравлений, метаболических нарушений и инициации развития заболеваний. При этом очевидным является применение энтеросорбентов [5]. Однако, фиксация токсинов в кишечнике не гарантирует нейтрализацию всех токсинов, количество которых также пополняется в результате частичной десорбции и все это обуславливает их всасывание в кровь. Помимо этого, энтеросорбция не обеспечивает нужный уровень детоксикации при эндогенной интоксикации.

Так, при разработке нового средства нужно учитывать, что безопасность кормов является одним из основных факторов, влияющих на продуктивность животных и экономическую целесообразность предприятия аквакультуры. Например, наличие химически разнообразных микотоксинов в продуктах питания человека и кормах для животных, с последующими вопросами безопасности и экономическими потерями в сельском хозяйстве, в частности в рыбоводстве, в настоящее время становится проблемой во всем мире. Многие из этих токсинов часто обнаруживаются в кормах в токсикологически значимых концентрациях [4,6]. Поэтому очевидным является создание средств совмещающих энтеросорбцию и стимуляцию естественных механизмов детоксикации за счёт оптимизации работы печени и стабилизации функций мембран клеток. Именно такой спектр фармакологического действия заявлен у сорбционно-метаболической

кормовой добавки разработанной сотрудниками ФГБОУ ВО СПбГУВМ и ООО «ЭкоГрупп» (Россия). Поэтому целью наших исследований было изучение её безвредности для рыб и влияния на их организм.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

В период с 20 марта- 20 мая 2023 г. в рыбоводческом хозяйстве, расположенном в Ленинградской области, специализирующимся на выращивании радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) с использованием полносистемной технологии с двухлетним оборотом, были проведены исследования по изучению влияния сорбционно-метаболической кормовой добавки (СМКД) на организм рыб. Объектом исследования были особи форели на 48-50 день выращивания. До этого они прошли этапы инкубации икры и выращивания личинок и подращивания мальков до средней массы $53,0 \pm 1,13$ г. Выращивание товарной рыбы осуществляли в лотках (2,0 x 0,75 x 1,0 м) в которые постоянно поступала вода из скважины или из промежуточного накопителя. Программа акваконтроля автоматически настроена на поддержания температуры воды в диапазоне от 14,5 до 18,0°C, и сама выбирала источник её забора. Помимо этого, постоянно контролировали содержание кислорода в воде и не допускали его снижения менее 9,5 мг/л. В двух лотках сформировали плотность посадки 65-67 кг/м³ рыбой с аналогичным возрастом и массой тела, которая получала специализированный гранулированный комбикорм, изготовленный в хозяйстве, в состав которого входили рыбная мука, сухое обезжиренное молоко, костная мука, кормовые дрожжи, витаминно-минеральный премикс, экструдированный ячмень и кукуруза. Комбикорм задавали 5-7 раз в сутки в общем количестве 10% от массы рыбы, обеспечивали поступление в их организм необходимое количество питательных и биологически активных веществ [7]. В лотке №2 при аналогичном режиме кормления рыба получала комбикорм, в состав которого дополнительно ввели сорбцион-

но-метаболическую добавку, состоящую из нативных (природных) компонентов, основным действием которых является адсорбция токсических вещества в полости желудочно-кишечного тракта и активация естественных механизмов детоксикации организма, в том числе антиоксидантное и гепатопротекторное влияние. Ранее проведённые нами доклинические исследования показали, что данная кормовая добавка относится к IV классу опасности (малоопасные) согласно ГОСТ 12.1.007-76 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности». Рассчитанная на основании поисковых исследований профилактическая доза СМКД составляет 0,15 г/кг массы тела. При этом суточное потребление корма в лотке №1 оказалось равно 9,2 г/100 г массы тела рыбы, поэтому для обеспечения указанной дозы в составе комбикорма добавка должна составлять 0,17%. Опыт длился два месяца, в течении которых контролировали поедаемость корма и случаи гибели рыбы, но в 1 и 60 день у 10 особей из каждого лотка отобрали пробы крови из сердца в две вакуумные пробирки без антикоагулянта для получения сыворотки и с антикоагулянтом для её нативного состояния (цельная кровь). Биохимические показатели в крови определяли с помощью коммерческих наборов реагентов (ООО «ДС.Мед», РФ), гематологические параметры согласно методическим указаниям департамента ветеринарии РФ [8].

