

Olga Cîrstea
**RĂSPÂNDIREA POLIMORFISMELOR GENELOR CU IMPACT
ÎN DEZVOLTAREA ASTMULUI BRONȘIC ÎN POPULAȚIA DE MOLDOVENI**
*Laboratorul Științific Pediatrie, conducător – dr. med., conf. cercet., Ala Cojocaru
IMSP ICȘDOSMșiC (director științific – dr. hab. medicină, prof. univ. P. Stratulat)*

SUMMARY

**THE SPREAD OF CANDIDATE GENE POLYMORPHISMS THAT AFFECT
ASTHMA SUSCEPTIBILITY IN MOLDOVAN POPULATION**

Key words: atopy, asthma, candidate genes, polymorphism, population

Background: Bronchial asthma is a highly prevalent chronic inflammatory disease of the respiratory tract, which development involves numerous immune mechanisms based on the interaction of genetic and environmental factors. Thus, research of the genetic background of asthma mechanisms in ethnically diverse populations is of highly interest.

The study was aimed to evaluate the spread of asthma candidate genes in the population group of healthy Moldovans.

Material and methods: The studied population included 97 conditionally healthy Moldovans who showed no signs or history of allergic diseases, of which 92,8% were children (mean age 13,5±0,2 years). Gene frequency of several groups of candidate genes in the population was studied: genes coding for the xenobiotic-metabolizing enzymes (GSTT1, GSTM1, GSTP1 and NAT2), genes of the immune inflammation mediators (IL-4, IL-4Ra and TNFα) and genes playing a protective role in the inflammatory process at the level of the respiratory tract – NOS1 and CC16.

Results: analysis of the xenobiotic-metabolizing enzymes genes frequency in the studied population showed a prevalence of normal variants of GST genes, compared to functionally compromised once. Thus, normal genotype GSTT1+ was identified in 67,0±5,8% of subjects, genotype GSTM1+ in 52,6±6,9%, wild homozygous genotypes Ile105Ile and Ala114Ala of the GSTP1 gene polymorphisms were found in 45,4±7,5% and 72,2±5,4% of subjects, respectively. A different situation was seen for the polymorphisms of the NAT2 gene – the study revealed a high carriage of moderate and slow acetylator alleles in 94,8% of healthy subjects. Polymorphic variants of inflammatory mediator genes were found in approximately one-thirds of healthy participants. The homozygous genotype NOS1 >12/>12 that is shown to be associated with asthma in other studies was identified only in 16,5±9,3%, while polymorphic variants of the CC16 gene were significantly more frequent than the wild type (60,8±6,4% u 39,2±7,9%; p<0,05).

Conclusions: The study revealed a high percentage of polymorphic variants of asthma candidate genes in healthy population of the republic. Thus, there were identified an increased number of carriers of functionally compromised genes that codes xenobiotic-metabolizing enzymes and CC16 gene. These findings suggest a potentially raised susceptibility to negative environmental influences and predisposition to respiratory morbidity in this particular group.

РЕЗЮМЕ

**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ВЛИЯЮЩИХ
НА РАЗВИТИЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ В МОЛДАВСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

Ключевые слова: атопия, бронхиальная астма, гены-кандидаты, полиморфизм, популяция

Актуальность: Бронхиальная астма является распространенным хроническим воспалительным заболеванием дыхательных путей, в развитии которого участвуют множественные иммунные механизмы, формирующиеся при взаимодействии генетических и средовых факторов.

Цель: Исследование распространенности генов кандидатов бронхиальной астмы у здоровых резидентов в молдавской этнической группе.

Материалы и методы: Популяционную группу исследования составили 97 условно здоровых молдаван, у которых не было обнаружено признаков аллергических заболеваний, их них 92,8% были дети (средний возраст составил 13,5±0,2 лет). Молекулярно-генетическими методами была исследована распространенность полиморфизмов генов системы детоксикации ксенобиотиков (GSTT1, GSTM1, GSTP1 и NAT2), генов медиаторов

имунного воспаления (IL-4, IL-4Rα и TNFα) а также генов играющие защитную роль при воспалительном процессе на уровне дыхательных путей – NOS1 и CC16.

