

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. URL: <https://www.ukraine.com.ua/uk/blog/programming/sql-baza-dannih-dlya-chego-prednaznachenabaza-dannih.html>
2. URL: <https://bondarenko.dn.ua/osnovni-ponyattya-relyatsijnih-bd-normalizatsiya-zv-yazok-ta-klyuchi/>
3. URL: https://zametkinapolyah.ru/zametki-o-mysql/tema-15-tranzakcii-v-sql-na-primere-bazy-dannyx-sqlite-svoystva-acid-i-urovni-izolyacii-tranzakcij-v-sqlite3.html#_____SQL
4. URL: https://life-prog.ru/view_shpargalkiCompStroi.php?id=102/https://intellect.icu/tranzaktsii-i-tselostnost-baz-dannykh-4471
5. URL: <https://zametkinapolyah.ru/zametki-o-mysql/tema-15-tranzakcii-v-sql-na-primere-bazy-dannyx-sqlite-svoystva-acid-i-urovni-izolyacii-tranzakcij-v-sqlite3.html>
6. Методичні вказівки щодо виконання лабораторних робіт з дисципліни «Організація баз даних та знань» для здобувачів вищої освіти СО «Бакалавр» денної та заочної форм навчання спеціальностей 122 «Комп'ютерні науки», 125 «Кібербезпека». Т. В. Нескородева, О. В. Зелінська, П. В. Римар. Вінниця: ДонНУ імені Василя Стуса, 2021. 67 с.
7. URL: <https://twitter.com/bigchonis/status/1009139509936652290>

УДК 57.577.31

ДОСЛІДЖЕННЯ IN SILICO ОСОБЛИВОСТЕЙ ФУНКЦІОНУВАННЯ ТА БУДОВИ ЕРИТРОЦИТАРНОЇ МЕТАБОЛІЧНОЇ МЕРЕЖІ В ПОЄДНАННІ З ЦИКЛОМ МЕТІОНІНУ

С. В. Федоров

Анотація. В даному дослідженні подана інформація про біохімічні процеси, які відбуваються в межах зрілого еритроцита. Мета роботи полягала в розробці математичної метаболічної моделі еритроцитів, яка б включала маловивчені метаболічні шляхи: гомоцистеїну, метіоніну, фолатів, при цьому повністю враховувала всі відомі особливості біохімічного складу еритроцитів. Розроблена метаболічна математична модель складається з трьох циклів: циклу метаболізму аденоїнових нуклеотидів, циклу синтезу глутатіону та циклу метіоніну на основі точних кінетичних рівнянь у програмі COPASI. За допомогою моделювання досліджено вплив метіоніну і окисного навантаження на розподіл метаболічних потоків в еритроцитах.

Ключові слова: еритроцити, метіонін, гомоцистеїн, модель, SAM.

Вступ. Червоні клітини крові мають виконувати свої функції на протязі 120 діб, при цьому вони позбавлені майже всіх органел. Відповідно життєздатність еритроцитів підтримується майже повністю за рахунок внутрішньоклітинних біохімічних процесів, які складають еритроцитарну метаболічну мережу (ЕМ). Механізми взаємодії багатьох важливих метаболічних систем у клітинах залишаються неясними. Це стосується навіть такого важливого внутрішньоклітинного метаболіту як аденозин 5'-трифосфат (АТФ). Проте, еритроцити не можуть синтезувати АТФ *de novo*. Основним джерелом енергії для еритроцитів є АТФ, який продукується в реакціях гліколізу та в циклі метаболізму аденілатів [1]. Концентрація АТФ в еритроцитах визначається процесами енергетичного метаболізму, що забезпечує синтез АТФ з ADP і Pi, а також метаболізму аденілатів, що визначає величину пулу АТФ, ADP і AMP. Може здаватися, що еритроцити у певній мірі обмежені за АТФ. Проте, у гіпоксичних умовах і при механічному впливі червоні клітини виділяють аденозинтрифосфат (АТФ), який стає сигнальною молекулою для пуринергічних рецепторів ендотеліальних клітин [2]. Тому для виробництва АТФ мають бути залучені ще додаткові процеси.

