Математическая биология и биоинформатика
2019. Т. 14. № 2. С. 373–392. doi: 10.17537/2019.14.373

========== **МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ** ==========

УДК: 573.22, 57.032-033

Модульная графическая модель энергетического метаболизма в клетках скелетной мышцы

Киселев И.Н.[1,2], Акбердин И.Р.[2,3,6], Вертышев А.[4], Попов Д.В.[5], Колпаков Ф.А.[1,2]

[1]*Институт вычислительных технологий СО РАН, Новосибирск, Россия*
[2]*ООО «БИОСОФТ.РУ», Новосибирск, Россия*
[3]*Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия*
[4]*ЗАО «СИТЭС-ЦЕНТР», Москва, Россия*
[5]*Государственный научный центр Российской Федерации, Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия*
[6]*Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Аннотация. В работе представлена модификация многокомпартментной математической модели, описывающей функционирование скелетной мышцы в норме на уровне метаболизма клетки. Предложено модульное представление комплексной модели, которое обеспечивает возможность оперативного расширения и модификации компартментов модели для учета сложной организации мышечных клеток и ограничений скорости диффузии метаболитов между внутриклеточными компартментами. В качестве иллюстрации работы модели рассмотрен внутриклеточный ответ в работающей скелетной мышце при аэробном физическом упражнении с постоянной нагрузкой на велоэргометре. Модель доступна по адресу http://wiki.biouml.org/index.php/Muscle_metabolism.

Ключевые слова: *математическая модель, модульное моделирование, скелетные мышцы, физическая нагрузка, метаболизм, физиология, BioUML.*

ВВЕДЕНИЕ

Скелетные мышцы составляют более 30 % от веса тела и играют одну из ключевых ролей в регуляции углеводно-жирового обмена, метаболических и энергетических процессов на уровне всего организма. Это связано с тем, что во время физической нагрузки в скелетной мышце происходят выраженные метаболические изменения: значительно увеличивается мышечный кровоток и скорость потребления O_2, изменяется соотношение ATP к ADP и происходит накопление различных метаболитов. В свою очередь, метаболиты и цитокины, выделяемые работавшей мышцей во время и после сократительной активности, положительно регулируют работу различных систем и органов [1]. Поэтому описание вызванных сократительной активностью метаболических изменений в скелетной мышце является фундаментальной задачей.

Несмотря на активное развитие высокопроизводительных методов, позволяющих проводить измерения содержания множества метаболитов, белков и мРНК на уровне единичной клетки, к настоящему времени данные, полученные на скелетных мышцах человека *in vivo*, представляют собой усредненные количественные показатели содержания основных метаболитов и энергетических молекул. Более того, совершенно отсутствуют данные о динамических различиях в концентрациях этих соединений,

активности ключевых ферментов в различных компартментах клетки при переходе от покоя к физической нагрузке и во время восстановления после упражнения [2]. В этой связи метод математического моделирования предоставляет уникальную возможность для преодоления указанных выше проблем [3]: теоретическую платформу для исследования на количественном уровне динамических ответов и механизмов регуляции работы скелетной мышцы в норме и при различных стрессовых условиях: например, при ишемии или физической нагрузке.

В настоящее время разработан ряд математических моделей, описывающих различные аспекты функционирования скелетной мышцы с различными уровнями детализации [4–17]. В отличие от всех разработанных ранее моделей, в работе Ли с соавторами [2] предложена многокомпартментная модель, которая учитывает основные метаболические пути (гликолиз, метаболизм жирных кислот, цикл Кребса и процессы окислительного фосфорилирования) ассимиляции первичных субстратов (глюкозы и свободных жирных кислот) для энергетического обеспечения сократительной активности мышц на уровне компартментов клетки, а также процессы пассивного и активного транспорта ключевых метаболитов как между кровеносным сосудом и мышечной клеткой, так и между цитоплазмой и митохондриями на внутриклеточном уровне. Отличительной особенностью модели является также то, что она не только позволяет симулировать динамический отклик системы в ответ на стрессовые условия на тканевом уровне, что обычно измеряется в эксперименте, но и дает возможность предсказывать изменение концентраций множества метаболитов и скоростей реакций на внутриклеточном уровне при физических нагрузках. Такая возможность представляется уникальной, поскольку существующие экспериментальные технологии не позволяют проводить такие количественные измерения.

Однако предложенная структура модели не позволяет гибко, оперативно и без значимых усилий проводить ее модификацию и\или расширение, что может быть разрешено при использовании модульного подхода к моделированию живых систем. Модульное моделирование – известный подход, активно используемый в системной биологии в последние несколько лет [18–20]. Данный подход опирается на фундаментальное свойство биологических систем – иерархическую организацию, что позволяет рассматривать их в виде набора функционально разобщенных подсистем. Каждая из таких подсистем может быть исследована отдельно на основе метода математического моделирования, а уже модель всей системы может быть сконструирована как комбинация более простых математических моделей (модулей) на основе закона суммирования локальных скоростей. Каждый модуль или модель подсистемы могут быть созданы, адаптированы к соответствующим экспериментальным данным отдельно, используя свой собственный формализм, масштаб времени и детализацию. Такой подход делает более явной внутреннюю структуру системы, описывая ее как взаимодействие модулей, и является перспективным для создания сложных моделей, описывающих биологические системы на разных уровнях организации и сложности. Кроме того, данный подход позволяет переиспользовать существующие модели биологических систем, и создавать на их основе более сложные модели, вплоть до моделей целых организмов, таких как полная модель физиологии человека [21, 22]. Модульное моделирование реализовано в платформе формального описания биологических систем BioUML [23] и уже было использовано нами при создании комплексных моделей сердечно-сосудистой системы человека [24] и процесса апоптоза [25]. В данной работе мы представляем анализ обновленной версии многокомпартментной математической модели, описывающей функционирование скелетной мышцы в норме и внутриклеточный ответ при максимальной аэробной физической нагрузке (100 % от максимальной скорости потребления O_2 организмом). В отличие от разработанной ранее модели [2] предложено модульное представление комплексной модели и рассмотрен внутриклеточный ответ

Математическая биология и биоинформатика. 2019. Т. 14. № 2. doi: 10.17537/2019.14.373

работающих скелетных мышц при аэробном физическом упражнении с постоянной нагрузкой на велоэргометре.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Платформа BioUML

BioUML (Biological Universal Modeling Language, http://wiki.biouml.org) [23] — это платформа для моделирования биологических систем, написанная на языке программирования Java. Она применима для решения широкого круга задач, включающий доступ к различным базам данных, математическое описание и визуальное представление биологических систем, проведение численных расчетов, подбор параметров и различные типы анализа математических моделей и данных.

Основные возможности платформы BioUML:

- возможность работы как в локальной (standalone) версии программы, так и удаленно, через web-интерфейс;
- поддержка общепринятых стандартов описания моделей биологических систем (Systems Biology Markup Language – SBML [26]) и их графического представления (Systems Biology Graphic Notation – SBGN [27]);
- визуальное моделирование биологических систем и процессов – пользователь графически создает и редактирует математическую модель;
- поддержка различных математических формализмов – обыкновенные дифференциальные уравнения, алгебраические уравнения, мгновенные события, уравнения в частных производных, стохастические модели;
- модульная (plugin-based) архитектура платформы, облегчающая добавление новых типов моделей, методов численного расчета моделей и т. д.

Визуальное моделирование

Задача моделирования сложных систем может быть существенно упрощена с точки зрения исследователя путем представления моделей систем в виде диаграмм и использования компьютерных программ, поддерживающих визуальное моделирование. Визуальное моделирование – это формальное графическое представление систем и процессов в виде диаграмм и последующее моделирование их динамики на основе такого графического представления.

Необходимой составной визуального моделирования является графическая нотация (визуальный синтаксис, графический язык), которая позволяет формально и полно описать модель [28]. Графически модель может быть представлена несколькими типами диаграмм, позволяющими описать разные аспекты структуры и функционирования сложных систем с разным уровнем формальности и детализации. Далее на основе такого формального графического представления (диаграммы) внутри компьютерной программы происходит автоматическая генерация кода для численного моделирования динамики этой модели.

В 2009 году международным консорциумом была предложена графическая нотация SBGN [27] для формального описания структуры и функционирования биологических систем при помощи 3 типов диаграмм:

– диаграмма процессов – предназначена для описания биологических путей;

– диаграмма объектов и связей – описывает взаимодействия между биологическими процессами без учета временного аспекта;

– диаграмма активностей – показывает «поток информации» в процессе функционирования биологических путей.

Мы расширили графическую нотацию SBGN для того, чтобы ее можно было использовать для визуального моделирования физиологических процессов, для

которых недостаточно описать набор процессов между метаболитами, но также необходимо использовать алгебраические, дифференциальные уравнения и мгновенные переходы системы из одного состояния в другое. Дополнительно связи между уравнениями указывают на передачу сигнала в модели, интерфейсные порты модулей (подмоделей) также имеют направление (вход, выход или контакт).

Основой визуального моделирования в платформе BioUML является понятие метамодели, которая обеспечивает формализм для комплексного описания, графического представления и численного моделирования широкого круга биологических и других сложных систем. Метамодель состоит из 3 взаимосвязанных уровней описания сложной системы:

- граф: структура системы описывается как компартментализованный (кластеризованный) граф.
- база данных: каждый элемент графа может содержать ссылку на некоторый объект в базе данных.
- выполняемая модель: с элементами графа (вершинами, ребрами и компартментами) могут быть ассоциированы элементы выполняемой (математической) модели: переменные, формулы, уравнения, события, состояния и переходы. Например, вершины графа могут быть переменными или состояниями системы, а ребра графа могут быть уравнениями, описывающими изменения этих переменных или условными переходами между состояниями.

На рисунке 1 приведен пример простой системы, состоящей из двух последовательных химических реакций и ее представление по уровням метамодели.