Результаты: анализ распространенности генов GST указывает на более высокую частоту нормальных вариантов генов, в сравнении с функционально неполноценными вариантами (генотип GSTT1+ был выявлен у 67,0±5,8% исследуемых; генотип GSTM1+ у 52,6±6,9%; генотипы Ile105Ile и Ala114Ala гена GSTP1 у 45,4±7,5% и 72,2±5,4%, соответственно), тогда как исследование полиморфизмов гена NAT2 выявило выраженную высокую распространенность генотипов „средних и медленных ацетиляторов” (94,8%). Полиморфные варианты генов воспалительных медиаторов были обнаружены у 1/3 условно здоровых участников. Ассоциированный с астмой генотип NOS1 >12/>12 был выявлен лишь у 16,5±9,3% группы, тогда как функционально неблагоприятные варианты гена CC16 определялись достоверно чаще по сравнению с нормальным вариантом (60,8±6,4% и 39,2±7,9%; $p < 0,05$).

Выводы: Исследование генов кандидатов бронхиальной астмы в популяционной группе здорового населения Молдовы выявило высокий процент носительства малофункциональных генов системы детоксикации ксенобиотиков и гена CC16, что указывает на потенциально повышенную чувствительность к негативным воздействиям внешней среды и предрасположенность к развитию воспалительных заболеваний дыхательных путей.

Astmul bronșic (AB) reprezintă o afecțiune inflamatorie a căilor respiratorii, cu înaltă răspândire și în dezvoltarea căreia sunt implicate numeroase mecanisme imune. Având un impact socio-economic marcant și o influență negativă asupra nivelului sănătății și calității vieții pacienților, AB figurează în lista problemelor majore de sănătate ale omenirii. Evoluția cronică, cu recidive frecvente ale astmului, care deseori debutează în fragedă copilărie și evoluează pe parcursul întregii vieți, gradul înalt de invalidizare și mortalitate asociate maladiei determină necesitatea cercetării mecanismelor complexe ale acestei patologii pentru a elabora metode eficiente de diagnostic și profilaxie. Studiile epidemiologice indică o variabilitate înaltă a prevalenței AB în țările lumii – de la 1% la 18% [18].

Astmul bronșic este modelul clasic al maladiilor care se dezvoltă sub acțiunea cumulativă a factorilor genetici și de mediu [16]. Numeroase studii de asociere indică faptul că în patogeneza AB participă un șir de gene care interacționează funcțional între ele (rețele genice), inclusiv genele principale – gene-cheie, și gene-modificatoare, efectul fenotipic al cărora depinde de factorii mediului ambiant [17]. Totodată, în populația de moldoveni, până în prezent, nu a fost studiată frecvența de răspândire a genelor implicate în mecanismele de dezvoltare și/sau evoluție a astmului bronșic.

Scopul studiului a urmărit evaluarea răspândirii genelor candidate pentru astm bronșic și atopie la subiecții „condiționat sănătoși” din grupul populațional de naționalitate moldovenească, și a avut drept **obiective** examinarea frecvenței polimorfismelor genelor sistemului de detoxifiere a xenobioticelor (GSTT1, GSTM1, GSTP1 și NAT2), genelor mediatorilor inflamației imune (IL-4, IL-4Rα și TNFα) și a genelor cu rol important în evoluția procesului inflamator la nivelul căilor respiratorii – NOS1 și CC16.

Materiale și metode. Grupul populațional a inclus 97 indivizi care nu suferă de astm bronșic sau alte maladii alergice, 90 din ei fiind copii cu vârsta cuprinsă de la 5 la 18 ani (vârsta medie 13,5±0,2 ani) și 7 adulți cu

vârsta mai mare de 18 ani (vârsta medie 40,9±2,7 ani). Toți participanții în studiu au fost evaluați anamnestice, clinic și imunologic pentru a exclude prezența maladiilor alergice și au semnat consimțământul informat de colaborare. După componența etnică grupul a fost omogen și a inclus doar moldoveni. ADN-ul genomic a fost extras din limfocitele sângelui periferic prin metoda standard și aplicarea metodei de polimerizare în lanț (RPL) în colaborare cu Laboratorul de Diagnostic Prenatal al Maladiilor Ereditare și Congenitale al ICȘ Obstetrică și Ginecologie „D. Otto” al AȘM a Federației Ruse (or. Sankt-Petersburg). Prelucrarea statistică a rezultatelor studiului a fost efectuată cu aplicarea programului statistic MS Office Excel 2003 [Microsoft]. Dependența statistică dintre parametrii calitativi ai frecvenței genotipurilor studiate s-a apreciat prin calcularea criteriului *Student*. Veridicitatea modificărilor indicilor a fost estimată prin coeficientul *p*.

