

Хоменко Ярослав Васильович, аспірант, провідний фахівець, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: iarikkiev7@gmail.com

Іщенко Вадим Дмитрович, кандидат ветеринарних наук, доцент, кафедра фармакології та токсикології, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: ischenko_vd@nubip.edu.ua

Гончаренко Василь Сергійович, старший науковий співробітник, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: goncharenko_vs@ukr.net

Шимко Наталія Миколаївна, старший науковий співробітник, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: natashim@ukr.net

Рибальченко Дмитро Юрійович, науковий співробітник, Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК, Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, Україна, 03041
E-mail: doctordimafish@gmail.com

УДК 608.5:577.171.4

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.53805

ВПЛИВ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ НА ЗБЕРЕЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ХГЛ ВПРОДОВЖ ТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ В РОЗЧИНЕНОМУ ВИГЛЯДІ

© Ю. І. Сливчук, І. О. Матюха, В. Я. Сирватка, І. І. Гевкан, О. В. Штапенко, Н. А. Брода

Досліджено активність нових форм лікарських препаратів стабілізованих гонадотропінів при тривалому зберіганні. Встановлено, що диспергування призводить до втрати 10–12 % активності гонадотропіну проте, тривалість диспергування на неї не впливає. Додані стабілізатори і ліпосомальна форма препарату зберігають активність ХГл при температурі 18–20 та 2–4 °С на рівні 80 %

Ключові слова: хоріонічний гонадотропін, стабілізація, сахароза, L-лізин, ліпосомальна емульсія, активність гормону

The activity of new forms of drugs stabilized gonadotropins during prolonged storage was studied. It is established that dispersion leads to loss of 10–12 % the activity of gonadotropin, but the duration of dispersion is not affected. Added stabilizers and liposomal form of the drug maintains the hCG activity at a temperature of 18–20 °C and at 2–4 at the level near 80 %

Keywords: chorionic gonadotropin, stabilization, sucrose, L - lysine, liposomal emulsion, hormone activity

1. Вступ

У повсякденному процесі корекції безпліддя очевидним вагомим компонентом є гормональна стимуляція та терапія. Ранні відкриття з виявлення фізіологічної дії гонадотропінів у нормальному циклі яєчників спонукали багатьох вчених шукати гонадотропні екстракти достатньої чистоти, щоб забезпечити лікування безпліддя [1, 2]. Корекція репродуктивних процесів виникла з перших спроб отримати і очистити гонадотропні препарати тваринного і людського походження. Перші спроби лікування безпліддя були зроблені майже 100 років назад. Еволюційний процес розвитку гонадотропної терапії був обумовлений необхідністю зробити гонадотропні препарати безпечними, максимально очищеними і

ефективними не лише в лікуванні, але й в простоті використання, щоб звести до мінімуму безліч можливих відмінностей у лікуванні безпліддя [3].

2. Аналіз літературних даних та постановка проблеми

До групи гонадотропінів відносять хоріонічний гонадотропін (ХГ), фолікулостимулюючий гормон (ФСГ; фолікотропін), лютеїнізуючий гормон (ЛГ; лютропін). ФСГ і ЛГ синтезуються гіпофізом більшості ссавців, тоді як ХГ синтезується плацентарною тканиною приматів і коней. В останні роки, структура гонадотропних гормонів була декодована для різних видів риб, тварин і людини [1–7]. Молекули гонадотропінів різних видів тварин і людини, во-

