

УДК 575.15

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ У РІЗНИХ ВІДІВ ПОЛІВОК

Оксана КОВАЛЬОВА, Ганна БОЙКО, Олена БУРДО, Тетяна ГЛАЗКО

Цитогенетичні характеристики клітин кісткового мозку у різних видів полівок. — **О. Ковальова, Г. Бойко, О. Бурдо, Т. Глазко.** — Спонтанні мутаційні спектри цитогенетичних аномалій в клітинах кісткового мозку характеризуються вираженою видоспецифічністю у дослідженых видів полівок не тільки за переважним типом цитогенетичних аномалій (центрічні злиття — у видів з перевагою акроцентричних хромосом; анеуплойдія — у звичайної полівки, асинхронність розщеплення центромер — у звичайної і сибірської полівки), але й за участю в них індивідуальних хромосом (великі хромосоми найчастіше беруть участь в анеуплойдії у рудої полівки, дрібні — у звичайної полівки; у сибірської полівки — хромосоми 10 і 14). В умовах хронічної дії низькодозового іонізуючого опромінення у всіх дослідженых полівок спостерігається збільшення темпів клітинного поділу в кістковому мозку.

Ключові слова: біоіндикація, полівки, хромосомні aberracii, іонізуюче опромінення.

Адреса: Інститут агроекології та біотехнології УААН, вул. Метрологічна, 12, Київ-143, 03143, Україна.

E-mail: glazko@biotech.relc.com.

Cytogenetic characteristics of the bone marrow cells in different vole's species. — **O. Kovalova, H. Boiko, O. Burdo, T. Glazko.** — Spontaneous mutation spectra in the bone marrow cells of the various species of voles had the species-specific traits not only at the preferable type of cytogenetic anomalies (centric fusion — in species with the acrocentric autosomes; aneuploidy — in common vole, asynchronous of centromere division — in common and Siberian voles), but at the participation in its of the individual chromosomes (the large chromosomes involving in aneuploidy more frequently in red vole, little ones — in common vole; in Siberian vole — chromosomes 10 and 14). In the zone of low dose exposure to ionizing irradiation in all vole's species the increased level of cell division in the bone marrow was observed.

Key words: bioindication, voles, chromosome aberration, ionizing radiation.

Address: Institute of agroecology and biotechnology UAAS, 12 Metrolohichna St., Kyiv-143, 03143, Ukraine.

E-mail: glazko@biotech.relc.com.

Вступ

Мишоподібних гризунів традиційно використовують для біоіндикації територій та для оцінки рівнів забрудненості генотоксичними полютантами [2–4]. Однак досі спонтанні мутаційні спектри у різних видів та видоспецифічні особливості таких спектрів залишаються недостатньо вивченими [1, 5–7]. Ймовірно, що розбіжності між видами за переважними типами цитогенетичних дефектів в спонтанних та індукованих мутаційних спектрах можуть суттєво впливати на об'ективність оцінок рівнів генотоксичного забруднення. Необхідно підкреслити, що певні особливості спонтанних та індукованих мутаційних спектрів можуть бути пов'язаними з особливостями каріотипу й морфологією окремих хромосом.

У зв'язку з цим в наших дослідженнях розглядалися спонтанні та індуковані мутаційні спектри в клітинах кісткового мозку різних видів полівок. В індукованих спектрах розглядали цитогенетичні характеристики у полівок, які мешкали в умовах підвищеного радіаційного фону зони відчуження

Чорнобильської АЕС. Оскільки в межах зони відчуження рівень радіаційного забруднення варіює від <20 Кі/км 2 до 100–1000 Кі/км 2 , як контроль розглядали тварин, відловлених у місцях з рівнем радіонуклідного забруднення не вище 20 Кі/км 2 .

Основною метою роботи було вивчення мутаційних подій в клітинах кісткового мозку у різних видів полівок, які відрізняються кількістю акроцентричних і метацентричних хромосом в каріотипі.

