

УДК 577.31, 577.35, 573.22, 57.038

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОФИЛЯ КОНЦЕНТРАЦИЙ МЕТАБОЛИТОВ ГЛИКОЛИЗА В ПОКОЯЩИХСЯ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2025 г. М. В. Мартынов<sup>a</sup>, Ф. И. Атауллаханов<sup>a, b</sup>, В. М. Витвицкий<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, 109029 Россия

<sup>b</sup>Московский физико-технический институт, Московская обл., г. Долгопрудный, 141701 Россия

\*e-mail: victor\_vitvitsky@yahoo.com

Поступила в редакцию 23.06.2024

После доработки 11.07.2024

Принята к печати 14.07.2024

Впервые представлена математическая модель гликолиза в скелетных мышцах млекопитающих, в которой стационарные значения концентраций промежуточных метаболитов гликолиза находятся в хорошем соответствии с экспериментальными данными, полученными в покое мышцах. Соответствие между модельными и экспериментальными значениями концентраций метаболитов было достигнуто за счет усиления ингибирующего эффекта АТФ на пируваткиназу и значительного уменьшения соотношения концентраций  $[NAD^+]/[NADH]$  в цитоплазме скелетных мышц. При этом для того, чтобы гликолиз мог обеспечивать скорость производства АТФ, необходимую при активации мышечной нагрузки, в модель была введена активация мышечной пируваткиназы фруктозо-1,6-дифосфатом.

**Ключевые слова:** гликолиз, скелетные мышцы, математическая модель, пируваткиназа

**DOI:** 10.31857/S0233475525010036, **EDN:** uuaobk

### ВВЕДЕНИЕ

Гликолиз является одним из основных путей производства АТФ в клетках. В некоторых клетках и тканях, таких как эритроциты млекопитающих или белые скелетные мышцы, гликолиз является единственным или основным производителем АТФ [1–5]. Использование гликолиза в качестве основного источника энергии является характерной особенностью большинства опухолевых клеток [6, 7]. Исследованию гликолиза посвящено большое количество работ [8–11], и основные принципы регуляции этой метаболической системы сформулированы много лет тому назад [12, 13]. В то же время регуляция гликолиза в большинстве конкретных клеток и тканей изучена гораздо хуже. Так, например, в скелетных мышцах при интенсивной работе активация гликогенфосфорилазы приводит к активации гликолитического потока и к ускорению производства АТФ за счет потребления гликогена [14–18]. Однако в покое мышцах активация гликогенфосфорилазы не приводит ни

к активации гликолиза, ни к потреблению гликогена [14, 17, 19, 20]. Механизм этой регуляции остается неясным [17, 19, 21, 22].

Изучение механизмов регуляции гликолиза имеет большое значение для понимания принципов организации и регуляции энергетического метаболизма и клеточного гомеостаза. Результаты такого исследования могут быть полезны для лучшего понимания механизмов возникновения диабета и выработки стратегии его лечения, в противоопухолевой терапии, в области спортивной физиологии и медицины и т.п.

Математическое моделирование и системный анализ являются мощными инструментами в исследовании сложных метаболических процессов [23–27]. Системный анализ был успешно использован для количественного описания регуляции гликолиза в эритроцитах человека и его влияния на функциональную полноценность и жизнеспособность этих клеток [23]. В то же время существующие математические модели гликолиза в мышечных клетках (тканях) весьма

далеки от детального количественного описания этой метаболической системы [28–30].

Важным этапом на пути построения количественной модели метаболической системы является описание профиля стационарных концентраций промежуточных метаболитов в этой системе. Нам известна всего одна работа, где такая попытка была сделана для скелетных мышц [30]. При этом были получены существенные отличия концентраций промежуточных метаболитов гликолиза в модели от экспериментальных значений. Причем для целого ряда метаболитов концентрации в модели отличались от экспериментальных значений более чем на два порядка.

В настоящей работе на основе количественной математической модели гликолиза в эритроцитах человека [23] мы построили модель гликолиза в скелетных мышцах млекопитающих. Мы нашли условия, при которых модель правильно описывает профиль экспериментально измеренных концентраций промежуточных метаболитов гликолиза в скелетных мышцах млекопитающих в покое. Кроме того, мы продемонстрировали, что в полученной модели может быть достигнута скорость производства АТФ, необходимая при активации мышечной нагрузки.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Описание модели.** В качестве исходной модели в настоящей работе мы использовали количественную математическую модель гликолиза, разработанную для эритроцитов человека [23]. Эта модель представляет собой систему дифференциальных уравнений относительно концентраций промежуточных метаболитов гликолиза, NADH, АТФ и АДФ, включает детальные кинетические формулы для скоростей всех ферментативных реакций гликолиза, от гексокиназной до лактатдегидрогеназной, и аденилаткиназное равновесие. Сумма концентраций NAD<sup>+</sup> и NADH, концентрации P<sub>i</sub>, пирувата и лактата в этой модели считаются постоянными. Модель позволяет рассчитать кинетику концентраций всех метаболитов гликолиза, NAD<sup>+</sup>, NADH, а также АТФ, АДФ и АМР.

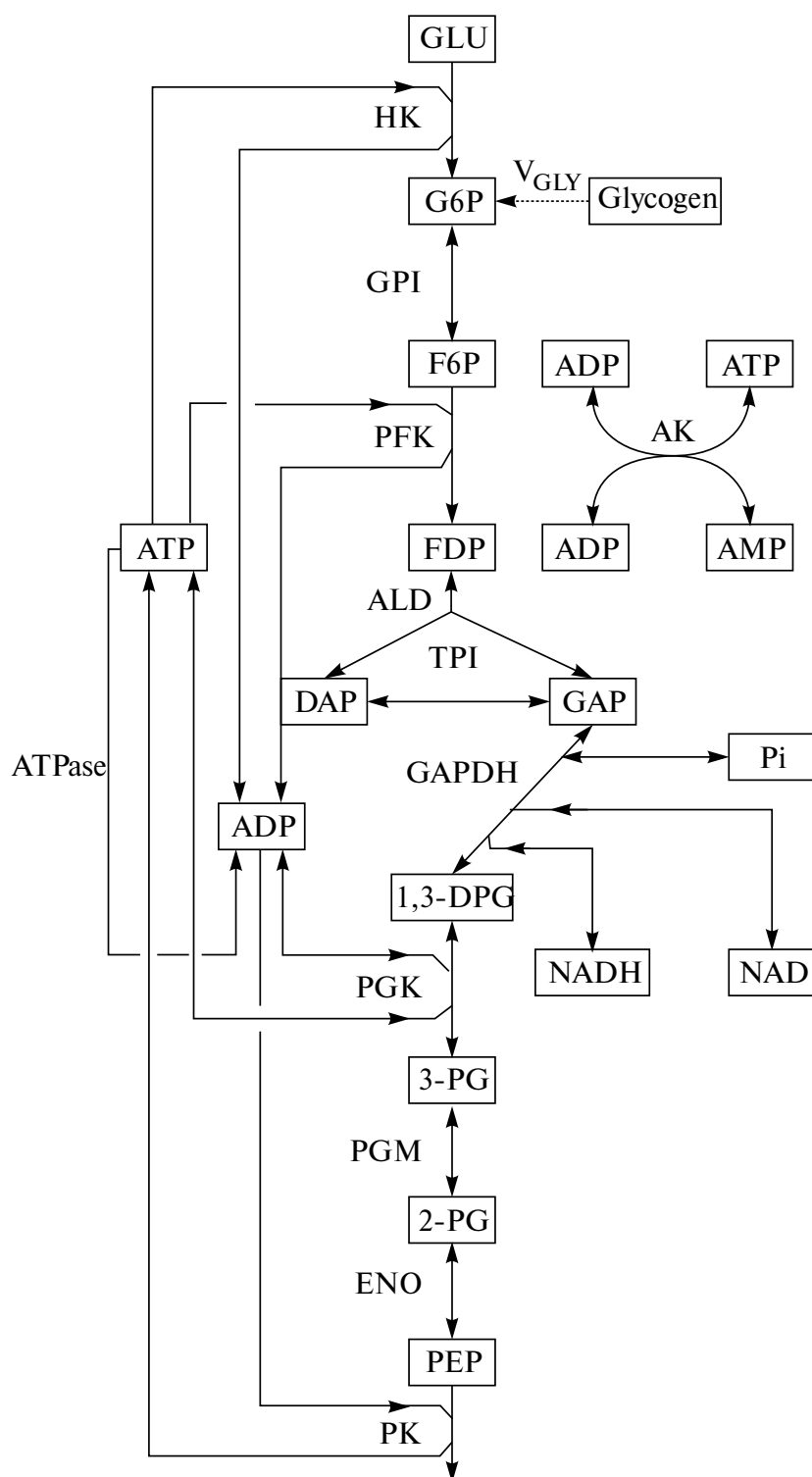
В данной работе из этой модели были исключены реакции, катализируемые ферментами 2,3-дифосфоглицератного шунта – дифосфоглицератмутазой и дифосфоглицератфосфатазой. Поскольку пируваткиназная (ПК) реакция необратима, мы не включили в модель пируват, лактат и лактатдегидрогеназную реакцию.