лодіючи значною гомологією, не ідентичні. Альфа-субодинаця ХГл ідентична α -субодинаці ЛГ, ФСГ а також ТТГ і становить 92 амінокислотних залишки. Бета-субодинаця ХГл, поліпептидний ланцюг якого складається з 145 амінокислотних залишків, специфічна для даного гормону, але проявляє високий ступінь структурної гомології близько 80 % з β -субодинацею лютеїнізуючого гормону, відрізняючись від останньої подовженням С-кінцевого ділянки на 24 амінокислотних залишки. На вуглеводну частину, яка характеризується значною гетерогенністю, припадає близько 30 % молекулярної маси ХГ. Вуглеводні компоненти ХГ необхідні для з'єднання субодинаць, підтримки конформації молекули, захищають поліпептидні ланцюги субодинаць від розщеплення [1–7]. ХГ виробляється клітинами трофобласта під час вагітності (зовнішній шар клітин у зародків ссавців) і плаценти [8]. Однак, відомо, що ХГ і його β -субодинаця продукуються не тільки в хоріоні трофобласта та плаценти, але і в тканинах плода (навіть більшою мірою, ніж у плаценті) протягом усього онтогенезу ссавців. Він може також вироблятися деякими пухлинами, спорідненими за походженням клітинами трофобласта плаценти [7–9]. Синтез α -, β -субодинаць проходить незалежно. У кров надходять як димерні (інтактні) молекули гормону, так і вільні (незв'язані) субодинаці ХГ. Молекула ХГ порівняно легко дисоціює на субодинаці, наприклад при дії сечовини або пропіонової кислоти. Ізольовані α - і β -субодинаці ХГл позбавлені біологічної активності. Специфічні біологічні властивості ХГ обумовлені β -субодинацею. Структурна подібність між β -субодинацею ХГ і лютеїнізуючого гормону проявляється близькістю їх біологічних і імунологічних властивостей [8, 9].

Хоріонічний гормон у великих кількостях синтезується плацентою і виділяється з сечею, звідки може бути виділений та очищений. Очищені гонадотропіни, зазвичай, отримують шляхом ліофілізації і зберігають у сухому вигляді. Ліофілізовані препарати є досить стабільними при зберіганні, однак, ліофілізація є дорогим і трудомістким етапом у процесі отримання, а їх розчини нестійкі, що є недоліком у їх використанні. Зазвичай очищені гонадотропіни отримують шляхом ліофілізації і зберігають у сухому вигляді. Ліофілізовані препарати є досить стабільними при зберіганні, однак, під час ліофілізації і при наступному їх розчиненні гонадотропіни сильно схильні до денатурації, тому бажано отримати стійкі композиції препаратів, які можуть підтримувати довший життєвий цикл гонадотропіну за зберігання при кімнатній температурі [4]. Отримання стійких при зберіганні композицій біологічно активних і терапевтичних речовин, таких як пептиди, протеїни, глікопротеїни, нуклеотиди, і т. д., для діагностичних і терапевтичних цілей в наш час має велике значення [5]. Тому, розробка нових препаратів на основі стабілізованих гонадотропінів з метою підвищення активності та ефективності їх застосування для забезпечення потреб тваринництва України є актуальним та прогресивним питанням. Проте, неможливо передбачити стандартний рецепт для

всіх препаратів, і вибір найкращого рецепту вимагає значної роботи з відбору. Тому, розробки в цьому напрямку мають значні переваги у здешевленні препаратів, що дозволяють забезпечити достатню стабільність рідких форм гонадотропних препаратів зі збереженням їх активності тривалий час. Комплексні дослідження з вивчення оптимального вмісту цукрів та інших специфічних біологічно активних речовин необхідних для стабілізації гонадотропінів актуальні. У зв'язку з цим метою роботи було науково-теоретично обґрунтувати методи стабілізації активності гонадотропних гормональних препаратів цукрами.

3. Цілі та задачі досліджень

Метою нашої роботи було розробити методичні підходи, щодо створення комплексних гонадотропних препаратів у формі ліпосомальної емульсії і дослідити динаміку змін активності в них гонадотропіну за умов тривалого зберігання при температурі 18–20 та 2–4 °С.

Для досягнення поставленої мети було сформульовано наступні завдання досліджень:

- дослідити динаміку активності гонадотропіну в ліпосомальних препаратах впродовж тривалого зберігання за температури 18–20 та 2–4 °С;
- визначити динаміку активності гонадотропіну за різних температур зберігання впродовж 2 місяців при додаванні амінокислот та цукрів у якості стабілізаторів.

