

基于规则的关键点提取用于 MR 引导的脊柱生物力学数字孪生

Robert Graf^{1,2}[0000-0001-6656-3680], Tanja Lerchl¹[0000-0002-7888-3830], Kati Nispel¹[0000-0002-3833-5696], Hendrik Möller^{1,2}[0009-0001-1978-5894], Matan Atad^{1,2}[0000-0001-6952-517X], Julian McGinnis^{2,4}[0009-0000-2224-7600], Julius Maria Watrinet³[0000-0003-0578-4142], Johannes Paetzold⁵[0000-0002-4844-6955], Daniel Rueckert^{2,6}[0000-0002-5683-5889], and Jan S. Kirschke¹[0000-0002-7557-0003]

¹ Department of Diagnostic and Interventional Neuroradiology, School of Medicine, TUM University Hospital, Technical University of Munich, München, Germany

² Institut für KI und Informatik in der Medizin, TUM University Hospital, Technical University of Munich, München, Germany

³ Sports Orthopedics Department, Klinikum Rechts der Isar, Technical University of Munich, München, Germany

⁴ Department of Neurology, School of Medicine, Technical University of Munich, Munich, Germany

⁵ Department of Radiology, Weill Cornell Medicine, New York, USA

⁶ Department of Computing, Imperial College London, London, UK

摘要 数字孪生为特定对象的模拟和临床决策支持提供了一个强大的框架，然而它们的发展往往依赖于准确、个性化的解剖建模。在这项工作中，我们提出了一种基于规则的方法，从 MRI 中提取亚像素精度的关键点，该方法改编自先前基于 CT 的方法。我们的方法结合了稳健的图像配准和椎体特定方向估计，以生成具有解剖意义的地标，这些地标作为边界条件和力应用点，如生物力学模型中的肌肉和韧带附着点。这些模型使模拟脊柱力学成为可能，考虑到了个体的独特解剖结构，从而支持了临床诊断和治疗计划中个性化方法的发展。通过利用 MR 成像，我们的方法是无辐射的，并且适合大规模研究以及在代表性不足的人群中使用。这项工作通过弥合精确医学图像分析与生物力学模拟之间的差距，为数字孪生生态系统做出了贡献，并符合医疗保健领域个性化建模的关键主题。

Keywords: MRI 脊柱地标提取 · 生物力学建模 · 特定个体的

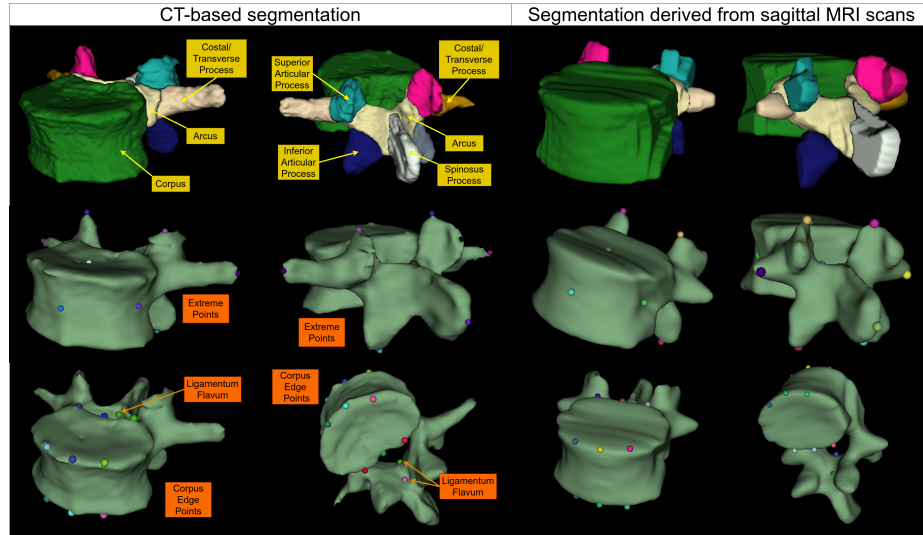


图 1. 两个腰椎的例子。左侧例子来自 1 毫米等向性 CT，右侧来自矢状面 MRI，其在左右方向上的分辨率为 3.3 毫米。顶部一行：用于分析的椎体亚区域。中间一行：极值点。底部一行：椎体边缘和黄韧带点。