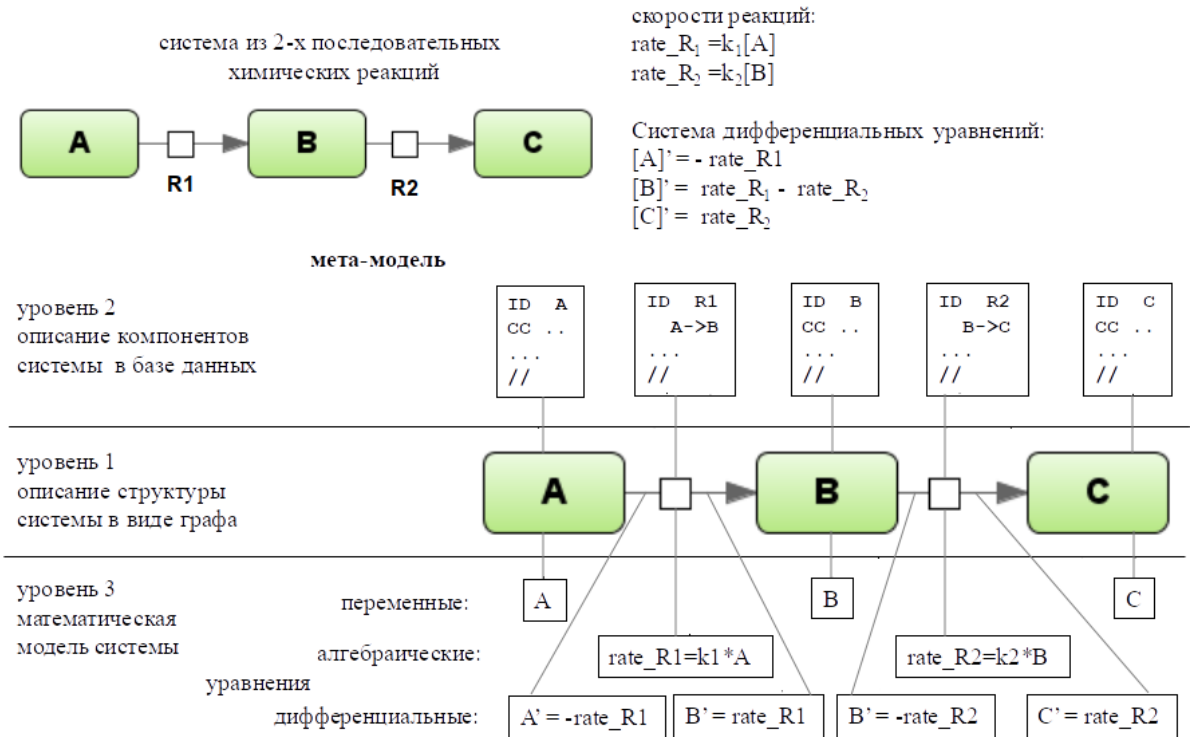

Рис. 1. Пример отображения простой системы, состоящей из 2-х последовательных химических реакций, и ее представление по уровням метамодели.

На основе формального описания биологической системы в терминах разработанной метамодели автоматически генерируется Java-код, представляющий модель соответствующей биологической системы в виде набора алгебро-дифференциальных уравнений, уравнений с задержкой переменной по времени, кусочно-непрерывных функций, событий, состояний и переходов. Сгенерированный

Математическая биология и биоинформатика. 2019. Т. 14. № 2. doi: 10.17537/2019.14.373

код может быть использован для проведения численных расчётов. Для генерации кода используется инструмент численного решения, который определяет: какого типа модель описывается диаграммой, какой код должен быть сгенерирован, и какие методы численного расчета могут быть использованы. Для каждого конкретного типа диаграмм BioUML предлагает свой набор инструментов численного решения: например, для сети реакций может быть сгенерирована система ОДУ или стохастическая модель, для системы ОДУ, в свою очередь, может быть использован алгоритм Адамса [29] или Дорманда – Принса [30]. Каждый инструмент и решатель может быть требуемым образом настроен, указана желаемая точность расчетов, модельное время и т. д. При этом для некоторых типов диаграмм может потребоваться какая-либо предварительная обработка перед генерацией кода. Например, модульная диаграмма, состоящая из отдельных связанных блоков, сначала автоматически приводится к обычному «плоскому» виду. Подробнее об этом виде диаграмм описано в следующей главе. Общая схема моделирования представлена на рисунке 2.

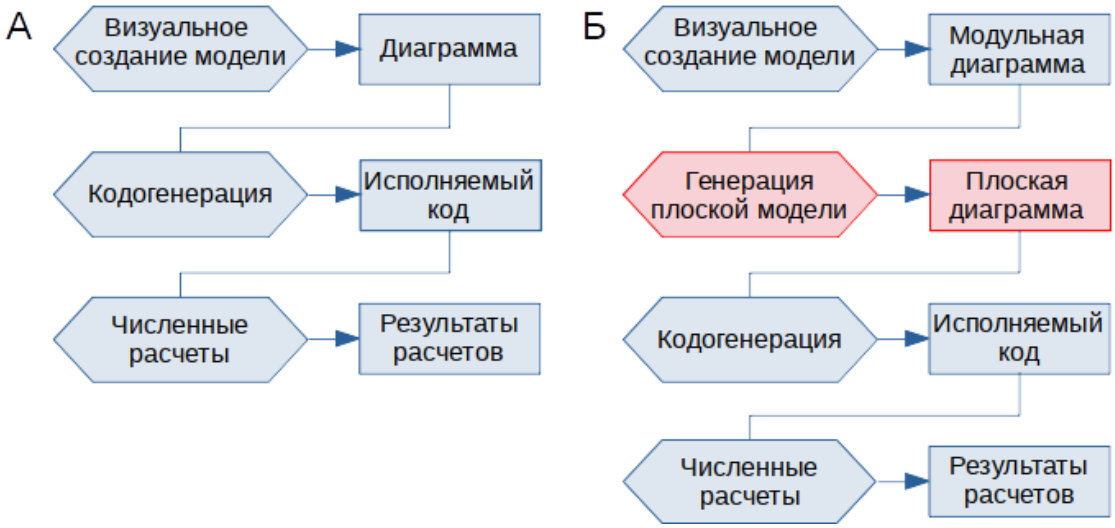

Рис. 2. Схема визуального моделирования в BioUML: **А** – создание обычной модели; **Б** – создание модульной диаграммы, требующей дополнительной автоматической обработки перед расчётами.

Модульное моделирование

В платформе BioUML диаграмма, описывающая модульную модель, содержит соединенные между собой элементы – модули, каждый из которых ссылается на другую диаграмму (возможно, тоже модульную) в платформе. Порты могут быть трех типов – вход, выход и контакт. Между выходом и входом устанавливается направленная связь, означающая передачу сигнала из одного модуля в другой. Между контактами – ненаправленная, обозначающая обмен сигналами (рис. 3). Вспомогательным элементом на модульных диаграммах являются шины, позволяющие устанавливать связи сразу между несколькими модулями дистанционно (рис. 4).

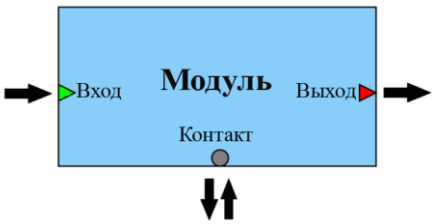

Рис. 3. Модуль, интерфейсные порты.

Математическая биология и биоинформатика. 2019. Т. 14. № 2. doi: 10.17537/2019.14.373

Модульная модель должна быть проинтерпретирована в численную для проведения расчетов. Это может быть сделано несколькими различными способами. В BioUML реализованы следующие два способа:

1. Преобразование по определенным правилам модульной модели с целью получения из нее модели, для которой существует численная реализация (так называемая генерация «плоской» модели [31] (см. рис. 2). Этот подход можно применить, если все модули описаны в рамках одного математического формализма или допускают трансформацию в единый формализм.

2. Алгоритм численных расчетов на основе принципов агентного моделирования (так называемая ко-симуляция [20]). В этом случае расчеты для каждого модуля происходят отдельно с использованием отдельного инструмента численного решения (т.е. модули могут иметь различный тип и математический формализм) и метода численного расчета. Синхронизация и обмен сообщениями, соответственно, установленным связям осуществляется отдельной подпрограммой – планировщиком.

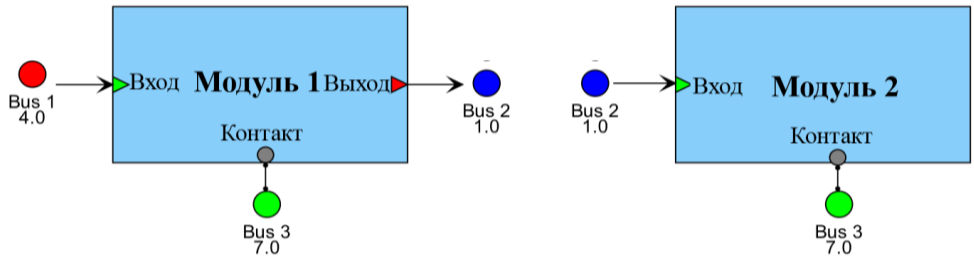

Рис. 4. Пример использования шин. Несколько шин могут быть ассоциированы с одной и той же переменной − в таком случае графически они отмечены одним цветом. Порты модулей могут быть соединены дистанционно, сокращая количество пересекающихся ребер.

РАЗРАБОТКА МОДУЛЬНОЙ МОДЕЛИ

Иерархическая организация модели

В качестве исходной была использована комплексная модель энергетического метаболизма клетки скелетной мышцы, разработанная Ли и соавторами [2]. На начальном этапе полная модель была представлена в виде набора модулей с использованием программного комплекса BioUML. При этом модель, согласно модульному подходу моделирования, является иерархически вложенной: модули могут состоять из вложенных модулей (рис. 5).

Параметры модели

Значения, размерности и обозначения параметров представлены в дополнительных материалах (см. таблицы S1–S5).

