

*Водные биоресурсы и среда обитания*  
2024, том 7, номер 1, с. 27–33  
<http://journal.azniirkh.ru>, [www.azniirkh.ru](http://www.azniirkh.ru)  
ISSN 2618-8147 print, ISSN 2619-1024 online



*Aquatic Bioresources & Environment*  
2024, vol. 7, no. 1, pp. 27–33  
<http://journal.azniirkh.ru>, [www.azniirkh.ru](http://www.azniirkh.ru)  
ISSN 2618-8147 print, ISSN 2619-1024 online

УДК 595.143.6

[https://doi.org/10.47921/2619-1024\\_2024\\_7\\_1\\_27](https://doi.org/10.47921/2619-1024_2024_7_1_27)

EDN: QWQAZW



## НОВЫЕ НАХОДКИ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ *HIRUDO VERBANA* (CARENA, 1820) В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ КАБАРДИНО-БАЛКАРИИ

Л. В. Черная<sup>1\*</sup>, Л. А. Ковальчук<sup>1</sup>, Д. К. Кожаева<sup>2</sup>,  
Д. В. Жантеголов<sup>2</sup>, Н. В. Микшевич<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук  
(ИЭРЖ УрО РАН), Екатеринбург 620144, Россия

<sup>2</sup>Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В.М. Кокова (КБГАУ),  
Нальчик 360030, Россия

<sup>3</sup>Уральский государственный педагогический университет (УрГПУ), Екатеринбург 620091, Россия

\*E-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru

### Аннотация

**Введение.** Медицинские пиявки в России являются традиционным водным биоресурсом и официально используются в практической медицине, фармакологии и косметологии. Однако в последние десятилетия ареал и численность этих ценных гидробионтов на территории России существенно сократились. **Актуальность.** Изучение современного географического ареала ресурсных видов пиявок имеет практическое значение, поскольку технология их искусственного разведения, применяемая в настоящее время на биофабриках, требует постоянного обновления маточного стада и изъятия половозрелых особей из природных популяций. **Целью** данной работы стало выявление современных мест обитания медицинских пиявок в водных экосистемах Кабардино-Балкарской Республики. **Методы.** Исследования проводили в последнюю декаду августа 2021 г. в дневное время, в литоральной части водных объектов равнинной и предгорной зон Кабардино-Балкарии. Пиявок вылавливали сачком, а также собирали руками со всех близлежащих предметов. Видовую принадлежность пиявок определяли по систематическим ключам в соответствии с современной классификацией. **Результаты.** Представлены новые данные о распространении ресурсного вида медицинских пиявок *Hirudo verbana* (Carena, 1820) в водных экосистемах Кабардино-Балкарии. Места обитания природных популяций пиявок обнаружены в оз. Трек и р. Дея. **Выводы.** Присутствие медицинской пиявки *H. verbana* в исследуемых водных объектах свидетельствует об их экологическом благополучии. Результаты исследования позволяют расширить представление о современном ареале этого ресурсного вида гидробионтов.

**Ключевые слова:** ареал, водные экосистемы Кабардино-Балкарии, медицинские пиявки, ресурсный вид

## NEW FINDINGS OF MEDICINAL LEECH *HIRUDO VERBANA* (CARENA, 1820) IN THE AQUATIC ECOSYSTEMS OF KABARDINO-BALKARIA

L. V. Chernaya<sup>1\*</sup>, L. A. Kovalchuk<sup>1</sup>, D. K. Kozhaeva<sup>2</sup>,  
D. V. Zhantegolov<sup>2</sup>, N. V. Mikshevich<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IPAE UB RAS), Yekaterinburg 620144, Russia*

<sup>2</sup>*Kabardino-Balkarian State Agrarian University named after V.M. Kokov (KBSAU), Nalchik 360030, Russia*

<sup>3</sup>*Ural State Pedagogical University (USPU), Yekaterinburg 620091, Russia*