Матеріал та методики

Дослідження проводили на полівках, зловлених в районах з різним рівнем радіаційного забруднення. Звичайна полівка (*Microtus arvalis*, 24 тварин) зловлена в районах селища Роз'їзже (<5 Кі/км 2 як умовно контрольний) та Чистогалівка (>500 Кі/км 2), східноєвропейська полівка (*Microtus rossiaemeridionalis*, 3 екз.) зловлена в районі Лелів (блізько 20 Кі/км 2), полівка руда (*Clethrionomys glareolus*, 7 екз.) зловлена в районі с. Неда-

ниччи (<5 Кі/км 2) і в Рудому Лісі (~1000 Кі/км 2), полівка сибірська (*Microtus oeconomus*, 10 екз.) зловлена в районі селища Лелів та озера Глибоке (500 Кі/км 2), полівка темна (*Microtus agrestis*, 2 екз.) зловлена в Рудому Лісі.

Стандартний каріотип звичайної полівки (*Microtus arvalis* Pallas, 1779), 2n=46, Fna=84 відповідав стандартному для "arvalis". Він був представлений 4 парами великих метацентричних хромосом (1–4), однією парою великих субметацентричних хромосом (5), 13 парами дрібних мета- і субметацентричних хромосом (№ 6–18), 4 парами дрібних акроцентричних хромосом (19–22). X-хромосома – метацентрик, що займає проміжне положення між 5-ю і 6-ю хромосомами. Y-хромосома – найдрібніший акроцентрик.

Стандартний каріотип сибірської полівки (*Microtus oeconomus* Pallas, 1776) складається з 30 хромосом. Хромосома 1 – великий субметацентрик, хромосоми 2–9 – ряд середніх за розміром мета- і субметацентриків, хромосома 10 – субметацентрик, у якого співвідношення довжин пліч приблизно відповідає 1:5 (субтелоцентрик), хромосоми 11–13 – дрібні мета- і субметацентрики, одна пара хромосом (14) – дрібні акроцентрики. Хромосома X за морфологією і розміром відповідає групі середніх хромосом, Y-хромосома – найдрібніший акроцентрик. Таким чином, при рутинному забарвленні легко типуються хромосоми 1, 10, 14, Y; виділяються групи середніх та дрібних мета- і субметацентриків.

Каріотип рудої полівки (*Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780) 2n=56, Fna=56 вперше описаний Маттеєм і Рено. У різних підвідів виявлена географічна мінливість форми Y-хромосоми [10–11]. Для роду в цілому типове диплоїдне число хромосом – 56. Каріотип містить 54 аутосоми (52 акроцентрика, які складають по зменшенню розмірів безперервний ряд, два дрібних метацентрика) і пара статевих хромосом. У самок NF=58, у самців NF=59. X-хромосома завжди представлена великим акроцентриком, Y-хромосома – найдрібніша хромосома, причому існує географічна мінливість її форм: у *C. g. garganicus* і *C. g. isticus* з Південної Європи це акроцентрична хромосома, у всіх інших форм із Західної та Східної Європи Y-хромосома – дрібний метацентрик.

Каріотип полівки східноєвропейської (*Microtus rossiaemeridionalis* Ognev 1924) – 2n=54, Fna=54 – представлений 54 хромосомами, з яких дві пари (найбільша та найменша в наборі) є субмета- і метацентричними [8, 9]. Всі інші хромосоми, включаючи статеві, акроцентричні.

Каріотип полівки темної (*Microtus agrestis* L., 1761) має хромосомні числа 2n=50 та Fna=54 і представлений переважно акроцентричними хромосомами. Виняток становить лише велика субметацентрична X-хромосома, яка в декілька разів більша за найбільшу з аутосом. Y-хромосома за розміром займає проміжне положення.

Препарати клітин кісткового мозку готували загальноприйнятим засобом (без використання колхіцину). Для цитогенетичного аналізу розглядали наступні характеристики дестабілізації генетичного апарату клітин:

- анеуплойдія, розрахована в двох варіантах (A1, з числом хромосом $\pm 2\dots 6$ до стандартного диплоїдного числа і A2, з числом хромосом ± 1),
- поліплойдія (ПП),
- хромосомні аберації (ХА) (хромосомні, хроматидні розриви, фрагменти, кільцеві хромосоми),
- асинхронність розщеплення центромерних районів хромосом (АРЦХ),
- міжхромосомні асоціації за типом робертсонівських транслокацій (РБ).