Схема эксперимента

Для оценки уровня аэробной работоспособности десять нетренированных молодых мужчин (медиана возраста – 22 года [межквартильный разброс: 21–26], веса – 74 кг [72–79], индекса массы тела – 23 кг/м^2 [22–25]) выполняли тест с непрерывно возрастающей нагрузкой на электромагнитном велоэргометре Ergoselect 200 (Ergoline, Германия). Во время теста испытуемые поддерживали частоту педалирования 65 об./мин, мощность нагрузки повышалась непрерывно от 0 Вт со скоростью 15 Вт/мин. Каждые 2 минуты брали пробы капиллярной крови из кончика пальца для определения содержания лактата на анализаторе Biosen C line (EKF Diagnostics, Германия). Было выявлено, что среднее значение мощности при отказе от выполнения

физической нагрузки составляет 234 Вт; это значение было использовано в модели в качестве параметра W (work rate).

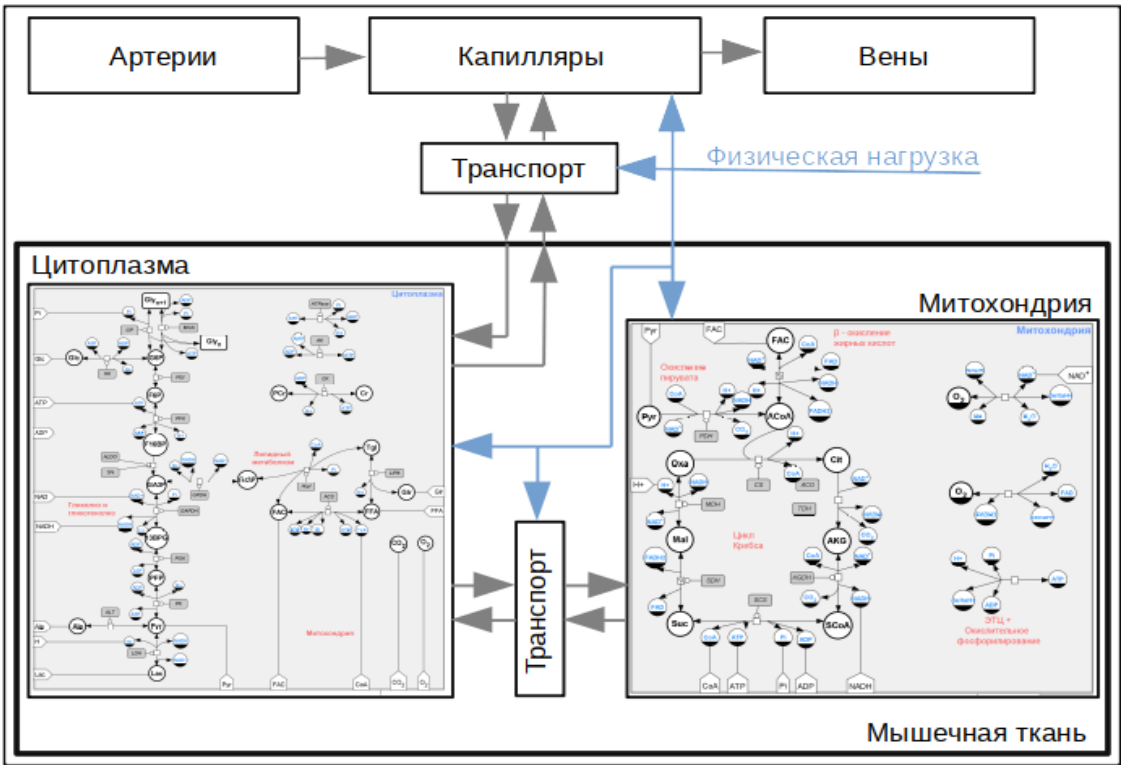

Рис. 5. Иерархическая схема модели мышечного метаболизма. Серыми стрелками обозначены пути транспорта метаболитов, синими стрелками – внешнее управление модели, в частности, включение физической нагрузки. Блок «Мышечная ткань» содержит внутри себя блоки «Цитоплазма» и «Митохондрия», которые, в свою очередь, содержат уравнения, описывающие ферментативные процессы внутри этих компартментов.

Процедура адаптации модели к экспериментальным данным

Верификация модульной модели функционирования клетки скелетной мышцы была осуществлена в пакете BioUML на основе сравнительного анализа с экспериментальными данными и теоретическими расчетами, приведенными в работе Ли с соавторами, 2009 [2] на рисунках 3 и 4. Численные расчеты для воспроизведения динамических данных при ишемическом состоянии и последующем восстановлении осуществлялись согласно следующей схеме: первые пять минут в состоянии покоя скорость потока крови (Q_0) равна 0.9 л·мин$^{-1}$, в момент времени $t = 5$ минут значение Q_0 резко уменьшается до 0.18 л·мин$^{-1}$. Через 30 минут расчета модели скорость потока крови изменяется до значения, соответствующего потоку в состоянии покоя, 0.9 л·мин$^{-1}$, описывая процесс восстановления после ишемии.

Метод расчета модели

Численные решения разработанной динамической модели, представленной в виде системы обыкновенных дифференциальных уравнений, были получены на основе метода VODE [29], реализованного в пакете BioUML [32]. Оценка значений оптимального набора параметров модели, описывающей функционирование клетки скелетной мышцы в покое, была осуществлена на основе анализа распределения потоков метаболической системы в стационарном состоянии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Диаграммы модульной модели метаболизма скелетной мышцы в BioUML представлена на рисунках 6 и 7.

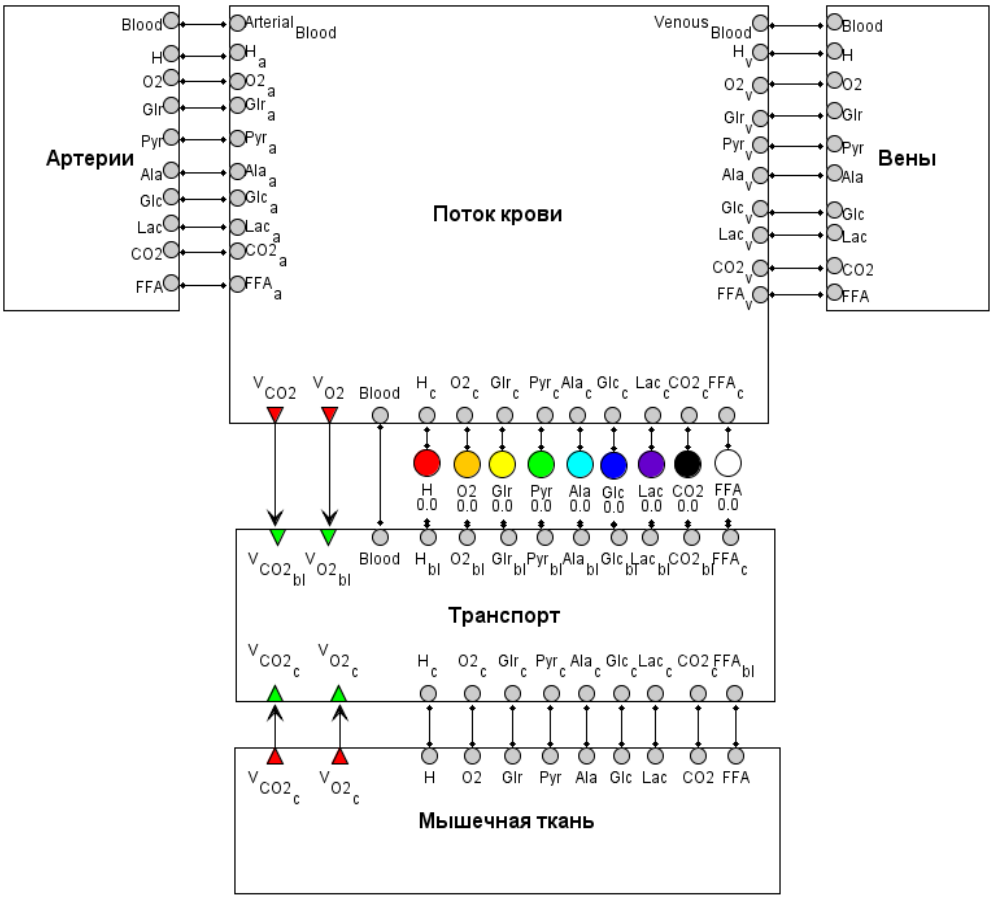

Рис. 6. Модульная модель метаболических процессов в скелетных мышцах.

Ниже перечислены и кратко описаны основные модули полученной модели:

1. **Артерии** – представлены как компартмент фиксированного объема, содержащий основные рассматриваемые в модели метаболиты (в скобках даны соответствующие сокращения на рисунках ниже): H^+ (H), O_2(O2), CO_2 (CO2), лактат (Lac), глюкоза (Glc), пируват (Pyr), аланин (Ala), глицерин (Glr), свободные жирные кислоты (FFA).

2. **Вены** – также представлены как компартмент фиксированного объема, содержащий основные рассматриваемые в модели метаболиты.

3. **Поток крови** – модуль, описывающий поток метаболитов из артерий через кровеносные капилляры в межклеточное пространство мышечных волокон и, затем, в вены. В представленной модели предполагается, что для каждого метаболита его концентрация в капиллярах, межклеточном пространстве мышечных волокон и венах одинакова. Так же для каждого метаболита задана реакция, которая описывает перенос метаболитов из артерий на венозный конец капилляра.

4. **Транспорт** – модуль, описывающий транспорт основных метаболитов из капилляров и межклеточного пространства в мышечные волокна. Для каждого метаболита задана соответствующая реакция переноса.

5. **Мышечная ткань** – модуль, иерархически описывающий структуру мышечного волокна (рис. 8). Он состоит из следующих модулей:

5.1. **Цитозоль** – модуль основных метаболических процессов, протекающих в цитоплазме скелетных мышц: гликолиз, гликогенолиз, метаболизм липидов (рис. 9).