4. Матеріали і методи

Об'єктом дослідження був хоріонічний гормон людини (ХГл). Сирець ХГл отримано в Інституті біології тварин із сечі вагітних жінок першої половини вагітності шляхом фільтрації і осадження спиртом, ацетоном та ацетатом амонію. Сучасні методи дослідження дозволяють визначити концентрацію інтактних (димеризованих) молекул ХГл або вільної субодинаці, а також загального ХГл (сумарно інтактного ХГл і вільної β -субодинаці) [6, 7] За допомогою імунохемилюмінесцентних методів досліджень визначено активність отриманого сирцю ХГл. Перед приготуванням ліпосомальних препаратів нами було проведено дослідження з впливу ультразвукових частот на активність гонадотропіну за різної тривалості диспергування. Для цього було приготовлено 3 зразки з однаковою початковою активністю ХГл (10000 мМО/мл). 1-й зразок був за контроль, 2-, 3-й піддавали дії ультразвукових частот протягом 15 та 30 секунд, відповідно. Активність гонадотропіну визначили через 6 годин після диспергування.

Для приготування препаратів нами був приготовлений базовий розчин ХГл стабілізованого сахарозою і лізином, який розділили на 3 частини. Теоретична початкова активність гонадотропіну у кожній частині становила 7000 мМО/мл. ХГл розводили фосфатносолевим буфером рН 7,34. Було приготовано 3 серії препаратів, 1 – слугувала за контроль, 2- і 3-я були приготовані у формі ліпосомальної емульсії і відрізнялись між собою тим, що третя серія вміщува-

ла вітаміни А, В, Е. Препарати розфасували в пеніцилінові флакони в 2-х паралелях (А, В, С та А*, В*, С*) і поставлені на зберігання при температурі 18–20 та 2–4 °С відповідно в захищеному від світла місці. Через кожних 2 тижні впродовж 2 місяців за різницею загального (ХГл+β-ХГл) та вільного (β-ХГл) в препаратах проведено визначення активності ХГл. Для дослідження використовували хімічно чисті сахарозу та лізин, чисті для аналізу Na₂НРО₄·2Н₂О, NaН₂РО₄·Н₂О; 0,1 Н соляна кислота; 0.1 М гідроксид натрію; деіонізовану воду; тривіт, твін. Як контейнери, використовувалися 10 мл скляні флакони (боросилікатне скло) з гумовим корком та з алюмінієвим ковпачком.

5. Результати досліджень

В результаті проведених досліджень щодо впливу ультразвукового диспергування, яке використовується при виготовленні ліпосомальних препаратів встановлено, що активність гонадотропіну після диспергування в дослідних зразках була на 6–10 % нижчою від відповідної активності у контрольному зразку. Проте, суттєвих різниць між показниками активності гонадотропіну дослідних зразків 2 і 3 при диспергуванні від 15 до 30 секунд не виявлено. За 6 годин після приготування зразків активність гонадотропіну в усіх зразках знизилась приблизно на 10–21 % у порівнянні до теоретичної початкової активності в зразках ХГл (табл. 1).

Таблиця 1

Активність гонадотропіну за різної експозиції диспергування

Показники	Дослідні серії зразків		
	1- контрольна	2-дослідна (15 сек)	3-дослідна (30 сек)
Теоретична початкова активність ХГл, 10000 мМО/мл			
Загальний ХГл	9368	8257	8437
Вільний ХГл	348	336	340
Активність, мМО/мл	9020	7921	8097
% до початкової концентрації	90,2	79,21	84,37

Дослідження з вивчення динаміки активності гонадотропіну в ліпосомальних препаратах впродовж тривалого зберігання за температури 18–20 та 2–4 °С показали, що в серіях зразків у формі ліпосомальної емульсії де, до фармакологічних композицій в якості стабілізатора активності гонадотропіну додавали L-лізин та сахарозу, активність ХГл впродовж 2 тижнів становила понад 85 % відповідно до теоретичної початкової активності (табл. 2). Активність гонадотропіну в контрольній серії зразків була майже на 10 % нижчою, за відповідну в дослідних серіях зразків і становила 73,8 % проти 85,21 та 91 % за зберігання при кімнатній температурі та 68,9 % проти 89,5 і 84,68 % при зберіганні в холодильнику.