Значения активностей остальных ферментов были увеличены в соответствии с литературными данными об активности гликолитических ферментов в скелетных мышцах млекопитающих (табл. 1). Кроме того, модель включает аденилаткиназное равновесие и суммарную скорость потребления АТФ, за исключением гексокиназной и фосфофруктокиназной реакций, обозначенную как  $V_{\text{АТФase}}$ . Поскольку мы рассматривали исключительно стационарные состояния модели, то в модель не была включена креатинкиназная реакция, которая может играть существенную роль лишь в переходных процессах. Схема реакций, представленных в модели, показана на рис. 1.

Концентрации P<sub>i</sub>, глюкозы, NAD<sup>+</sup>, NADH и пул аденилатов (сумма концентраций АТФ, АДФ и АМР) считаются постоянными. Значение концентрации P<sub>i</sub> приведено в табл. 2. Концентрация глюкозы в покое лежащих скелетных мышцах лежит в пределах 0.33–1.50 ммоль/кг ткани [5, 31–36], что значительно превышает значение константы Михаэлиса гексокиназы (НК) для глюкозы. В связи с этим НК в модели находится в насыщении по глюкозе, и скорость НК реакции не зависит от [GLU].

Выбор значений для концентраций NAD<sup>+</sup> и NADH в модели требует отдельного рассмотрения. Согласно литературным данным, концентрации NAD<sup>+</sup> и NADH в пересчете на мышечную массу лежат в пределах 333–422 и 18–44 мкмоль/кг ткани соответственно [37]. Из них концентрация NAD<sup>+</sup> и NADH в цитоплазме мышечных клеток составляет, по некоторым оценкам, 150 и 0.3 мкмоль/кг ткани соответственно [29]. При этом отмечается, что значительная доля NAD<sup>+</sup> и NADH в клетках связана с белками [37], в то время как для функционирования гликолиза важны концентрации свободных форм этих метаболитов. Надежных данных о соотношении связанных и свободных NAD<sup>+</sup> и NADH в скелетных мышцах нет. В качестве базовых условий мы предположили, что одна треть NADH и NAD<sup>+</sup> (0.1 и 50 мкМ) находится в свободном состоянии, и далее варьировали концентрацию свободного NAD<sup>+</sup> от 50 до 1 мкМ. Тем самым отношение [NAD<sup>+</sup>]/[NADH] изменялось от 500 до 10.

Математическая модель представляет собой систему обыкновенных дифференциальных и алгебраических уравнений относительно концентраций метаболитов, показанных на рис. 1.



**Рис. 1.** Биохимические реакции, включенные в модель. В работе были использованы следующие обозначения для ферментов и метаболитов: АК – аденилаткиназа, АЛД – альдозаза, АТPase – сумма АТP-потребляющих процессов, за исключением гексокиназной и фосфофруктокиназной реакций, ЕНО – енолаза, GAPDH – глицеральдегидфосфатдегидрогеназа, GPI – глюкозофосфатизомераза, HK – гексокиназа, PK – пируваткиназа, PFK – фосфофруктокиназа, PGK – фосфоглицераткиназа, PGM – фосфоглицератмутаза, TPI – триозофосфатизомераза, 1,3-DPG – 1,3-дифосфоглицерат, 2-PG – 2-фосфоглицерат, 3-PG – 3-фосфоглицерат, DAP – диоксиацетонфосфат, F6P – фруктозо-6-фосфат, FDP – фруктозо-1,6-дифосфат, G6P – глюкозо-6-фосфат, GAP – глицеральдегидфосфат, GLU – глюкоза, PEP – фосфоенолпируват. Пунктирной стрелкой показано производство G6P из гликогена со скоростью  $V_{GLY}$ .

**Таблица 1.** Активности ферментов гликолиза в скелетных мышцах млекопитающих. Экспериментальный диапазон и значения в модели

Фермент	Эксперимент, моль/ч·кг ткани*	Модель, М/ч	Ссылки
HK	0.027–0.18	0.1	[3, 18, 38–45]
GPI	15.1–49.8	20	[39, 46–49]
PFK	2.64–11.5	6	[18, 38, 40, 42–44, 46, 47, 49–51]
ALD	2.16–10.7	6.5	[39, 46–49]
TPI	34.4–484	300	[45, 47, 49]
GAPDH	23.4–104	70	[40, 44–47, 49]
PGK	20.3–60.6	22	[45–47, 49]
PGM	12–47.4	40	[45–47, 49]
ENO	11.8–16.2	12	[45–47, 49]
PK	7.8–56.8	20	[40, 46–49]

\*Активности, представленные в единицах моль/ч кг сухого вещества, были переведены в моль/ч·кг ткани путем деления на 4.5 [35].

$$\frac{d[G6P]}{dt} = V_{HK} + V_{GLY} - V_{GPI}, \quad (1)$$

$$\frac{d[F6P]}{dt} = V_{GPI} - V_{PFK}, \quad (2)$$

$$\frac{d[FDP]}{dt} = V_{PFK} - V_{ALD}, \quad (3)$$

$$\frac{d[DAP]}{dt} = V_{ALD} - V_{TPI}, \quad (4)$$

$$\frac{d[GAP]}{dt} = V_{ALD} + V_{TPI} - V_{GAPDH}, \quad (5)$$

$$\frac{d[1,3\text{ DPG}]}{dt} = V_{GAPDH} - V_{PGK}, \quad (6)$$

$$\frac{d[2PG]}{dt} = V_{PGK} - V_{PGM}, \quad (7)$$

$$\frac{d[3PG]}{dt} = V_{PGM} - V_{ENO}, \quad (8)$$

$$\frac{d[PEP]}{dt} = V_{ENO} - V_{PK}, \quad (9)$$

$$\frac{de}{dt} = -V_{HK} - V_{PFK} + V_{PGK} + V_{PK} - V_{ATPase}, \quad (10)$$

$$[ATP][AMP]/[ADP]^2 = 1, \quad (11)$$

$$[ATP] + [ADP] + [AMP] = 5.40 \text{ mM}. \quad (12)$$

Здесь  $V_X$  обозначает скорость реакции, катализируемой ферментом  $X$ . Скорость производства G6P из гликогена (скорость гликогенолиза) обозначена как  $V_{GLY}$  и является параметром

модели. Переменная  $e = 2[ATP] + [ADP]$ . Уравнение для переменной  $e$  (10) вместе с уравнениями (11) и (12) описывает кинетику концентраций АТР, АДФ и АМР.

Суммарная скорость АТР-потребляющих процессов ( $V_{ATPase}$ ) в поющих скелетных мышцах была выбрана так, чтобы обеспечить стационарное состояние в энергетическом метаболизме. Значение скорости производства АТР в поющих мышцах, полученное из данных о скорости гликолиза, лежит в диапазоне от 8 до 58 ммоль/ч·кг ткани [2, 19, 36, 38]. В модели скорость производства (и потребления) АТР в поющих мышцах была выбрана равной 35 ММ/ч.

