

**УДК 575.224.4**

**ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ  
АЛКИЛИРУЮЩИХ АГЕНТОВ В ИССЛЕДОВАНИЯХ НА ДРОЗОФИЛЕ**

**Н.В. Савина, О.В. Даливеля, Н.В. Никитченко, Т.Д. Кужир**  
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Исследовано влияние малых доз алкилирующих агентов (0.05–0.1 мМ) на выживаемость половых клеток и плодовитость особей, уровень эмбриональной и постэмбриональной летальности, а также частоту рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций, индуцированных высокими дозами мутагенов у *Drosophila melanogaster*. Предобработка взрослых самцов низкими дозами метил- и этилметансульфоната (ММС, ЭМС) не влияла или даже усиливала цитотоксические и мутагенные эффекты последнего как в зрелых половых клетках, так и на премейотических стадиях сперматогенеза. В отличие от этого, предобработка личинок низкими дозами ЭМС защищала их от действия более высоких доз, что существенно повышало плодовитость самцов, снижало эмбриональную и постэмбриональную летальность в F<sub>1</sub>, приводило к трехкратному уменьшению частоты мутаций в F<sub>2</sub>. Степень проявления адаптивного ответа зависела от стадии развития дрозофилы, подвергавшейся ударному воздействию, так как защита была максимальной у личинок и практически отсутствовала, если взрослые самцы подвергались ударной обработке. По-видимому, наблюдаемый адаптивный ответ может быть обусловлен как репарацией ДНК, так и другими защитными механизмами.

---

**Введение.** Известно, что предварительное слабое воздействие повышает резистентность про- и эукариотических клеток к эффектам биологически значимых доз того же экзогенного фактора. Это явление, открытое в 1977 г. у *E. coli* на примере действия алкилирующего агента N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина (МННГ) и получившее название «адаптивного ответа», наиболее детально изучено в связи с репарацией ДНК, прежде всего, с функционированием O<sup>6</sup>-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (МГМТ) [1–5]. Однако, появляется все больше сведений об адаптивном ответе на разнообразные факторы как химической, так и физической природы, а также о перекрестной адаптации, вызванной одними агентами против других [6–11], что предполагает вовлечение менее специфических механизмов в этот защитный процесс.

Следует отметить, что адаптивный ответ слабо изучен на организменном уровне, несмотря на его очевидное значение для индивидуальной приспособ-

ленности к экологически неблагоприятным условиям. Практически отсутствуют данные об адаптивном ответе половых клеток, особенно против точечных мутаций, что представляет большой интерес как один из механизмов, препятствующих их распространению в популяции. Ранее нами исследовано влияние малых доз алкилирующего агента ЭМС при обработке взрослых особей (как самцов, так и самок) на биологическую эффективность этого мутагена в сперматозоидах дрозофилы и показано, что при данных экспериментальных условиях адаптивный ответ не наблюдается [12]. В рамках этой работы продолжено изучение адаптивного ответа половых клеток взрослых особей в связи с репарацией ДНК, а именно исследовано влияние малых доз алкилирующих агентов на биологические эффекты высокой дозы ЭМС в зависимости от стадий сперматогенеза, резко различающихся по активности репарационных процессов. Для сравнения изучено влияние адаптирующей обработки личиночной стадии развития дрозофилы на проявление эффектов больших доз этого мутагена как у личинок, так и у имаго.

**Материалы и методы.** Для моделирования химического мутагенеза и адаптивного ответа применяли монофункциональные алкилирующие агенты этилметансульфонат (ЭМС, CAS NO. 62-50-0S) и метилметансульфонат (ММС, CAS NO. 66-27-3) фирмы Sigma. Необходимые концентрации этих соединений получали разведением либо в 1% растворе сахарозы, либо в питательной среде. Для адаптирующей обработки взрослых особей и личинок использовали алкилирующие агенты в дозах, не превышающих 0.1 мМ, для ударной обработки личинок применяли ЭМС в дозе 1 мМ, тогда как ударные дозы этого мутагена для взрослых особей варьировали от 1 до 10 мМ.

Опыты проведены на *Drosophila melanogaster*, использованы линии *Berlin wild* (дикого типа) для отбора самцов и *Basc* (генотип  $In(1) sc^{S1L} sc^{8R} + S, sc^{S1} sc^8 w^a B$ ) для отбора виргинных самок. Ударному воздействию ЭМС подвергались самцы путем кормления взрослых особей раствором препарата в 1% сахарозе [13], или кормлением личинок путем добавления препарата в питательную среду [14]. Эти варианты обработок, в отсутствии других процедур, соответствовали положительному контролю, тогда как кормление самцов 1% раствором сахарозы, либо выращивание на обычной питательной среде соответствовало спонтанному контролю.