Интенсивность роста оценивали по показателям удельной скорости роста (УСР), абсолютного (АП) и относительного (ОП) прироста [7]. При этом расчёт проводили по формулам:

$$АП = (МК - МН) / ДК \text{ (г/сут)},$$

$$ОП = ((МК - МН) / МН) \cdot 100 \text{ (\%)},$$

$$УСР = (2(МК - МН) / (МК + МН)) \cdot ДК \cdot 100 \text{ (\%)}, \text{ где}$$

МН – масса рыбы в начале оценочного периода (г),

МК – масса рыбы в конце оценочного периода (г),

ДК – продолжительность оценочного

периода кормления (сут).

Статистическая обработка полученных результатов, проводимая с использованием программ «Statistica 8.0» включала в себя расчёт средней арифметической и её стандартной ошибки ($M \pm m$), а межгрупповое различие (p) оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Наблюдение за рыбой во время опыта показало, что сохранность в лотке №1 составила 93,5%, а в №2 97,0%. Масса рыбы в начале опыта не имела достоверного межгруппового различия, но в конце наблюдения масса особей, которые получали комбикорм с добавкой, оказалась на 15% выше (таб. 1).

При этом абсолютный прирост у особей, получающих комбикорм, с изучаемой добавкой оказался выше на 10,9%, а относительный – на 10,6%. Представленные результаты указывают на активацию роста рыбы на фоне дачи СМКД. Однако, помимо этого, имеет место увеличение на 6,4% удельной скорости роста, т.е., кормовая добавка повысила ростовой потенциал роста рыбы в периоды дальнейшего выращивания. Данное положение подтверждается тем, что если в начале опыта длина рыбы в лотках существенно не различалось (№1 – $16,7 \pm 1,25$ см, №2 – $16,5 \pm 1,31$ см), то через 60 суток особи из группы контроля оказались на $1,47 \pm 0,020$ см короче (№1 – $22,48 \pm 0,600$ см, №2 – $23,95 \pm 0,53$ см). Помимо этого, у рыб из лотка №1 и №2 соотношение масса: длина составила соответственно 9,65 и 9,61 г/см. Таким образом, СМКД, помимо ростостимулирующего эффекта, активует рост осевого скелета и снижает весовую нагрузку на него, что создаёт более благоприятные условия дальнейшего развития и роста.

Результаты вскрытия рыбы на заключительном этапе опыта показали, что расположение, внешний вид, размеры и масса внутренних органов, не имеют каких либо различий у особей из сопоставимых лотков. Таким образом, нет негативного влияния СМКД на морфометрические параметры рыб.

В таблице 2 представлены результаты исследования крови, сравнительный анализ которых показал, что в начале опыта нет достоверных различий изучаемых величин, но на заключительном этапе наблюдения отмечено достоверное изменение состава крови. При этом у рыб из лотка №2 в сравнении с показателями контроля (№1) выявлен более высокий уровень гемоглобина (на 5,4%), хотя ко-

личество эритроцитов достоверно не различается. В результате содержание гемоглобина в эритроцитах после курса дачи кормовой добавки возросло на 1,1% и оказалось выше контроля на 6,7%. Таким образом, СМКД оказывает влияние на процессы эритропоэза, в частности повышает выработку эритроцитов с более высоким функциональным потенциалом переноса гемоглобина.

Таблица 1 – Показатели интенсивности роста рыбы

Показатели	Лоток №1	Лоток №2
Вес одной особи в начале опыта, г	97,5±5,17	97,7±7,00
Вес в конце опыта, г	217,0±7,20	230,2±7,85*
АП, г/сут	1,991	2,208
ОП, %	122,56	135,62
УСР, %	1,266	1,347

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с показателями рыбы из лотка №1.