Еритроцити, як клітини транспортери кисню, постійно знаходяться під окисним навантаженням [3, 4]. Це означає, що існує гостра потреба у добре налагодженій мережі окисно-відновної сигналізації для антиоксидантного захисту клітин. Метіонін та фолати, вміст яких у плазмі крові високий, могли б залучатися у метаболічні шляхи і бути додатковим джерелом як енергії так і відновних еквівалентів клітини. Проте, яким чином метіонін залучений до метаболічної мережі еритроцитів, є тільки окремі відомості.

Мета роботи полягала в розробці математичної метаболічної моделі еритроцитів, яка б включала маловивчені метаболічні шляхи: гомоцистеїну, метіоніну, фолатів та повністю враховувала всі відомі особливості біохімічного складу еритроцитів.

Матеріали і методи дослідження. Розроблена метаболічна математична модель складається з трьох метаболічних циклів: циклу метаболізму аденінових нуклеотидів, циклу синтезу глутатіону та циклу метіоніну. Модель побудована на основі точних кінетичних рівнянь. Реакції, включені до моделі, представлені на рисунку 1.

Створення і тестування моделі проводили в програмі Copasi. Модель включає 40 реакцій (q) і 44 метаболіти, з яких 16 є зовнішніми та 28 – внутрішніми (m). Зовнішні метаболіти не включаються до стехіометричної матриці і до розрахунків.

Метаболічна мережа реакцій метаболізму аденінових нуклеотидів еритроцитів описана в роботах [5, 6, 7]. На підставі цих відомостей була побудована кінетична модель мережі метаболізму аденінових нуклеотидів в еритроцитах. Деякі з кінетичних рівнянь були видозмінені відповідно до робіт, в яких досліджувалася кінетика відповідних процесів [8, 9]. Цикл глутатіону створений відповідно до роботи [10]. В моделі не враховували синтез глутамату, його концентрацію вважали достатньою для синтезу глутатіону. Усі кінетичні рівняння та кінетичні параметри, що описували транспорт цистеїну і гліцину, були взяті з роботи [10]. Окисно-відновні процеси за участю глутатіону описували за допомогою рівнянь, взятих з [11, 12].

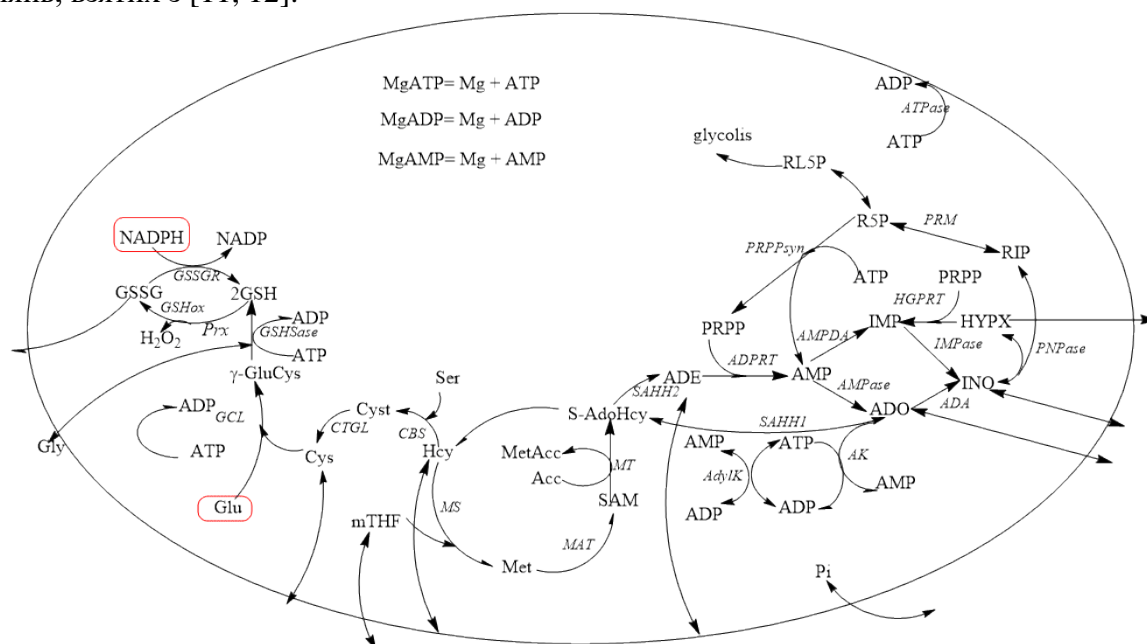


Рис. 1. Схема моделі метаболічної мережі еритроциту.