Для изучения адаптивного ответа провели 2 серии опытов. В первой серии предварительному воздействию малой дозы алкилирующих агентов подвергались взрослые самцы дикого типа путем кормления 0.1 мМ раствором мутагена в течение 12 ч, после чего они обрабатывались ЭМС (10 мМ, продолжительность кормления варьировала от 12 до 21 ч). Между адаптирующим и ударным воз-

действием половина самцов помещалась на 1% раствор сахарозы на 12 часов, тогда как остальные подвергались непрерывной обработке сначала малой дозой ЭМС или ММС, а затем высокой дозой ЭМС, то есть в одном случае соблюдался, а в другом отсутствовал 12-часовой интервал между обработками. Самцы из контрольных и опытных групп спаривались с виргинными самками *Vasc* в индивидуальных культурах при соотношении 5♀ × 1♂. В этой экспериментальной серии применялся метод перебросок самца к новым виргинным самкам каждые двое суток для последовательного отбора мужских половых клеток, обработанных на разных стадиях сперматогенеза [15], при этом 1-я двухсуточная посадка соответствовала зрелым сперматозоидам, а 4-я и 5-я – премейотическим стадиям сперматогенеза.

Во второй серии экспериментов адаптирующей обработке подвергались личинки *Berlin wild*, которые сначала развивались на обычной питательной среде, а по достижении двухсуточного возраста переносились на среду, содержащую ЭМС в концентрации 0.05мМ. Через сутки личинок отмывали и переносили на питательную среду, содержащую ударную дозу мутагена (в данном случае, 1мМ ЭМС). В этих культурах они оставались до окукливания и вылета имаго. Часть личинок, обработанных малой дозой мутагена, после отмывки развивалась на обычной питательной среде, а ударному воздействию (дозами 1 или 5мМ) подвергались уже взрослые самцы. Спаривание самцов с виргинными самками *Vasc*, как и в предыдущей серии, проводили в индивидуальных культурах при строгом соблюдении соотношения 5♀ × 1♂.

В опытах учитывали: 1) стерильность родительских самцов по частоте полностью стерильных культур в F<sub>1</sub>; 2) их фертильность по количеству вылупившихся потомков F<sub>1</sub>; 3) доминантную летальность на эмбриональной и постэмбриональной стадии развития потомков F<sub>1</sub>, обусловленную разрывами хромосом в обработанных мутагеном половых клетках [15, 16]; 4) частоту рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций (РСПЛМ) в F<sub>2</sub> [15, 17]. Достоверность различий между вариантами оценивали по критерию  $\chi^2$  и тесту Cochran (для частотных показателей), а также t-критерию Стьюдента (для абсолютных значений). Программы для компьютерного статистического анализа результатов разработаны ведущим научным сотрудником Института генетики и цитологии НАНБ, к.б.н. Аношенко Б.Ю.

**Результаты и обсуждение.** Для индукции адаптивного ответа в половых клетках взрослых самцов применялись оба алкилирующих агента (ЭМС и ММС) в дозах 0.1мМ, тогда как для ударной обработки использовали ЭМС в дозе 10мМ. Как указывалось ранее, между этими обработками в некоторых вариантах соблюдался 12-часовой интервал. Предварительно проанализированы физиологи-

ческие показатели. Стерильность самцов, обработанных ударной дозой ЭМС, поддерживалась на уровне спонтанного контроля, тогда как их предобработка малой дозой, вызывала увеличение частоты стерильных культур при параллельном уменьшении количества потомков (рис. 1).