На 4 тиждень зберігання препаратів активність гонадотропіну в контрольних серіях А і А* знизилась майже на 8 % в порівнянні до відповідного показника на 2 тиждень зберігання. Тоді, як в дослідній серії В активність гонадотропіну не змінилася. В інших дослідних серіях зразків С та В* і С* активність гонадотропіну знизилась приблизно на 5 %. Зберігання препаратів впродовж 6 тижнів за різних температурних режимів призвело до подальшого зниження активності гонадотропіну в контрольній серії зразків А та дослідній В за зберігання при кімнатній температурі на 5 %, а у зразку С, майже на 9 %. При зберіганні дослідних серій зразків В* і С* у холодильнику, активність гонадотропіну в них не змінилась і була на одному рівні з відповідними показниками на 4 тиждень зберігання. Тоді, як у контрольній серії А* цей показник навіть підвищився на 9 %. Різниця показників активності

гонадотропіну за різних умов зберігання препаратів між контрольною А* і дослідними серіями зразків становила приблизно 10 %. Проте, у контрольній серії А, за кімнатної температури зберігання, активність гонадотропіну була майже на 20 % нижчою за відповідну в усіх інших дослідних серіях зразків.

Впродовж 8 тижневого зберігання активність

Проведені нами раніше дослідження зі стабілізації активності гонадотропіних препаратів у розчиненому виді впродовж тривалого зберігання за температури 40 °С показали, що додавання до рецептів у відповідній концентрації цукрів та амінокислот в якості стабілізаторів, зокрема та сумісно, забезпечує збереження активності гонадотропіну гонадотр різних температурних режимів зберігання вирівнялась опіну в усіх дослідних серіях зразків ліпосомальних препаратів В, С та В* С* і контрольному А* за і становила приблизно 80 % відповідно до теоретичної початкової активності. Тоді, як у контрольній серії зразків (А), за кімнатної температури зберігання активність становила 65 %, тобто була майже на 15 % нижчою за відповідну в інших серіях зразків. впродовж тривалого зберігання (2 місяці) на рівні 45–65 % до початкової активності [8, 9]. Проведені нами дослідження показали, що додані нами до рецептів стабілізатори і ліпосомальна форма препарату забезпечує збереження активності гонадотропіну на рівні 80 % впродовж 2-х місяців зберігання за температури 18–20 та 2–4 °С тоді, як активність розчиненого гонадотропіну з доданими стабілізаторами (зразок А) за кімнатної температури зберігання була майже на 15 % нижчою.

Таблиця 2

Динаміка активності гонадотропіну за різних температур зберігання впродовж 2 місяців

Термін зберігання	Показники	Умови зберігання гонадотропічних препаратів					
		зберігання за кімнатної температури			зберігання в холодильнику до 4°C		
		А	В	С	А*	В*	С*
Теоретична початкова активність ХГл, 7000 мМО/мл							
2 тижні	ХГл	5167	5965	6374	4825	5916	5928
	% до початкової концентрації	73,8	85,21	91	68,9	89,5	84,68
4 тижні	ХГл	4665	6019	6153	4230	5906	5557
	% до початкової концентрації	66,64	85,9	87,9	60,42	84,37	79,38
6 тижнів	ХГл	4374	5646	5497	4897	5687	5549
	% до початкової концентрації	62,48	80,65	78,52	69,95	81,24	79,27
8 тижнів	ХГл	4598	5796	5396	5105	6003	5737
	% до початкової концентрації	65,68	82,8	77,08	70,92	85,75	81,95

7. Висновки

Дія ультразвукового випромінювання при диспергуванні призводить до втрати 5–10 % активності гонадотропіну під час приготування препаратів у формі ліпосомальної емульсії. Різниць в зміні активності гонадотропіну за різної тривалості диспергування, в діапазоні від 15 до 30 сек., не виявлено.