ADA – Аденозиндезаміназа; ADE – Аденін; ADO – Аденозин; ADP – Аденозиндифосфат; ADPRT – Аденін фосфорибозилтрансфераза; AK (AdyIK) – Аденілат-кіназа; AMP – Аденозинмонофосфат; AMPase – Аденозинмонофосфат фосфорилаза; AMPDA – АМФ-деаміназа; ATP – Аденозинтрифосфат; ATPase – Аденозинтрифосфат фосфорилаза; CBS – Цистатіонін β-синтаза; CTGL – Цистатіонін γ-лігаза; Cyst – Цистеїн; Glu – Глутамат; Gly – Гліцин; glycolis – гліколіз; γ-GluCys – Гамма глутаміл-цистеїн; GCL – Глутамат-цистеїн лігаза; GSH – Глутатіон; GSHox – Глутатіон окислений; GSHase – Глутатіон синтетаза; GSSG – Глутатіон редуктаза; GSSGR – НАД-специфічна глутатіон редуктаза; Hcy – Гомоцистеїн; HGPRT – Гіпоксантин фосфорибозилтрансфераза; H₂O₂ – Перекис водню; IMP – Інозин-монофосфат; IMPase – Інозинмонофосфат фосфорилаза; INO – Інозин; MAT – Метіонін аденозилтрансфераза; Met – Метіонін; MS – Метіонін синтаза; MT – Метилтрансфераза; mTHF – Метил тетрагідрофолат; NADP – Нікотинамідаденіндинуклеотид; NADPH – Нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат; Pi – фосфат; PNPase – Пуринонуклеозидфосфорилаза; PRM – Фосфорибозил мутаза; PRPP – Фосфорибозил пірофосфат; PRPPsyn – Фосфорибозил пірофосфат синтаза; Prx – пероксиредоксин; R5P – Рибозо 5-фосфат; RIP – рецептор-взаємодіючі протеїнкіназа; RL5P – Рибулозо 5-фосфат; SAHH(1, 2) – SAH гідролаза; SAH – S-аденозилгомоцистеїн; SAM – S-аденозилметіонін.

Кінетику транспорту метіоніну, гомоцистеїну і тетрагідрофолату в еритроцитах описувати рівнянням Міхаеліса-Ментен для зворотних процесів:

$$v = V_{\max} \left(\frac{A_{out}}{K_m + A_{out}} - \frac{A_{in}}{K_m + A_{in}} \right)$$

де $A_{(out/in)}$ – концентрації метаболітів в позаклітинному й внутрішньоклітинному просторі відповідно; K_m – константи Міхаеліса для цих речовин.

Метіонін може утворюватися ендогенно, у реакції, що каталізується метіонін-синтазою (MS). Відомості про наявність цього ферменту в еритроцитах нами не знайдені, але є відомості про присутність фолатів в еритроцитах, які можуть метаболізуватися саме в цій реакції. Ми вважали, що ця бісубстратна реакція описується ферментативною кінетикою Міхаеліса-Ментен, з наступними параметрами: $Km_mTHF = 0,001$, $Km_Hcy = 0,025$, $V_{\max} = 2,5$. Відомо [12], що ця реакція гальмується в умовах окисного стресу. Кінетичне рівняння, використане в роботі, подібне до [12].

$$v(MS) = \frac{V_{\max} \cdot mTHF \cdot Hcy}{(Km_{mTHF} + mTHF) \cdot (Km_{Hcy} + Hcy)} \cdot \left(\frac{ssH_2O_2 + Ki}{H_2O_2 + Ki} \right),$$

де $ssH_2O_2 = 0,001 \text{ mM}$ – стаціонарна концентрація перекису водню в клітині, H_2O_2 – наявна концентрація перекису в клітині, що змінюється з часом в ході експерименту. Ki (константа інгібування) $= 0.06 \text{ mM}$. V_{\max} (швидкість потоку метіонінсинтази MS) $= 2.5 \text{ mM/h}$; Km (константа Міхаеліса для метил-тетрагідрофолату mTHF) $= 0.001 \text{ mM}$; Km (константа Міхаеліса для гомоцистеїну Hcy) $= 0.025 \text{ mM}$; $Ki = 0.06 \text{ mM}$.