\*E-mail: kovalchuk@ipae.uran.ru

### Abstract

**Background.** Medicinal leeches are a traditional aquatic biological resource in Russia, officially used in practical medicine, pharmacology and cosmetology. However, in recent decades, the distribution range and abundance of these valuable aquatic organisms on the Russian territory have decreased considerably. **Relevance.** The study of the present geographical range of this exploitable leech species is of practical importance, since the modern technology of their controlled breeding at biological production facilities requires constant replenishment of the broodstock and procurement of mature individuals from natural populations. This work is *aimed* at the identification of the current habitats of medicinal leeches in the aquatic ecosystems of the Kabardino-Balkarian Republic. **Methods.** This research was carried out in the last ten days of August 2021 in the daytime, in the littoral part of the water bodies of the plain and foothill zones of Kabardino-Balkaria. Leeches were caught with a handheld net, as well as collected manually from the objects in the immediate surroundings. The species of the caught leeches were determined using taxonomic keys in accordance with the modern classification. **Results.** New data on the distribution of the exploitable species of medicinal leeches *Hirudo verbana* (Carena, 1820) in the aquatic ecosystems of Kabardino-Balkaria are presented. Habitats of natural populations of this leech species were found in the Trek Lake and Deya River. **Conclusion.** The presence of the medicinal leech *H. verbana* in the investigated water bodies indicates their good ecological state. The results of this study make it possible to expand our understanding of the present distribution range of this exploitable species of aquatic organisms. **Keywords:** distribution range, aquatic ecosystems of Kabardino-Balkaria, medicinal leeches, exploitable species

### ВВЕДЕНИЕ

Медицинские пиявки (МП), благодаря уникальным целебным свойствам, являются традиционным водным биоресурсом России и в настоящее время официально используются не только в практической медицине, но и в качестве натурального источника лекарственных препаратов, косметических средств и пищевых биодобавок [1–3]. Изучение современного географического ареала МП имеет прежде всего практическое значение, поскольку для их эффективного воспроизводства в гирудокультуре необходимо регулярное обновление генофонда маточного стада за счет изъятия половозрелых особей из природных популяций [2, 4, 5]. В водных экосистемах России обитают два ресурсных вида медицинских пиявок: лечебная, или европейская, *Hirudo medicinalis* Linnaeus, 1758 и аптечная, или средиземноморская, *Hirudo verbana* Carena, 1820, имеющие природоохранный

статус на значительной территории естественных ареалов [2, 6]. Медицинские пиявки широко распространены в южных регионах России, будучи особенно многочисленными в Краснодарском и Ставропольском краях и на Северном Кавказе [1, 7, 8]. Однако в последние десятилетия ареал МП и их численность на территории России существенно сократились, что главным образом связано с хищническим выловом этих ценных гидробионтов на фоне новой волны «пиявочного бума».