Кількість мітозів (МІ) і частоту двоядерних лімфоцитів (ДЛ) розраховували на 1000 клітин, мікроядра в одноядерних лімфоцитах (ЛМЯ) – за числом лімфоцитів з мікроядрами на 1000 одноядерних лімфоцитів.

Препарати фарбували барвником Гімза (Gymza, Merk). Для аналізу клітин використовували бінокулярний мікроскоп фірми Carl Zeiss Jena при збільшенні в 1000 разів. Статистичну достовірність розбіжностей за цитогенетичними аномаліями між групами тварин оцінювали за критерієм Стьюдента (tS).

Результати та обговорення

У полівок, зловлених в районах з низьким і високим рівнем радіаційного забруднення, були виконані порівняння частот зустрічальності різних цитогенетичних аномалій в клітинах кісткового мозку. Результати представлені в табл. 1.

У полівки звичайної в умовах високого рівня забруднення Рудого лісу статистично достовірно нижча частота зустрічальності АРЦХ ($p<0,05$), проте вище число ДЛ ($p<0,05$), ЛМЯ ($p<0,001$) і частота клітинних поділів ($p<0,001$) у порівнянні з тваринами із умовно контрольних районів. У рудої полівки також достовірно вище кількість міто зних клітин ($p<0,05$) і ДЛ ($p<0,05$). У полівки сибірської, як і у полівки звичайної, в більш забрудненому районі достовірно нижче частота АРЦХ ($p<0,05$) і вище – клітинних поділів ($p<0,05$).

Отже, в умовах високого рівня радіонуклідного забруднення у всіх видів полівок збільшується клітинна проліферація, на фоні якої дещо знижується частота зустрічальності метафаз с асинхронністю розщеплення центромерних районів.

Спонтанні та індуковані мутаційні спектри в клітинах кісткового мозку різних видів полівок також відрізняються між собою. Так, частота анеуплойдних клітин (А-1) статистично достовірно вища у звичайної полівки ($p<0,05$) у порівнянні з сибірською полівкою, частота РБ у рудої полівки достовірно вища ($p<0,001$), ніж у звичайної полівки, частота АРЦХ у звичайної полівки і сибірської полівки вища ($p<0,01$ для обох видів) у порівнянні зі східноєвропейською полівкою.

Таблиця 1. Спонтанні та індуковані мутаційні спектри у різних видів полівок
Table 1. Spontaneous and induced mutation spectra at the various species of voles

Н тва ри- ни	Кіль- кість мета- фаз	Доля метафаз						На 1000 одноядерних лімфоцитів		
		з А1	з А2	Поліпл.	з РБ	з ХА	з АРЦХ	Мітозів	ДЛ	ЛМЯ
Роз'їзже (<5 Ki/км²) <i>Microtus arvalis</i>										
15	948	44,4±5,1	8,6±2,8	0,9±0,5	1,0±0,5	2,5±0,6	16,5±4,9	4,5±0,9	5,0±0,8	3,0±0,4
Чистоголовка (>500 Ki/км²)										
9	784	52,7±8,3	17,9±4,4	0	0,4±0,4	3,6±0,8	3,7±0,7	10,0±0,6	7,9±0,3	6,8±0,5
Лелев (~ 20 Ki/км²) <i>M. rossiaemeridionalis</i>										
3	170	36,3±13,9	5,0± 3,4	3,4± 3,4	31,6±25,9	2,0±2,0	0,7±0,7	3,6±2,8	3,4±1,3	2,4±0,8
Неданчичи (<5 Ki/км²) <i>Clethrionomys glareolus</i>										
4	97	33,7±6	9,0±3,5	14,0±3,5	0,5±0,5	1,2±0,7	6,2±3,6	3,2±0,6	3,5±0,6	5,5±1,5
Рудий ліс (~1000 Ki/км²)										
3	252	33,7±0,9	5,0±2,1	3,7±3,7	5,7±3,3	7,3±3,4	2,3±1,9	10,3±1,9	7,0±1,0	9,3±1,9
Лелев (~ 20 Ki/км²) <i>Microtus oeconomus</i>										
4	370	21,2±6,4	4,2±1,4	1,7±0,8	0	2,7±0,9	12,7±3,3	3,7±0,2	8,0±2,1	4,5±0,9
Озеро Глибоке (500 Ki/км²)										
6	579	23,0±5,0	12,5±4,7	0	0	5,0±0,9	1,8±0,7	9,8±0,6	7,2±0,4	5,5±0,6
Рудий ліс (~ 1000 Ki/км²) <i>Microtus agrestis</i>										
2	124	25± 25	3,9± 3,6	0	16,1±11,9	9,7±1,4	21,7±11,6	1,5±0,5	1,8±0,2	2,8±0,2