SAM утворюється з метіоніну та АТФ у реакції, що каталізується метіонін-аденозилтрансферазою (АТФ:L-метіонін S-аденозилтрансфераза; EC 2.5.1.6, MAT). Існує три основні ізоформи ссавців MAT, тобто MAT I, MAT II та MAT III. Усі ізоформи MAT містяться в печінці. Ізоформа MAT II (низький Km MAT), яка має відносно високу спорідненість до метіоніну (Km 2–20 мкМ), є переважаючою ізоформою, що присутня в еритроцитах [13]. Виходячи з відомостей, що ця реакція гальмується SAM і активується метіоніном, кінетику цієї реакції описували рівнянням:

$$v(MAT) = \frac{V_{\max} \cdot MgATP \cdot Met}{(Km_{MgATP} + MgATP) \cdot (Km_{Met} + Met) \cdot \left(1 + \frac{SAM}{K_i} + \left(\frac{K_a}{Met} \right)^4 \right)},$$

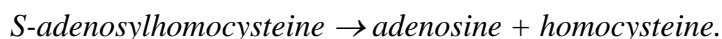
де V_{\max} – максимальна швидкість реакції, що каталізується метіонін аденозилтрансферазою (складає 5 мМ/год в моделі); Km_{MgATP} , Km_{Met} – константи Міхаеліса для магній аденозинтрифосфату та метіоніну ($2,2 \cdot 10^{-4}$ та 0.045 mM відповідно); K_i – константа інгібування ферменту SAM (0.2 mM); SAM, MgATP, Met – концентрації S-аденозилметіоніну, комплексу магній-аденозинтрифосфат та метіоніну відповідно. K_a – константа активації ферменту метіоніном (0.01 mM) [14].

В еритроцитах SAM долучається до процесів метилювання білків за участю протеїн метилтрансферази (MT). Ми вважали, що процеси метилювання посилюються за умов окисного стресу, тому кінетичне рівняння виглядало наступним чином:

$$v(MT) = \frac{V_{\max} \cdot SAM}{\left(Km_{SAM} \cdot \left(1 + \frac{SAH}{K_i} \right) + SAM \right)} \cdot \left(\frac{H_2O_2 + Ka}{ssH_2O_2 + Ka} \right)$$

де $V_{\max} = 2 \text{ mM/h}$, $Km = 0.01 \text{ mM}$, $K_i = 0.0001 \text{ mM}$, $Ka = 0.01 \text{ mM}$, $ssH_2O_2 = 0.001 \text{ mM}$.

SAH, утворений в реакції, залучається до циклу аденілатного метаболізму за участю SAH-гідролази. Фермент SAHH, оскільки він присутній в еритроцитах [14], може бути включений в нашу модель. SAHH зазвичай каталізує реакцію:



Цей фермент в роботі називається як SAHH1, є в базах даних ExPASy-ENZYME (<http://us.expasy.org/enzyme/>) і вважається оборотним. Також встановлено, що в реакції, яка каталізується SAHH, утворюється нестабільний проміжний продукт – 3-кетoadенозин, що може спонтанно розпадатися на аденін та 3-кеторибозу [14]. Це альтернативна реакція:



Ця реакція каталізується ферментом SAHH2 і вважається незворотною, оскільки розпад відбувається спонтанно. Кінетику реакції, що каталізується SAHH1 описували рівнянням:

$$v_{SAHH1} = \frac{V_f \cdot SAH}{(K_{mSAH} + SAH) \cdot \left(1 + \frac{ADO}{K_{iADO}}\right)} - \frac{V_r \cdot ADO \cdot Hcy}{(K_{mADO} + ADO) \cdot (K_{mHcy} + Hcy) \cdot \left(1 + \frac{SAH}{K_{iSAH}}\right)}$$

де V_f , V_r (максимальна швидкість прямої і зворотної реакції - 0.8 та 1.4 mM/h), K_{mSAH} - 0.0105 mM; K_{iADO} (константа інгібування аденозином) - 0.1 mM; K_{iSAH} - 0.1 mM, K_{mADO} - 0.045 mM, K_{mHcy} - 0.05 mM.