Rezultate. Genele care codifică glutatión-S-transferazele (GSTT1, GSTM1, GSTP1 și NAT2) – enzime ale sistemului de detoxifiere a xenobioticelor, sunt cunoscute nu doar pentru rolul lor în metabolizarea substraturilor toxice exogene, ci și pentru faptul că ele dezvoltă activitate peroxidazică și astfel pot determina un mecanism protectiv important împotriva stresului oxidativ [6]. Aceste gene sunt în lista genelor candidate datorită prezenței alelelor funcțional defecuoase, formate prin deleția sau modificarea materialului genetic. Astfel, indivizii purtători de polimorfism pot manifesta metabolizarea „rapidă”, „moderată” sau „lentă” a xenobioticelor și a substraturilor endogene, acest fapt având un rol patogenetic important.

Pentru genele GSTT1 și GSTM1 a fost evaluată frecvența genotipurilor nule – GSTT1 0/0 și GSTM1 0/0, care se formează prin deleția secvențelor genomice și determină reducerea semnificativă a activității enzimatice. Pentru gena GSTP1 au fost studiate două polimorfisme – GSTP1 313 A>G și GSTP1 341 C>T, care rezultă din modificările nucleotidelor în poziția 313 prin transferul acizilor nucleici A↔G (alanina↔guanina)

și în poziția 341 prin transferul acizilor nucleici C↔T (citozina↔timina). Aceste transferuri modifică codonul 105 (Ile105Val) și codonul 114 (Ala114Val) și, respectiv, funcționalitatea enzimei codificate de această genă. Alelele normale ale genei GSTP1 sunt Ile¹⁰⁵ și Ala¹¹⁴, iar alelele minore sunt Val¹⁰⁵ și Val¹¹⁴ pentru polimorfismele Ile105Val și Ala114Val, respectiv. Pentru gena NAT2 au fost investigate trei polimorfisme care determină formarea a patru tipuri de alele – alela normală *4 (wt) și alelele minore „acetilatoare lente”, indicate în ordinea descreșterii funcționalității enzimelor codificate: *5 (481 C>T), *6 (590 G>A) și *7 (857 G>A). În funcție de alelele moștenite, se disting 3 categorii de persoane: acetilatorii rapizi, intermediari și lenți. La aceștia din urmă nivelul de expresie a enzimei NAT2 este redus cu 20%.

Analiza rezultatelor examinării molecular-genetice a grupului populațional general de moldoveni incluși în studiu demonstrează o frecvență mai înaltă a genotipurilor normale ale genelor GST în comparație cu cele funcțional incompetente: pentru gena GSTT1 - 67,0±5,8% subiecți cu genotipul normal GSTT1+ față de 33,0±8,3% cu genotipul nul GSTT1 0/0 (t=3,6; p<0,001); genotipul GSTM1+ a fost cu o ușoară prevalență mai frecvent identificat în comparație cu genotipul nul GSTM1 0/0 (52,6±6,9% față de 47,4±7,4%, respectiv; p>0,05); pentru polimorfismul GSTP1 313 A>G - 45,4±7,5% subiecți cu genotipul normal Ile105Ile față de 9,3±9,7% persoane cu genotipul homozigot nefavorabil Val105Val (t=5,5; p<0,001); pentru polimorfismul GSTP1 341 C>T - genotipul normal Ala114Ala la 72,2±5,4% subiecți față de 27,8±8,6% subiecți purtători ai genotipului heterozigot funcțional

compromis Ala114Val (t=4,9; p<0,001), fig. 1:

Spre deosebire de celelalte gene cu rol de metabolizare a xenobioticelor, gena NAT2 a demonstrat o repartizare inversă a genotipurilor funcționale în comparație cu cele defectuoase, fiind mai frecvent identificate genotipurile „acetilatoare lente” (fig. 2):

Cel mai frecvent au fost identificați acetilatorii lenți (în sumă 59,8±6,4%) în comparație cu 5,2±9,9% indivizi cu genotip normal *4(wt)/*4(wt) (t=9,1; p<0,001) și acetilatorii intermediari (*4(wt)/*5 și *4(wt)/*6) care au constituit 35,1±8,2% față de 5,2±9,9% genotipuri normale (t=5,3; p<0,001). Purtătorii genotipurilor NAT2 funcțional compromise constituie grupul cu susceptibilitate marcantă pentru acțiunea negativă a factorilor mediului ambiant.

Al doilea grup de gene studiate a inclus genele citochinelor proinflamatorii (IL-4, IL-4Rα și TNFα) care sunt implicate în mecanismele de reglare ale procesului inflamator. Inflamația alergică este un tip special de inflamație caracterizată prin hiperproducția de imunoglobulină E (IgE) și eozinofilia tisulară. Limfocitele T au rol reglator principal în cadrul procesului inflamator alergic. Caracteristica inflamatorie primară în astmul bronșic constă în acumularea de limfocite Th CD4+ tip Th₂ și eozinofile în mucoasa căilor aeriene. Profilul citochinic specific limfocitelor Th₂, prin care orchestrează inflamația alergică, include interleuchine (IL-4, IL-13, IL-5 și IL-9, IL-1β), factor de necroză tumorală cu funcții imunoreglatoare (TNF-α), chemochine ș.a. Interleuchina 4 este un factor major pentru reglarea producției de IgE de către limfocitele B și diferențierea optimă a limfocitelor Th₂, în timp ce acțiunea primară a mediatorului TNF-α este îndreptată asupra celulelor

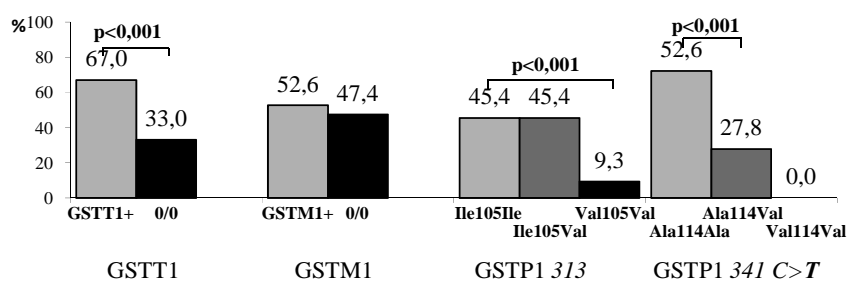


Fig. 1. Frecvența genotipurilor polimorfismelor genelor GSTT1, GSTM1 și GSTP1 în grupul populațional general

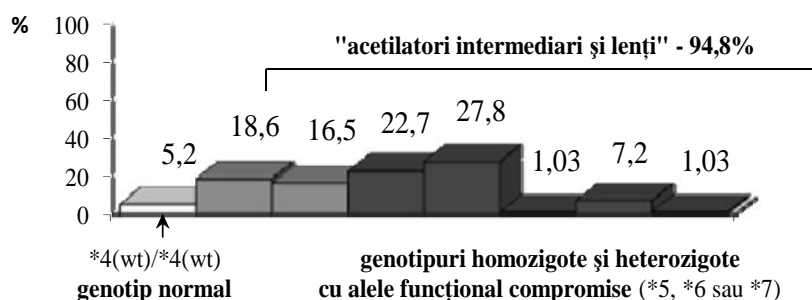


Fig. 2. Frecvența genotipurilor NAT2 în grupul populațional general în funcție de polimorfismele studiate

musculare netede, celulelor epiteliale și endoteliale din bronhii și rezultă cu formarea de leziuni substanțiale ale epiteliului normal, hiperplazia mușchilor netezi și vasoconstricție. Polimorfismul dialelic condiționat de substituția guaninei (G) prin adenozină (A) în poziția -308 a promotorului genei TNF α este considerat a fi un factor important care influențează rata de transcripție și sinteză proteică a acestui mediator.