1 介绍

生物力学建模在理解人体脊柱的机械行为和研究肌肉骨骼疾病方面起着关键作用。有限元方法（FEM）通常用于评估局部组织应力和变形，支持对椎间盘（IVD）退化、脊柱侧弯和植入物优化的研究 [1,5,4,16]。另一方面，多体系统（MBSs）捕捉像椎骨这样的刚性部分的运动学和动力学，并被用来模拟脊柱姿势、关节负载和肌肉骨骼运动 [3,14,20]。对于 MBSs 的一个核心要求是准确识别骨头上的兴趣点（POIs），这些点定义了关节轴、力的作用位置以及坐标系 [10,13]。Lerchl 等人 [13] 引入了一个基于规则的框架，从 CT 扫描中提取这样的 POIs，实现了韧带和肌肉附着部位的体素精度。这使得能够进行个性化的脊柱力学建模。然而，基于 CT 的建模在确定像 IVD 这样的软组织方面是有限的。为了解决这个问题，我们适应并扩展了这种方法以用于 MRI，后者提供了更好的软组织对比度，但由于其矢状 T2 加权序列中的低分辨率和各向异性的体素，传统像素基算法的可靠性较低。此外，现有的方法通常假设椎骨与图像轴对齐，在患有脊柱畸形如脊柱侧弯的患者中这是一个有问题的假设。我们通过直接从图像计算椎骨的方向来克服这一点，使即使在旋转或错位的扫描中也能进行稳健建模。为了促进可重复性和

进一步研究,我们将实现作为开源脚本发布,这促进了基于 MRI 的 MBM 工作流程,并将生物力学数字孪生应用扩展到了需要软组织表征的重要场景。

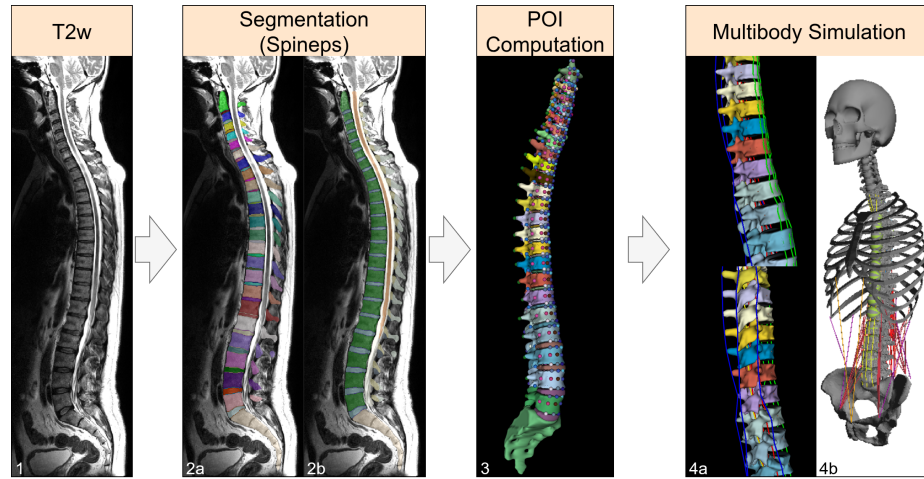


图 2. 完整的生成多体模型的流程来自 MR 成像。采用基于机器学习的自动全身脊柱分割管道 Spineps 对矢状 T2 加权 MRI (1) 进行分割,实现椎骨和椎间盘逐层分割 (2a) 以及各自的子区域 (2b)。根据这些分割掩码,计算出兴趣点 (POIs) (3),以在后续躯干多体模型中定义韧带 (4a) 和其他区域的脊肌附着点 (4b)。

基于我们直接从图像数据中估计椎体方向的方法,我们将工作置于更广泛的解剖标志检测领域之中。传统上,POI 预测集中在骨骼标志物上,例如头部 [12,17,19] 或下肢 [6,7] 的标志物。多阶段预测网络通常用于在连续处理步骤中细化这些估计值。已经开发出几种方法来估计椎体方向、解剖线或离散标志物。例如, Galbusera 等人 [8] 使用基于 ResNet 的回归模型直接从矢状位放射图像中估计三维椎体轴向,超过 86% 的情况下角度误差低于 3° 。更近期的图策略,如 Burgin 等人的工作 [2],使用 U-Net 检测棘突和椎体主体标志物,然后通过图神经网络处理以推断椎体姿态和点间关系。其他研究则专注于基于线的表示; Zhang 等人 [21] 提出了一种双坐标模型,从稀疏地标输入中重建椎体线条,提高了对解剖变异和部分可见性的鲁棒性。在手术规划背景下, Zhang 等人 [22] 引入了一个受 YOLO 启发的网络,该网络联合回归椎体平移和作为四元数的方向,实现了大约 2.55° 的角度误差。最后,像 Khanal 等人的基于标志点的方法。[11] 使用椎体角点回归来估计椎体倾斜角度,这在脊柱侧弯分析中尤为重要。然而,尽管取得了这些进展,目前仍