Математическая биология и биоинформатика. 2019. Т. 14. № 2. doi: 10.17537/2019.14.373

5.2. **Митохондрия** – модуль основных метаболических процессов, протекающих в митохондриях скелетных мышц: окисление пирувата (цикл Кребса), окисление жирных кислот, окислительное фосфорилирование (рис. 10).

5.3. **Транспорт** – модуль, описывающий транспорт основных метаболитов между цитозолем и митохондрией.

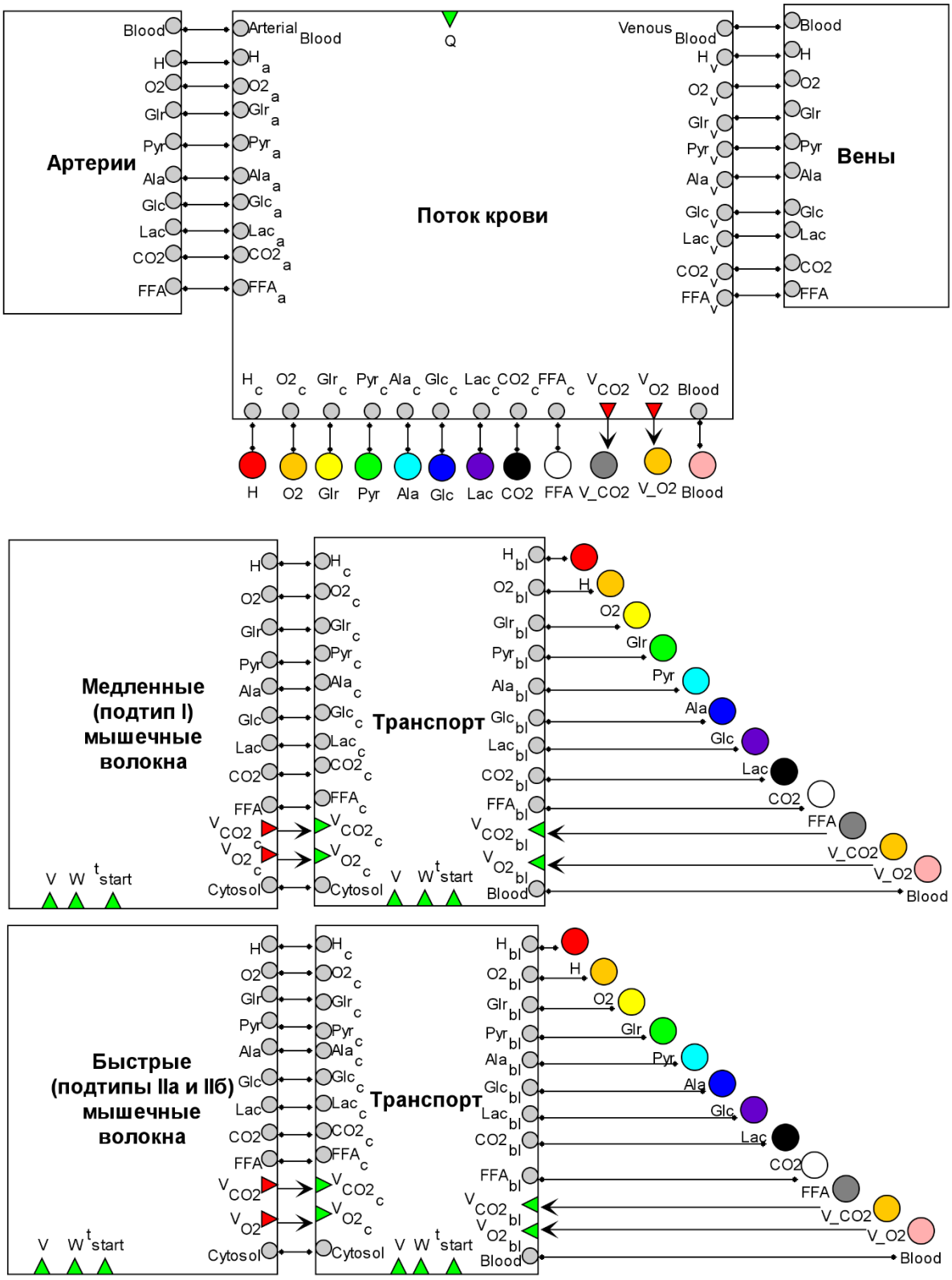

Рис. 7. Модульная модель метаболических процессов в скелетных мышцах, учитывающая разделение на два типа мышечных волокон: быстрые и медленные волокна, обладающие низкими и высокими окислительными возможностями, соответственно [16].

Математическая биология и биоинформатика. 2019. Т. 14. № 2. doi: 10.17537/2019.14.373

В будущем мы планируем использовать усовершенствованную версию этой модели, учитывающую разделение мышечных волокон на типы – быстрые и медленные волокна, обладающие низкими и высокими окислительными возможностями, соответственно [16]. Прототип диаграммы, описывающей эту модель, приведен на рисунке 7. На этой диаграмме модули «Мышечная ткань» и «Транспорт» добавлены два раза. Обе копии ссылаются на одну и ту же диаграмму, но при этом в каждой установлены свои численные значениями концентраций метаболитов и констант реакций, характерные для конкретного типа мышечной ткани. Эти изменения описываются состоянием модуля, в котором он входит в модульную модель. Каждая копия подключена к одному и тому же потоку крови через набор шин.

Важным аспектом предложенной модели является то, что в ее основе лежит основополагающая гипотеза о том, что при переходе мышцы от спокойного состояния к сократительной активности во время физических нагрузок окислительно-восстановительное состояние или соотношение NADH\NAD+ в цитоплазме гораздо чувствительнее к метаболическим возмущениям (изменение скорости транспорта NADH и NAD+ между цитоплазмой и митохондриями; изменение внутриклеточной концентрации гликогена), чем восстановительное состояние в митохондриях.

Общий массовый баланс любого из метаболитов исследуемой системы представляется уравнениями, которые основаны на структурно-функциональной организации модели (рис. 6):

а) в модулях «Артерии» и «Вены»:

$$\left(V_{\mathrm{bl}}+V_{\mathrm{isf}}\right)\frac{dC_{\mathrm{bl},i}}{dt}=Q\cdot\left(C_{\mathrm{art},i}-C_{\mathrm{ven},i}\right)-J^{t}_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i}\,, \tag{1}$$

б) в модуле «Цитозоль»:

$$V_{\mathrm{cyt}}\frac{dC_{\mathrm{cyt},i}}{dt}=\sum_{s=1}^{n}\alpha^{s}_{\mathrm{cyt},i}\cdot F^{s}_{\mathrm{cyt},i}-\sum_{p=1}^{m}\alpha^{p}_{\mathrm{cyt},i}\cdot F^{p}_{\mathrm{cyt},i}+J^{t}_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i}-J^{t}_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i}\,, \tag{2}$$

в) и в модуле «Митохондрия»:

$$V_{\mathrm{mit}}\frac{dC_{\mathrm{mit},i}}{dt}=\sum_{s=1}^{k}\alpha^{s}_{\mathrm{mit},i}\cdot F^{s}_{\mathrm{mit},i}-\sum_{p=1}^{l}\alpha^{p}_{\mathrm{mit},i}\cdot F^{p}_{\mathrm{mit},i}+J^{t}_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i}\,, \tag{3}$$

где i – номер метаболита, $V_x, x\in\{\mathrm{bl},\mathrm{isf},\mathrm{cyt},\mathrm{mit}\}$ – объем соответствующего компартмента, или модуля, (кровеносный сосуд, интерстициальная жидкость, цитозоль и митохондрия клетки скелетной мышцы); $C_{x,i}, x\in\{\mathrm{art},\mathrm{ven},\mathrm{cyt},\mathrm{mit}\}$ – концентрация метаболита в соответствующем модуле (артерия, вена, цитозоль и митохондрия клетки скелетной мышцы).

Стоит отметить предположение, рассматриваемое в модели: модули «капиллярный сосуд» и «интерстициальная жидкость» идеально перемешаны и находятся в фазовом равновесии друг с другом, поэтому: 1) $C_{\mathrm{isf},i}=C_{\mathrm{bl},i}=C_{\mathrm{ven},i}$; 2) капиллярный сосуд и интерстициальная жидкость рассматриваются, как один компартмент «Поток крови» (bl); Q – скорость потока крови; $F^{s}_{x,i}$ и $F^{p}_{x,i}$ $x\in\{\mathrm{cyt},\mathrm{mit}\}$ – уравнения скорости синтеза s или потребления p метаболита i в соответствующем модуле (рис. 9 и 10); $\alpha^{s}_{x,i},\alpha^{p}_{x,i}, x\in\{\mathrm{cyt},\mathrm{mit}\}$ – соответствующие стехиометрические коэффициенты для реакций синтеза и потребления метаболита i; $J^{t}_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i}$ – уравнение скорости потока (t представляет тип транспорта вещества: пассивный или активный) метаболита i между модулями «Поток крови» и «Цитозоль», описание которой приведено модуле

«Транспорт»; $J^{t}_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i}$ – уравнение скорости потока (t представляет тип транспорта вещества: пассивный или активный) метаболита i между модулями «Цитозоль» и «Митохондрия», описание которой приведено модуле «Транспорт».