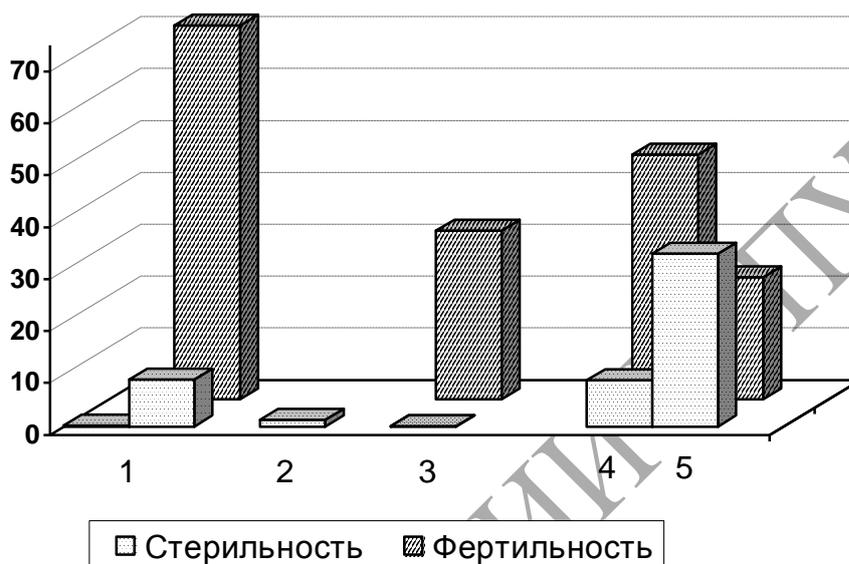


Рис. 1. Влияние ЭМС на физиологические показатели у самцов дикого типа при различных условиях воздействия

Стерильность самцов определялась по частоте стерильных культур F1, %; а фертильность – по количеству потомков на культуру (абсолютное число). 1 – спонтанный уровень; 2, 3, 4 – ударная обработка взрослых самцов ЭМС в дозах, соответственно, 1, 5 и 10 мМ; 5 – вариант последовательного воздействия на имаго ЭМС в дозах 0.1 и 10 мМ.

Предварительная обработка такой же дозой ММС не вызывала столь явных изменений стерильности и фертильности самцов (рис. 2). Однако оценка средней продукции потомков во всех проанализированных посадках (1-я, 4-я и 5-я) свидетельствует о снижении этого показателя (40.21 без интервала или 42.01 с 12-часовым интервалом) после адаптивной обработки по сравнению с ударным воздействием (49.67). Сравнение проводилось по t-критерию, достоверные различия получены при  $P < 0.01$ .

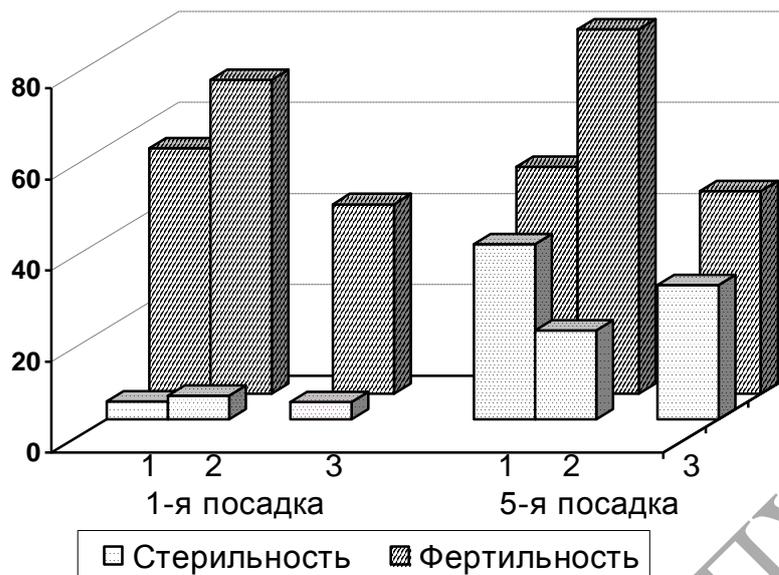


Рис. 2. Влияние ММС и ЭМС на физиологические показатели у самцов дикого типа в зависимости от стадий сперматогенеза и при различных условиях воздействия

1 – обработка имаго ЭМС в дозе 10 мМ; 2 – обработка имаго ММС в дозе 0.1 мМ; 3 – вариант последовательного воздействия малой дозой ММС и большой дозой ЭМС; 1-я посадка соответствует ответу сперматозоидов, 5-я – ответу сперматогониев.

Результаты анализа мутабельности половых клеток самцов дикого типа в зависимости от условий обработки алкилирующими агентами и стадии сперматогенеза представлены в табл. 1. Из литературы известно, что использованные для адаптирующей обработки дозы ЭМС и ММС (0.1мМ) являются нетоксичными и практически немутагенными [18–20]. Относительно ММС это подтверждается и в наших опытах. Чувствительность к мутагенам изменяется в зависимости от стадий сперматогенеза. Наиболее чувствительны к ЭМС сперматозоиды, что характерно и для других мутагенов прямого действия, тогда как уровень мутаций в премейотических клетках падает в 3–5 раз в связи с интенсивной репарацией ДНК именно на этих стадиях сперматогенеза [21, 22].