**Методы вычислений.** Кинетика модели рассчитывалась с помощью библиотеки CVODE [52]. В результате решения задачи Коши для системы (1) – (12) при нулевой скорости гликогенолиза ( $V_{GLY}$ ) мы находили стационарные значения  $[ATP]$ ,  $[ADP]$  и  $[AMP]$ , а также концентрации метаболитов гликолиза, при которых скорость производства АТР в гликолизе была равна 35 ММ/ч, т.е. была равна скорости производства и потребления АТР в поющих скелетных мышцах. Зависимость стационарного состояния модели от параметров исследовалась с помощью пакета AUTO 2000 [53].

**Активация гликолиза при стимуляции мышечной нагрузки.** Для оценки возможности активации гликолиза в модели мы варьировали значение параметра  $V_{GLY}$ , который соответствует скорости поступления G6P из гликогена (рис. 1). При

**Таблица 2.** Сопоставление экспериментальных значений концентраций промежуточных метаболитов гликолиза, АТР, АДР и АМР в покое мышцах млекопитающих со стационарными концентрациями этих метаболитов, полученными в разных версиях модели

Метаболит	Эксперимент <sup>а</sup> , мкмоль/кг ткани <sup>б</sup>	Стационарные концентрации метаболитов в разных версиях модели <sup>с</sup> , мкМ							
		Базовая (1)	РК (2)	ЕНО (3)	РГМ (4)	РГК (5)	РАРДН (6)	НАД (7)	РК(РАРД) (8)
G6P	59–516	119	119	119	119	119	119	119	119
F6P	34–134	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
FDP	20–80	0.0173	0.0203	0.0210	0.0203	0.0183	0.0712	21.5	21.4
DAP	9–60	1.52	1.65	1.68	1.65	1.56	3.09	53.6	53.5
GAP	2.3–20	0.662	0.719	0.733	0.720	0.682	1.37	24.1	24.0
1,3-DPG	нет данных	0.0703	1.02	1.25	1.04	0.409	0.409	0.409	0.408
3-PG	20–40	1.99	40.7	50.1	41.5	41.5	41.5	41.5	41.4
2-PG	10–20	0.420	9.68	11.9	11.9	11.9	11.9	11.9	11.9
PEP	13–50	1.11	41.1	41.1	41.1	41.1	41.1	41.1	41.0
P <sub>i</sub>	580–11700	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
АТР	3980–5740	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3
АДР	135–640	527	527	527	527	527	527	527	527
АМР	14–98	57.7	57.7	57.7	57.7	57.7	57.7	57.7	57.7
Свободный NADH <sup>д</sup>	нет данных	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Свободный NAD <sup>+д</sup>	нет данных	50	50	50	50	50	50	2.5	2.5

<sup>а</sup>Экспериментальные значения концентраций метаболитов взяты из работ [5, 31–36, 58–62].

<sup>б</sup>Концентрации, представленные в единицах мкмоль/кг сухого вещества, были переведены в мкмоль/кг ткани путем деления на 4.5 [35].

<sup>с</sup>В заголовках столбцов в скобках указана версия модели. Обозначения в заголовках указывают фермент, параметры которого изменялись в соответствующей версии модели, или параметр ([NAD]), который был изменен относительно предыдущих версий модели. РК(РАРД) обозначает версию модели, в которой скорость ферментативной реакции зависит от концентрации РАРД.

<sup>д</sup>Оценки для концентраций свободного NAD<sup>+</sup> и NADH в цитоплазме мышечных клеток были сделаны на основании литературных данных [29, 37].

этом значения концентраций АТР, АДР и АМР считались постоянными и равными значениям, полученным в модели для покоящихся мышц (табл. 2). При каждом значении параметра  $V_{\text{GLY}}$  вычислялась стационарная скорость производства АТР, определяющая допустимый уровень стимуляции мышечной нагрузки. Такой подход позволил нам оценить возможность активации гликолиза при стимуляции мышечной нагрузки, не вводя в модель описание регуляции производства G6P из гликогена.

Для увеличения допустимой активации скорости производства АТР в модели мы усилили ингибирующее воздействие АТР на РК и параллельно ввели активирующее влияние РАРД на скорость РК реакции. С этой целью в уравнении для скорости РК реакции из [23]:

$$V_{\text{РК}} = A_{\text{РК}} \frac{\frac{[\text{РАРД}][\text{АДР}]}{K_{\text{РАРД}}K_{\text{АДР}}}}{1 + \frac{[\text{РАРД}]}{K_{\text{РАРД}}} + \frac{[\text{АДР}]}{K_{\text{АДР}}} + \frac{[\text{РАРД}][\text{АДР}]}{K_{\text{РАРД}}K_{\text{АДР}}} + \frac{[\text{АТР}]}{K_{\text{АТР}}}} \quad (13)$$

со значениями параметров  $K_{\text{PEP}} = 0.05$  мМ,  $K_{\text{ADP}} = 0.415$  мМ,  $K_{\text{ATP}} = 0.35$  мМ [23] и значением активности  $A_{\text{PK}} = 20$  М/ч (табл. 1) константа ингибирования для АТР ( $K_{\text{ATP}}$ ) была заменена следующим выражением:

$$K_{\text{ATP}} = K_A \cdot \left(1 + \frac{[\text{FDP}]}{K_B}\right), \quad (14)$$

где  $K_A = 1$  мкМ,  $K_B = 3$  мкМ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В первой (базовой) версии модели стационарные концентрации большинства промежуточных метаболитов гликолиза оказываются существенно ниже экспериментальных значений, измеренных в покое скелетных мышцах млекопитающих (табл. 2). Причем для 3-PG, 2-PG и PEP модельные и экспериментальные значения концентраций отличаются в 10 и более раз, а для FDP более чем на три порядка.

Во второй версии модели активность пируваткиназы была снижена до 0.6 М/ч. В соответствии с литературными данными [30], это привело к повышению концентрации 3-PG, 2-PG и PEP до значений, близких к наблюдаемым экспериментально в скелетных мышцах в покое (табл. 2).

На следующем этапе (в третьей версии модели) мы скорректировали значение константы равновесия для ENO реакции, уменьшив его с 6.7 до 3.5 [54]. Кроме того, константа Михаэлиса ENO для 2-PG была уменьшена с 56 до 28 мкМ [55], а константа Михаэлиса для PEP была увеличена с 2 до 50 мкМ [56]. Сделанные изменения приблизили реакцию к равновесию и привели к дальнейшему улучшению соответствия модели с экспериментальными данными для [2-PG] (табл. 2).

В четвертой версии модели константа равновесия PGM реакции была увеличена с 0.24 до 0.29 [57]. Это привело к улучшению соответствия модели с экспериментальными данными для [3-PG] (табл. 2).

Коррекция константы равновесия PGK реакции (увеличение значения константы с 380 до 1000 [63]), сделанная в пятой версии модели, не приводит к существенным изменениям концентраций метаболитов (табл. 2).

В работах, посвященных моделированию гликолиза, имеется неопределенность относительно значения константы равновесия для

GAPDH реакции. Нам известна только одна работа [64], где была измерена истинная константа равновесия:

$$K_{\text{GAPDH}} = \frac{[1,3\text{-DPG}][\text{NADH}][\text{H}^+]}{[\text{GAP}][\text{Pi}][\text{NAD}]} = 5.1 \cdot 10^{-8}. \quad (15)$$

Кажущаяся константа равновесия для GAPDH реакции

$$K'_{\text{GAPD}} = \frac{K_{\text{GAPD}}}{[\text{H}^+]} \quad (16)$$

была измерена при физиологических значениях pH (около 7.0) в четырех работах [65] и лежит в диапазоне  $3.6 \cdot 10^{-4} - 1.4 \cdot 10^{-3}$  мМ<sup>-1</sup>. Вычисление кажущейся константы равновесия для GAPDH реакции при pH 7.0 из уравнения (15) дает значение  $5.2 \cdot 10^{-5}$  мМ<sup>-1</sup>. Таким образом, значение кажущейся константы равновесия для GAPD имеет экспериментальный разброс в два порядка:  $5.2 \cdot 10^{-5} - 1.4 \cdot 10^{-3}$  мМ<sup>-1</sup>. В шестой версии модели мы использовали значение  $K'_{\text{GAPDH}} = 5 \cdot 10^{-4}$  мМ<sup>-1</sup> вместо значения 0.136 мМ<sup>-1</sup>, использованного в предыдущих версиях. Изменение константы равновесия для GAPDH реакции приводит к заметному увеличению концентраций FDP, DAP и GAP в модели, однако они все еще остаются существенно ниже экспериментальных значений (табл. 2).