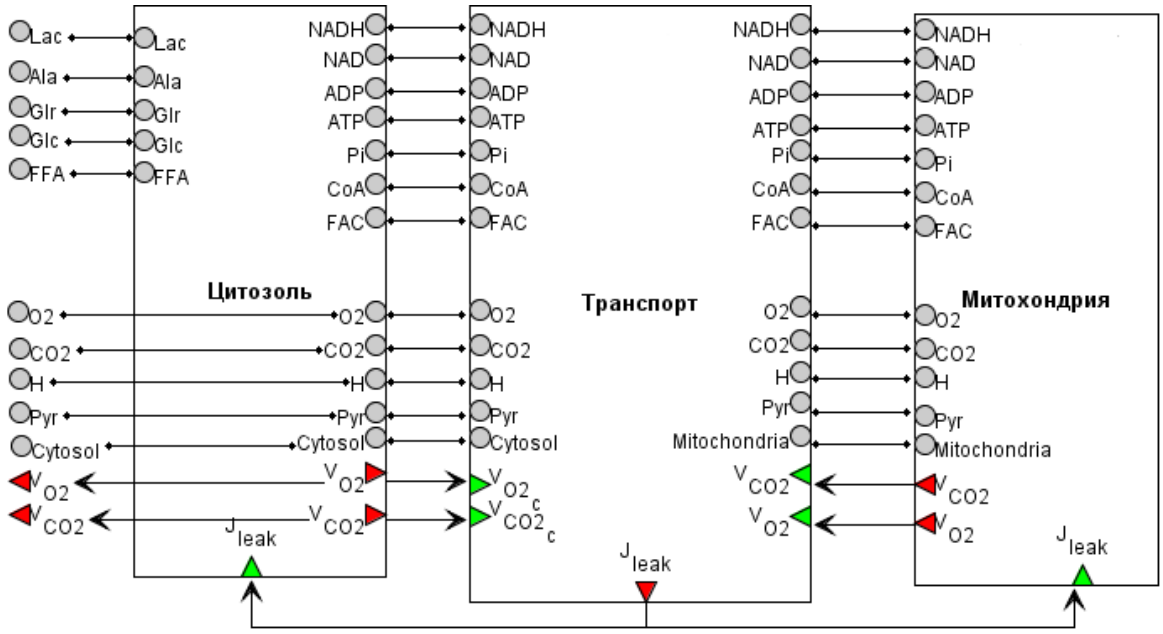

Рис. 8. Модульная модель мышечного волокна.

Метаболические процессы

Для описания метаболических процессов в модулях «Цитозоль» (гликолиз, гликогенолиз, метаболизм липидов; см. рис. 9) и «Митохондрия» (окисление пирувата, окисление жирных кислот, цикл Кребса, перенос электронов и реакции окислительного фосфорилирования; см. рис. 10) используется уравнение Бриггса – Холдейна с учетом обратимости ферментативных реакций:

$$F=\gamma(R)\cdot\left(\frac{\frac{V^{f}_{\max}}{K^{f}_{m}}\cdot\prod_{i}[S_i]^{m_i}-\frac{V^{b}_{\max}}{K^{b}_{m}}\cdot\prod_{k}[P_k]^{n_k}}{1+\frac{\prod_{i}[S_i]^{m_i}}{K^{f}_{m}}+\frac{\prod_{k}[P_k]^{n_k}}{K^{b}_{m}}}\right), \qquad (4)$$

где $\gamma(R)$ представляет собой функцию аллостерической регуляции скорости ферментативной реакции: $\gamma(A)=\frac{[A]}{K^{A}_{m}+[A]}$ или $\gamma(I)=\frac{K^{I}_{m}}{K^{I}_{m}+[I]}$, где A и I – активатор или ингибитор, а K^{A}_{m} и K^{I}_{m} – константы Михаэлиса – Ментен для активатора и ингибитора, соответственно. Аллостерическая регуляция учтена для реакций, катализируемых гликоген фосфорилазой, где $A=\left(\frac{C_{\mathrm{cyt,AMP}}}{C_{\mathrm{cyt,ATP}}}\right)$; фосфофруктокиназой, где $A=\left(C_{\mathrm{cyt,AMP}}\right)$; пируват киназой, где $A=\left(C_{\mathrm{cyt,F16BP}}\right)$; пируват дегидрогиназой, где $A=\left(\frac{C_{\mathrm{mit,ADP}}}{C_{\mathrm{mit,ATP}}}\right)$; цитрат синтазой, где $A=\left(\frac{C_{\mathrm{mit,ADP}}}{C_{\mathrm{mit,ATP}}}\right)$; ацонитазой, где $A=\left(\frac{C_{\mathrm{mit,ADP}}}{C_{\mathrm{mit,ATP}}}\right)$ и

гексокиназой, где $I = \left(C_{\text{cyt,G6P}}\right)$. $\left[S_i\right]$ и $\left[P_k\right]$ – концентрации субстрата i и продукта k ферментативной реакции, m_i и n_k – соответствующие стехиометрические коэффициенты; $V_{\max}^{f}$ и $V_{\max}^{b}$ – значение максимальной скорости для прямой и обратной реакций, K_m^f и K_m^b – константы Михаэлиса – Ментен для прямой и обратной реакций. Если для определенной ферментативной реакции аллостерическая регуляция отсутствует, то $\gamma(R) = 1$.

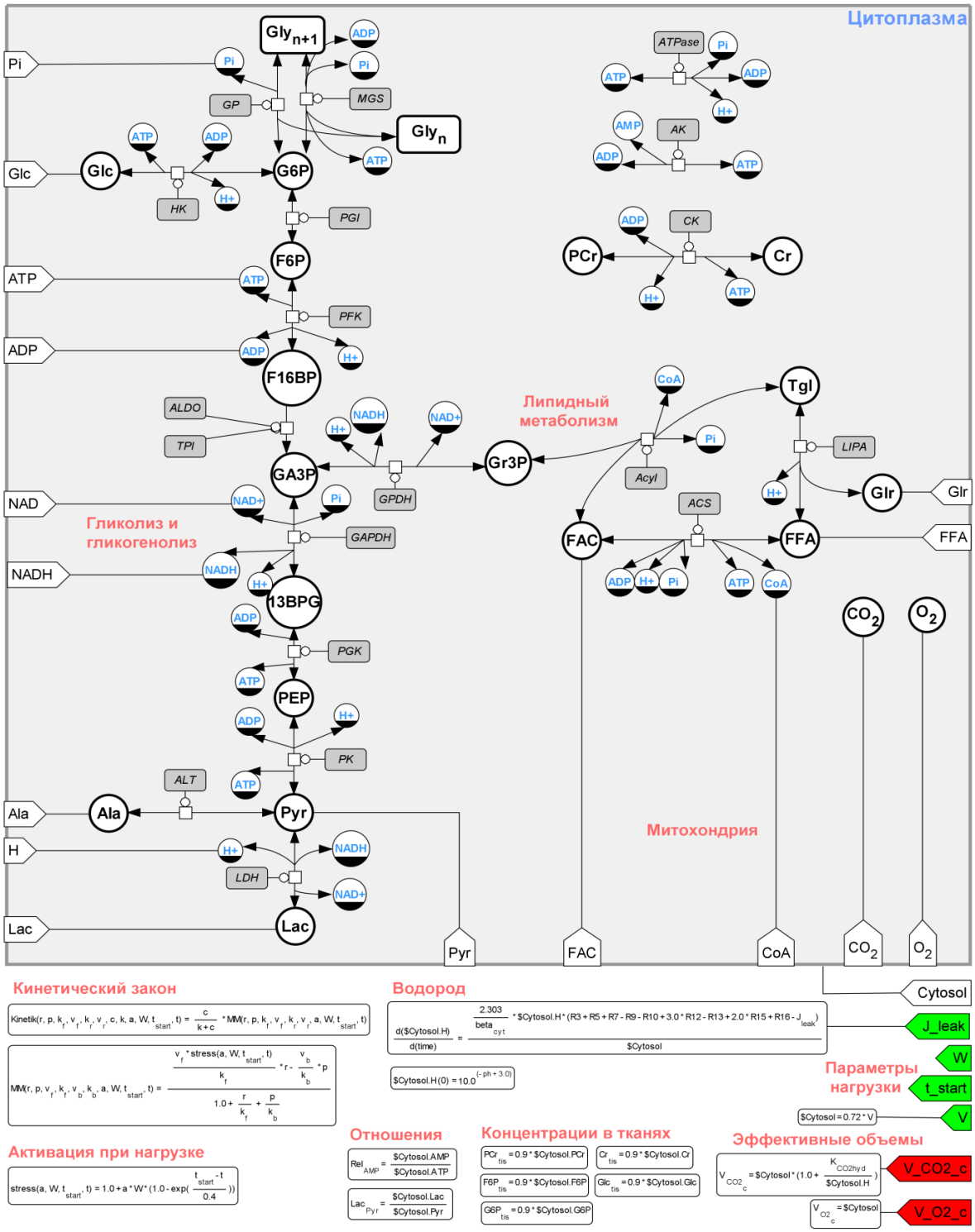

Рис. 9. Модуль «Цитозоль» в расширенной графической нотации SBGN. Каждой реакции поставлен в соответствие кинетический закон, а каждому метаболиту – начальное значение концентрации.