Из таблицы видно, что предобработка малой дозой ЭМС не изменяет частоту мутаций, индуцированных в сперматозоидах большой дозой мутагена, независимо от того, соблюдался ли между адаптирующим и ударным воздействием 12-часовой интервал. Анализ результатов в сопряженных выборках по тесту Cochran ( $z$ -критерий) также демонстрирует отсутствие какого-либо влияния малой дозы ЭМС на мутабельность сперматозоидов, индуцированную ударным воздействием.

Таблица 1

Влияние предобработки взрослых самцов малыми дозами алкилирующих агентов на частоту ЭМС-индуцированных мутаций на разных стадиях сперматогенеза

Обработка мутагенами			Посадка	Количество проанализированных		Частота РСПЛМ, %	
0.1 мМ	Интервал между экспозициями, ч	ЭМС 10 мМ, ч		родительских самцов	хромосом	фактическая	теоретически ожидаемая
Спонтанный контроль			1	259	2798	0.32	—
Положительный контроль			1	40	876	17.71	—
			4–5	28	538	3.16*	—
—	—	21	1	61	785	21.91	—
ЭМС	—	21	1	40	242	23.97	—
—	—	12	1	71	1165	16.48	—
ЭМС	12	12	1	52	812	19.33	—
$z = 1.73$							
—	—	21	1	77	910	20.11	—
			4–5	63	1158	5.01*	—
			1	78	877	0.57	—
ММС	—	—	4–5	72	1408	0.36	—
ММС	—	21	1	78	796	25.87	20.67 <sup>#</sup>
			4–5	72	1266	7.82*	5.37* <sup>#</sup>
			1	78	795	26.41	20.68 <sup>#</sup>
ММС	12	21	4–5	69	1198	7.43*	5.34* <sup>#</sup>

\*Достоверные различия между частотой мутаций в сперматозоидах и премейотических клетках ( $P < 0.01$ ); <sup>#</sup> Достоверные различия между эмпирическими и теоретически ожидаемыми частотами в группах с адаптирующей обработкой ММС ( $P < 0.05$ ).

В отличие от этого ММС в дозе, которая сама по себе не индуцирует мутаций, усиливает мутагенный эффект ЭМС и в сперматозоидах, и на премейотических стадиях. Потенцирующие эффекты примерно равнозначны при наличии и отсутствии 12-часового интервала между обработками, то есть, с одной стороны, не требуют для своей реализации какого-то промежутка времени, а с другой, поддерживаются по крайней мере в течение этого периода.

Весьма интересно, что наблюдаемые частоты РСПЛМ существенно превышают аддитивное действие мутагенов, и потенцирующий эффект достоверно выше на премейотических стадиях.

Для сравнения проанализированы эффекты малых доз при других способах воздействия, а именно сделана попытка индуцировать адаптивный ответ у личинок дрозофилы. В этой серии экспериментов адаптирующей обработке (0.05мМ ЭМС) подвергалась личиночная стадия развития дрозофилы, после чего отслежено ее влияние на эффекты биологически значимых доз мутагена как у личинок, так и имаго. Следует отметить, что только воздействие на личинки ударной дозой ЭМС (1мМ) вызывало ощутимое увеличение стерильности самцов (почти до 40%), которая снижалась более чем в 3 раза под влиянием адаптирующей обработки личинок. Во всех других вариантах опыта этот показатель не отличался от спонтанного контроля. Параллельно изменялась плодовитость самцов, оцениваемая по количеству вылупившихся потомков  $F_1$ : при воздействии на личинки 1 мМ ЭМС их продукция падала до 12,2, а после адаптирующей обработки поднималась до 28,6, что практически соответствовало этому показателю у имаго (рис. 3).