Последние данные о находках медицинских пиявок (*H. medicinalis*) в водоемах Кабардино-Балкарии (староречье р. Малка, окрестности г. Прохладный) опубликованы исследователями А.М. Хатуховым, А.В. Якимовым, Е.А. Брагуновой более 20 лет назад [9]. Цель наших фаунистических исследований — выявление современных мест обитания медицинских пиявок в водных экосистемах Кабардино-Балкарской Республики.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск мест обитания медицинских пиявок осуществляли в рамках экспедиционных работ по инвентаризации фауны пиявок Северного Кавказа. Исследования проводили в последнюю декаду августа 2021 г. в дневное время, в литоральной части водных объектов равнинной и предгорной зон Кабардино-Балкарии. Предпочтение отдавалось биотопам, отвечающим требованиям МП к среде: чистая и насыщенная кислородом вода с достаточной прогреваемостью; наличие земноводных и посещение водоема млекопитающими; удобная для откладки коконов прибрежная полоса [1]. Для отлова пиявок использовали стандартный ударный способ их привлечения [6]. Производилось пять сильных ударов по воде 1-метровой палкой с интервалом в две секунды. Затем привлеченных пиявок вылавливали сачком, а также собирали руками со всех предметов, находящихся вблизи. Отловленных особей помещали в пластиковые сосуды объемом 1,5 л, заполненные нативной водой наполовину, и транспортировали в лабораторию в термоконтейнере. Массу тела пиявок определяли с точностью до 0,01 г на электронных весах Shimadzu (Япония); анализ морфологических признаков проводили с использованием бинокулярного микроскопа «МБС-10» (Россия). Видовую принадлежность определяли по систематическим ключам в соответствии с современной классификацией [10].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате полевых исследований медицинские пиявки обнаружены в двух водных объектах Кабардино-Балкарии: в оз. Трек (г. Нальчик; N 43.463914°; E 43.593909°) в количестве 34 экземпляров и в р. Дея (окрестности г. Терек; N 43.48333°; E 44.13889°) — 23 экземпляров (рисунок). Анализ морфологических признаков показал, что все отловленные особи относятся к виду *Hirudo verbana* Carena 1820 (аптечная пиявка), род *Hirudo* L., 1758, семейство Hirudinidae Whitman, 1886 (челюстные), отряд Arhynchobdellida Blanchard, 1894 (бесхоботные). Средняя масса тела пиявок, отловленных в оз. Трек, составила  $2,30 \pm 0,41$  г, в р. Дея —  $1,83 \pm 0,24$  г.

Озеро Трек расположено в курортной зоне г. Нальчик и имеет искусственное происхождение. Водоем был создан 110 лет назад в русле р. Наль-

чик (бассейн р. Терек) и много лет использовался как водохранилище. В настоящее время оз. Трек утратило свое первоначальное гидротехническое назначение и является рекреационным объектом, где запрещено использование моторных лодок и купание, но доступ к воде открыт. Река Дея берет свое начало к северу от села Плановское в виде родникового ручья и протекает по западной части Терского района, является водохозяйственным участком р. Терек от впадения р. Урсдон до впадения р. Урух. В настоящее время большая часть естественного русла реки превращена в канал [11]. При поиске и отлове медицинских пиявок в обоих водных объектах авторами отмечены представители бентосной фауны (пиявки, моллюски, ручейники, личинки насекомых), пресноводных рыб, земноводных (озерная лягушка) и пресмыкающихся (болотная черепаха), а также обилие макрофитов.

*Краткое описание вида.* Представители вида *H. verbana* — пиявки больших размеров. Тело длиной до 10 см, с обоих концов заканчивается присосками, сильно уплощенное, однако после насыщения кровью становится более округлым. Глаз пять пар, размещенных по краю головного конца. Челюстей три, их края снабжены одним рядом многочисленных острых зубчиков (до 100). На спине четко обозначены оранжевые полосы с перетяжками; брюхо оливковое, с двумя широкими черными полосами в виде краевой каймы и, в отличие от лечебной пиявки *H. medicinalis*, без темных пятен [1, 10]. Как и все представители челюстных пиявок, *H. verbana* хорошо плавает, совершает дыхательные движения и часто прибегает к «ходьбе».

Специалисты-гирудологи отмечают, что пиявка *H. verbana*, являясь амфибионтом, заселяет преимущественно небольшие водоемы и водотоки с медленным течением, избегает горных рек и крупных водоемов [1, 2, 8, 12]. Вместе с тем ее распространение спорадично даже в тех местах, где климатические условия вполне благоприятны. Ввиду теплолюбивости *H. verbana*, для нее довольно опасно промерзание грунта, в связи с чем она не встречается в пересыхающих водоемах и в северных широтах [1].