Таблиця 2. Участь в анеуплойдії та в асинхронності розщеплення центромер різних груп хромосом у полівок рудих (*Clethrionomys glareolus*) із 30-км зони відчуження ЧАЕС

Table 2. Participation of various chromosome groups in the aneuploidy and asinchronic centromere fission at the *Clethrionomys glareolus* from 30-km zone of Chornobyl Plant

Анеуплойдія:

Тварина	Місце відлову	1 група (1-9 п.хр.), %	2 група (10-19 п.хр.), %	3 група (20-26 п.хр.), %	4 група (27 п.хр.), %	5 група (28 п.хр.), %
16	Неданчичи	10,0	25,0	45,0	5,0	15,0
20	Неданчичи	21,6	28,5	29,9	20,0	0
Середнє, %		15,8±5,8	26,8±1,8	37,5±7,6	12,5±7,5	7,5±6,8
10	Рудий ліс	36,7	11,7	43,3	6,7	1,7
85	Рудий ліс	29,4	25,1	25,3	1,7	18,8
87	Рудий ліс	39,7	14,4	32,4	5,3	8,3
8	Рудий ліс	35,3	21,7	21,1	11,9	10,0
Середнє, %		35,3±2,2**	18,2±3,1**	30,5±4,9	6,4±2,1	9,7±3,5
6	Копачи	19,7	13,7	31,3	16,5	18,8
5	Янов	25,0	7,0	55,7	12,5	0
4	Янов	17,2	25,4	42,9	8,3	6,1
46	Янов	46,9	18,4	28,0	1,4	3,5
Середнє, %		27,2±6,8	16,1±3,9	39,5±6,3	9,7±3,1	7,1±4,1
Теоретично очікувано		32,1	35,7	25	3,6	3,6

Асинхронність розщеплення центромер:

Тварина	Місце відлову	1 група (1-9 п.хр.), %	2 група (10-19 п.хр.), %	3 група (20-26 п.хр.), %	4 група (27 п.хр.), %	5 група (28 п.хр.), %
16	Неданчичи	34,2	12,3	36,9	4,2	12,5
20	Неданчичи	25,0	5,6	19,5	50,0	0
Середнє, %		29,6±4,6	8,9±3,4	28,2±8,7	27,1±22,9	6,3±6,3
10	Рудий ліс	16,7	44,8	13,5	25,0	0
85	Рудий ліс	13,9	44,1	32,0	6,4	3,6
87	Рудий ліс	10,7	35,8	21,0	17,2	15,4
8	Рудий ліс	28,3	17,8	17,8	31,1	5,0
Середнє, %		17,4±3,8*	35,6±6,5*	21,1±4,0	19,9±5,3	6,0±3,3
6	Копачи	12,5	25,0	25,0	25,0	12,5
5	Янов	16,0	46,2	24,4	13,5	0
4	Янов	7,6	31,4	39,7	15,3	6,0
46	Янов	22,7	19,2	38,0	15,1	2,5
Середнє, %		14,7±3,2*	30,5±5,8*	31,8±4,1	17,2±2,6	5,3±2,7
Теоретично очікувано		32,1	35,7	25	3,6	3,6

Одержані дані дозволяють зробити висновок про те, що підвищений рівень іонізуючого опромінення призводить до збільшення темпів клітинного поділу у досліджених видів полівок.

Видоспецифічними особливостями спонтанних та індукованих мутаційних спектрів були підвищений рівень частот зустрічальності метафаз з центрічними злиттями за типом робертсонівських транслокацій у видів з перевагою у каріотипі ак-

роцентричних аутосом, підвищений рівень анеуплоїдних клітин у звичайної полівки, а також метафаз з асинхронним розщепленням центромерних районів у полівок звичайної і сибірської.

На наступному етапі нашої роботи ми порівняли участь індивідуальних хромосом у мутаційних спектрах, що спостерігалися з очікуванням у трьох видів полівок. В результаті одержані наступні дані.