Кінетику реакції, що каталізується SAHH2 описували кінетичним рівнянням першого порядку:

$$v_{SAHH2} = k \cdot SAH, \quad k = 0,1 c^{-1}.$$

Цитозольний цистеїн є граничною амінокислотою для синтезу GSH, оскільки він має низьку концентрацію порівняно з гліцином та глутаматом. Цитозольний пул цистеїну може поповнюватися за рахунок метіоніну через цикл метіоніну та шлях транссульфурації. Доступність цистеїну та активність GCS є основними детермінантами синтезу GSH. Фермент цистатіонін-β-синтаза (CBS), який каталізує перший крок у процесі транссульфурації, сильно експресується у клітинах печінки, тому печінка є основним виробником глутатіону. Відомості про наявність CBS в еритроцитах відсутні, проте ці клітини також виробляють GSH у великій кількості. Тому ми припускаємо, що CBS присутня в еритроцитах і є певним посередником між циклами глутатіону і метіоніну. Загальний вигляд рівняння взятий з роботи [11].

$$v(CBS) = \frac{V_{max} \cdot Hcy \cdot Ser}{(K_{mHcy} + Hcy) \cdot (K_{mSer} + Ser)} \cdot \frac{1,086 \cdot (SAM + SAH)^2}{30^2 \cdot (SAM + SAH)^2} \cdot \left(\frac{H_2O_2 + Ki}{ssH_2O_2 + Ki} \right)$$

Другий член рівняння описує активацію CBS SAM і SAH. Взято з [54].

Останній член рівняння представляє активацію CBS окислювальним стресом. ssH_2O_2 = 0,001mM, K_a = 0,095 mM- константа активації.

Реакцію перетворення цистатіоніну у цистеїн, що каталізується цистатіонін-γ-ліазою, описували кінетичним рівнянням Міхаеліса-Ментен. Параметри рівняння: V_{max} = 1,5 mM/h, K_m = 0,5 mM.

Окисний стрес моделювали за рахунок збільшення концентрації H_2O_2 у клітині. Чутливість потоків моделі до змін концентрацій метіоніну та H_2O_2 тестували за допомогою процедури «Parameter Scan».

Результати. Тестування моделі

Окисдаційний стрес відповідно до моделі, проявляється у вигляді підвищення концентрації внутрішньоклітинного (тобто в цитозолі еритроцитів) перекису водню, одного з найпоширеніших окисників, з інтервалом концентрацій від 0.001 до 10 mM.

Метіонін у моделі є не тільки залученим в процеси продукування нуклеотидів, але й одним із важливих посередників для механізмів захисту від окисників, тобто елементом антиоксидантної системи захисту, про що також є відомості [15].

В ході розрахунків показано, що збільшення концентрації метіоніну у плазмі крові призводить до посилення його поглинання еритроцитами, залучення до процесів метилювання, продукування нуклеотидів, гомоцистеїну та синтезу глутатіону. Таким чином, метіонін може бути одним із важливих посередників для механізмів захисту від надлишкової кількості H_2O_2 . При захисті проти АФК (активних форм кисню), глутатіон, є основним захисним метаболітом, і тому починає активно синтезуватися в однойменному циклі. Для цього потрібен цистеїн, який може надходити ззовні, але у випадку його нестачі він може отримуватися за посередництвом ферменту CBS із гомоцистеїну.

Показано, що при збільшенні окисного навантаження посилюється попит на метіонін, що дозволяє відрегулювати співвідношення SAM/SAH у клітині. За результатами моделювання, надходження метіоніну до еритроцитів дозволяє підтримувати на сталому рівні SAM/SAH, рівень гомоцистеїну і глутатіону, потоки через ферменти метіонінового циклу та циклу глутатіону. При високому окисному навантаженні (концентрація $\text{H}_2\text{O}_2 > 1\text{mM}$) відбувається інактивація ферментів, зокрема метіонінсинтази, що сприяє росту гомоцистеїну в клітині і посиленню транспортування останнього назовні (рис. 2). Гомоцистеїн може стати джерелом утворення токсичних продуктів. За цих умов еритроцити посилено виробляють гіпоксантин, який виводиться з клітин назовні і не переробляється внутрішньоклітинно. Інтенсивний потік гіпоксантину може бути шкідливим, так як його рівні вище порогового значення 100 мкМ можуть бути достатніми для ініціації окислювального стресу в плазмі крові.

