

ORIGINAL ARTICLE

Determination of key metastasis promoters in krebs cycle using mathematical modeling

Jaber Hashemzadeh¹, Reza Hajihoseini^{1*} , Sedaghat Shahmorad Moganlu²

¹Department of Biochemistry, Faculty of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

²Faculty of Mathematical Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran.

ABSTRACT

Introduction: Hypoxia can cause aberrant expression of transcription factors and genes, resulting in which leads to abnormal biological functions such as altered energy pathways in cancer cells. The Krebs cycle in glucose metabolism is an important part of this phenomenon, which can lead to increased invasion and metastasis of cancer cells by changes in the expression of metabolites and enzymes involved in this pathway, including the accumulation of some metabolites such as succinate, as well as changes in the composition of the tumor microenvironment, which under hypoxic conditions, changes in the expression levels of metabolites and enzymes involved in this pathway, including the accumulation of some metabolites such as succinate, as well as changes in the composition of the tumor microenvironment, can lead to increased invasion and metastasis of cancer cells. The present study was conducted for the first time using computational modeling, aiming to investigate the effects of hypoxia (HIF-1) on the functional expression levels of all enzymes and metabolites involved in the Krebs cycle. Consequently, it is essential to determine the precise mechanism and investigate the effect of changes in oxygen concentration on the Krebs cycle, which act in conjunction with each other.

Method: In this study, for the first time, using computational modeling, the effects of hypoxia (HIF-1) on the functional expression levels of all enzymes and metabolites involved in the Krebs cycle have been investigated. For this purpose, a system of equations consisting of 16 equations was designed that relates all components of the Krebs cycle to each other and to hypoxia. The main objective The main goal of the present study is to establish a quantitative relationship between the severity of hypoxia and the levels of intracellular metabolites and identify key regulators of the Krebs cycle, as well as to identify key regulators of the Krebs cycle. In fact, our goal is to quantify the effect of changes in oxygen concentration on the Krebs cycle in the production of succinate inside the cell from a molecular systems biology perspective. Also, the oxygen reduction in the proposed model predicted that the enzyme succinate dehydrogenase may play the most important role in regulating the Krebs cycle.

Result: The results of the study indicate a direct relationship between the severity of hypoxia and increased succinate production, as an important factor driving metastasis. Consequently, based on a sensitivity analysis study, Our proposed model predicts that the succinate dehydrogenase enzyme probably plays the most important role in regulating the Krebs cycle under hypoxia conditions.

KEYWORDS

Hypoxia, Mathematical modeling, Metastasis, Succinate.

Correspondence

Reza Hajihoseini

Email: hosseini@pnu.ac.ir

How to cite

Hashemzadeh, J., Hajihoseini, R., Shahmorad Moganlu, S. (2025). Determination of key metastasis promoters in krebs cycle using mathematical modeling. *Experimental Animal Biology*, 14(53), 11-21.

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

مدل‌سازی ریاضی جهت تعیین تنظیم‌کننده‌های کلیدی اثر هیپوکسی بر تولید سوکسینات در چرخ کربس

جابر هاشم‌زاده^۱، رضا حاجی‌حسینی^{۱*}، صداقت شهراد مغاللو^۲

چکیده

در تومورهای جامد، هیپوکسی می‌تواند باعث بیان ناهنجار بر روی فاکتورها و ژن‌های رونویسی شود و در نتیجه باعث عملکردهای بیولوژیکی غیر طبیعی مانند تغییر مسیرهای انرژی در سلول‌های سرطانی گردد.