然没有公开可用的椎体方向估计基准，大多数当前方法严重依赖于劳动密集型的手动注释。

总结来说，我们提供了一个基于 MRI 的椎体方位和兴趣点提取的开源框架，这使得在存在软组织和解剖变异的情况下能够进行更准确的多刚体脊柱建模。通过放松对齐假设并直接从图像数据中集成椎体姿态估计，我们的方法扩展了肌肉骨骼模拟的应用范围，特别是在脊柱畸形病例中。

2 方法

我们采用了 Lerchl 等人开发的兴趣点 (POI) 生成代码 [13] 并评估了所需的修改以使其适用于 MRI。该方法仅对分割操作，并且独立于成像模式。只有分割的质量和分辨率会影响算法。它依赖于详细的椎体亚结构分割，包括解剖子区域的分离：椎体、弓状突、棘突、肋骨突（左/右）、上关节突（左/右）和下关节突（左/右）。为此，我们利用了开源分割模型 SPINEPS[9,15]，该模型能够从矢状 T2 加权 MRI 生成这种精细的分割。然而，临床矢状 T2w 扫描通常在左右方向上存在低平面分辨率（3-4 毫米），这是由于采集时间和脊柱解剖范围等实际限制。当应用 Lerchl 等人的原始基于像素的方法 [13] 时，在这些条件下我们观察到了显著的不准确性。此外，该方法假设椎体与体积的左右轴对齐——这一条件在涉及脊柱畸形如脊柱侧弯的情况下可能无法成立。为了提高鲁棒性和解剖准确性，我们引入了一种算法来估计每个椎骨的局部方向，将地标计算从体素间距和方向中分离出来。这种方法用亚像素准确的几何逻辑替换了基于体素的假设，使 POI 定义在不同的扫描方位和分辨率下保持一致。我们在 Python 包 TPTBox 中发布了完整实现，包括重新计算不同坐标系（例如不同的体素间距、ITK 世界空间或 NIfTI 世界空间）下的 POI 的工具，以支持可重复性和集成到更广泛的流程中。

2.1 椎骨方向

原始实现使用图像的基方向（左右和前后）作为椎体方位的代理。虽然这一假设对大多数健康脊柱有效，但在紧急情况、患者无法保持标准姿势或存在脊柱畸形如侧弯的情况下可能会失效。我们保留了计算上下方向的原始方法：通过椎体质心拟合一条样条曲线，该样条曲线的一阶导数定义局部上下方向。这种方法避免了假设椎体为长方体或终板平坦且平行所引入的误差。

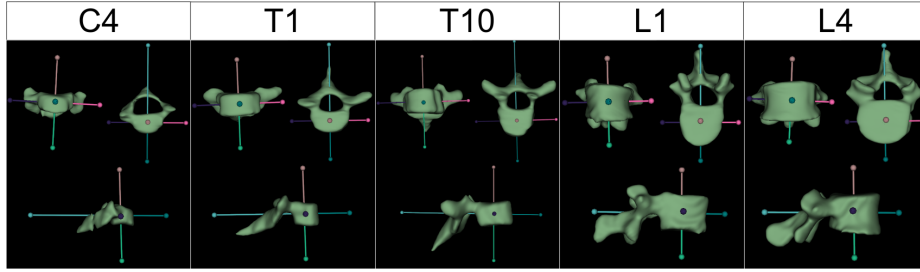


图 3. 前视图、顶视图和右侧视图的随机选择椎骨，使用计算出的局部坐标系叠加显示为方向须状物。顶部/底部（头尾）轴是通过它们的质量中心使用样条线定义相对于相邻椎体的。由于棘突和椎弓等结构的解剖不对称性，确定前后方向可能会具有挑战性。特别是此处所示的 L4 椎骨表现出显著的不对称性，这导致计算出的前后方向与视觉上预期的解剖后方相比有轻微旋转。