Важнейшими абиотическими факторами, влияющими на географическое распространение *H. verbana*, ее физиологические особенности и приуроченность к определенному типу водоема, являются температура (18–24 °C) и кислородный



Картограмма мест обнаружения медицинской пиявки *H. verbana* в водных экосистемах  
Кабардино-Балкарии: 1 — оз. Трек, 2 — р. Дея  
Outline map of places where the medicinal leech *H. verbana* was found in the aquatic ecosystems  
of Kabardino-Balkaria: 1 — Trek Lake, 2 — Deya River

режим (6–7 мг/л). Значимый антропогенный фактор, оказывающий негативное влияние на численность и распространение *H. verbana*, — осушение основных мест обитания (пастбищные заболоченные луга), что приводит к снижению плотности популяций земноводных, являющихся приоритетным источником питания для молоди пиявок [6, 12]. Наиболее сильный антропогенный фактор, лимитирующий численность *H. verbana*, — техногенное загрязнение пресноводных экосистем, приобретающее глобальный характер. В силу высокой чувствительности медицинских пиявок к экотоксикантам их используют в качестве биоиндикатора чистоты воды [1, 2, 7].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые сведения по распространению медицинской пиявки *H. verbana* в водных экосистемах равнинной и предгорной зон Кабардино-Балкарии позволяют расширить представления о современном ареале этого ресурсного вида гидробионтов. Поскольку медицинские пиявки являются надежным биомаркером чистоты воды, присутствие *H. verbana* и ее достаточно высокая численность в оз. Трек и р. Дея свидетельствуют об экологическом благополучии этих водных объектов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания Института экологии растений и животных УрО РАН (№ 122021000091-2).

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work has been carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of the state assignment of the Institute of Plant and Animal Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (No. 122021000091-2).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лукин Е.И. Пиявки. Т. 1. Пиявки пресных и солоноватых водоемов. Л.: Наука, 1976. 484 с.
2. Каменев О.Ю. Ресурсы медицинской пиявки (*Hirudo medicinalis* L.) в акваториях Западного Предкавказья и их рациональное использование : автореф. дис. канд. биол. наук. Краснодар: Изд-во Кубанского государственного аграрного университета, 2007. 24 с.
3. Ефимова А.О. Фармакологические свойства экстракта *Hirudo medicinalis*, мази и геля на его основе при кожном применении: экспериментальное исследование : автореф. дис. канд. мед. наук. Волгоград: Изд-во Волгоградского государственного медицинского университета, 2020. 26 с.
4. Ковальчук Л.А., Черная Л.В., Микшевич Н.В. Возрастная динамика свободных аминокислот в тканях медицинской пиявки (*Hirudo verbana* Carena, 1820) при искусственном воспроизводстве в аквакультуре. *Сельскохозяйственная биология*. 2021. Т. 56, вып. 2: 335–346. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2021.2.335rus>.
5. Ceylan M. Effects of maternal age on reproductive performance of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820. *Animal Reproduction Science*. 2020. Vol. 218: e106507. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106507>.
6. Федорова Л.И. Редкие и уязвимые виды пиявок России. *Астраханский вестник экологического образования*. 2021. № 4 (64): 186–194. <https://doi.org/10.36698/2304-5957-2021-4-186-194>.
7. Черная Л.В., Ковальчук Л.А., Микшевич Н.В. Географическая вариабельность содержания тяжелых металлов в тканях медицинских пиявок (*Hirudo medicinalis*, *Hirudo verbana*) и в донных отложениях из мест их обитания. *Nature Conservation Research. Заповедная наука*. 2019. Т. 4, № 3: 67–77. <https://doi.org/10.24189/ncr.2019.051>.