مقدمه: هیپوکسی می‌تواند باعث بیان ناهنجار بر روی فاکتورهای رونویسی و ژن‌ها شود که منجر به عملکردهای بیولوژیکی غیر طبیعی مانند تغییر مسیرهای انرژی در سلول‌های سرطانی می‌گردد. چرخه کربس در متابولیسم گلوکز به‌عنوان بخش مهمی از این پدیده است که در شرایط هیپوکسی، با تغییراتی در میزان بیان متابولیت‌ها و آنزیم‌های دخیل در این مسیر از جمله تجمع برخی متابولیت‌ها مانند سوکسینات و نیز ایجاد تغییر در ترکیب ریزمحیط تومور، می‌تواند منجر به تهاجم بیش‌تر و متاستاز سلول‌های سرطانی گردد. مطالعه حاضر برای اولین بار با استفاده از مدل‌سازی محاسباتی، با هدف بررسی اثرات ناشی از هیپوکسی (HIF-1) بر روی میزان بیان عملکردی همه آنزیم‌ها و متابولیت‌های درگیر با چرخه کربس انجام شد. در نتیجه، تعیین دقیق مکانیسم و بررسی اثر تغییرات غلظت اکسیژن بر چرخه کربس، که در ارتباط با هم عمل می‌کنند، ضروری می‌باشد.

روش کار: در مطالعه حاضر برای اولین بار با استفاده از مدل‌سازی محاسباتی، اثرات ناشی از هیپوکسی (HIF-1) بر روی میزان بیان عملکردی همه آنزیم‌ها و متابولیت‌های درگیر با چرخه کربس بررسی شد. بدین منظور یک دستگاه معادلات متشکل از ۱۶ معادله طراحی شد که تمامی اجزای چرخه کربس را به‌همدیگر و به هیپوکسی ارتباط می‌دهد. هدف اصلی مطالعه حاضر ایجاد یک رابطه کمی بین شدت هیپوکسی با سطوح متابولیت‌های داخل سلولی و نیز تعیین تنظیم‌کننده‌های کلیدی چرخه کربس می‌باشد. در واقع هدف ما تعیین کمی اثر تغییرات غلظت اکسیژن بر چرخه کربس در تولید سوکسینات در درون سلول از منظر زیست‌شناسی سامانه ای مولکولی می‌باشد. به‌علاوه کاهش اکسیژن در مدل پیشنهادی پیش‌بینی کرد که آنزیم سوکسینات دهیدروژناز ممکن است مهم‌ترین نقش را در تنظیم چرخه کربس ایفا کند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از مطالعه بیانگر رابطه مستقیم بین شدت هیپوکسی و افزایش تولید سوکسینات، به‌عنوان عامل مهم پیش‌برنده متاستاز، می‌باشد. بنابراین براساس مطالعه آنالیز حساسیت، مدل پیشنهادی ما پیش‌بینی کرد که در شرایط کاهش اکسیژن آنزیم سوکسینات دهیدروژناز ممکن است مهم‌ترین نقش را در تنظیم چرخه کربس ایفا کند.

واژه‌های کلیدی

چرخه کربس، سوکسینات، مدل‌سازی ریاضی، هیپوکسی.

^۱ گروه بیوشیمی، دانشکده بیولوژی، دانشگاه پیام نور تهران شرق، تهران، ایران.
^۲ گروه ریاضی، دانشکده ریاضی و آمار، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

نویسنده مسئول:

رضا حاجی‌حسینی

رایانامه: hosseini@pnu.ac.ir

استناد به این مقاله:

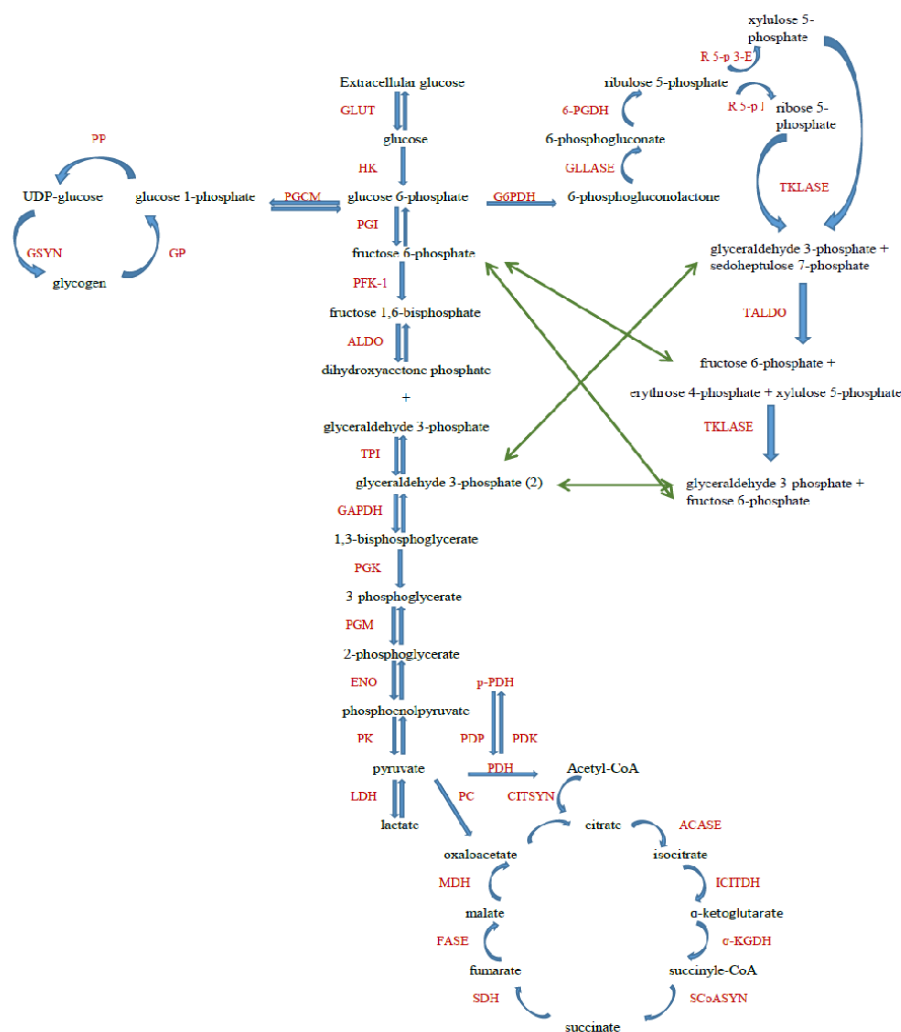
هاشم‌زاده، جابر؛ حاجی‌حسینی، رضا و شهراد مغاللو، صداقت (۱۴۰۴). مدل‌سازی ریاضی جهت تعیین تنظیم‌کننده‌های کلیدی اثر هیپوکسی بر تولید سوکسینات در چرخ کربس. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۴(۵۳)، ۱۱-۲۱.

مقدمه

گلوکز مهم‌ترین منبع انرژی برای سلول‌های پستانداران است. متابولیسم گلوکز در سلول‌های طبیعی یک فرآیند دویخشی است. در مرحله اولیه، یک مولکول گلوکز تحت فرآیند گلیکولیز قرار می‌گیرد تا دو مولکول ATP، دو مولکول NADH و دو مولکول پیرووات تولید کند. پیرووات به استیل-CoA تبدیل می‌شود و در فسفریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری دخیل است تا ۳۶ مولکول ATP به‌ازای هر مولکول گلوکز با CO_2 و H_2O به‌عنوان محصولات جانبی تولید کند (Annibaldi & Widmann, 2010; Gatnby & Gillies, 2004). در سلول‌های طبیعی تحت شرایط

نورموکسیک، حدود ۹۰ درصد از نیازهای انرژی سلول توسط چرخه کربس تأمین می‌شود، درحالی‌که در سلول‌های سرطانی و تحت شرایط هیپوکسی، درصد انرژی تأمین شده توسط چرخه کربس می‌تواند تا ۵۰ درصد کاهش یابد. این پدیده توسط تغییرات در بیان عملکردی و/یا فعالیت آنزیم‌ها و ناقل‌های دخیل در متابولیسم گلوکز القا می‌شود (Baysal et al., 2022).

طی هیپوکسی، بیان و فعالیت آنزیم‌های کلیدی درگیر در مسیر گلیکولیز و آنزیم‌های درگیر در چرخه کربس دچار تغییراتی می‌گردد که این تغییرات بیش‌تر به‌واسطه مولکول HIF-1 صورت می‌گیرد (Hashemzadeh et al., 2020).