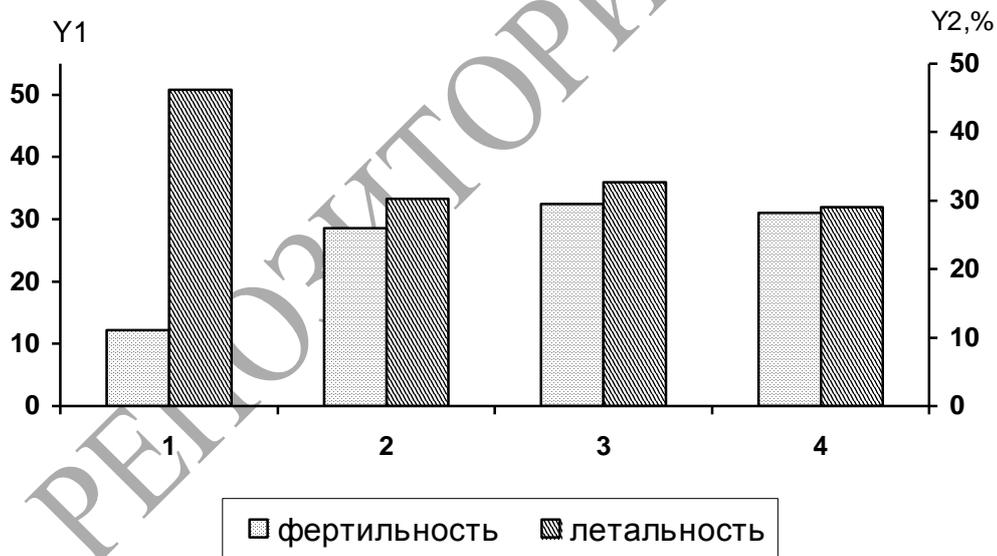


Рис. 3. Сравнение плодовитости самцов (Y1, абсолютные величины) и доминантной летальности (Y2, частота, %) при различных способах обработки дрозофилы этилметансульфонатом

1 – ударная обработка личинок (1мМ ЭМС); 2 – адаптирующая + ударная обработка личинок; 3 – ударная обработка имаго (5мМ ЭМС); 4 – адаптирующая обработка личинок + ударная обработка имаго (5 мМ ЭМС).

На этом рисунке вместе с данными анализа плодовитости самцов показана летальность потомков  $F_1$  за весь период развития от яйца до имаго, которая отражает кластогенные эффекты, поскольку, как правило, обусловлена

разрывами и перестройками хромосом в половых клетках в ответ на мутагенное воздействие [15, 16]. На самом деле этот показатель анализировался на разных стадиях: эмбриональная летальность (ЭЛ) по частоте всех неразвившихся яиц, поздняя эмбриональная летальность (ПЛ) по частоте коричневатых яиц, отражающих гибель оплодотворенных яиц на более поздних стадиях эмбриогенеза [15, 23]; постэмбриональная летальность (ПЭЛ) по частоте погибших личинок и куколок относительно живых личинок [16] и суммарная летальность потомков (СЛ) относительно отложенных яиц.

Результаты, представленные в табл. 2, показывают, что, во-первых, личинки более чувствительны к ударной дозе мутагена, чем имаго, и, во-вторых, адаптирующая обработка личинок существенно снижает кластогенные эффекты ЭМС в их половых клетках.

Таблица 2

Влияние адаптирующей обработки личинок на доминантную летальность потомков F1 по сравнению с действием ударной дозы мутагена

Обработка ЭМС		Количество яиц	Доминантная летальность, %			
0.05 мМ	ударная доза		ЭЛ	ПЛ	ПЭЛ	СЛ
Ударная обработка личинок						
–	1мМ	1087	25.11	3.21	34.28	50.78
+	1мМ	1884	14.12*	4.49	22.31*	33.28*
Ударная обработка имаго						
–	5мМ	2181	14.53	3.3	25.11	36.00
+	5мМ	2003	7.74*	2.58	26.19	31.91*

\*P < 0.01

Характерно, что защитное действие проявляется по эмбриональной и постэмбриональной летальности, достигая в сумме 65%, тогда как при ударной обработке взрослых самцов, защитный эффект этой же дозы выражен значительно слабее и определяется только по ЭЛ, которая может быть вызвана и генетическими, и физиологическими причинами, например, учетом неоплодотворенных яиц вместо погибших [15, 23].

Напомним, что после мутагенной обработки на стадиях личинок или имаго самцы спаривались с интактными самками *Vasc* в индивидуальных культурах, что позволяло в одних и тех же семьях анализировать различные события в F<sub>1</sub>, а

затем в F<sub>2</sub>. Мутабельность половых клеток оценивалась по частоте РСПЛМ (табл. 3). В этой тест-системе подтверждена гиперчувствительность личинок, так как одна и та же доза мутагена при ударной обработке личинок индуцировала мутации с частотой, в несколько раз превышающей их уровень после такой же обработки взрослых особей. Эффекты уравнивались, если ударная доза для имаго в 5 раз превышала ударную дозу для личинок. Обработка личинок дозой 0.05мМ была фактически безопасна для личинок и существенно (более чем в 3 раза) снижала уровень мутабельности их половых клеток по сравнению с действием ударной дозы мутагена. Такая же адаптирующая обработка личинок оказалась неэффективной против мутаций, индуцированных высокими дозами мутагена у взрослых самцов.