Концентрации этих метаболитов удалось привести в соответствие с экспериментальными значениями за счет значительного снижения отношения концентраций  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$  (табл. 3). Как видно из табл. 3, наиболее полное соответствие между экспериментальными и полученными в модели значениями концентраций метаболитов достигается при концентрации свободного  $\text{NAD}^+$  в цитоплазме, равной 2.5 мкМ (отношение  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}] = 25$ ). Это значение концентрации свободного  $\text{NAD}^+$  было выбрано в качестве параметра для седьмой версии модели, использованной для дальнейшего исследования (табл. 2).

Мы не корректировали в модели значение константы равновесия для реакции, катализируемой TPI. Хотя значение константы равновесия для этой реакции, измеренное *in vitro* с очищенным ферментом, близко к 0.045 [66], отношение концентраций  $[\text{GAP}]/[\text{DAP}]$  (соответствующее константе равновесия), измеренное *in vivo* в различных клетках и тканях млекопитающих, оказывается значительно выше и лежит в диапазоне 0.08–0.57 [32, 33, 61, 67–70]. Было показано, что при измерении константы равновесия для TPI GAP может взаимодействовать с компонентами

**Таблица 3.** Влияние соотношения концентраций свободных  $\text{NAD}^+$  и  $\text{NADH}$  на значения стационарных концентраций метаболитов в версии 7 модели покоящихся скелетных мышц млекопитающих

Метаболит	Эксперимент <sup>а</sup> , мкмоль/кг ткани <sup>б</sup>	Стационарные концентрации метаболитов в модели версии 7 (табл. 2) при разных соотношениях $[\text{NAD}^+]$ и $[\text{NADH}]$ , мкМ							
Свободный $\text{NAD}^{+c}$	нет данных	50	20	10	5	3	2.5	2	1
Свободный $\text{NADH}^c$	нет данных	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
G6P	59–516	119	119	119	119	119	119	119	119
F6P	34–134	39.6	39.6	39.6	39.6	39.6	39.6	39.6	39.6
FDP	20–80	0.0712	0.371	1.40	5.43	15.0	21.5	33.7	136
DAP	9–60	3.09	7.05	13.7	26.9	46.7	53.6	67.06	135
GAP	2.3–20	1.37	3.15	6.13	12.1	20.1	24.1	30.1	60.6
1,3-DPG	нет данных	0.409	0.409	0.409	0.409	0.409	0.409	0.409	0.409
3-PG	20–40	41.5	41.5	41.5	41.5	41.5	41.5	41.5	41.5
2-PG	10–20	11.9	11.9	11.9	11.9	11.9	11.9	11.9	11.9
PEP	13–50	41.1	41.1	41.1	41.1	41.1	41.1	41.1	41.1
ATP	3980–5740	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3	4815.3
ADP	135–640	527	527	527	527	527	527	527	527
AMP	14–98	57.7	57.7	57.7	57.7	57.7	57.7	57.7	57.7

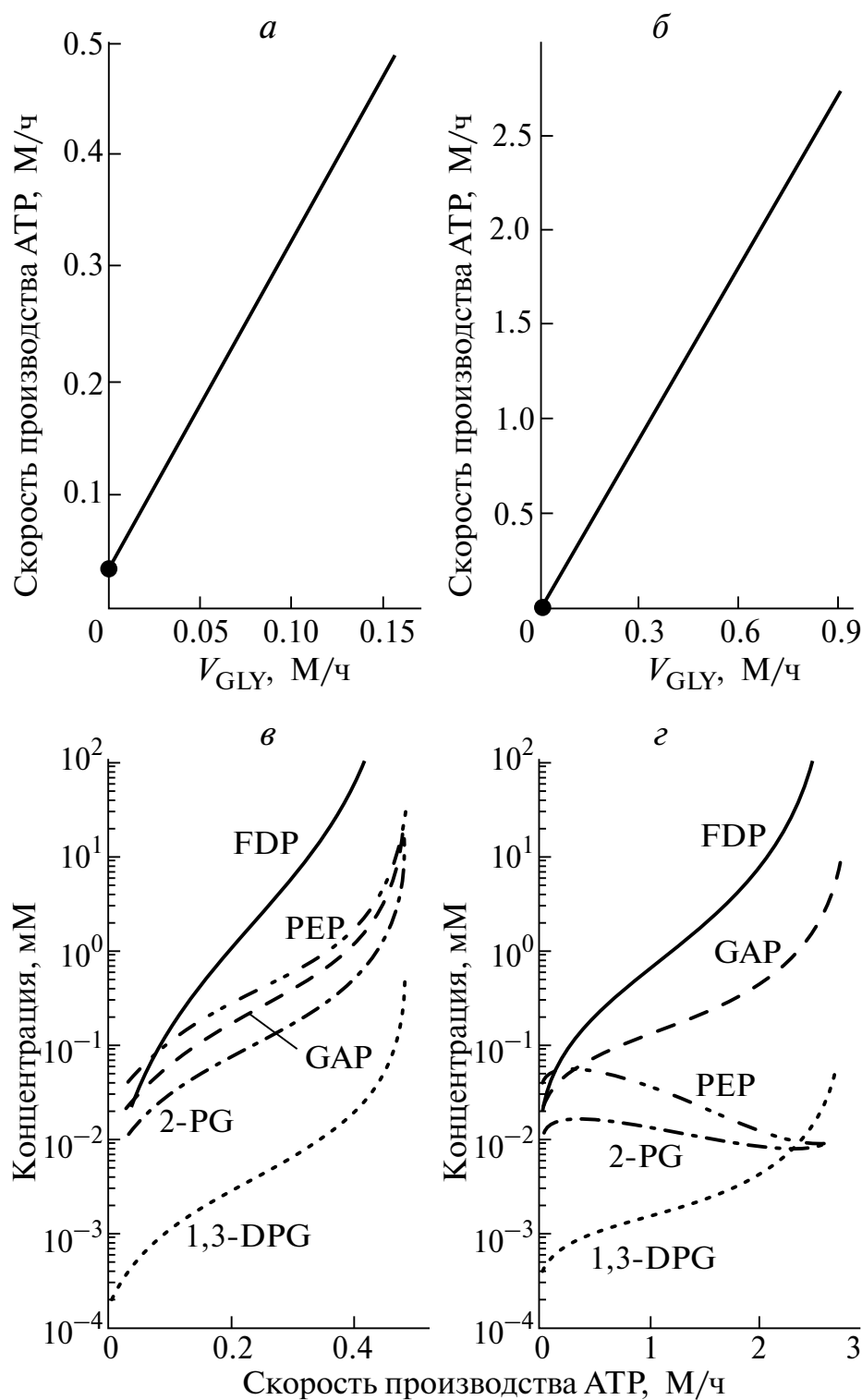
<sup>а</sup>Экспериментальные значения концентраций метаболитов были взяты из работ [5, 31–36, 58–62].

<sup>б</sup>Концентрации, представленные в единицах мкмоль/кг сухого вещества, были переведены в мкмоль/кг ткани путем деления на 4.5 [35].

<sup>с</sup>Оценки для концентраций свободного  $\text{NAD}^+$  и  $\text{NADH}$  в цитоплазме мышечных клеток были сделаны на основании литературных данных [29, 37].