Також цикл метіоніну використовується для ініціації аденілатного циклу, який потрібен для синтезу нуклеотидів.

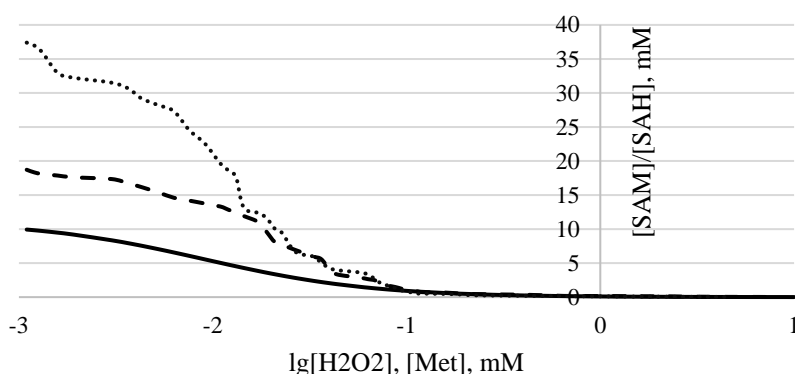


Рис. 2 – Залежність SAM до SAH від одночасної зміни концентрацій перекису водню (H_2O_2), перерахованої на десятковий логарифм та метіоніну (Met) в концентраціях 0.03, 0.06 та 0.09 мМ. — $[\text{Met}] = 0.03 \text{ мМ}$, - - - $[\text{Met}] = 0.06 \text{ мМ}$, ... $[\text{Met}] = 0.09 \text{ мМ}$.

Висновки

1. Представлена в роботі математична модель є удосконаленням ранніх досліджень інших науковців. Побудована на базі різних свідчень про стаціонарні концентрації тих чи інших метаболітів, кінетичних характеристиках і рівняннях процесів, які ми аналізували та інших досліджень, які описувалися в ході роботи.

2. Модель доводить ймовірну можливість функціонування в еритроцитарній метаболічній мережі маловивчених процесів за участю метіоніну, гомоцистеїну, фолатів, SAM, SAH та інших метаболітів.

3. Таким чином встановлено, що цикл метіоніну гіпотетично може бути пов'язаний із синтезом глутатіону за посередництвом ферменту CBS.

4. Тестування моделі показало, що заведені реакції можуть працювати досить злагоджено. Однак, висновки та припущення потребують більш вагомих доказів — експериментального підтвердження.

Аннотация. В данном исследовании представлена информация о биохимических процессах, которые происходят в пределах зрелого эритроцита. Цель работы заключалась в разработке математической

метаболической модели эритроцитов, которая бы включала малоизученные метаболические пути: гомоцистеина, метионина, фолатов, при этом полностью учитывала все известные особенности биохимического состава эритроцитов. Разработанная метаболическая математическая модель состоит из трех циклов: цикла метаболизма адениновых нуклеотидов, цикла синтеза глутатиона и цикл метионина на основе точных кинетических уравнений в программе COPASI. С помощью моделирования исследовано влияние метионина и окислительной нагрузки на распределение метаболических потоков в эритроцитах.

Ключевые слова: эритроциты, метионин, гомоцистеин, модель, SAM.

Abstract. This study provides information about biochemical processes in the mature erythrocyte. The aim of the work was to develop a mathematical metabolic model of erythrocytes, which would include little-studied metabolic pathways: homocysteine, methionine, folate, while fully taking into account all known features of the biochemical composition of erythrocytes. The developed metabolic mathematical model consists of three cycles: the cycle of adenine nucleotide metabolism, the cycle of glutathione synthesis and the cycle of methionine based on exact kinetic equations in the COPASI program. The effect of methionine and oxidative stress on the distribution of metabolic flows in erythrocytes was studied using simulations.