Математическая биология и биоинформатика. 2019. Т. 14. № 2. doi: 10.17537/2019.14.373

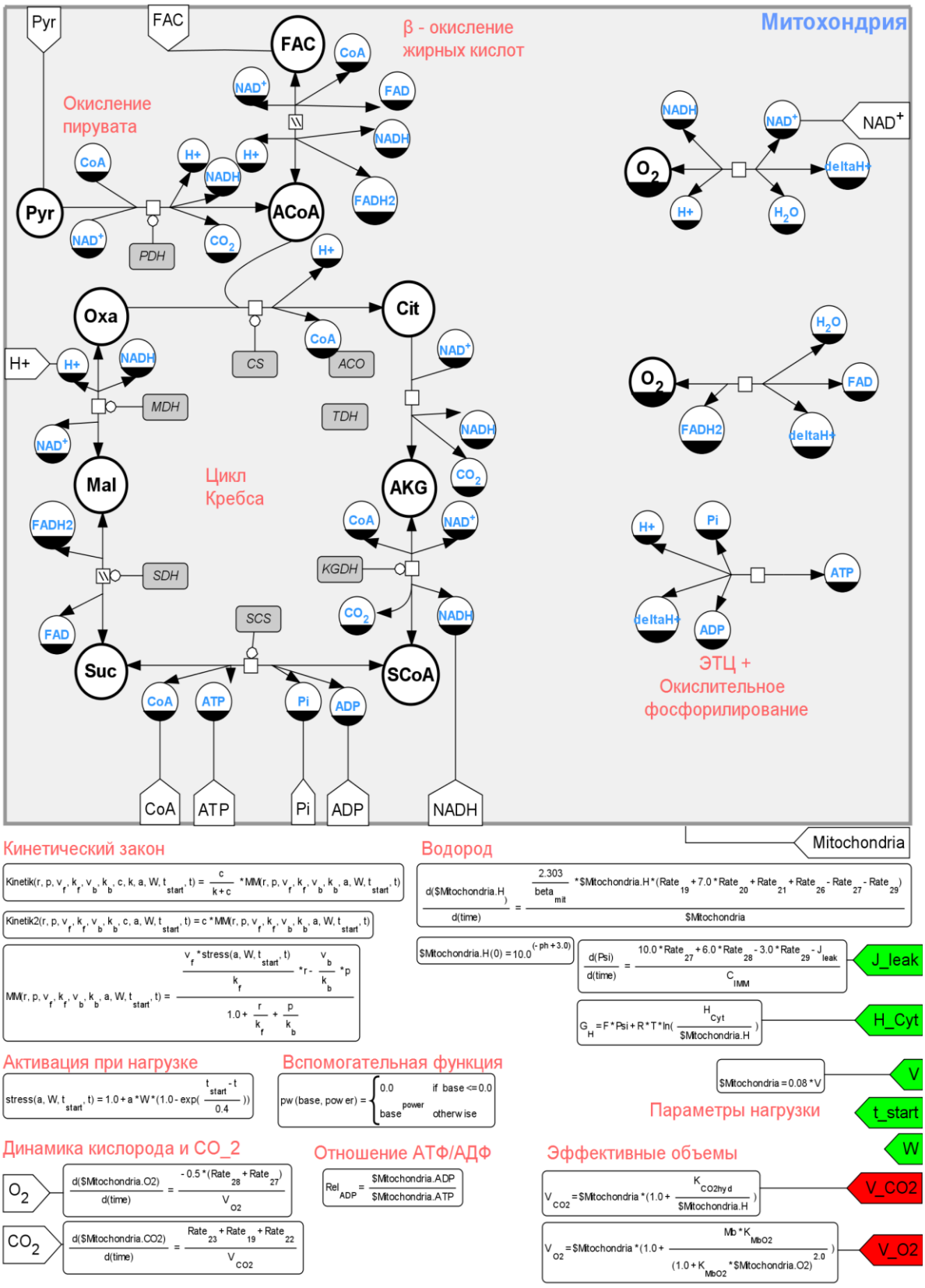

Рис. 10. Модуль «Митохондрия» в расширенной графической нотации SBGN. Каждой реакции поставлен в соответствие кинетический закон, а каждому метаболиту – начальное значение концентрации.

Математическая биология и биоинформатика. 2019. Т. 14. № 2. doi: 10.17537/2019.14.373

Уравнения скоростей ферментативных реакций приведены в модульной модели, представленной на сайте BioUML (http://wiki.biouml.org/index.php/Muscle_metabolism), а значения параметров моделей – в таблицах S1 и S2 дополнительных материалов.

Для учета активирующего механизма на метаболизм клетки скелетной мышцы, связанного с физической нагрузкой, уравнение скорости каждой ферментативной реакции (4) умножается на функцию *stress* (см. http://wiki.biouml.org/index.php/Muscle_metabolism):

$$\mathrm{stress}\left(\alpha, W, t_{\mathrm{start}}, t, \tau_{\alpha}\right) = 1 + \alpha \cdot W \cdot \left(1 - e^{\frac{t_{\mathrm{start}} - t}{\tau_{\alpha}}}\right), \tag{5}$$

где α – константа активации, W – уровень физической нагрузки, t_{start} – начальный момент времени физической нагрузки, t – текущий момент времени физической нагрузки, τ_{α} – временная константа изменения скорости ферментативной реакции в ответ на физическую нагрузку (в модели $\tau_{\alpha} = 0.4$ минуты).

Процессы транспорта

Скорости пассивного и активного транспорта метаболитов между модулями модели $(\mathrm{bl} \leftrightarrow \mathrm{cyt}, \mathrm{cyt} \leftrightarrow \mathrm{mit})$ представлены следующими системами уравнений:

$$J^{t}_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i} = \left[\lambda_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i} \cdot \left(C_{\mathrm{bl},i} - C_{\mathrm{cyt},i}\right), T_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i} \cdot \left(\frac{C_{\mathrm{bl},i}}{M_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i} + C_{\mathrm{bl},i}} - \frac{C_{\mathrm{cyt},i}}{M_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i} + C_{\mathrm{cyt},i}}\right)\right],$$

$$J^{t}_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i} = \left[\lambda_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i} \cdot \left(C_{\mathrm{cyt},i} - C_{\mathrm{mit},i}\right), T_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i} \cdot \left(\frac{C_{\mathrm{cyt},i}}{M_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i} + C_{\mathrm{cyt},i}} - \frac{C_{\mathrm{mit},i}}{M_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i} + C_{\mathrm{mit},i}}\right)\right],$$

где $\lambda_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i}$ и $\lambda_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i}$ – константы проницаемости для пассивной диффузии между кровеносным сосудом и цитозолем клетки скелетной мышцы, цитозолем и митохондрией клетки скелетной мышцы, соответственно; $T_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i}$ и $T_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i}$ – максимальная скорость активного транспорта между модулями модели $\mathrm{bl} \leftrightarrow \mathrm{cyt}$ и $\mathrm{cyt} \leftrightarrow \mathrm{mit}$, соответственно, а $M_{\mathrm{bl}\leftrightarrow\mathrm{cyt},i}$ и $M_{\mathrm{cyt}\leftrightarrow\mathrm{mit},i}$ – соответствующие константы Михаэлиса – Ментен для метаболита i.

Для учета активирующего механизма на транспорт метаболитов между модулями модели $(\mathrm{bl} \leftrightarrow \mathrm{cyt}, \mathrm{cyt} \leftrightarrow \mathrm{mit})$, связанного с физической нагрузкой, уравнение скоростей активного и пассивного транспорта умножаются на функцию (5) с учетом того, что $\tau_{\alpha} = 0.5$ минуты для процессов транспорта метаболитов в ответ на физические нагрузки. При этом в модели также предполагается, что процессы транспорта и метаболизма параллельно активируются в ответ на физические нагрузки. Уравнения скоростей транспорта для всех метаболитов приведены на сайте BioUML (см. http://wiki.biouml.org/index.php/Muscle_metabolism), а значения параметров моделей – в таблицах S3 и S4 дополнительных материалов.

Верификация модели

Адаптация математической модели к опубликованным данным [2] показала, что модель, реализованная на основе модульного подхода в BioUML, достаточно точно воспроизводит ранее опубликованную динамику. Это относится к изменению концентрации ключевых метаболитов гликолиза и окислительного фосфорилирования (рис. 11), а также скоростей потребления кислорода и синтеза АТФ в различных

метаболических путях (рис. 12) при имитации ишемического состояния на пятой минуте и восстановления метаболизма скелетной мышцы к нормальному состоянию после 30 минут ишемии.

При этом стоит подчеркнуть, что экспериментально наблюдаемая динамика в метаболической системе клеток скелетной мышцы человека воспроизводится с помощью модели в BioUML только при изменении значений кинетических параметров в реакциях гликолиза по сравнению с опубликованными значениями модели Ли с соавторами [2, см. S1].

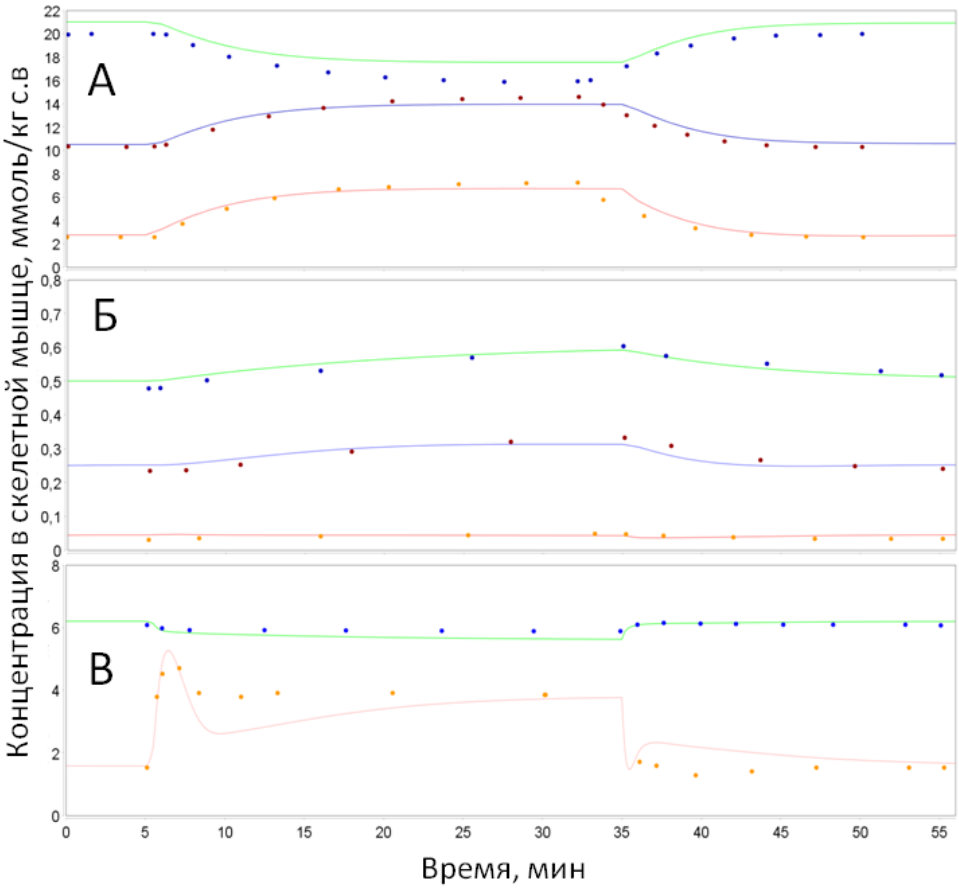

Рис. 11. Изменение концентрации креатинфосфата (зеленая кривая, ЗК), креатина (синяя кривая, СК) и фосфата (красная кривая, КК) (**А**), Glc (ЗК), G6P (СК) и F6P (КК) (**Б**), ATP (ЗК) и NADH\NAD в митохондриях (КК) (**В**) в покое, при ишемии (время инициации соответствует 5 минутам по оси X) и восстановлении после ишемии (время начала соответствует 35 минутам). Параметры модели, используемые для расчетов, приведены в таблицах S1–S5 дополнительных материалов. Ишемическое состояние моделировалось на основе изменения значения параметра Q_0 (скорость потока крови) на 0.18 л·мин$^{-1}$, тогда как процесс восстановления симулировали за счет возврата к изначальному значению этого параметра, равного 0.9 л·мин$^{-1}$. Точками на графиках указаны значения соответствующего расчета модели из работы Ли и др., 2009 [2], кривая – результаты расчета модели в BioUML.