Встановлено, що додані нами стабілізатори і ліпосомальна форма препарату забезпечують збереження активності гонадотропіну впродовж 2-х місяців за температури 18–20 та 2–4 °C на рівні 80 %.

Література

1. Larson, G. H. Follicle stimulation hormone pattern and luteal function in cows receiving bovine follicular fluid during three stages of the estrus cycle [Text] / G. H. Larson, P. E. Lewis, R. A. Dailey, E. K. Inskip, E. C. Townsend // J. Anim. Sc. – 1987. – Vol. 64, Issue 5. – P. 1491–1497.

2. Смолянінов, Б. В. Біотехнологія відтворення сільськогосподарських тварин [Текст]: навч. пос. / Б. В. Смолянінов, М. О. Кротких. – Одеса, 2008. – 199 с.

3. Cole, L. A. New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin [Text] / L. A. Cole // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2009. – Vol. 7, Issue 1. – P. 8. doi: 10.1186/1477-7827-7-8

4. Lempiäinen, A. Loss of human chorionic gonadotropin in urine during storage at -20 °C [Text] / A. Lempiäinen, K. Hotakainen, H. Alfthan, U.-H. Stenman // Clinica Chimica Acta. – 2012. – Vol. 413, Issue 1-2. – P. 232–236. doi: 10.1016/j.cca.2011.09.038

5. Pierce, J. G. Glycoprotein hormones: structure and function [Text] / J. G. Pierce, T. F. Parsons // Annual Review of Biochemistry. – 1981. – Vol. 50, Issue 1. – P. 465–495. doi: 10.1146/annurev.bi.50.070181.002341

6. Фримель, Г. Иммунологические методы [Текст]: уч. пос. / Г. Фримель. – Москва: Медицина, 1987. – 215 с.

7. McChesney, R. Intact HCG, free HCG beta subunit and HCG beta core fragment: longitudinal patterns in urine during early pregnancy [Text] / R. McChesney // Human Reproduction. – 2004. – Vol. 20, Issue 4. – P. 928–935. doi: 10.1093/humrep/deh702

8. Сльвчук, Ю. И. Применение углеводов для стабилизации активности гонадотропинов [Текст] / Ю. И. Сльвчук. – Труды Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной энтомологии и арахнологии. – Тюмень, 2013. – 226 с.

9. Slyvchuk, Yu. I. Stabilizing the gonadotropin activity with the use of organic compounds [Text] / Yu. I. Slyvchuk, I. I. Hevkan, I. O. Matyukha, V. Ya. Syrvatka // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. – 2014. – Vol. 3, Issue 2. – P. 160–163. – Available at: http://www.jmbfs.org/wp-content/uploads/2014/01/46_jmbfs_slyvchuk_2014_b.pdf

References

1. Larson, G. H., Lewis, P. E., Dailey, R. A., Inskip, E. K., Townsend, E. C. (1987). Follicle stimulation hormone pattern and luteal function in cows receiving bovine follicular fluid during three stages of the estrus cycle. J. Anim. Sc, 64 (5), 1491–1497.