شکل ۱. نحوه ارتباط بین مسیر گلیکولیز، چرخه کربس، مسیر بنتوزفسفات و گلیکوژن (چرخه کربس با متراکم شدن استیل کوآ با اگزالواتات برای تشکیل سیترات توسط سیترات سنتاز (CITSYN) کاتالیز می‌شود. سیترات تولید شده در محل میتوکندری توسط آکونیتاز (ACASE) به ایزوسیترات تبدیل می‌شود. در مرحله بعد، با دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو ملکول ایزوسیترات توسط آنزیم ایزوسیترات دهیدروژناز (ICDH) ملکول α -ketoglutarate (α -KG) تولید می‌شود که در ادامه با واکنش دکربوکسیلاسیون توسط کمپلکس α -KG دهیدروژناز به سوکسینیل کوآ تبدیل می‌شود. در ادامه سوکسینیل کوآ توسط سوکسینیل کوآ سنتاز به سوکسینات تبدیل می‌شود. با اکسیداسیون سوکسینات توسط کمپلکس سوکسینات دهیدروژناز (SDH) نیز فومارات ایجاد می‌شود که به‌واسطه آنزیم فوماراز (FASE) به مالات هیدراته می‌شود. در نهایت با اکسیداسیون مالات، توسط مالات دهیدروژناز (MDH)، اگزالواتات را خواهیم داشت).

پیشینه پژوهش

در حالی که مطالعات تجربی زیادی در مورد تأثیر هیپوکسی بر تولید سوکسینات انجام شده و اجزای مولکولی شبکه شناسایی شده‌اند (Wang *et al.*, 2023)، اما سینتیک بیوشیمیایی و تنظیم‌کننده‌های کلیدی این مسیر به‌طور کامل درک نشده‌اند. مطالعات نظری می‌توانند با ادغام داده‌های حاصل از پژوهش‌های تجربی و مطالعه دینامیک تعاملات بین اجزای مولکولی مختلف، درک ما از پیچیدگی‌های سیستم را روشن کنند. در این راستا، رابطه بین در دسترس بودن اکسیژن و HIF-1 و همچنین اثرات تنظیم‌کننده‌های مختلف بر HIF-1، در شرایط هیپوکسی، مورد مطالعه و مدل‌سازی ریاضی قرار گرفته است (Nguyen *et al.*, 2015; Qutub & Popel, 2006; Zhou *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر، هدف ما ایجاد یک مدل ریاضی برای نشان‌دادن رابطه کمی بین در دسترس بودن اکسیژن برای سلول‌ها و تولید سوکسینات، با هدف تعیین تنظیم‌کننده‌های کلیدی چرخه کربس بود.

روش‌شناسی پژوهش

برای بررسی رابطه بین در دسترس بودن اکسیژن در سلول و تولید سوکسینات توسط سلول، مدل ریاضی براساس برهم‌کنش HIF-1 با چرخه کربس ساخته شد. برای مدل‌کردن این مسیر، تمام آنزیم‌ها و متابولیت‌های درگیر در طول مدل‌سازی در نظر گرفته شدند. همه این عوامل و تعاملات آن‌ها در شکل (۱) نشان داده شده است (Bousquet *et al.*, 2015; Hashemzadeh *et al.*, 2017; Kuo *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2020). منابع موجود نشان می‌دهد کمبود اکسیژن (هیپوکسی) آنزیم‌های آکونیتاز، ایزوسیترات دهیدروژناز، سوکسینات دهیدروژناز، پیرووات دهیدروژناز، مالات دهیدروژناز، سیترات سنتاز و پیرووات کربوکسیلاز را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Le Moine *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2017; Powell & Jackson, 2003). معادلات پایه مربوط به تغییرات در غلظت آنزیم‌ها و متابولیت‌ها، در طی هیپوکسی، به‌دست آمد.