A fost studiată frecvența polimorfismelor genelor IL-4 (IL-4 -590 C>T), IL-4R α (IL-4R α Arg551Gln) și TNF α (TNF α -308 G>A) și a alelelor minore, formate în urma mutațiilor genice (T, Arg și A, respectiv). Având în vedere frecvența mică a genotipurilor cu ambele alele minore ale polimorfismelor studiate, am unificat genotipurile cu una sau ambele alele într-un singur grup pentru a fi analizat în comparație cu genotipul normal (fig. 3):

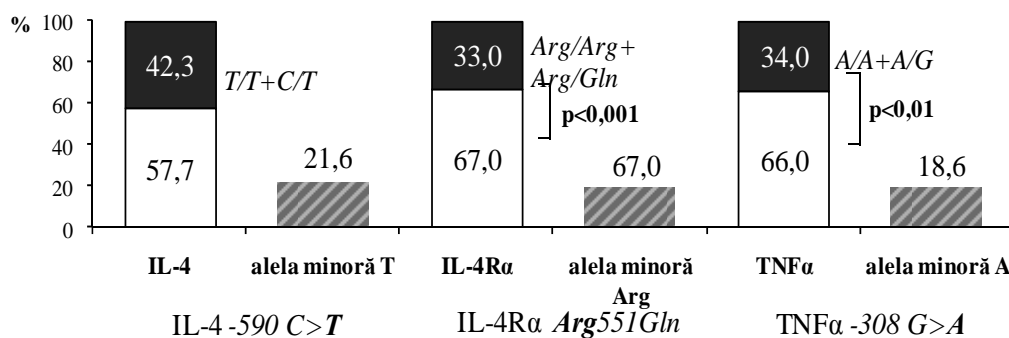


Fig. 3. Frecvența polimorfismelor genelor IL-4, IL-4R α și TNF α în grupul de studiu

Astfel, la persoanele fără simptome sugestive pentru astm bronșic genotipurile cu una sau ambele alele mutante ale genelor IL-4, IL-4R α și TNF α au fost identificate cu o frecvență mai mică față de cele normale: 42,3 \pm 7,72% față de 57,7 \pm 6,6% pentru polimorfismul IL-4 -590 C>T (p>0,05); 33,0 \pm 8,31% față de 67,0 \pm 5,83% pentru polimorfismul IL-4R α Arg551Gln (t=3,56; p<0,001); 34,0 \pm 8,25% vizavi de 66,0 \pm 5,92% pentru polimorfismul TNF α -308 G>A, respectiv (t=3,33; p<0,01). Aceste rezultate indică o frecvență destul de înaltă (la 1/3 din populație) a polimorfismelor studiate, în timp ce studiile efectuate în alte grupuri etnice demonstrează posibilitatea interacțiunii între aceste gene și mediatorii codificați de ele în realizarea atopiei [9, 11].

Pe lângă influențele proinflamatorii determinate de primele două grupuri de gene, prezintă interes cercetarea genelor implicate în asigurarea mecanismelor protective la nivelul căilor aeriene. Cercetările științifice realizate până în prezent au permis o mai bună înțelegere a rolului oxidului de azot (NO) în dezvoltarea atopiei și astmului bronșic [5, 7, 14]. NO deține rolul mediatorului de semnalizare, fiind implicat în reglarea numeroaselor procese biologice, inclusiv a procesului inflamator și a hiperreactivității bronșice. S-a stabilit că majorarea cantității de NO în aerul expirat ca răspuns la inhalarea alergenului este asociată gradului de expresie al manifestărilor clinice ale AB [14]. A fost descrisă și participarea NO în dezvoltarea răspunsului imun în cadrul inflamației alergice. Reglarea procesului de formare a NO este efectuată de enzimele NO-sintaze, două din ele fiind constitutive (NOS1 neuronală și NOS3 endotelială) și una inducibilă (NOS2). Gena NOS1 este localizată pe cromozomul 12 (12q24), iar polimorfismul acestei gene este exprimat prin numărul de repetitivități ale secvenței nucleotidice (AAT)_n în intronul 20 al genei. Aceasta poate determina

variabilitatea de sinteză a NO și constituie esența biologică a susceptibilității pentru dezvoltarea AB. Repartizarea variantelor alelice ale genei NOS1 este bimodală, cea mai mică frecvență având alela cu 12 repetitivități (AAT). De aceea, frecvent alelele studiate sunt cu numărul mai mare sau mai mic de 12 repetitivități AAT.