Анализ модели при физических нагрузках, рассмотренных в эксперименте

Для моделирования метаболических изменений в клетках скелетных мышц в ответ на физические упражнения использовалось среднее значение максимальной мощности (W), достигнутое в тесте с непрерывно возрастающей нагрузкой на велоэргометре, которое составило 234 Вт. Этот параметр, характеризующий мощность физической нагрузки, использовался при расчете функции *stress* (5). Согласно экспериментальным данным продолжительность работы с такой интенсивностью составляет 2–5 минут.

Однако расчеты модели при физической нагрузке проводились более длительном интервале времени (5–15 минут) с целью обнаружения нового устойчивого стационарного решения модели по сравнению с функционированием скелетной мышцы в покое. В результате расчетов модульной модели при симуляции удалось показать, что уровни ATP и ADP при физической нагрузке изменяются незначительно (рис. 13), в отличие от уровней концентрации креатина и фосфокреатина, что соответствует расчетам модели Ли с соавторами [2, рис. 8].

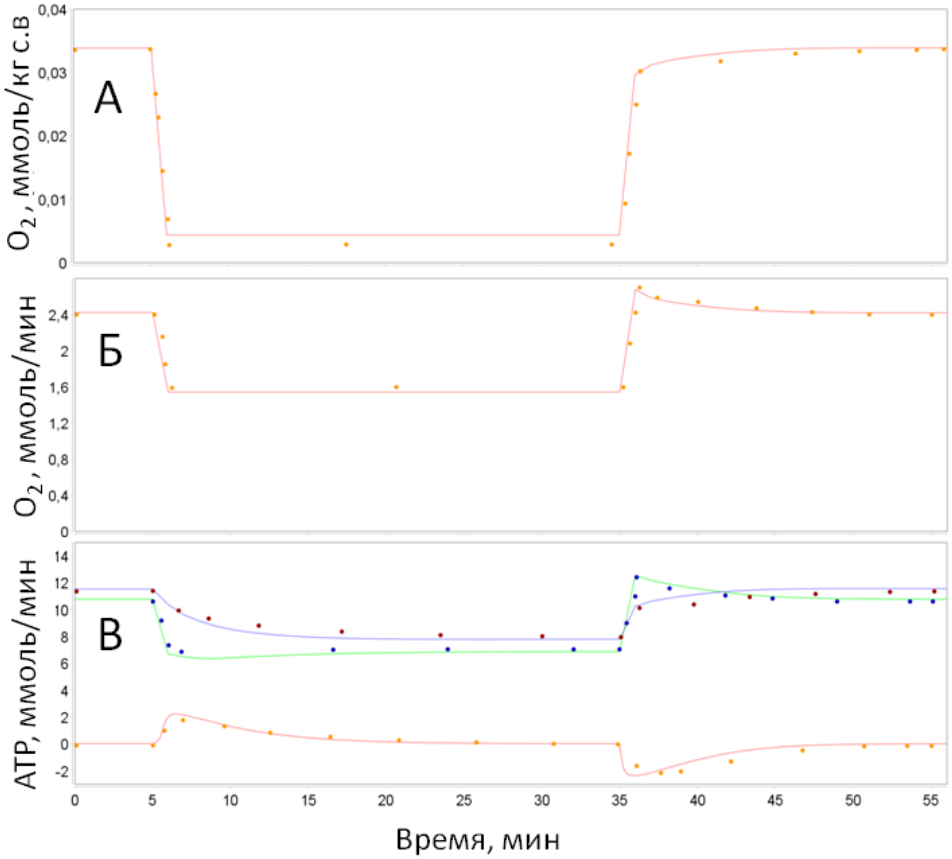

Рис. 12. Изменение обобщенной (суммарной по всем компартментам клетки) концентрации кислорода в клетке скелетной мышцы (**А**), скорости потока кислорода между кровеносным сосудом и цитозолью клетки скелетной мышцы (**Б**), скорости синтеза ATP через реакции, катализируемые креатинкиназой (синтез, КК) и ATP синтазой (синтез, ЗК), и гидролиза ATP через реакцию, катализируемую ATPазой (СК) (**В**) в покое, при ишемии (время инициации соответствует 5 минутам) и восстановлении после ишемии (время начала соответствует 35 минутам). Параметры модели, используемые для расчетов, приведены в в таблицах S1–S5 дополнительных материалов. Ишемическое состояние моделировалось на основе изменения значения параметра Q_0 (скорость потока крови) на 0.18 л·мин$^{-1}$, тогда как процесс восстановления симулировали за счет возврата к изначальному значению этого параметра, равного 0.9 л·мин$^{-1}$. Точками на графиках указаны значения соответствующего расчета модели из работы Ли и др. [2], кривыми – результаты расчета модели в BioUML, обозначения кривых приведены на рисунке 11.

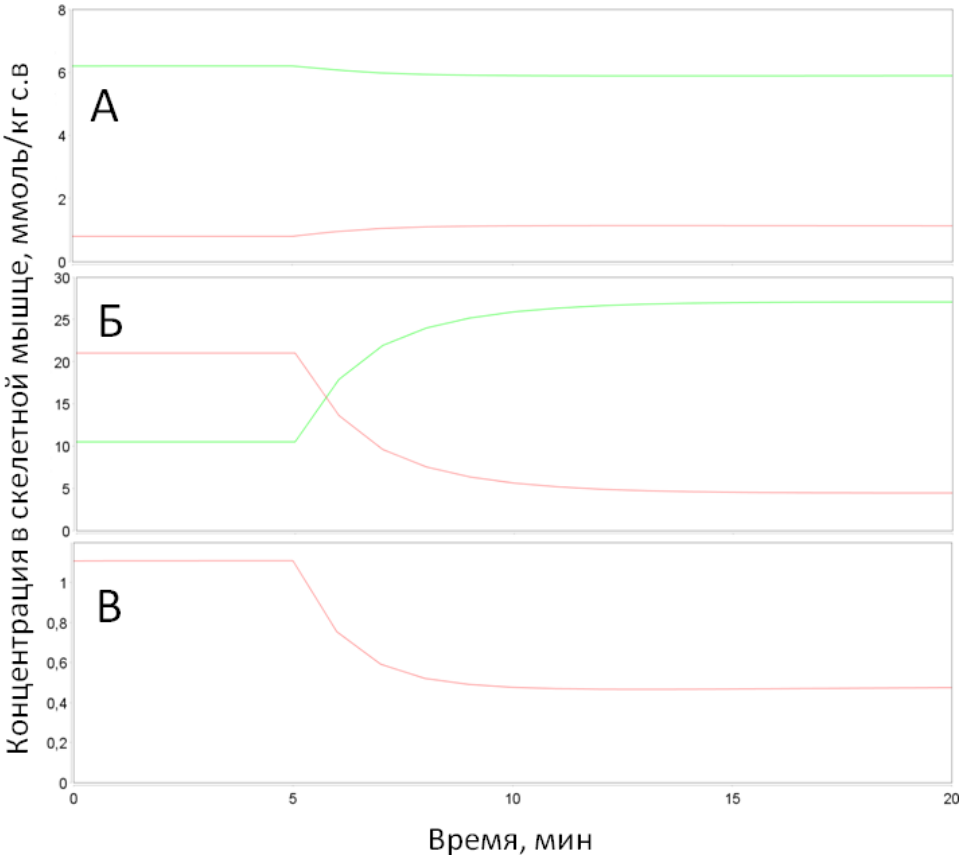

Рис. 13. Изменение концентрации существенных метаболитов: ADP (красная кривая, КК) и ATP (зеленая кривая, ЗК) (**А**) креатинфосфата (КК) и креатина (ЗК) (**Б**), ATP\ADP (**В**) в скелетных мышцах в состоянии покоя и при физической нагрузке (время инициации соответствует 5 минутам). Физическая нагрузка моделировалось на основе изменения значения параметра W (мощность физической нагрузки) на 234 Вт. Кривые – результаты расчета модели в BioUML.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работы нами была проведена декомпозиция модели Ли и соавторов в виде набора модулей в системе BioUML. Для каждого модуля (рис. 5–10) были определены входные, выходные и разделяемые переменные. Используя визуальное моделирование, ферментативные и транспортные реакции внутри и между модулями были представлены графически в нотации SBGN, для каждой реакции также было задано уравнение скорости. Реконструированная модульная модель функционирования клетки скелетной мышцы была верифицирована путем сравнения результатов численного моделирования с исходной моделью [2].

В заключение стоит отметить, что представление модели функционирования скелетной мышцы в виде набора модулей в платформе BioUML в отличие от опубликованной ранее версии модели Ли с соавторами обеспечивает возможность оперативного расширения и модификации компартментов модели для учета сложной организации мышечных клеток и ограничений скорости диффузии метаболитов между внутриклеточными компартментами.