Таблица 3  
Влияние адаптирующей обработки личинок на частоту мутаций, индуцированных ударной дозой ЭМС у личинок и взрослых особей

Обработка ЭМС			Количество проанализированных		Частота РСПЛМ, %
0.05мМ, 24 ч	интервал между обработками	ударная доза	родительских самцов	хромосом	
Спонтанный контроль			44	1125	0.27
Ударная обработка личинок					
+	-	-	42	1070	0.56
-	-	1мМ	30	382	3.93
+	-	1мМ	125	1614	1.69*
Ударная обработка имаго					
-	куколичная стадия	1мМ	48	1314	1.75
+	куколичная стадия	1мМ	52	1501	1.47
-	куколичная стадия	5мМ	94	534	6.46
+	куколичная стадия	5мМ	82	914	6.89

\*P < 0.05 (по критерию  $\chi^2$ )

Обсуждая представленные данные, нужно иметь в виду, что использованный в качестве основного мутагена ЭМС преимущественно вызывает точечные мутации [18, 24], а частота ЭМС-индуцированных РСПЛМ определяется продукцией O<sup>6</sup>-этилгуанина [20], в репарации которого участвует МГМТ. Такой путь репарации вполне возможен и у дрозофилы, так как у нее были идентифицированы два протеина со сходными функциями, активные на всех стадиях развития, кроме эмбрионов [25]. Однако в отличие от продукта гена *ada* у *E. coli* деалкилирующие ферменты дрозофилы не индуцировались малыми дозами МННГ [25]. Известно также об определяющем вкладе эксцизионной репарации в исправление повреждений, вызванных алкилированием ДНК. Эта система наиболее эффективна против агентов I категории, преимущественно алкилирующих N-сайты [22], в первую очередь, против ММС и в меньшей степени против ЭМС. Заметим, что эксцизионная репарация нуклеотидов (NER) относится к наиболее распространенному и универсальному виду безошибочной репарации и, как правило, осуществляется конститутивными ферментами. Следовательно, оба наиболее подходящие пути безошибочной репарации (эксцизионная репарация на AP-сайтах, образовавшихся на месте выпадения N-алкилгуанина, и/или перенос алкил-радикала из ДНК на цистеиновый остаток алкилтрансферазы), не будучи индуцибельными, по-видимому, не могут обеспечить адаптивный ответ у дрозофилы.

Это предположение вполне согласуется с данными, полученными ранее при изучении влияния малых доз ЭМС (0.05–0.1мМ) на эффект материнской репарации [12], а также с результатами сравнительного изучения мутабельности половых клеток на разных стадиях сперматогенеза. В данной экспериментальной серии адаптивный ответ не наблюдался ни в репарационно-инертных сперматозоидах, ни в репарационно-активных премейотических клетках. Более того, малые дозы ММС усиливали мутагенное действие ЭМС. Потенцирующие эффекты оказались максимальными на премейотических стадиях сперматогенеза, что, возможно, обусловлено расходом репарирующих ферментов в ответ на действие метилирующего агента.

В отличие от этого, адаптивный ответ успешно индуцировался у личинок дрозофилы. Следует напомнить, что в онтогенезе самцов первое мейотическое деление происходит обычно в момент окукливания [23], то есть воздействию малой дозы ЭМС также как и у взрослых особей в 4-й и 5-й посадках подвергались премейотические половые клетки. Несоответствие результатов, полученных в двух экспериментальных сериях заставляет предположить, что в адаптивный ответ личинок на алкилирующие агенты могут быть вовлечены не только репарационные, но и другие механизмы, так как именно на личиночной

стадии развития активность всех метаболических процессов, включая биотрансформацию ксенобиотиков, наиболее высока.