реакционной смеси, что приводит к появлению его неактивных форм, которые могут повлиять на значение измеряемой константы [71]. В связи с этим мы предположили, что ТРІ-реакция в клетках находится в равновесии вследствие высокой активности фермента, а отношение концентраций  $[\text{GAP}]/[\text{DAP}]$  отличается от значения константы равновесия благодаря присутствию неактивных форм GAP, возникающих в результате взаимодействия GAP с внутриклеточными компонентами. Мы использовали в модели значение 0.45 как эффективное для константы равновесия ТРІ-реакции в клетках, которое учитывает взаимодействие GAP с внутриклеточными компонентами.

Особенностью скелетных мышц является очень большая скорость потребления АТР при стимуляции мышечной активности, которая может в 50–100 раз превышать скорость потребления АТР в покое [18, 36, 72–74]. Таким образом, для полноценного описания гликолиза в скелетных мышцах модель должна допускать активацию производства АТР в 50–100 раз при соответствующей активации скорости потребления АТР. Это означает, что при скорости производства АТР в покое, равной 35 мМ/ч, модель должна обеспечивать возможность увеличения производства АТР до 1.75–3.5 М/ч. Поскольку активность НК в модели равна 0.1 М/ч, то скорость производства АТР из глюкозы не может превышать 0.2 М/ч. Для большей активации



**Рис. 2.** Влияние активации пируваткиназы фруктозо-1,6-дифосфатом на скорость производства АТР в модели при стимуляции мышечной работы. *a, б* – Соотношение между скоростью производства G6P из гликогена ( $V_{GLY}$ ) и стационарной скоростью производства АТР при стимуляции мышечной работы в модели с РК, независимой от FDP (*a*), и с РК, активируемой FDP (*б*). *в, г* – Зависимость стационарных концентраций метаболитов гликолиза от скорости производства АТР в модели с РК, независимой от FDP (*в*), и с РК, активируемой FDP (*г*). Стимуляция мышечной работы рассматривается как увеличение скорости потребления АТР. На графиках представлены стационарные значения скоростей и концентраций. Поэтому во всех случаях скорости производства и потребления АТР равны между собой.



производства АТФ необходимо дополнительное производство G6P из гликогена (рис. 1). Однако при активности РК в модели, равной 0.6 М/ч, гликолиз все равно не может обеспечить необходимую активацию скорости производства АТФ. Как видно из рис. 2а, максимальная скорость производства АТФ, которая может быть достигнута в этой версии модели, составляет около 0.5 М/ч, что соответствует активации гликолиза в 14 раз. Однако такая скорость достигается при недопустимо высоком накоплении метаболитов, в первую очередь FDP (рис. 2в), которое может вызвать осмотическое разрушение клеток [26]. При допустимом накоплении метаболитов в модели, в пределах 10 мМ, скорость производства АТФ еще меньше и составляет около 329 мМ/ч, что соответствует активации производства АТФ всего лишь в 9.4 раза по сравнению с состоянием покоя. Синхронный рост концентраций всех метаболитов от PEP до FDP на рис. 2в указывает на то, что лимитирующим скорость гликолиза участком в этом случае является РК.

Для обеспечения достаточно значительного увеличения производства АТФ в восьмой версии модели мы усилили ингибирующий эффект АТФ на РК и параллельно ввели активацию РК фруктозо-1,6-дифосфатом (уравнения (13), (14)). В этом случае удается получить достаточно низкую активность РК реакции в покое мышцах, обеспечивающую соответствие между экспериментальными и полученными в модели значениями концентраций PEP, 2-PG и 3-PG (табл. 2), и в то же время обеспечить достаточно сильное увеличение производства АТФ при стимуляции мышечной активности (рис. 2б). Как видно из рис. 2б, максимальная скорость производства АТФ, которая может быть достигнута в этой версии модели, превышает 2.5 М/ч, что соответствует активации гликолиза в 70 раз. Однако, как и в седьмой версии модели, максимальная скорость достигается при недопустимо высоких концентрациях метаболитов, в первую очередь FDP (рис. 2г), что может вызвать осмотическое разрушение клеток. При допустимом накоплении метаболитов в модели, в пределах 10 мМ, скорость производства АТФ составляет 2.07 М/ч, что соответствует 59-кратной активации производства АТФ по сравнению с состоянием покоя. Такая активация лежит в пределах экспериментально наблюдаемой активации гликолиза при стимуляции мышечной нагрузки. Более того, в этой версии модели сохраняется активность пируваткиназы, соответствующая экспериментальным наблюдаемым значениям в скелетных мышцах млекопитающих (табл. 1).

Из рис. 2г видно, что с увеличением скорости производства АТФ концентрации PEP и 2-PG снижаются, а концентрации 1,3-DPG, GAP и FDP растут. Это указывает на то, что в данном случае лимитирующим скорость гликолиза участком является не РК, а PGK и, возможно, GAPDH.

Надо отметить, что результаты, приведенные на рис. 2, имеют скорее качественный, чем количественный характер, поскольку получены при довольно искусственных предположениях о постоянстве концентраций  $\text{NAD}^+$ , NADH, АТФ, ADP и AMP.

Интересно также отметить, что модификация модели никак не повлияла на стационарные значения концентраций АТФ, ADP и AMP (табл. 2 и 3). Это связано с тем, что стационарная скорость производства АТФ в гликолизе определяется скоростью его потребления и регулируется ферментами PFK и HK [75], которые не подвергались модификации в данной работе. Скорость реакций, катализируемых этими ферментами, регулируется концентрациями АТФ и AMP. Поскольку во всех версиях модели скорость потребления АТФ в покое оставалась постоянной, то и значения концентраций АТФ и AMP (и, следовательно, ADP) не менялись.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В результате модификации количественной математической модели гликолиза эритроцитов человека нами была построена математическая модель гликолиза в скелетных мышцах млекопитающих, в которой стационарные значения концентраций метаболитов в состоянии покоя находятся в хорошем соответствии с экспериментальными значениями, приведенными для этих метаболитов в литературе. Для достижения соответствия между теоретическими и экспериментальными значениями концентраций метаболитов было сделано несколько существенных предположений. Во-первых, было предположено, что активность РК в скелетных мышцах в состоянии покоя существенно ниже приведенных в литературе экспериментальных значений. Такое предположение уже высказывалось ранее в литературе [30]. При этом, для того чтобы обеспечить необходимую скорость производства АТФ в гликолизе при стимуляции мышечной работы, мы предположили, что FDP значительно активирует РК. Кроме того, для описания профиля метаболитов гликолиза в покое скелетных мышц пришлось предположить, что в мышечных клетках отношение концентраций свободных

$\text{NAD}^+$  и  $\text{NADH}$  ( $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$ ) в цитоплазме существенно ниже предполагаемых в литературе значений.

Первое из указанных выше предположений можно объяснить тем, что в покое мышцах РК подвержена сильному ингибированию аденозинтрифосфатом, и FDP снимает это ингибирование. Хотя считается, что у птиц и млекопитающих FDP не активирует мышечную РК [76, 77], эта активация наблюдается экспериментально при высоких концентрациях FDP [78], которые можно ожидать при активации мышечной работы (рис. 2). Активирующее влияние FDP на РК было обнаружено в эмбриональных мышцах крыс и кур [79, 80]. Вполне возможно, что аллостерическая регуляция мышечной пируваткиназы теряется в условиях измерения ее кинетических свойств *in vitro*. Действительно, кинетические характеристики выделенного фермента *in vitro* могут существенно отличаться от кинетических характеристик этого фермента при внутриклеточных условиях. Например, было показано, что в лизатах печени и клеток цистатионин b-синтаза активируется S-аденозилметионином гораздо сильнее, чем очищенный фермент [81]. Более того, вполне возможно, что аллостерическая регуляция мышечной пируваткиназы *in vivo* обусловлена взаимодействием не с FDP, а с каким-то другим метаболитом [77].

Что касается предположения о более низком отношении  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$  в скелетных мышцах, то надо отметить, что  $\text{NADH}$  — лабильный метаболит, который может легко окисляться в процессе отбора и подготовки образцов для его определения. В связи с этим вполне естественно предположить, что его концентрация, приведенная в литературе для скелетных мышц, может быть занижена. На это косвенно указывают данные по измерению отношения  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$  в культурах клеток, когда фиксация образца может быть сделана очень быстро [82, 83]. В этих условиях отношение  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$ , измеренное в разных клетках, оказывается значительно ниже (а относительная концентрация  $\text{NADH}$  оказывается значительно выше), чем в скелетных мышцах.