Показатели	Лоток №1		Лоток №2	
День опыта	1	60	1	60
К-во проб, шт	10	10	10	10
Кровь цельная				
Эритроциты, млн/мкл	1,34±0,27	1,40±0,19	1,34±0,15	1,39±0,20
Гемоглобин, г/л	69,4±1,32	68,8±1,06	69,5±1,31	72,5±1,00*
МСН	51,8	49,1	51,8	52,4
Сыворотка крови				
Общий белок, г/л	37,7±0,78	38,0±1,14	37,9±0,65	37,7±0,83
АсАТ, Е/л	236,0±4,28	241,5±4,12	240,2±5,83	255,5±4,17*
АлАТ, Е/л	10,1±0,55	16,7±1,04	10,3±0,67	11,1±0,72*
Мочевина, мм/л	0,95±0,08	1,27±0,06	0,93±0,10	1,20±0,08*
Общий холестерин, мм/л	2,17±0,14	2,36±0,10	2,20±0,12	2,44±0,11
Креатинин, мкМ/л	18,2±0,48	21,0±1,03	18,3±0,73	22,8±0,81
МДА, нМ/мг белка	1,12±0,017	2,06±0,020	1,15±0,011	1,23±0,013*

* – $p < 0,05$ в сравнении с показателями рыбы из лотка №1.

Уровень общего белка у рыб из лотка №2 существенно отличается от показателей в контроле, активность АсАТ оказалось выше на 5,8%, но АлАТ ниже на 33,5%. При этом, соотношение между АсАТ и АлАТ, которое вначале опыта не имело межгруппового различия (23,36 и 23,32), через 60 дней эксперимента в контроле снизилось и оказалось меньше, чем в сопоставимом лотке на 37,2% (№1 –

14,45, №2 – 23,0). Учитывая, что аспаратаминотрансфераза преимущественно выделяется в печени и ткани сердца, но аланинаминотрансфераза только в печени [9], можно предположить возникновение риска патологии печени у рыб лотке №1. Содержание мочевины в течение опыта увеличилось у всех рыб, аналогичная тенденция отмечена и у креатинина. Эти два метаболита являются конечными продук-

тами метаболизма белка и выводятся из крови в клубочках почек, однако в проксимальных канальцах мочевины подвергается реабсорбции, а всасывание креатинина минимальное. Поэтому, при нарушении клубочковой фильтрации нарушается соотношение азота мочевины и креатинина [10,11]. В нашем опыте у рыб из лотка №1 отмеченное соотношение увеличилось с 52,2 до 60,5, а в №2 с 50,8 до 52,6. В результате уровень данного показателя в контроле оказался на 15,0% выше, что указывает на наличие гемодинамических или функциональных сбоев работы почек [12,13]. Постоянным компонентом патогенеза функциональных нарушений или наличия патологии печени и почек является синдром эндогенной интоксикации, маркерами которого являются продукты изменённого обмена веществ, в частности при активации перекисного окисления липидов является малоновый диальдегид [14]. В начале опыта не было существенного межгруппового различия по содержанию данного показателя в крови, однако на заключительном этапе наблюдения в контроле его уровень оказался на 67,5% выше, чем у особей, получающих изучаемую кормовую добавку, что указывает на наличие у рыб из лотка №1 синдрома эндогенной интоксикации.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Результаты проведённых исследований показали, что сорбционно - метаболическая кормовая добавка, разработанная сотрудниками ФГБОУ ВО СПбГУВ и ООО «ЭкоГрупп» (Россия), не оказывает негативного влияния на организм рыб. Применение её в течение 60 дней радужной форели в период выращивания не только увеличила массу и размеры её тела, но повысила ростовой потенциал в периоды дальнейшего выращивания. Интенсификация технологий аквакультуры повышает функциональную нагрузку на организм рыбы с возникновением риска нарушения обмена веществ и развития патологии. Подобную ситуацию мы наблюдали у представителей из группы контроля, у которых возник синдром эндогенной интоксикации, появились ранние симптомы нарушения функций пече-

ни и почек. Введение в состав комбикорма сорбционно-метаболической кормовой добавки нивелировало возникновение указанных патофизиологических изменений. Таким образом, разработанная сорбционно - метаболическая кормовая добавка безвредная для рыб, оказывает положительное влияние на их рост и развитие, снижает риски метаболических нарушений и развития патологий. Все это даёт основание для применения данной кормовой добавки в аквакультуре.

PRODUCTION TESTING OF SORPTION FEED ADDITIVE FOR RAINBOW TROUT

Popova O.S. ^{1*} – Ph.D. of Veterinary Science, Associate Professor Pharmacology and Toxicology (ORCID 0000-0002-0650-0837); **Alekhin Yuri N.** ² – DSc in Veterinary sciences, Chief Researcher of the Experimental Therapy Department, (ORCID 0000-0003-0666-7722).