Un alt mecanism protectiv este asigurat la nivelul bronșioloel terminali și respiratorii, unde se găsesc celulele nonciliate (Clara) care secretă un produs proteic și surfactantul pulmonar, iar gena responsabilă de activitatea secretorie a lor se numește CC16 (Clara Cell secretory gene). Aceste celule dețin un rol important imunomodulator și antiinflamator în cadrul inflamației alergice. Proteina CC16 inhibă chemotaxia neutrofilelor și a monocitelor, precum și controlează proliferarea și migrarea fibroblaștilor, concomitent inhibând *in vitro* producerea și activitatea biologică a interferonului γ , având astfel potențial antiinflamator exprimat [2, 8].

Pentru aceste gene au fost studiate polimorfismul cu mai multe și mai puține de 12 repetitivități (AAT) în intronul 20 al genei NOS1 și polimorfismul 38 G>A al genei CC16 (alela minoră A). Rezultatele obținute în grupul de moldoveni „condiționat sănătoși” sunt prezentate în figura 4:

Analizând răspândirea genotipurilor genei NOS1, se observă o frecvență aproape egală a genotipului cu ambele alele <12 (AAT) și a genotipului heterozigot NOS1 <12/>12 (43,3 \pm 7,7% și 40,2 \pm 7,9%, respectiv), și doar în 16,5 \pm 9,3% a fost identificat genotipul homozigot >12/>12. Totodată, rezultatele studiilor rolului genei NOS1 sunt contradictorii. Astfel, Wechsler și colab. (2000) [15] au arătat un nivel redus de FeNO în aerul expirat la pacienții cu genotipul NOS1 >12/>12 și astm bronșic și au concluzionat că acest genotip asigură o evoluție mai favorabilă a maladiei cu o intensi-

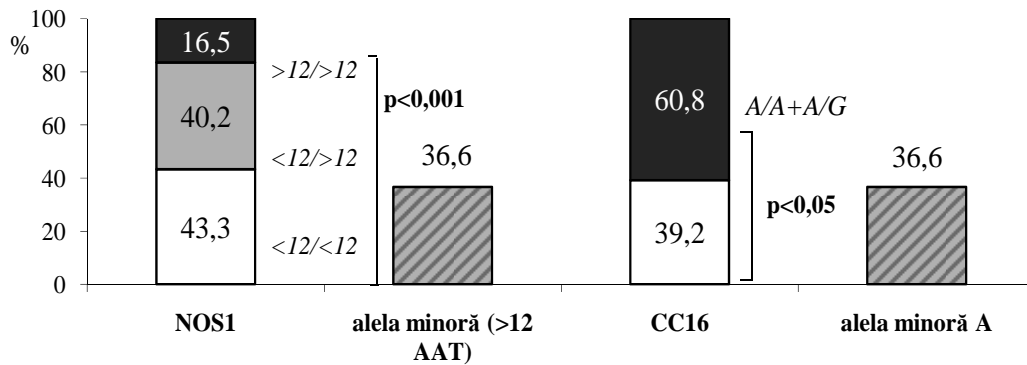


Fig. 4. Frecvența polimorfismelor genelor NOS1 și CC16 în grupul de studiu

tate redusă a procesului inflamator. Alți cercetători au demonstrat asocierea genotipului NOS1 >12/>12 cu dezvoltarea astmului bronșic atopic la copii, însă fără existența unei corelații cu nivelul majorat de IgE seric [1]. Genotipurile genei CC16 cu una sau ambele alele funcțional compromise (CC16 A/A+G/A) au fost identificate la 60,8±6,4% din subiecți, iar genotipul normal în 39,2±7,9% cazuri (t=2,18; p<0,05). Aceste date sunt sugestive pentru risc înalt de dezvoltare a procesului inflamator alergic la nivelul căilor aeriene.