Указанные предположения являются принципиальными для моделирования профиля концентраций метаболитов гликолиза в скелетных мышцах млекопитающих. Как видно из табл. 2, коррекция значений констант равновесия ферментативных реакций и модификация кинетических параметров ENO не оказывают

существенного влияния на профиль концентраций метаболитов гликолиза в модели.

Естественно, сделанные предположения нуждаются в экспериментальной проверке. Тем не менее можно заключить, что представленная модель является первым шагом на пути серьезного системного изучения регуляции энергетического метаболизма в скелетных мышцах.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источники финансирования.** Работа была поддержана Российским научным фондом, грант № 23-24-00178 для ММВ и ВВМ.

**Соответствие принципам этики.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chatzinikolaou P.N., Margaritelis N.V., Paschalis V., Theodorou A.A., Vrabas I.S., Kyparos A., D'Alessandro A., Nikolaidis M.G. 2024. Erythrocyte metabolism. *Acta Physiol.* **240** (3), e14081. doi 10.1111/apha.14081.
2. Domonkos J. 1961. The metabolism of the tonic and tetanic muscles I. Glycolytic metabolism. *Arch. Biochem. Biophys.* **95** (1), 138–143. doi 10.1016/0003-9861(61)90118-7.
3. Bass A., Brdiczka D., Eyer P., Hofer S., Pette D. 1969. Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. *Eur. J. Biochem.* **10** (2), 198–206. doi 10.1111/j.1432-1033.1969.tb00674.x.
4. Burleigh I.G., Schimke R.T. 1969. The activities of some enzymes concerned with energy metabolism in mammalian muscles of differing pigmentation. *Biochem. J.* **113** (1), 157–166. doi 10.1042/bj1130157.
5. Greenhaff P.L., Nevill M.E., Soderlund K., Bodin K., Boobis L.H., Williams C., Hultman E. 1994. The metabolic responses of human type I and II muscle fibres during maximal treadmill sprinting. *J. Physiol.* **478** (1), 149–155. doi 10.1113/jphysiol.1994.sp020238.
6. Vander Heiden M.G., Cantley L.C., Thompson C.B. 2009. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science.* **324** (5930), 1029–1033. doi 10.1126/science.1160809.
7. Zhou D., Duan Z., Li Z., Ge F., Wei R., Kong L. 2022. The significance of glycolysis in tumor progression and its relationship with the tumor microenvironment. *Front. Pharmacol.* **13**. 1091779. doi 10.3389/fphar.2022.1091779.

8. Rigoulet M., Bouchez C.L., Paumard P., Ransac S., Cuvellier S., Duvezin-Caubet S., Mazat J.P., Devin A. 2020. Cell energy metabolism: An update. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenergetics*. **1861** (11), 148276. doi 10.1016/j.bbabo.2020.148276.
9. Soto-Herederо G., Gómez de las Heras M.M., Gabandé-Rodríguez E., Oller J., Mittelbrunn M. 2020. Glycolysis – a key player in the inflammatory response. *FEBS J.* **287** (16), 3350–3369. doi 10.1111/febs.15327.
10. Fuller G.G., Kim J.K. 2021. Compartmentalization and metabolic regulation of glycolysis. *J. Cell Sci.* **134** (20), jcs258469. doi 10.1242/jcs.258469.
11. Gustavsson A.-K., van Niekerk D.D., Adiels C.B., Goksör M., Snoep J.L. 2014. Heterogeneity of glycolytic oscillatory behaviour in individual yeast cells. *FEBS Lett.* **588** (1), 3–7. doi 10.1016/j.febslet.2013.11.028.
12. Ньюсхолм Э., Старт К. 1977. *Регуляция метаболизма*. М.: Мир.
13. Rodwell V.W., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Weil P.A. 2018. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 31st ed. McGraw Hill / Medical, p. 412–428.
14. Ren J.M., Hultman E. 1989. Regulation of glycogenolysis in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* **67** (6), 2243–2248. doi 10.1152/jappl.1989.67.6.2243.
15. Chasiotis D., Sahlin K., Hultman E. 1982. Regulation of glycogenolysis in human muscle at rest and during exercise. *J. Appl. Physiol.* **53** (3), 708–15. doi 10.1152/jappl.1982.53.3.708.
16. Parolin M.L., Chesley A., Matsos M.P., Spriet L.L., Jones N.L., Heigenhauser G.J.F. 1999. Regulation of skeletal muscle glycogen phosphorylase and PDH during maximal intermittent exercise. *Am. J. Physiol.-Endocrin. Metab.* **277** (5), E890–900. doi 10.1152/ajpendo.1999.277.5.E890.
17. Ren J.M., Hultman E. 1990. Regulation of phosphorylase activity in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* **69** (3), 919–923. doi 10.1152/jappl.1990.69.3.919.
18. Spriet L.L., Howlett R.A., Heigenhauser G.J.F. 2000. An enzymatic approach to lactate production in human skeletal muscle during exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* **32** (4), 756–763. doi 10.1097/00005768-200004000-00007.
19. Sahlin K., Gorski J., Edstrom L. 1990. Influence of ATP turnover and metabolite changes on IMP formation and glycolysis in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* **259** (3), C409–C412. doi 10.1152/ajpcell.1990.259.3.C409.
20. Chasiotis D., Sahlin K., Hultman E. 1983. Regulation of glycogenolysis in human muscle in response to epinephrine infusion. *J. Appl. Physiol.* **54** (1), 45–50. doi 10.1152/jappl.1983.54.1.45.
21. Katz A., Westerblad H. 2014. Regulation of glycogen breakdown and its consequences for skeletal muscle function after training. *Mamm. Gen.* **25** (9–10), 464–472. doi 10.1007/s00335-014-9519-x.
22. Katz A. 2022. A century of exercise physiology: Key concepts in regulation of glycogen metabolism in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* **122** (8), 1751–1772. doi 10.1007/s00421-022-04935-1.
23. Martinov M.V., Plotnikov A.G., Vitvitsky V.M., Ataullakhanov F.I. 2000. Deficiencies of glycolytic enzymes as a possible cause of hemolytic anemia. *Biochim. Biophys. Acta – General Subjects*. **1474** (1), 75–87. doi 10.1016/S0304-4165(99)00218-4.
24. Korendyaseva T.K., Kuvatov D.N., Volkov V.A., Martinov M.V., Vitvitsky V.M., Banerjee R., Ataullakhanov F.I. 2008. An allosteric mechanism for switching between parallel tracks in mammalian sulfur metabolism. *PLoS Comput Biol.* **4** (5), e1000076. doi 10.1371/journal.pcbi.1000076.
25. Zaitsev A.V., Martinov M.V., Vitvitsky V.M., Ataullakhanov F.I. 2019. Rat liver folate metabolism can provide an independent functioning of associated metabolic pathways. *Sci. Rep.* **9** (1), 7657. doi 10.1038/s41598-019-44009-5.
26. Ataullakhanov F.I., Martinov M.V., Shi Q., Vitvitsky V.M. 2022. Significance of two transmembrane ion gradients for human erythrocyte volume stabilization. *PLoS One*. **17** (12), e0272675. doi 10.1371/journal.pone.0272675.
27. Protasov E., Martinov M., Sinauridze E., Vitvitsky V., Ataullakhanov F. 2023. Prediction of oscillations in glycolysis in ethanol-consuming erythrocyte-bioreactors. *Int. J. Mol. Sci.* **24** (12), 10124. doi 10.3390/ijms241210124.
28. Lambeth M.J., Kushmerick M.J. 2002. A computational model for glycogenolysis in skeletal muscle. *Ann. Biomed. Eng.* **30** (6), 808–827. doi 10.1114/1.1492813.
29. Li Y., Dash R.K., Kim J., Saidel G.M., Cabrera M.E. 2009. Role of NADH/NAD<sup>+</sup> transport activity and glycogen store on skeletal muscle energy metabolism during exercise: In silico studies. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* **296** (1), C25–C46. doi 10.1152/ajpcell.00094.2008.
30. Schmitz J.P.J., Van Riel N.A.W., Nicolay K., Hilbers P.A.J., Jeneson J.A.L. 2010. Silencing of glycolysis in muscle: Experimental observation and numerical analysis. *Exp. Physiol.* **95** (2), 380–397. doi 10.1113/expphysiol.2009.049841.
31. Karl I.E., Voyles N., Recant L. 1968. Effects of plasma albumin on glycolytic intermediates in rat diaphragm muscle. *Diabetes*. **17** (6), 374–384. doi 10.2337/diab.17.6.374.
32. Harris R.C., Hultman E., Nordesjö L.O. 1974. Glycogen, glycolytic intermediates and high-energy phosphates determined in biopsy samples of musculus quadriceps femoris of man at rest. Methods and variance of values. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **33** (2), 109–120.
33. Beatty C.H., Young M.K., Bocek R.M. 1976. Control of glycolysis in skeletal muscle from fetal rhesus monkeys. *Pediatr. Res.* **10** (3), 149–153. doi 10.1203/00006450-197603000-00001.