¹ FSBEI HE St.Petersburg SUVM

² All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy

* alef_z@mail.ru

ABSTRACT

Against the backdrop of intensification of aquaculture technologies, the severity of deterrent factors is increasing; among the most relevant in this issue, the quality of feed should be noted, the low level of which creates the risks of feed poisoning, metabolic disorders and the initiation of disease development. In the conditions of fish farms, research was carried out to study the safety and effectiveness of using a sorption-metabolic feed additive for fish, developed by employees of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education of St. Petersburg State University of Internal Affairs and EcoGroup LLC (Russia). The object of the study was rainbow trout, which during the growing period for 60 days received feed with the specified additive. Statistical processing of the results obtained using the Statistica 8.0 program included the

calculation of the arithmetic mean and its standard error ($M \pm m$), and the intergroup difference (p) was assessed using the student's t test. The results of the study showed that the developed feed additive does not have a negative effect on the fish body, and its use eliminates the occurrence of metabolic disorders and the development of liver and kidney pathologies, the risk of which increases with the intensification of aquaculture technology. Against the backdrop of giving a new feed additive, not only does the weight and body size of the fish increase, but its growth potential during periods of further cultivation increases. Thus, the developed sorption-metabolic feed additive is harmless to fish, has a positive effect on their growth and development, and reduces the risks of metabolic disorders and the development of pathologies. All this provides grounds for the use of this feed additive in aquaculture.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Скларов, В.Я. Состояние товарного рыбоводства в Южном федеральном округе / В.Я. Скларов // Труды Кубанского ГАУ. – 2012. – Вып. 4. – С. 86-89.
2. Кузов А. А., Фирсова А. В., Фирсова Н. В. И соавт. Эффективность применения новых рецептур продукционных форелевых комбикормов в сравнении с импортными аналогами / А. А. Кузов, А. В. Фирсова, Н. В. Фирсова, Е. Н. Широкова // Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации: Материалы VIII национальной научно-практической конференции с международным участием, Керчь, 04–06 октября 2023 года. – Саратов: Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, 2023. – С. 99-102.
3. Волошин Г.В. Состояние и перспективы развития рынка комбикормов для индустриальной аквакультуры в Российской Федерации / Г. В. Волошин, Е. Б. Акимов, Р. В. Артемов, В. В. Гершунская // Труды ВНИРО. 2022 г. Т. 190. С. 163-169
4. Кононенко, Г. П. Риски возникновения микотоксикозов рыб в условиях аквакультуры (обзор) / Г. П. Кононенко, Д. А. Онищенко, М. И. Устюжанина // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56, № 2. – С. 261-278
5. Чернышов Е.В. (2016). Использование сорбента в рационах рыбы. Сельскохозяйственный журнал, 1 (9), 240-243
6. Kosicki R. et al. Multiannual mycotoxin survey in feed materials and feedingstuffs // Animal Feed Science and Technology. – 2016. – Т. 215. – С. 165-180
7. Щербина М.А., Гамыгин Е.А. Кормление рыб в пресноводной аквакультуре. – М.: ВНИРО, 2006. – 364 с.
8. Методические указания по проведению гематологического обследования рыб. – Минсельхозпрод России, 02.02.99 г. № 13 -4-2-/1487. – 20 с.
9. Feng, X., Wen, Y., Peng, F.F. et al. Association between aminotransferase/alanine aminotransferase ratio and cardiovascular disease mortality in patients on peritoneal dialysis: a multi-center retrospective study. BMC Nephrol 21, 209 (2020).
10. Левицкая Е. С., Батюшин М.М. (2022). Канальцевый аппарат почек - научное и прикладное значение. Архив внутренней медицины, 12 (6 (68)), 405-421
11. Каюков И.Г., Галкина О.В., Тимшина Е.И., Зубина И.М., Михеева А.Ю., Бердичевский Г.М. Креатинин в современной оценке функционального состояния почек (Обзор литературы и собственные данные). Нефрология 2020;24(4):21-36. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-4-21-36
12. Albanna W, Weiss M, Veldeman M, Conzen C, Schmidt T, Blume C, Zayat R, Clusmann H, Stoppe C, Schubert GA. Urea-Creatinine Ratio (UCR) After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Association of Protein Catabolism with Complication Rate and Outcome. World Neurosurg. 2021 Jul;151: e961-e971. doi: 10.1016/j.wneu.2021.05.025. Epub 2021 May 18. PMID: 34020058
13. Traynor J, Mactier R, Geddes CC, Fox JG. How to measure renal function in clinical practice. BMJ. 2006 Oct 7;333 (7571):733-737.
14. Tsikas D. GC-MS and GC-MS/MS measurement of malondialdehyde (MDA) in clinical studies: Pre-analytical and clinical considerations. J Mass Spectrom Adv Clin Lab. 2023 Aug 5; 30:10-24. doi: 10.1016/j.jmsacl.2023.08.001. PMID: 37637438;