Таблиця 3. Участь в анеуплоїді і в асинхронності розщеплення центромер різних груп хромосом у полівки сибірської (*Microtus oeconomus*), зловленої в різних районах 30-кілометрової зони відчуження ЧАЕС

Table 3. Participation of various chromosome groups in the aneuploidy and asinchronic centromere fission at the *Microtus oeconomus* from 30-km zone of the Chornobyl Plant

Анеуплоїдія:

Кіл-ть метафаз	M=30		M=31		M=29		Втрати хромосом					
	Кіл-сть метафаз	%	Кіл-сть метафаз	%	Кіл-сть метафаз	%	1	2–9, X	10	11–13	14	N
24	17	70,8	2	8,3	4	16	—	5	1	3	1	—
46	32	69,6	—	0	7	15,2	—	12	4	9	3	—
49	30	61,2	5	10,2	5	10,2	1	7	2	4	3	—
52	36	69,2	10	19,2	2	3,8	—	5	2	6	—	—
29	21	72	—	0	4	13,8	—	2	2	1	3***	4***

Асинхронність розщеплення центромер:

Кіл-ть метафаз	метафаз з АРЦРХ	Хромосом з АРЦРХ				Індивідуальні показники для окремих груп хромосом					
		Кіл-сть	%	Кіл-сть	на 1 метафазу	1	2–9, X	10	11–13	14	N
24	4	16,7	3	0,13	—	—	1	1	1	—	—
46	12	24,5	18	0,39	—	8	1	6	3	—	—
49	15	30,6	29	0,59	1	7	6***	6	9***	1	—
52	11	21,2	22	0,42	2	11	4	3	2	—	—
29	3	10,3	4	0,14	—	2	1	1	—	—	—

Таблиця 4. Участь в анеуплоїді та в асинхронності розщеплення центромер різних груп хромосом у полівки сибірської (*Microtus arvalis*), зловленої в різних районах 30-кілометрової зони відчуження ЧАЕС.

Table 4. Participation of various chromosome groups in the aneuploidy and asinchronic centromere fission at the *Microtus arvalis* from 30-km zone of Chornobyl Plant

Анеуплоїдія:

Кількість метафаз	M=46		M=45		M=47		Втрати хромосом					
	Кіл-ть метафаз	%	Кіл-ть метафаз	%	Кіл-ть метафаз	%	Всього хромосом	1–5	6–18	19–22	X	Y
43	30	69,8	4	9,3	2	4,7	23	2	8	13	0	0
42	22	52,4	5	11,9	4	9,5	31	0	26	3	2	0
56	38	67,9	5	8,9	7	12,5	18	0	8	8	2	—
40	29	72,5	3	7,5	5	12,5	19	1	9	7	1	1
30	22	73,3	1	3,3	3	10,0	13	1	7	5	0	—
43	18	41,9	5	11,6	4	9,3	30	2	21	7	0	—

Асинхронність розщеплення центромер:

Кількість метафаз	Метафаз з АРЦРХ		Хромосом з АРЦРХ		Індивідуальні показники для окремих груп хромосом					
	Кількість	%	Кількість	1–5	6–18	19–22	X	Y		
43	22	51,2	50	10	32	4	3	1		
42	13	31,0	33	2	23	6	2	0		
56	33	58,9	126	18	82	17	9	—		
40	18	45,0	46	7	24	12	3	0		
30	10	33,3	24	6	16	0	2	—		
43	17	49,5	48	3	37	7	1	—		

У рудої полівки в анеуплойдію з підвищеною частотою в Рудому лісі втягувалась група найбільших хромосом, але та ж група хромосом зі зниженою частотою зустрічалася серед хромосом з асинхронним розщепленням центромерних районів (табл. 2).

У сибірської полівки в анеуплойдію і асинхронність розщеплення центромер найчастіше очікуваного виявилася втягнуті хромосоми 10 і 14 (акроцентричні хромосоми, нетипові для аутосом цього виду) (табл. 3).

У звичайної полівки найчастіше в анеуплойдію втягувалась група найдрібніших хромосом, а група великих – найрідше. Тим не менш, за групою великих хромосом частіше, ніж можна було очікувати, спостерігалася асинхронність розщеплення центромерних районів (табл. 4).