2. Smolyaninov, B. V., Krotkykh, M. O. (2008). Biotekhnolohiya vidtvorennya sil'skohospodars'kykh tvaryn. Odessa, 199.

3. Cole, L. A. (2009). New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. Reproductive Biology and Endocrinology, 7 (1), 8. doi: 10.1186/1477-7827-7-8

4. Lempiäinen, A., Hotakainen, K., Alfthan, H., Stenman, U.-H. (2012). Loss of human chorionic gonadotropin in urine during storage at -20 °C. Clinica Chimica Acta, 413 (1-2), 232–236. doi: 10.1016/j.cca.2011.09.038

5. Pierce, J. G., Parsons, T. F. (1981). Glycoprotein Hormones: Structure and Function. Annual Review of Biochemistry, 50 (1), 465–495. doi: 10.1146/annurev.bi.50.070181.002341

6. Frymel', H. (1987). Immunolohycheskye metody. Moscow: Medytsyna, 215.

7. McChesney, R. (2004). Intact HCG, free HCG subunit and HCG core fragment: longitudinal patterns in urine during early pregnancy. Human Reproduction, 20 (4), 928–935. doi: 10.1093/humrep/deh702

8. Slyvchuk, Ju. I. (2013). Primenenie uglevodov dlja stabilizacii aktivnosti gonadotropinov. Trudy Vserossijskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta veterinarnoj jentomologii i arahnologii. Tjumen, 226.

9. Slyvchuk, Yu. I., Hevkan, I. I., Matyukha, I. O., Syrvatka, V. Ya. (2014). Stabilizing the gonadotropin activity with the use of organic compounds. Journal of Microbiology,

Biotechnology and Food Sciences, 3 (2), 160–163. Available at: http://www.jmbfs.org/wp-content/uploads/2014/01/46_jmbfs_slyvchuk_2014_b.pdf

*Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Розгоні І. І.
Дата надходження рукопису 23.10.2015*

Сливчук Юрій Іванович, кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник, Лабораторія репродуктивної біотехнології, Інституту біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, Україна, 79034
E-mail: slyvchuk@gmail.com

Матюха Ірина Олегівна, кандидат сільськогосподарських наук, молодший науковий співробітник, Лабораторія імунології, Інституту біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, Україна, 79034
E-mail: iramatiukha@gmail.com

Сирватка Василь Ярославович, науковий співробітник, Лабораторія репродуктивної біотехнології, Інституту біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, Україна, 79034
E-mail: vasylllko@gmail.com

Гевкан Іван Іванович, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Лабораторія репродуктивної біотехнології, Інституту біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, Україна, 79034
E-mail: gevkan.iv@gmail.com

Штапенко Оксана Всеволодівна, кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, Лабораторія репродуктивної біотехнології, Інституту біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, Україна, 79034
E-mail: shtapenko31@gmail.com

Брода Наталія Анатоліївна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Лабораторія імунології, Інститут біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, Україна, 79034
broda_n@ukr.net

УДК 574.34

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.53798

ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ВПЛИВУ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПОБУТОВИХ ХІМІЧНИХ МИЮЧИХ ЗАСОБІВ НА ДИНАМІКУ ПОПУЛЯЦІЇ *BLATTELLA GERMANICA* (L.) В МІСТІ КИЄВІ

© Г. В. Кобеньок, О. В. Полковенко

*Важливість вивчення екології житлових приміщень полягає в дослідженні негативної дії у побутовому середовищі деяких екологічних факторів антропогенного походження. Тому в статті розглядається можливість використання методу біоіндикації для проведення аналізу екологічних ризиків, виникаючих в штучному середовищі сучасних житлових приміщень. На прикладі *Blattella germanica* (L.) досліджено питання можливого впливу токсичних властивостей синтетичних миючих засобів на негативні коливання чисельності популяції цього виду комах-синантропів*

Ключові слова: екологія, екологічний ризик, дія екологічних факторів, види-біоіндикатори, динаміка популяції

*The importance of studying the ecology of premises is to study the negative impact on the domestic environment some environmental factors of anthropogenic origin. In the article the possibility of using the method of biological indication is considered to analyze environmental risks emerging in the artificial environment of modern premises. For example of *Blattella Germanica* (L.) it is investigated the possible effect of the toxic properties of synthetic detergents to negative fluctuations in the population of this species of insects-sinanthropus*

Keywords: ecology, environmental risks, impact of environmental factors, species-bioindicators, population dynamics