Известно, что детоксикация ЭМС происходит путем его спонтанной или ферментативной конъюгации с восстановленным глутатионом [26, 27]. Одним из важнейших ферментов, участвующих в этом процессе, равно как и в детоксикации других электрофильных молекул, является глутатион-S-трансфераза [28, 29]. В контексте этого сообщения очень важно, что этот фермент обнаружен у дрозофилы [30], а с другой стороны, известно, что комплекс глутатион-S-трансфераз индуцируется в клетках различных организмов в ответ на слабые воздействия электрофилов [29], то есть, способен функционировать по типу адаптивного ответа. Интересно также, что глутатион-S-трансферазы, наряду с другими нуклеофильными компонентами, осуществляют антиоксидантную защиту внутри и вне клеток против реактивных радикалов кислорода (РРК), образующихся в ходе нормального метаболизма и многих патологических процессов, а также в результате действия внешних прооксидантных факторов, включая ионизирующую радиацию [29, 31]. Вероятно, запуск этого механизма может обеспечить адаптивный ответ против электрофильных молекул и РРК различного происхождения, а также перекрестную адаптацию против ряда химических агентов и ионизирующих излучений *in vitro* и *in vivo*.

Таким образом, в опытах на дрозофиле показано, что предобработка самцов-имаго низкими дозами алкилирующих агентов либо не изменяет, либо усиливает эффекты биологически значимых доз как в зрелых половых клетках, так и на премейотических стадиях сперматогенеза. Малые дозы ЭМС индуцируют адаптивный ответ на последующее действие более высоких доз этого мутагена у личинок, причем хорошо выраженный защитный эффект наблюдается по всем анализируемым параметрам: плодовитости самцов, эмбриональной и постэмбриональной летальности, частоте рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций. Эта защитная реакция ограничена личиночной стадией развития дрозофилы и не распространяется на взрослых самцов. Выявленные закономерности позволяют заключить, что по крайней мере при изученных условиях, адаптивный ответ обусловлен не столько репарацией ДНК, сколько запуском других механизмов, возможно, связанных с детоксикацией алкилирующих агентов.

## Литература

1. Samson L., Cairns J. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli* // Nature (London). – 1977. – **267**. – P. 281–283.

2. Jeggo P. Isolation and characterization of *Escherichia coli* K-12 mutants unable to induce the adaptive response to simple alkylating agents // J. Bacteriol. – 1979. – **139**. – P. 783–791.
3. Karran P., Lindahl T., Griffin B. Adaptive response to alkylating agents involves alteration in situ of O<sup>6</sup>-methylguanine residues in DNA // Nature. – 1979. – **280**. – P. 76–77.
4. Robins P., Cairns J. Quantitation of the adaptive response to alkylating agents // Nature. – 1979. – **280**, № 5717. – P. 74–76.
5. Olsson M., Lindahl T. Repair of alkylated DNA in *Escherichia coli*. Methyl group transfer from O<sup>6</sup>-methylguanine to a protein cysteine residue // J. Biol. Chem. – 1980. – **255**. – P. 10569–10571.
6. Day III R.S., Sibghat-Ullah, A. Rasouli-Nia. Damage reversal in human cells: cellular response to O<sup>6</sup>-methylguanine // Jean-Michel H. Vos (Ed.), DNA Repair Mechanisms. Impact on Human Diseases and Cancer / New York, Berlin, Heidelberg, Paris: Springer-Verlag, 1995, pp. 67-97.
7. Laval F., Laval J. Adaptive response in mammalian cells: Crossreactivity of different pretreatments on cytotoxicity as contrasted to mutagenicity // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1984. – **81**. – P. 1062–1066.
8. Wang Z.-Q., Saigusa S., Sasaki M.S. Adaptive response to chromosome damage in cultured human lymphocytes primed with low doses of X-rays // Mutat. Res. – 1991. – **246**. – P. 179–186.
9. Laval F. Pretreatment with oxygen species increases the resistance of mammalian cells to hydrogen peroxide and gamma-rays // Mutat. Res. – 1988. – **201**. – P. 73–79.
10. Wolff S., Afzal V., Wiencke J.K., Olivieri G., Michaeli A. Human lymphocytes exposed to low doses of ionizing radiation become refractory to high doses of radiation as well as to chemical mutagens that induce double-strand breaks in DNA // Int. J. Radiat. Biol. – 1988. – **53**. – p. 39–48.
11. Ikushima T. Radio-adaptive response: Characterization of a cytogenetic repair Induced by low-level ionizing radiation In cultured Chinese Hamster Cells // Mutat. Res. – 1989. – **227**. – P. 241–246.
12. Vijayalaxmi and W. Burkart. Resistance and Cross-Resistance To Chromosome Damage In Human Blood Lymphocytes Adapted to Bleomycin // Mutat. Res. – 1989. – **211**. – P. 1–5.
13. Кужир Т.Д., Даливеля О.В., Савина Н.В. Модификация процессов репарации при химическом мутагенезе у *Drosophila melanogaster*. – Генетика. – 1999. – **35**, № 7. – С. 919–924.
14. Lewis E.B., Bacher F. Method of feeding ethyl methanesulfonate (EMS) to *Drosophila* males // Dros. Inf. Serv. – 1968. – **43**. – P. 193.
15. Kaya B., Creus A., Velázquez A., Yanikoğlu A., Marcos R. Induction of an adaptive response in *Drosophila* imaginal disc cells exposed *in vivo* to low doses of alkylating agents // Mutagenesis. – 2000. – **15**. – P. 337–340.
16. Würigler F.E., Sobels F.H., Vogel E. *Drosophila* as an assay system for detecting genetic changes // B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols, C. Ramel (Eds.), Handbook of mutagenicity test procedures, Amsterdam: Elsevier, 1984. – P. 555–601.