Отримані дані свідчать про видоспецифічність участі в різних типах цитогенетичних аномалій великих та дрібних хромосом, а також залежності такої участі від специфічних особливостей морфології окремих хромосом.

Звертає на себе увагу той факт, що у полівки темної, у якої розмір X-хромосоми сурозмірний з

сумарною довжиною майже 10-ти аутосом того ж виду, не спостерігається підвищеної участі X-хромосоми в цитогенетичних аномаліях, а також не виявляється збільшеної кількості таких цитогенетичних дефектів, як одноядерні лейкоцити з мікрояздрами.

Висновки

Спонтанні мутаційні спектри цитогенетичних аномалій в клітинах кісткового мозку характеризуються вираженою видоспецифічністю у дослідженіх видів полівок не тільки за переважним типом цитогенетичних аномалій (центральні злиття – у видів з перевагою акроцентричних хромосом; анеуплойдія – у звичайної полівки, асинхронність розщеплення центромер – у звичайної і сибірської полівки), але й за участю в них індивідуальних хромосом (великі хромосоми найчастіше беруть участь в анеуплойдії у рудої полівки, дрібні – у звичайної полівки; у сибірської полівки – хромосоми 10 і 14). В умовах хронічної дії низькодозового іонізуючого опромінення у всіх дослідженіх полівок спостерігається збільшення темпів клітинного поділу в кістковому мозку.

1. Гилева Э. А. Эколо-генетический мониторинг с помощью грызунов (уральский опыт). – Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та, 1997.
2. Гилева Э. А., Косарева Н. Л., Любашевский Н. Л., Бахтиярова М. Ф. Изменчивость частоты хромосомных нарушений, индуцированных антропогенными поллютантами, у домовых мышей из Гиссарской долины // Экология. – 1993. – № 1. – С. 62–70.
3. Гилева Э. А., Любашевский Н. М., Стариченко В. И., Чубрияк М. В., Романов Г. Н. Наследуемая хромосомная нестабильность у обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*) из района Кыштымской ядерной аварии – факт или гипотеза? // Генетика. – 1996. – Том 32, № 1. – С. 114–119.
4. Гилева Э. А., Нохрин Д. Ю., Стариченко В. И. Хромосомная нестабильность у потомков полевок из зоны радиационного неблагополучия // Генетика. – 2000. – Том 36, № 5. – С. 714–717.
5. Гончарова Р. И., Рябоконь Н. И., Луквин А. М. Динамика мутабильности соматических и половых клеток животных, населяющих районы выпадения радиоактивных осадков // Цитология и генетика. – 1996. – Том 30, № 4. – С. 35–41.
6. Дмитриев С. Г. Оценка цитогенетического гомеостаза в природных популяциях мелких мышевидных грызунов в районе нижней (г. Астрахань) и средней (г. Чапаевск) Волги // Генетика. – 1997. – Том 33, № 11. – С. 1589–1592.
7. Дмитриев С. Г. Цитогенетическая нестабильность у трех видов грызунов в районе химического предприятия на севере России // Экология. – 1997. – № 6. – С. 447–451.
8. Загороднюк И. В. Кариотипическая изменчивость 46-хромосомных форм полевок группы *Microtus arvalis* (Rodentia): таксономическая оценка // Вестник зоологии. – 1991. – № 1. – С. 36–45.
9. Зима Я., Загороднюк И. В., Гайченко В. А., Жежерина Т. О. Полиморфизм и хромосомная изменчивость *Microtus rossiaeimeridionalis* (Rodentiformes) // Вестник зоологии. – 1991. – № 4. – С. 48–53.
10. Kral B., Lehmann von E., Zejda J. Die Hybriden zweier Unterarten der Rotelmaus (*Clethrionomys glareolus* Schreb.) // Zool. Listy. – 1972. – Vol. 21, N 1a. – P. 43–61.
11. Mazurok N. A., Nesterova T. B., Zakian S. M. High-resolution G-banding of chromosomes in *Microtus subarvalis* (Rodentia, Arvicolidae) // Hereditas. – 1995. – Vol. 123. – P. 47–52.

Отримано: 11 листопада 2004 р.

Прийнято до друку: 15 березня 2005 р.