为了计算第二个解剖方向，我们提取棘突和椎弓的掩模。这些结构被投影到一个与上下方向垂直的平面上。然后计算投影掩模的几何中心，并且连接计算出的中心与椎体质心的向量定义了第二个方向。这两个向量定义了一个平面，我们重新计算前后矢量使其与上下矢量正交。第三个方向是通过第一个（上下）和第二个（前后）方向的叉积获得的，从而形成了一个局部椎体直角坐标系。

2.2 光线投射

所有椎体突起的端点现在是通过从每个相应子区域的质量中心进行光线投射计算得出的，使用了之前计算出的局部椎体坐标系。上关节突和下关节突沿上下轴（分别对应向上和向下方向）定义。对于横突，光线投射的方向由向量给出。

$$\mathbf{a} = 0.5 \cdot \mathbf{l} + 0.5 \cdot \mathbf{p},$$

其中 $\mathbf{l}$ 是横向（左/右）方向， $\mathbf{p}$ 是后向（向后）方向。对于棘突，光线投射的方向被定义为

$$\mathbf{a} = \mathbf{d} + 0.2 \cdot \mathbf{p},$$

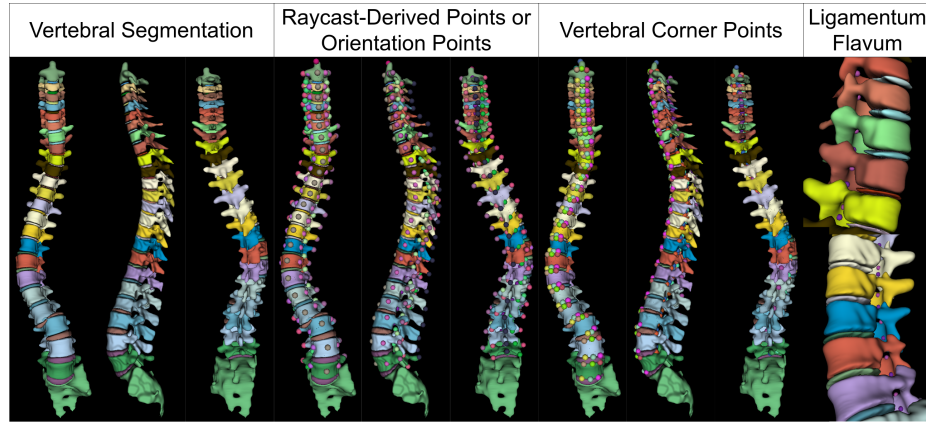


图 4. 脊柱侧弯患者先前未见的矢状 T2 加权 MRI 扫描中椎体标志点提取的可视化。前三个面板展示了带有各点的椎体分割，每个点都有正面、左侧和背面视图。从左到右：仅分割，基于光线投射计算出的点，以及角落标志点。这些突出显示了该方法在脊柱曲度和较低平面分辨率下的鲁棒性。最后一个面板提供了脊髓管的放大轴向视图，重点是黄色韧带标志点，尽管解剖结构存在变异，但它们准确地位于后椎弓上。

其中 $\mathbf{d}$ 是下方（向下）方向， $\mathbf{p}$ 再次是后方方向。这些方向向量是根据经验选择的，以最好地匹配观察到的解剖轨迹，并确保在受试者间变异的情况下依然能够实现鲁棒的点定位。

通过从椎体质心沿局部椎体坐标系的相应方向向量进行光线投射，在六个主方向中的每一个方向上为椎体赋一个表面点。

2.3 椎体角落带有亚体素二分法

在原始方法中，通过选择穿过椎体质心的矢状面来提取椎体角点。应用 Sobel 滤波器检测边缘候选点，并在椎体周围绘制一个与图像对齐的 2D 边界框。然后选择最接近该边界框角落的候选点作为角地标。计算额外的中间边缘点并将其投影到椎体表面。

在我们更新的方法中，我们之前通过光线投射计算了椎体的中心点（第 2.2 节）。为了计算椎体角点，我们在质心处初始化并沿局部上下和前后方向向量进行二维二分搜索。该搜索迭代地朝每个方向逐步向外推进，并在离开分割边界时反复将步长减半，直到达到预定义的精度阈值。我们对测试坐标进行插值处理，以允许实现亚体素精确地标定位，从而对抗解剖结构变化具有鲁棒性。