34. Cheetham M.E., Boobis L.H., Brooks S., Williams C. 1986. Human muscle metabolism during sprint running. *J. Appl. Physiol.* **61** (1), 54–60. doi 10.1152/jappl.1986.61.1.54.
35. Putman C.T., Jones N.L., Hultman E., Hollidge-Horvat M.G., Bonen A., McConachie D.R., Heigenhauser G.J.F. 1998. Effects of short-term submaximal training in humans on muscle metabolism in exercise. *Am. J. Physiol.-Endocrin. Metab.* **275** (1), E132–E139. doi 10.1152/ajpendo.1998.275.1.E132.
36. Ren J.M., Chasiotis D., Bergström M., Hultman E. 1988. Skeletal muscle glycolysis, glycogenolysis and glycogen phosphorylase during electrical stimulation in man. *Acta Physiol. Scand.* **133** (1), 101–107. doi 10.1111/j.1748–1716.1988.tb08387.x.
37. White A.T., Schenk S. 2012. NAD<sup>+</sup>/NADH and skeletal muscle mitochondrial adaptations to exercise. *Am. J. Physiol.-Endocrin. Metab.* **303** (3), E308–E321. doi 10.1152/ajpendo.00054.2012.
38. Hudlicka O., Aitman T., Heilig A., Leberer E., Tyler K.R., Pette D. 1984. Effects of different patterns of long-term stimulation on blood flow, fuel uptake and enzyme activities in rabbit fast skeletal muscles. *Pflügers Arch.* **402** (3), 306–311. doi 10.1007/BF00585514.
39. Burleigh I.G., Schimke R.T. 1968. On the activities of some enzymes concerned with glycolysis and glycogenolysis in extracts of rabbit skeletal muscles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **31** (5), 831–836. doi 10.1016/0006–291X(68)90638–4.
40. Baldwin K., Winder W., Terjung R., Holloszy J. 1973. Glycolytic enzymes in different types of skeletal muscle: Adaptation to exercise. *Am. J. Physiol.-Legacy Content.* **225** (4), 962–966. doi 10.1152/ajplegacy.1973.225.4.962.
41. Surholt B., Newsholme E.A. 1981. Maximum activities and properties of glucose 6-phosphatase in muscles from vertebrates and invertebrates. *Biochem. J.* **198** (3), 621–629. doi 10.1042/bj1980621.
42. Blomstrand E., Ekblom B., Newsholme E.A. 1986. Maximum activities of key glycolytic and oxidative enzymes in human muscle from differently trained individuals. *J. Physiol.* **381** (1), 111–118. doi 10.1113/jphysiol.1986.sp016316.
43. Simoneau J.A., Bouchard C. 1989. Human variation in skeletal muscle fiber-type proportion and enzyme activities. *Am. J. Physiol.-Endocrin. Metab.* **257** (4), E567–E572. doi 10.1152/ajpendo.1989.257.4.E567.
44. Howald H., Pette D., Simoneau J.-A., Uber A., Hoppele H., Cerretelli P. 1990. Effects of chronic hypoxia on muscle enzyme activities. *Int. J. Sports Med.* **11** (S 1), S10–S14. doi 10.1055/s-2007–1024847.
45. Pette D., Dölken G. 1975. Some aspects of regulation of enzyme levels in muscle energy-supplying metabolism. *Adv. Enzyme Regul.* **13**, 355–377. doi 10.1016/0065–2571(75)90025–4.
46. DiMauro S., Dalakas M., Miranda A.F. 1983. Phosphoglycerate kinase deficiency: Another cause of recurrent myoglobinuria. *Ann. Neurol.* **13** (1), 11–19. doi 10.1002/ana.410130104.
47. Bresolin N., Ro Y.-I., Reyes M., Miranda A.F., DiMauro S. 1983. Muscle phosphoglycerate mutase (PGAM) deficiency: A second case. *Neurology.* **33** (8), 1049–1053. doi 10.1212/WNL.33.8.1049.
48. Berg A., Kim S., Keul J. 1986. Skeletal muscle enzyme activities in healthy young subjects\*. *Int. J. Sports Med.* **7** (4), 236–239. doi 10.1055/s-2008–1025766.
49. Shonk C.E., Koven B.J., Majima H., Boxer G.E. 1964. Enzyme patterns in human tissues. II. Glycolytic enzyme patterns in nonmalignant human tissues. *Cancer Res.* **24**, 722–731.
50. Opie L., Newsholme E. 1967. The activities of fructose 1,6-diphosphatase, phosphofructokinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in white muscle and red muscle. *Biochem. J.* **103** (2), 391–399. doi 10.1042/bj1030391.
51. Roberts A., Billeter R., Howald H. 1982. Anaerobic muscle enzyme changes after interval training. *Int. J. Sports Med.* **3** (1), 18–21. doi 10.1055/s-2008–1026055.
52. Cohen C.D., Hindmarsh A.C. 1996. CVODE, A Stiff/Nonstiff ODE Solver in C. *Computers in Physics.* **10** (2), 138–143.
53. Doedel E.J., Paffenroth R.C., Champneys A.R., Fairgrieve T.F., Kuznetsov Y.A., Sandstede B., Wang X. 2001. AUTO 2000: Continuation and bifurcation software for ordinary differential equations (with HomCont). *Technical Report, California Institute of Technology, Pasadena, CA 91125, USA.*
54. Goldberg R.N., Tewari Y.B. 1995. Thermodynamics of enzyme-catalyzed reactions: Part 4. Lyases. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* **24** (5), 1669–1698. doi 10.1063/1.555969.
55. Hoorn R.K.J., Flikweert J.P., Staal G.E.J. 1974. Purification and properties of enolase of human erythrocytes. *Int. J. Biochem.* **5** (11–12), 845–852. doi 10.1016/0020–711X(74)90119–0.
56. Wold F., Ballou C.E. 1957. Studies on the enzyme enolase. II. Kinetic studies. *J. Biol. Chem.* **227** (1), 313–328.
57. Goldberg R.N., Tewari Y.B. 1995. Thermodynamics of enzyme-catalyzed reactions: Part 5. Isomerases and ligases. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* **24** (6), 1765–7801. doi 10.1063/1.555970.
58. Scopes R.K., Newbold R.P. 1968. Post-mortem glycolysis in ox skeletal muscle. Effect of pre-rigor freezing and thawing on the intermediary metabolism. *Biochem. J.* **109** (2), 197–202. doi 10.1042/bj1090197.
59. Dohm G.L., Patel V.K., Kasperek G.J. 1986. Regulation of muscle pyruvate metabolism during exercise. *Biochem. Med. Metab. Biol.* **35** (3), 260–266. doi 10.1016/0885–4505(86)90081–2.