8. Шаповалов М.И., Моторин А.А., Тхабисимова А.У. Пиявки (Hirudinea) в условиях антропогенной трансформации водных экосистем Северо-Западного Кавказа. *Вода: химия и экология*. 2012. № 4: 61–67.
9. Хатухов А.М., Якимов А.В., Барагунова Е.А. Пиявки Кабардино-Балкарии : метод. указания к изучению спецкурса «Фауна КБР». Нальчик: Изд-во Кабардино-Балкарского государственного университета, 2001. 23 с.
10. Neseemann H., Neubert E. Annelida, Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellea, Hirudinea. Heidelberg: Spectrum Akademischer Verlag, 1999. 178 p.
11. Беднарук С.Е., Мотовилов Ю.Г., Матрюкова А.В., Вишневская И.А., Морейдо В.М., Бородин О.О., Мотовилова М.С., Магин Е.Б., Агишева О.Н., Валькова В.В. Гидрографическое районирование территории Российской Федерации. Кн. 1. М.: НИИ-Природа, 2008. 541 с.
12. Marrone F., Canale D.E. Occurrence, distribution and bibliography of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820 (Hirudinea, Hirudinidae) in Sicily (Italy). *Biogeographia — The Journal of Integrative Biogeography*. 2019. Vol. 34, no. 1: 33–38. <https://doi.org/10.21426/B634143807>.

## REFERENCES

1. Lukin E.I. Piyavki. T. 1. Piyavki presnykh i solonovatykh vodoemov [Leeches. Vol. 1. Leeches of fresh and brackish water bodies]. Leningrad: Nauka [Science], 1976. 484 p. (In Russian).
2. Kamenev O.Yu. Resursy meditsinskoj piyavki (*Hirudo medicinalis* L.) v akvatoriyakh Zapadnogo Predkavkaz'ya i ikh ratsional'noe ispol'zovanie : avtoref. dis. kand. biol. nauk [Resources of the medicinal leech (*Hirudo medicinalis* L.) in the waters of Western Ciscaucasia and their rational use. Extended abstract of Candidate's (Biology) Thesis]. Krasnodar: Kubanskiy gosudarstvennyy agrarnyy universitet [Kuban State Agrarian University] Publ., 2007. 24 p. (In Russian).
3. Efimova A.O. Farmakologicheskie svoystva ekstrakta *Hirudo medicinalis*, mazi i gelya na ego osnove pri nakozhnom primenenii: eksperimental'noe issledovanie : avtoref. dis. kand. med. nauk [Pharmacological properties of *Hirudo medicinalis* extract, ointment and gel based on it for cutaneous use: experimental study. Extended abstract of Candidate's (Medicine) Thesis]. Volgograd: Volgogradskiy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet [Volgograd State Medical University] Publ., 2020. 26 p. (In Russian).
4. Kovalchuk L.A., Chernaya L.V., Mikshevich N.V. Age dynamics of free amino acids in the tissues of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820