PMCID: PMC10458701.

REFERENCES

1. Sklyarov, V.Ya. The state of commercial fish farming in the Southern Federal District / V.Ya. Sklyarov // *Proceedings of the Kuban State Agrarian University*. – 2012. – Issue. 4. – pp. 86-89.
2. Kuzov A. A., Firsova A. V., Firsova N. V. et al. Efficiency of using new formulations of production trout feed in comparison with imported analogues / A. A. Kuzov, A. V. Firsova, N. V. Firsova, E. N. Shirokova // *State and ways of development of aquaculture in the Russian Federation: Materials of the VIII National scientific and practical conference with international participation, Kerch, October 04–06, 2023*. – Saratov: Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilova, 2023. – P. 99-102.
3. Voloshchin G.V. State and prospects for the development of the market of compound feed for industrial aquaculture in the Russian Federation / G. V. Voloshin, E. B. Akimov, R. V. Artemov, V. V. Gershunskaya // *Proceedings of VNIRO*. 2022 T. 190. P. 163-169
4. Kononenko, G. P. Risks of fish mycotoxicosis in aquaculture conditions (review) / G. P. Kononenko, D. A. Onishchenko, M. I. Ustyuzhanina // *Agricultural biology*. – 2021. – T. 56, No. 2. – P. 261-278
5. Chernyshov E.V. (2016). Use of sorbent in fish diets. *Agricultural Journal*, 1 (9), 240-243
6. Kosicki R. et al. Multiannual mycotoxin survey in feed materials and feedingstuffs // *Animal Feed Science and Technology*. – 2016. – T. 215. – P. 165-180
7. Shcherbina M.A., Gamygin E.A. Feeding fish in freshwater aquaculture. – M.: VNIRO, 2006. – 364 p.
8. Guidelines for conducting hematological examination of fish. - Ministry of Agriculture and Food of Russia, 02.02.99, No. 13-4-2-/1487. – 20 s.
9. Feng, X., Wen, Y., Peng, F.F. et al. Association between aminotransferase/alanine aminotransferase ratio and cardiovascular disease mortality in patients on peritoneal dialysis: a multi-center retrospective study. *BMC Nephrol* 21, 209 (2020).
10. Levitskaya E. S., Batyushin M. M. (2022). The tubular apparatus of the kidneys - scientific and applied significance. *Archives of Internal Medicine*, 12 (6 (68)), 405-421
11. Kayukov I.G., Galkina O.V., Timshina E.I., Zubina I.M., Mikhееva A.Yu., Berdichevsky G.M. Creatinine in modern assessment of the functional state of the kidneys (Literature review and own data). *Nephrology* 2020;24(4):21-36. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-4-21-36
12. Albanna W, Weiss M, Veldeman M, Conzen C, Schmidt T, Blume C, Zayat R, Clusmann H, Stoppe C, Schubert GA. Urea-Creatinine Ratio (UCR) After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Association of Protein Catabolism with Complication Rate and Outcome. *World Neurosurg*. 2021 Jul;151: e961-e971. doi: 10.1016/j.wneu.2021.05.025. Epub 2021 May 18. PMID: 34020058
13. Traynor J, Mactier R, Geddes CC, Fox JG. How to measure renal function in clinical practice. *BMJ*. 2006 Oct 7;333 (7571):733-737.
14. Tsikas D. GC-MS and GC-MS/MS measurement of malondialdehyde (MDA) in clinical studies: Pre-analytical and clinical considerations. *J Mass Spectrom Adv Clin Lab*. 2023 Aug 5; 30:10-24. doi: 10.1016/j.jmsacl.2023.08.001. PMID: 37637438; PMCID: PMC10458701.