我们计算了两个额外的解剖标志，对应于黄韧带，位于与椎体角落相同的轴向平面，但位置在椎弓的前表面上。采用同样的二维平分策略，从弧形的质心开始，并将搜索域限定在弧形的分割掩码内而不是椎体。

2.4 移位点

椎体的角部和主要方向地标也通过局部椎体坐标系的左、右方向上的偏移量进行计算。这些地标由前纵韧带与椎体连接的位置所决定。为了提高解剖学准确性，尤其是在上胸椎和颈椎区域，我们改进了原有的启发式方法。之前，横向位移被定义为上下关节突质心之间距离的三分之一。我们现在使用一个依赖于椎体的因素来调整这一位移。

$$f = \frac{12 - v_{id}}{11} + 1 \quad \text{for } v_{id} \leq 11,$$

其中 v_{id} 是从上往下数的椎体索引，C1 被指定为 1。这种缩放考虑了与颈部和上胸区域后部结构相比，椎体更强的收缩。

3 实验与结果

3.1 椎骨方位

为了评估我们的新旋转估计方法，我们从 VerSe2020 挑战数据集中随机选择了 90 个椎骨（来自 20 名受试者；11 名女性）[18]。我们手动测量了估计和真实后方方向之间的角度偏差。我们报告平均角度偏差值以度为单位 ($^\circ$)，并提供结果低于两个阈值的比例：一个表示优秀的结果，另一个表示灾难性的失败。在定性检查中， $\leq 3^\circ$ 的旋转偏差很少能被注意到，因此我们将此作为“优秀”方向估计的实际阈值。相反，超过 10° 的偏差被认为“灾难性的”。表 1 中的比较突出显示了每种方法满足这些标准的频率。

原始实现中并未包含方向估计。因此，我们试验了几种策略，从自动提取的子区域的三维质心 (CMS) 导出椎体坐标系。由于明显的结构不对称性和个体间解剖学变异，所有后部结构的简单三维质心产生了平均偏离 $5.78 \pm 10.03^\circ$ 的前后方向，并且在 9% 的情况下超过了 10° (8/90)。这种失效模式几乎仅发生在颈椎水平，其中后部元素明显偏斜。将质心限制到弓和棘突部分缓解了这个问题 ($2.87 \pm 6.84^\circ$ ，只有 1/90 个案例 $> 10^\circ$)，然而范围仍然大于我们认为可接受的水平。为了进一步稳定估计，我们引入了一个正则化

表 1. 我们提出的反向方向计算与朴素的 3D 质心 (CMS) 方法的比较。角度以度数为单位 ($^{\circ}$)。我们报告了平均值 $\pm$ 标准差以及角误差低于 3° 和 10° 的结果的比例。

	$^{\circ}$ Mean $\pm$ Std $\downarrow$	Fraction $\leq 3^{\circ}$ $\uparrow$	Fraction $\leq 10^{\circ}$ $\uparrow$
3D CMS (all posterior structures)	5.78 $\pm$ 10.03	0.39 (35/90)	0.91 (82/90)
3D CMS (Arcus and Spinosus)	2.87 $\pm$ 6.84	0.70 (63/90)	0.99 (89/90)
2D Projection (ours)	1.72$\pm$1.76	0.80 (72/90)	1.00 (90/90)

步骤：所有相关的后部体素首先投影到与上下轴垂直的二维平面上，之后计算二维质心并重新嵌入三维空间中。这个简单的投影消除了大多数平面外不对称性，并将误差缩小至 $1.72 \leq 1.76^{\circ}$ 。至关重要的是，该方法现在达到了在 80% (72/90) 的椎骨误差低于 3° ，在 100% (90/90) 的情况下误差低于 10° 的标准，我们认为这对于下游形状分析和可视化足够精确。

总结而言，简单地平均所有后验体素容易产生较大的角度误差，尤其是在颈椎区域，而我们的二维投影策略在五个椎骨中的四个可以提供稳健的低于 3° 的精度，并且永远不会超过 10° 。

3.2 多体仿真要点

为了评估我们方法在 MBS 中使用的可靠性，我们在 37 个全脊柱分割上进行了测试。两位具有 4 年和 7 年脊柱 CT 和 MRI 成像经验的专家对其性能进行了评估。失败仅发生在底层分割存在问题的情况下。