- under artificial reproduction in aquaculture. *Agricultural Biology*. 2021. Vol. 56, issue 2: 335–346. <https://doi.org/agrobiology.2021.2.335eng>.
5. Ceylan M. Effects of maternal age on reproductive performance of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820. *Animal Reproduction Science*. 2020. Vol. 218: e106507. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106507>.
  6. Fedorova L.I. Redkie i uyazvimye vidy piyavok Rossii [Rare and vulnerable species of leeches in Russia]. *Astrakhanskiy vestnik ekologicheskogo obrazovaniya* [Astrakhan Bulletin of Ecological Education]. 2021. No. 4 (64): 186–194. <https://doi.org/10.36698/2304-5957-2021-4-186-194>. (In Russian).
  7. Chernaya L.V., Kovalchuk L.A., Mikshevich N.V. Geograficheskaya variabel'nost' soderzhaniya tyazhelykh metallov v tkanyakh meditsinskikh piyavok (*Hirudo medicinalis*, *Hirudo verbana*) i v donnykh otlozheniyakh iz mest ikh obitaniya [Geographical variability of heavy metal concentrations in tissues of medical leeches (*Hirudo medicinalis*, *Hirudo verbana*) and in bottom deposit]. *Nature Conservation Research. Zapovednaya nauka* [Nature Conservation Research. Reserve Science]. 2019. Vol. 4, no. 3: 67–77. <https://doi.org/10.24189/ncr.2019.051>. (In Russian).
  8. Shapovalov M.I., Motorin A.A., Tkhabisimova A.U. Piyavki (Hirudinea) v usloviyakh antropogennykh transformatsii vodnykh ekosistem Severo-Zapadnogo Kavkaza [Hirudinea in the anthropogenic transformation of water ecosystems of North West Caucasus]. *Voda: khimiya i ekologiya* [Water: Chemistry and Ecology]. 2012. No. 4: 61–67. (In Russian).
  9. Khatukhov A.M., Yakimov A.V., Baragunova E.A. Piyavki Kabardino-Balkarii : metodicheskie ukazaniya k izucheniyu spetskursa "Fauna KBR" [Leeches of Kabardino-Balkaria. Methodological guidelines to the special education course "Fauna of the Kabardino-Balkarian Republic"]. Nalchik: Kabardino-Balkarskiy gosudarstvennyy universitet [Kabardino-Balkarian State University] Publ., 2001. 23 p. (In Russian).
  10. Neesemann H., Neubert E. Annelida, Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellea, Hirudinea. Heidelberg: Spectrum Akademischer Verlag, 1999. 178 p.
  11. Bednaruk S.E., Motovilov Yu.G., Mastryukova A.V., Vishnevskaya I.A., Moreydo V.M., Borodin O.O., Motovilova M.S., Magin E.B., Agisheva O.N., Valkova V.V. Gidrograficheskoe rayonirovanie territorii Rossiyskoy Federatsii. Kniga 1 [Hydrographic zoning of the territory of the Russian Federation. Book 1]. Moscow: NIA-Priroda [National Information Agency "Natural Resources"], 2008. 541 p. (In Russian).
  12. Marrone F., Canale D.E. Occurrence, distribution and bibliography of the medicinal leech *Hirudo verbana* Carena, 1820 (Hirudinea, Hirudinidae) in Sicily (Italy). *Biogeographia — The Journal of Integrative Biogeography*. 2019. Vol. 34, no. 1: 33–38. <https://doi.org/10.21426/B634143807>.

**Для цитирования:** Черная Л.В., Ковальчук Л.А., Кожаева Д.К., Жантеголов Д.В., Микшевич Н.В. Новые находки медицинской пиявки *Hirudo verbana* (Carena, 1820) в водных экосистемах Кабардино-Балкарии. Водные биоресурсы и среда обитания. 2024. Т. 7, № 1: 27–33.

#### Об авторах:

**Черная Людмила Владимировна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБНУ «Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук» (620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202), ORCID 0000-0002-3386-9824, [chernaya\\_lv@mail.ru](mailto:chernaya_lv@mail.ru)

**Ковальчук Людмила Ахметовна**, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник ФГБНУ «Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук» (620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202), ORCID 0000-0003-0467-1461, [kovalchuk@ipae.uran.ru](mailto:kovalchuk@ipae.uran.ru)

**Кожаева Джульетта Каральбиевна**, доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В.М. Кокова» (360030, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, проспект Ленина, 1в), [kozhaeva-52@mail.ru](mailto:kozhaeva-52@mail.ru)

**Жантеголов Джамбулат Владикович**, соискатель ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В.М. Кокова» (360030, Кабардино-Балкарская Республика, г. Нальчик, проспект Ленина, 1в), [volk-07007@mail.ru](mailto:volk-07007@mail.ru)

**Микшевич Николай Владиславович**, кандидат химических наук, доцент ФГБОУ ВО «Уральский государственный педагогический университет» (620017, г. Екатеринбург, проспект Космонавтов, 26), ORCID 0000-0003-2388-4278, [mikshevich@gmail.com](mailto:mikshevich@gmail.com)

**Поступила в редакцию** 26.10.2023

**Поступила после рецензии** 14.12.2023

**Принята к публикации** 17.12.2023

*Конфликт интересов*

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант.*

**Received** 26.10.2023

**Revised** 14.12.2023

**Accepted** 17.12.2023

*Conflict of interest statement*

The authors do not have any conflict of interest.

*All authors have read and approved the final manuscript.*