17. Muñoz E.R., Barnett B.M. Embryonic and post-embryonic lethals induced by diethyl sulfate in mature sperm of *Drosophila melanogaster* // Mutat. Res. – 1978. – **51**. – P. 37–44.
18. Lee W.R., Abrahamson S., Valencia R., Von Halle E.S., Würigler F.E., Zimmering S. The sex-linked recessive lethal test for mutagenesis in *Drosophila melanogaster*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox. Program // Mutat. Res. – 1983. – 123. – P. 183–279.
19. Vogel E., Natarajan A.T. The relation between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in higher eukaryotic systems. I. Recessive lethal mutations and translocations in *Drosophila* // Mutat. Res. – 1979. – **62**. – P. 51–100.
20. Lee W.R., Beranek D.T., Byrne B.J. Dosage-response relationships for methyl methanesulfonate in *Drosophila melanogaster* spermatozoa: DNA methylation per nucleotide vs. sex-linked recessive lethal frequency // Mutat. Res. – 1989. – **211**. – P. 243–257.
21. Lee W.R., Beranek D.T., Byrne B.J., Tucker A.B. Comparison of dose-response relationships for ethyl methanesulfonate and 1-ethyl-1-nitrosourea in *Drosophila melanogaster* spermatozoa // Mutat. Res. – 1990. – **231**. – P. 31–45.
22. Vogel E.W., Dusenbery R.L., Smith P.D. The relationship between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in higher eukaryotic systems. IV. The effects of the excision-defective *mei-9<sup>L1</sup>* and *mus(2)201<sup>D1</sup>* mutants on alkylation-induced genetic damage in *Drosophila* // Mutat. Res. – 1985. – **149**. – P. 193–207.
23. Vogel E., Natarajan A.T. DNA damage and repair in somatic and germ cells *in vivo* // Mutat. Res. – 1995. – **330**. – P. 183–208.
24. Литвинова Е.М. Биология размножения у дрозофилы // Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. – Новосибирск: Наука, 1977. – С. 19–61.
25. Sega G.A. A review of the genetic effects of ethyl methanesulfonate // Mutat. Res. – 1984. – **134**. – P. 113–142.
26. Guzder S.N., Kelley M.R., Deutsch W.A. *Drosophila* methyltransferase activity and the repair of alkylated DNA // Mutat. Res. – 1991. – **255**. – P. 143–153.
27. Roberts J.J., Wazwicz G.P. Studies on the mode of action of tumor-growth-inhibiting alkylating agents. 1. The fate of ethyl methanesulfonate ("half-muleran") in the rat // Biochem. Pharmacol. – 1985. – **1**. – P. 60–67.
28. Teaf C.M., Raymond R.D., Bishop J.B. Germ-cell mutagenesis and GSH depression in reproductive tissue of the F-334 rat induced by ethyl methanesulfonate // Mutat. Res. – 1985. – **144**. – P. 93–98.
29. Ketterer B., Meyer D.J. Glutathion transferases: A possible role in the detoxication and repair of DNA and lipid hydroperoxides // Mutat. Res. – 1989. – **214**. – P. 33–40.
30. Ames B.N., Gold L. S. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer // Mutat. Res. – 1991. – **250**, № ½. – P. 3–16.
31. Parkes T.L., Hilliker A.J., Phillips J.P. Genetic and Biochemical Analysis of Glutathione-S-Transferase in the Oxygen Defense System of *Drosophila Melanogaster* // Genome. – 1993. – **36**. – P. 1007–1014.

32. *Anderson D.* Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage // *Mutat. Res.* – 1996. – **350**. – P. 103–108.

РЕПОЗИТОРИЙ БГПУ