Concluzii:

1. Răspândirea genelor GST la persoanele „condiționat sănătoase”, etnici moldoveni, indică o frecvență înaltă a genotipurilor funcțional compromise (GSTT1 0/0, GSTM1 0/0, GSTP1 Val105Val și Ile105Val) și frecvență semnificativ înaltă a acetilatorilor lenți NAT2. Aceasta denotă capacitățile reduse de detoxifiere ale organismului în populația studiată și o susceptibilitate sporită la acțiunea negativă a factorilor mediului ambiant.

2. Variantele nefavorabile ale genei CC16 au o înaltă răspândire în populația dată, ceea ce denotă un potențial redus de apărare a mucoasei căilor respiratorii la acțiunea agenților lezanți exogeni și predispune la dezvoltarea afecțiunilor tractului respirator.

Bibliografie

1. Ali M, et al. NOS1 polymorphism is associated with atopy but not exhaled nitric oxide levels in healthy children. *Pediatric Allergy and Immunology* 2003; 14(4): 261-5.
2. Broeckaert F, Bernard A. Clara cell secretory protein (CC16): characteristics and perspectives as lung peripheral biomarker. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 469-75.
3. Chelbi H, et al. Association of GST Genes Polymorphisms with Asthma in Tunisian Children. *Mediators of Inflammation* 2007; 1: 1-6.
4. Fryer AA, et al. Polymorphism at the glutathione S-transferase GSTP1 locus. A new marker for bronchial hyper-responsiveness and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1437-42.
5. Grasemann H, et al. A neuronal NO synthase (NOS1) gene polymorphism is associated with asthma. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 272: 391-4.
6. Hayes J, Strange R. Glutathione S-transferase

polymorphisms and their biological consequences. *Pharmacology* 2000; 61: 154-66.

7. Iijima H, Tulic MK, Duguet A, et al. NOS 1 is required for allergen-induced expression of NOS 2 in mice. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; 138: 40-50.

8. Laing IA, et al. Association between plasma CC16 levels, the A38G polymorphism, and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 124-7.

9. Lee S-G, Kim B-S, Kim J-H, et al. Gene-gene interaction between interleukin-4 and interleukin-4 receptor a in Korean children with asthma. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1202-1208.

10. Nickel R, et al. Association study of Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) with asthma and bronchial hyper-responsiveness in two German pediatric populations. *Pediatr Allergy Immunol* 2005; 16: 539-41.

11. Risma KA, Wang N, Andrews RP et al. V75R576 IL-4 receptor alpha is associated with allergic asthma and enhanced IL-4 receptor function. *J Immunol* 2002; 169: 1604-10.

12. Romieu I, et al. GSTM1 and GSTP1 and respiratory health in asthmatic children exposed to ozone. *Eur Respir J* 2006; 28: 953-959.

13. Tamer L, et al. Glutathione-S-transferase gene polymorphisms (GSTT1, GSTM1, GSTP1) as increased risk factors for asthma. *Respirology* 2004; 9: 493-8.

14. Wang T-N, et al. The effects of NOS1 gene on asthma and total IgE levels in Taiwanese children, and the interactions with environmental factors. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: 1064-1071.

15. Wechsler ME, Grasemann H, Deykin A, et al. Exhaled Nitric Oxide in Patients with Asthma. Association with NOS1 Genotype. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 2043-2047.

16. Zhu S, Chan-Yeung M, Becker AB, Dimich-Ward H, Ferguson AC, Manfreda J, et al. Polymorphisms of the IL-4, TNF-alpha, and Cepsilon3 Ribeta genes and the risk of allergic disorders in at-risk infants. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1655-9.

17. Баранов В.С., Иващенко Т.Э., Лаврова О.В., и др. Некоторые молекулярно-генетические аспекты этиопатогенеза атопической бронхиальной астмы. *Медицинская генетика* 2008; 10: 3-13.

18. Геппе Н.А., Каганов С.Ю. Национальная программа „Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика и ее реализация”. *Пульмонология* 2002; 1: 38-42.