60. Bissonnette D.J., Jeejeebhoy K.N. 1998. Feeding a low energy diet and refeeding a control diet affect glycolysis differently in the slow- and fast-twitch muscles of adult male wistar rats. *J. Nutr.* **128** (10), 1723–1730. doi 10.1093/jn/128.10.1723.
61. Veech R.L., Rajjman L., Dalziel K., Krebs H.A. 1969. Disequilibrium in the triose phosphate isomerase system in rat liver. *Biochem. J.* **115** (4), 837–842. doi 10.1042/bj1150837.
62. Hagopian K., Tomilov A.A., Kim K., Cortopassi G.A., Ramsey J.J. 2015. Key glycolytic enzyme activities of skeletal muscle are decreased under fed and fasted states in mice with knocked down levels of Shc proteins. *PLoS One*. **10** (4), e0124204. doi 10.1371/journal.pone.0124204.
63. Goldberg R.N., Tewari Y.B. 1994. Thermodynamics of enzyme-catalyzed reactions: Part 2. Transferases. *J. Phys. Chem. Ref. Data*. **23** (4), 547–617. doi 10.1063/1.555948.
64. Cornell N.W., Leadbetter M., Veech R.L. 1979. Effects of free magnesium concentration and ionic strength on equilibrium constants for the glyceraldehyde phosphate dehydrogenase and phosphoglycerate kinase reactions. *J. Biol. Chem.* **254** (14), 6522–6527.
65. Goldberg R.N., Tewari Y.B., Bell D., Fazio K., Anderson E. 1993. Thermodynamics of enzyme-catalyzed reactions: Part 1. Oxidoreductases. *J. Phys. Chem. Ref. Data*. **22** (2), 515–582. doi 10.1063/1.555939.
66. Goldberg R.N., Tewari Y.B. 1995. Thermodynamics of enzyme-catalyzed reactions: Part 5. Isomerases and ligases. *J. Phys. Chem. Ref. Data*. **24** (6), 1765–1801. doi 10.1063/1.555970.
67. Drewes L.R., Gilboe D.D. 1973. Glycolysis and the permeation of glucose and lactate in the isolated, perfused dog brain during anoxia and postanoxic recovery. *J. Biol. Chem.* **248** (7), 2489–2496.
68. Eber S.W., Pekrun A., Bardosi A., Gahr M., Krietsch W.K.G., Krüger J., Matthei R., Schröter W. 1991. Triosephosphate isomerase deficiency: Haemolytic anaemia, myopathy with altered mitochondria and mental retardation due to a new variant with accelerated enzyme catabolism and diminished specific activity. *Eur. J. Pediatr.* **150** (11), 761–766. doi 10.1007/BF02026706.
69. Rijksen G., Staal G.E. 1978. Human erythrocyte hexokinase deficiency. Characterization of a mutant enzyme with abnormal regulatory properties. *J. Clin. Invest.* **62** (2), 294–301. doi 10.1172/JCI109129.
70. Minakami S., Suzuki C., Saito T., Yoshikawa H. 1965. Studies on erythrocyte glycolysis I. Determination of the glycolytic intermediates in human erythrocytes. *J. Biochem.* **58** (6), 543–550. doi 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a128240.
71. Lim W.A., Raines R.T., Knowles J.R. 1988. Triose-phosphate isomerase catalysis is diffusion controlled. Appendix: Analysis of triose phosphate equilibria in aqueous solution by phosphorus-31 NMR. *Biochemistry*. **27** (4), 1165–1167. doi 10.1021/bi00404a014.
72. Katz A., Broberg S., Sahlin K., Wahren J. 1986. Leg glucose uptake during maximal dynamic exercise in humans. *Am. J. Physiol.-Endocrin. Metab.* **251** (1), E65–E70. doi 10.1152/ajpendo.1986.251.1.E65.
73. Sahlin K., Katz A., Henriksson J. 1987. Redox state and lactate accumulation in human skeletal muscle during dynamic exercise. *Biochem. J.* **245** (2), 551–556. doi 10.1042/bj2450551.
74. Baker J.S., McCormick M.C., Robergs R.A. 2010. Interaction among skeletal muscle metabolic energy systems during intense exercise. *J. Nutr. Metab.* **2010**, 1–13. doi 10.1155/2010/905612.
75. Ataullakhanov F.I., Vitvitsky V.M., Zhabotinsky A.M., Pichugin A.V., Platonova O.V., Kholodenko B.N., Ehrlich L.I. 1981. The regulation of glycolysis in human erythrocytes. The dependence of the glycolytic flux on the ATP concentration. *Eur. J. Biochem.* **115** (2), 359–365. doi 10.1111/j.1432-1033.1981.tb05246.x.
76. Hall E.R., Larry Cottam G. 1978. Isozymes of pyruvate kinase in vertebrates: Their physical, chemical, kinetic and immunological properties. *Int. J. Biochem.* **9** (11), 785–794. doi 10.1016/0020-711X(78)90027-7.
77. Zammit V.A., Beis I., Newsholme E.A. 1978. Maximum activities and effects of fructose bisphosphate on pyruvate kinase from muscles of vertebrates and invertebrates in relation to the control of glycolysis. *Biochem. J.* **174** (3), 989–998. doi 10.1042/bj1740989.
78. Phillips F.C., Ainsworth S. 1977. Allosteric properties of rabbit muscle pyruvate kinase. *Int. J. Biochem.* **8** (10), 729–735. doi 10.1016/0020-711X(77)90070-2.
79. Guguen-Guillouzo C., Szajnert M.-F., Marie J., Delain D., Schapira F. 1977. Differentiation in vivo and in vitro of pyruvate kinase isozymes in rat muscle. *Biochimie*. **59** (1), 65–71. doi 10.1016/S0300-9084(77)80087-4.
80. Harris W., Days R., Johnson C., Finkelstein I., Stallworth J., Hubert C. 1977. Studies on avian heart pyruvate kinase during development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **75** (4), 1117–1121. doi 10.1016/0006-291X(77)91498-X.
81. Jensen K.K., Geoghagen N.S., Jin L., Holt T.G., Luo Q., Malkowitz L., Ni W., Quan S., Waters M.G., Zhwang A., Zhou H.H., Cheng K., Luo M.-J. 2011. Pharmacological activation and genetic manipulation of cystathionine beta-synthase alter circulating levels of homocysteine and hydrogen sulfide in mice. *Eur. J. Pharmacol.* **650** (1), 86–93. doi 10.1016/j.ejphar.2010.09.080.
82. Yuan X., Liu Y., Bijonowski B.M., Tsai A.-C., Fu Q., Logan T.M., Ma T., Li Y. 2020. NAD<sup>+</sup>/NADH redox alterations reconfigure metabolism and rejuvenate senescent human mesenchymal stem cells in vitro. *Commun. Biol.* **3** (1), 774. doi 10.1038/s42003-020-01514-y.
83. Pan X., Heacock M.L., Abdulaziz E.N., Violante S., Zuckerman A.L., Shrestha N., Yao C., Goodman R.P., Cross J.R., Cracan V. 2024. A genetically encoded tool to increase cellular NADH/NAD<sup>+</sup> ratio in living cells. *Nat. Chem. Biol.* **20** (5), 594–604. doi 10.1038/s41589-023-01460-w.

## Simulation of the Glycolytic Metabolites Concentration Profile in Mammalian Resting Skeletal Muscles

M. V. Martinov<sup>1</sup>, F. I. Ataullakhanov<sup>1, 2</sup>, V. M. Vitvitsky<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>*Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 109029 Russia*

<sup>2</sup>*Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Moscow oblast, 141701 Russia*

*\*e-mail: victor\_vitvitsky@yahoo.com*

For the first time, a mathematical model of glycolysis in mammalian skeletal muscles is presented, in which stationary concentrations of glycolysis metabolites are in good agreement with experimental data obtained in resting muscles. The correspondence between the model and experimental values of metabolite concentrations was achieved due to enhancing the inhibitory effect of ATP on pyruvate kinase and significantly reducing the ratio of [NAD]/[NADH] concentrations in the cytoplasm of skeletal muscles. At the same time, in order for glycolysis to provide the rate of ATP production necessary for activation of muscle load, an activation of muscle pyruvate kinase by fructose-1,6-diphosphate was included in the model.

**Keywords:** glycolysis, skeletal muscles, mathematical model, pyruvate kinase