我们使用现有的 MBS 框架 [13] 验证了我们的点放置。尽管以较低的分辨率运行，但我们观察到与现有基于 CT 的点提取相比，对于直脊柱没有大的差异。然而，在某些情况下，我们注意到相邻椎体角落点之间存在很大的力。经过调查，我们确定这发生在椎体在上下方向上紧密对齐但在前后或左右方向上有偏移时。这个问题源于模拟中使用的前纵韧带定义，而不是角落点放置的不准确。虽然这可能表明前纵韧带具有实际的张力，但更可能是由于真实的解剖学附着点位于椎体中心附近所致。要解决这种模糊性，需要准确提取韧带路径，但这在 CT 上不可行，在 MRI 上当前也不可用。

4 讨论与结论

我们提出了一种基于规则的 POI 提取管道的高级版本用于脊柱。该管道现在支持 MRI 输入，即使左右分辨率较低，并且可以补偿相对椎体旋转——这对于分析脊柱侧弯至关重要。所使用的分割网络和训练权重是公开可用的，还包括我们的增强点计算方法。整个 POI 计算在单个 CPU 线程上对整根脊柱可以在一分钟内完成。此外，我们还提供了保存和加载计算点以及将它们重新采样到不同坐标系（如体素空间、ITK 和 NIfTI 全局空间）的工具。这些点也可以导出为“mkr.json”格式，允许在 3D Slicer 中轻松导入、编辑和可视化。

我们生成的点提供了进一步发展的坚实基础。虽然基于规则的系统是有效的，但它们倾向于积累例外和特殊情况，如椎体骨折、垂直错位段或存在金属植入物等，这些情况手动处理起来变得困难。在这种情况下，纠正基于规则的输出并允许深度学习模型从其中进行泛化会更加高效。从我们的初始点标注开始，应该可以生成能够被细化、纠正和扩展的数据集，为稳健的学习型点预测流水线铺平道路。

Acknowledgments. 本文的研究工作得到了欧盟地平线 2020 研究和创新计划（101045128—iBack-epic—ERC2021-COG）下欧洲研究理事会（ERC）的资金支持。

我们的代码可在 Python 包 <https://github.com/Hendrik-code/TPTBox> 中获得

Disclosure of Interests. 作者声明与本文内容相关的不存在任何利益冲突。

参考文献

1. Balasubramanian, S., D’Andrea, C.R., Viraraghavan, G., Cahill, P.J.: Development of a finite element model of the pediatric thoracic and lumbar spine, ribcage, and pelvis with orthotropic region-specific vertebral growth. *Journal of biomechanical engineering* **144**(10), 101007 (2022)
2. Bürgin, V., Prevost, R., Stollenga, M.F.: Robust vertebra identification using simultaneous node and edge predicting graph neural networks. In: *International*

- Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention. pp. 483–493. Springer (2023)
3. Christophy, M., Curtin, M., Faruk Senan, N.A., Lotz, J.C., O’ Reilly, O.M.: On the modeling of the intervertebral joint in multibody models for the spine. *Multibody System Dynamics* **30**, 413–432 (2013)
 4. Couvertier, M., Germaneau, A., Saget, M., Dupré, J.C., Doumalin, P., Brémand, F., Hesser, F., Brèque, C., Roulaud, M., Monlezun, O., et al.: Biomechanical analysis of the thoracolumbar spine under physiological loadings: Experimental motion data corridors for validation of finite element models. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* **231**(10), 975–981 (2017)
 5. El Bojairami, I., El-Monajjed, K., Driscoll, M.: Development and validation of a timely and representative finite element human spine model for biomechanical simulations. *Scientific Reports* **10**(1), 21519 (2020)
 6. Fürmetz, J., Daniel, T., Sass, J., Bergsträßer, M., Degen, N., Suero, E., Ahrens, P., Keppler, A., Böcker, W., Thaller, P., et al.: Three-dimensional assessment of patellofemoral anatomy: Reliability and reference ranges. *The Knee* **29**, 271–279 (2021)
 7. Fürmetz, J., Sass, J., Ferreira, T., Jalali, J., Kovacs, L., Mück, F., Degen, N., Thaller, P.: Three-dimensional assessment of lower limb alignment: accuracy and reliability. *The Knee* **26**(1), 185–193 (2019)
 8. Galbusera, F., Niemeyer, F., Bassani, T., Sconfienza, L.M., Wilke, H.J.: Estimating the three-dimensional vertebral orientation from a planar radiograph: Is it feasible? *Journal of biomechanics* **102**, 109328 (2020)
 9. Graf, R., Schmitt, J., Schlaeger, S., Möller, H.K., Sideri-Lampretsa, V., Sekuboyina, A., Krieg, S.M., Wiestler, B., Menze, B., Rueckert, D., et al.: Denoising diffusion-based MRI to CT image translation enables automated spinal segmentation. *European Radiology Experimental* **7**(1), 70 (2023)
 10. Huynh, K., Gibson, I., Jagdish, B., Lu, W.: Development and validation of a discretised multi-body spine model in lifemod for biodynamic behaviour simulation. *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering* **18**(2), 175–184 (2015)
 11. Khanal, B., Dahal, L., Adhikari, P., Khanal, B.: Automatic cobb angle detection using vertebra detector and vertebra corners regression. In: *International workshop and challenge on computational methods and clinical applications for spine imaging*. pp. 81–87. Springer (2019)