Например, данные современных исследований показывают, что для цитозоля мышечных клеток характерны: неравномерное распределение (локализация) киназ, в том числе, различных изоформ AMP-зависимой протеинкиназы (AMPK) [33], наличие областей с резко отличающимися концентрациями метаболитов [34], неравномерная ассоциация AMPK с мембранами, внутримышечным гликогеном, а также ряд других особенностей [35]. Следует подчеркнуть, что разработанная модульная модель хорошо подходит для учета подобных особенностей, тем самым позволяя адекватно

моделировать различные метаболические реакции, протекающие в различных компартментах клетки, в различных мышечных волокнах и обладающих разными метаболическими характеристиками. Более того, модульный подход к моделированию живых систем, реализованный в BioUML, позволит связать метаболические изменения с изменением внутриклеточной сигнализации (например, с кальций-зависимым сигнальным каскадом) и с регуляцией генной экспрессии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-00-00308 (17-00-00296).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pedersen B.K., Febbraio M.A. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology*. 2012. V. 8 № 8. P. 457–465.
2. Li Y., Dash R. K., Kim J., Saidel G. M., Cabrera M. E. Role of NADH/NAD+ transport activity and glycogen store on skeletal muscle energy metabolism during exercise: *in silico* studies. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2009. V. 296. № 1. P. 25–46.
3. Akberdin I.R., Kazantsev F.V., Ermak T.V., Timonov V.S., Khlebodarova T.M., Likhoshvai V.A. *In Silico* Cell: Challenges and Perspectives. *Mathematical Biology and Bioinformatics*. 2013. V. 8. № 1. P. 295–315. doi: 10.17537/2013.8.295.
4. Korzeniewski B. Regulation of ATP supply during muscle contraction: theoretical studies. *Biochemical Journal*. 1998. V. 330. № 3. P. 1189–1195.
5. Korzeniewski B. Regulation of ATP supply in mammalian skeletal muscle during resting state → intensive work transition. *Biophysical Chemistry*. 2000. V. 83. № 1. P. 19–34.
6. Korzeniewski B., Zoladz J.A. A model of oxidative phosphorylation in mammalian skeletal muscle. *Biophysical Chemistry*. 2001. V. 92. № 1–2. P. 17–34.
7. Lambeth M.J. and Kushmerick M.J. A computational model for glycogenolysis in skeletal muscle. *Ann. Biomed. Eng.* 2002. V. 30. P. 808–827.
8. Korzeniewski B. and Liguzinski P. Theoretical studies on the regulation of anaerobic glycolysis and its influence on oxidative phosphorylation in skeletal muscle. *Biophysical Chemistry*. 2004. V. 110. № 1–2. P. 147–169.
9. Zhou L., Salem J.E., Saidel G.M., Stanley W.C., Cabrera M.E. Mechanistic model of cardiac energy metabolism predicts localization of glycolysis to cytosolic subdomain during ischemia. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005. V. 288. P. 2400–2411.
10. Zhou L., Stanley W.C., Saidel G.M., Yu X., Cabrera M.E. Regulation of lactate production at the onset of ischaemia is independent of mitochondrial NADH/NAD: insights from in silico studies. *J. Physiol*. 2005. V. 569. P. 925–937.
11. Vinnakota K.C., Kemp M.L., Kushmerick M.J. Dynamics of muscle glycogenolysis modeled with pH time-course computation and pH dependent reaction equilibria and enzyme kinetics. *Biophys. J*. 2006. V. 91. P. 1264–1287.
12. Zhou L., Cabrera M.E., Okere I.C., Sharma N., Stanley W.C. Regulation of myocardial substrate metabolism during increased energy expenditure: insights from computational studies. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006. V. 291. P. 1036–1046.
13. Dash R.K., Dibella J.A., Cabrera M.E. A computational model of skeletal muscle metabolism linking cellular adaptations induced by altered loading states to metabolic responses during exercise. *Biomed. Eng. Online*. 2007. V. 6. № 1. P. 14.
14. Wu F., Jeneson J.A.L., Beard D.A. Oxidative ATP synthesis in skeletal muscle is controlled by substrate feedback. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2007. V. 292. P. 115–124.

15. Zhou L., Cabrera M.E., Huang H., Yuan C., Duda M., Sharma N., Bian F., Stanley W.C. Parallel activation of mitochondrial oxidative metabolism with increased cardiac energy expenditure is not dependent on fatty acid oxidation. *J. Physiol.* 2007. V. 579. P. 811–821.
16. Li Y., Lai N., Kirwan J.P., Saidel G.M. Computational model of cellular metabolic dynamics in skeletal muscle fibers during moderate intensity exercise. *Cellular and Mol. Bioeng.* 2012. V. 5. № 1. P. 92–112.
17. Kummitha C.M., Kalhan S.C., Saidel G.M., Lai N. Relating tissue/organ energy expenditure to metabolic fluxes in mouse and human: experimental data integrated with mathematical modeling. *Physiol. Rep*. 2014. V. 2. № 9.
18. Snoep J.L., Bruggeman F., Olivier B.G. Westerhoff H.V. Towards building the silicon cell: a modular approach. *Biosystems*. 2006. V. 83. P. 207–216.
19. Cooling M. T., Rouilly V., Misirli G., Lawson Ju T., Halinan J., Wipat A. Standard virtual biological parts: a repository for modeling components for synthetic biology. *Bioinformatics*. 2010. V. 26. № 7. P. 925–931.
20. Hernandez A. I., Le Rolle V., Defontaine A., Carrault G. A multiformalism and multiresolution modelling environment: application to the cardiovascular system and its regulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 2009. V. 367. № 1908. P. 4923–4940.
21. Hunter P.J., Robbins P., Noble D. The IUPS human physiology project. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*. 2004. V. 445. № 1. P. 551–569.
22. Fenner J.W., Brook B., Clapworthy G., Coveney P.V., Feipel V., Gregersen H., Hose D.R., Kohl P., Lawford P., McCormack K.M. et al. The EuroPhysiome, STEP and a roadmap for the virtual physiological human regulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 2008. V. 366. P. 2979–2999.
23. Kolpakov F., Akberdin I., Kashapov T., Kiselev I., Kolmykov S., Kondrakhin Y., Kutumova E., Mandrik N., Pintus S., Ryabova A., Sharipov R., Yevshin I., Kel A. BioUML: an integrated environment for systems biology and collaborative analysis of biomedical data. *Nucleic Acids Research.* 2019. V. 47. № W1. P. W225–W233. doi: 10.1093/nar/gkz440.
24. Киселев И.Н., Семисалов Б.В., Бибердорф Э.А., Шарипов Р.Н., Блохин А.М., Колпаков Ф.А. Модульное моделирование сердечно-сосудистой системы человек. *Математическая биология и биоинформатика*. 2012. Т. 7. № 2. С. 703–736. doi: 10.17537/2012.7.703.
25. Kutumova E.O., Kiselev I.N., Sharipov R.N., Lavrik I.N., Kolpakov F.A. A modular model of the apoptosis machinery. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2012. V. 736. P. 235–245. doi: 10.1007/978-1-4419-7210-1_13.
26. Hucka M., Bergmann F.T., Chaouiya C., Dräger A., Hoops S., Keating S.M., König M., Le Novère N., Myers Ch.J., Olivier B.G. et al. *The Systems Biology Markup Language* (*SBML*): Language Specification for Level 3 Version 2 Core. Release 2. 2019. URL: http://sbml.org/Special/specifications/sbml-level-3/version-2/core/release-2/sbml-level-3-version-2-release-2-core.pdf (дата обращения 05.07.2019).
27. Le Novere N., Hucka M., Mi H., Moodie S., Schreiber F., Sorokin A., Demir E., Wegner K., Aladjem M.I., Wimalaratne S.M., Bergman, F.T. The systems biology graphical notation. *Nature Biotechnology*. 2009. V. 27. № 8. P. 735.
28. Davis J., Hylands C., Janneck J., Lee E.A., Liu J., Liu X., Neuendorffer S., Sachs S., Stewart M., Vissers K. et al. *Overview of the Ptolemy Project*: Technical Memorandum UCB/ERL M01/11. Berkeley: University of California, 2001. URL: https://ptolemy.berkeley.edu/publications/papers/01/overview/overview.pdf (дата обращения 05.07.2019).

29. Brown P.N., Byrne G.D. and Hindmarsh A.C. VODE: A variable-coefficient ODE solver. *SIAM Journal on Scientific and Statistical Computing*. 1989. V. 10. № 5. P. 1038–1051.
30. Dormand J.R., Prince P.J. A family of embedded Runge-Kutta formulae. *Journal of Computational and Applied Mathematics*. 1980. V. 6. № 1. P. 19–26.
31. Randhawa R., Clifford A.S., Tyson J. Model composition for macromolecular regulatory networks. *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics* (*TCBB*). 2010. V. 7. № 2. P. 278–287.
32. *JVODE page*. URL: http://wiki.biouml.org/index.php/JVODE (дата обращения 05.07.2019).
33. Pinter K., Grignani R.T., Watkins H., Redwood C. Localisation of AMPK γ subunits in cardiac and skele tal muscles. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*. 2013. V. 34. № 5–6. P. 369–378.
34. Dutka T.L., Lamb G.D. Na^+–K^+ pumps in the transverse tubular system of skeletal muscle fibers preferentially use ATP from glycolysis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2007. V. 293. № 3. P. 967–977.
35. Jensen T.E., Wojtaszewski J.F.P., Richter E.A. AMP-activated protein kinase in contraction regulation of skeletal muscle metabolism: necessary and/or sufficient? 2009. *Acta Physiologica*. V. 196. № 1. P. 155–174.

Рукопись поступила в редакцию 23.05.2019, переработанный вариант поступил 27.06.2019.
Дата опубликования 11.07.2019.