Key words: erythrocytes, methionine, homocysteine, model, SAM.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wijk R., Solinge W. W. The energy-less red blood cell is lost: erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis. *Blood*. 2005. №106(13). P. 4034–4042.
2. Bakhtiari N., Hosseinkhani S., Larijani B., Mohajeri-Tehrani M. R., Fallah A. Red blood cell ATP/ADP & nitric oxide: The best vasodilators in diabetic patients. *Journal of diabetes and metabolic disorders*. 2012. №11(1). P. 9.
3. Franco R., Navarro G., & Martínez-Pinilla E. Antioxidant Defense Mechanisms in Erythrocytes and in the Central Nervous System. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 2019. №8(2). P.46.
4. Ku Youn Baik, Yoon Ho Huh, Yong Hee Kim, Jeongho Kim, Min Su Kim, Hun-Kuk Park, Eun Ha Choi, Byoungchoo Park, The Role of Free Radicals in Hemolytic Toxicity Induced by Atmospheric-Pressure Plasma Jet. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. vol. 2017. P.11. Article ID 1289041.
5. Schuster S., Kenanov D. Adenine and adenosine salvage pathways in erythrocytes and the role of S-adenosylhomocysteine hydrolase A theoretical study using elementary flux modes. *FEBS Journal*. 2005. № 272. P. 5278–5290.
6. Kinoshita A., Tsukada K., Soga T., Hishiki T., Ueno Y., Nakayama Y., Tomita M., Suematsu M. Roles of hemoglobin Allosterity in hypoxia-induced metabolic alterations in erythrocytes: simulation and its verification by metabolome analysis. *J Biol Chem*. 2007. №282, (14). P.10731–10741.
7. Joshi A, Palsson B. O. Metabolic dynamics in the human red cell. Part III--Metabolic reaction rates. *J Theor Biol*. 1990. № 142(1). P.41–68.
8. Ataullakhanov F. I. A possible role of adenylate metabolism in human erythrocytes: Simple mathematical model. F. I. Ataullakhanov, S. V. Komarova, V. M. Vitvitsky. *J. Theor. Biol*. 1996. № 179. P. 75–86.
9. Ataullakhanov F. I., Komarova S. V., Martinov M. V., Vitvitsky V. M. A possible role of adenylate metabolism in human erythrocytes. 2. Adenylate metabolism is able to improve the erythrocyte volume stabilization. *J. Theor. Biol*. 1996. № 183. P. 307–316.
10. Raftos J. E., Whillier S., Kuchel P. W. Glutathione synthesis and turnover in the human erythrocyte: alignment of a model based on detailed enzyme kinetics with experimental data. *The Journal of biological chemistry*. 2010. № 285(31). P. 23557–23567.
11. Ng C. F., Schafer F. Q., Buettner G. R., Rodgers V. G. The rate of cellular hydrogen peroxide removal shows dependency on GSH: Mathematical insight into in vivo H₂O₂ and GPx concentrations. *Free Radical Research*. 2007. № 41(11). P.1201–1211.
12. Holzhütter H. G. The principle of flux minimization and its application to estimate stationary fluxes in metabolic networks. *Eur. J. Biochem*. 2004. № 271. P. 2905–2922.
13. Mendes P., Hoops S., Sahle S., Gauges R., Dada J., Kummer U. Computational modeling of biochemical networks using COPASI. *Methods in Molecular Biology, Systems Biology*. 2009. № 500. P. 17–59.
14. Reed M. C., Thomas R. L., Pavisic J., James S. J., Ulrich C. M., Nijhout H. F. A mathematical model of glutathione metabolism. *Theoretical biology & medical modelling*. 2008. P. 5–8.
15. Ekegren T., Askmark H., Aquilonius S.M., Gomes-Trolin C. Methionine adenosyltransferase activity in erythrocytes and spinal cord of patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol*. 1999. № 158(2). P. 422 – 7.
16. Seneviratne C. K., Li T., Khaper N., Singal P. K. Effects of methionine on endogenous antioxidants in the heart. *Am J Physiol*. 1999. №277(6). P. 2124.