12. Lachinov, D., Getmanskaya, A., Turlapov, V.: Cephalometric landmark regression with convolutional neural networks on 3d computed tomography data. *Pattern Recognition and Image Analysis* **30**, 512–522 (2020)
13. Lerchl, T., El Hussein, M., Bayat, A., Sekuboyina, A., Hermann, L., Nispel, K., Baum, T., Löffler, M.T., Senner, V., Kirschke, J.S.: Validation of a patient-specific musculoskeletal model for lumbar load estimation generated by an automated pipeline from whole body ct. *Frontiers in bioengineering and biotechnology* **10**, 862804 (2022)
14. Lerchl, T., Nispel, K., Baum, T., Bodden, J., Senner, V., Kirschke, J.S.: Multi-body models of the thoracolumbar spine: a review on applications, limitations, and challenges. *Bioengineering* **10**(2), 202 (2023)
15. Möller, H., Graf, R., Schmitt, J., Keinert, B., Schön, H., Atad, M., Sekuboyina, A., Streckenbach, F., Kofler, F., Kroencke, T., Bette, S., Willich, S.N., Keil, T., Niendorf, T., Pischon, T., Endemann, B., Menze, B., Rueckert, D., Kirschke, J.S.: SPINEPS—automatic whole spine segmentation of t2-weighted MR images using a two-phase approach to multi-class semantic and instance segmentation . <https://doi.org/10.1007/s00330-024-11155-y>, <https://doi.org/10.1007/s00330-024-11155-y>
16. Nispel, K., Lerchl, T., Senner, V., Kirschke, J.S.: Recent advances in coupled mbs and fem models of the spine—a review. *Bioengineering* **10**(3), 315 (2023)
17. O’Neil, A.Q., Kascenas, A., Henry, J., Wyeth, D., Shepherd, M., Beveridge, E., Clunie, L., Sansom, C., Seduikyte Keith Muir, E., Poole, I.: Attaining human-level performance with atlas location autocontext for anatomical landmark detection in 3d ct data. In: *Proceedings of the European conference on computer vision (ECCV) Workshops*. pp. 0–0 (2018)
18. Sekuboyina, A., Bayat, A., Hussein, M.E., Löffler, M., Rempfler, M., Kukačka, J., Tetteh, G., Valentinitich, A., Payer, C., Urschler, M., et al.: Verse: a vertebrae labelling and segmentation benchmark (2020)
19. Tao, L., Li, M., Zhang, X., Cheng, M., Yang, Y., Fu, Y., Zhang, R., Qian, D., Yu, H.: Automatic craniomaxillofacial landmarks detection in ct images of individuals with dentomaxillofacial deformities by a two-stage deep learning model. *BMC oral health* **23**(1), 876 (2023)
20. Wren, T.A., Ponrartana, S., Poorghasamians, E., Moreau, S., Aggabao, P.C., Zaslowsky, T.L., Edison, B.R., Gilsanz, V.: Biomechanical modeling of spine flexibility and its relationship to spinal range of motion and idiopathic scoliosis. *Spine deformity* **5**(4), 225–230 (2017)

21. Zhang, H., Chung, A.C.: A dual coordinate system vertebra landmark detection network with sparse-to-dense vertebral line interpolation. *Bioengineering* **11**(1), 101 (2024)
22. Zhang, Y., Liu, W., Zhao, J., Wang, D., Peng, F., Cui, S., Wang, B., Shi, Z., Liu, B., He, D., et al.: Improving pedicle screw path planning by vertebral posture estimation. *Physics in Medicine & Biology* **68**(18), 185011 (2023)