$$d[C]/dt = \sum V_p - \sum V_d \quad \text{رابطه (۱)}$$

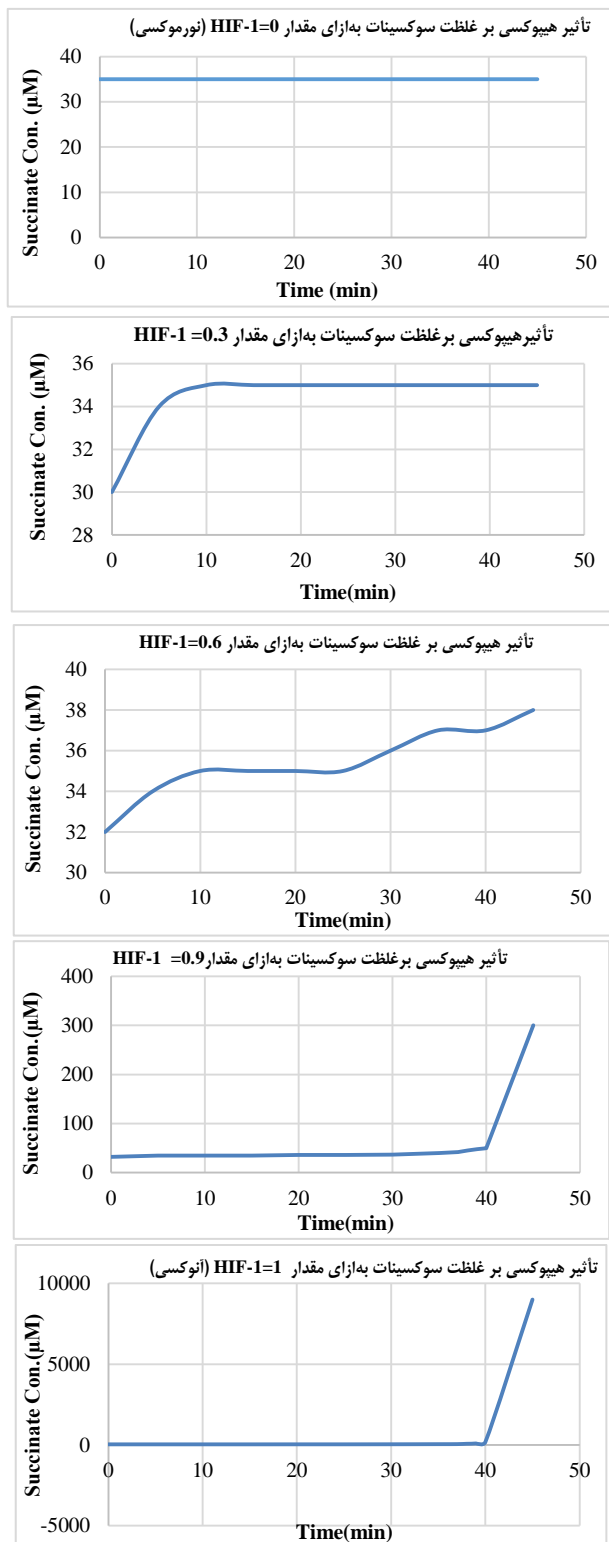
که در آن، $d[C]$ تغییرات غلظت هر یک از آنزیم‌ها و متابولیت‌ها در طول زمان (dt) ، $\sum V_p$ و $\sum V_d$ به‌ترتیب مجموع نرخ تولید و نرخ تخریب آن را نشان می‌دهد.

تأثیر HIF-1 بر غلظت هر آنزیم K_{Eh} نشان داده شد، جایی که K ثابت اثر HIF-1 بر سطح یک آنزیم خاص است.

سلول‌ها به‌ویژه با تجمع HIF-1 در هسته، کاهش سطح اکسیژن را حس می‌کنند. HIF-1 به‌عنوان یک فاکتور رونویسی می‌تواند بر بیان تعداد زیادی از ژن‌ها، از جمله ژن‌های دخیل در انتقال گلوکز، مسیر گلیکولیتیک و چرخه کربس تأثیر بگذارد (Wang *et al.*, 2023). از آنجایی که HIF-1 می‌تواند به‌طور همزمان بر چندین عامل در مسیر متابولیکی که به صورت یک شبکه تنظیم می‌شوند، تأثیر بگذارد، تغییرات اندک در سطوح این مولکول می‌تواند اثرات گسترده‌ای را در مسیر متابولیکی و عملکرد سلول ایجاد کند که سبب تغییر در نرخ تولید متابولیت‌هایی نظیر لاکتات و سوکسینات می‌شود. این متابولیت‌ها نقش بسیار مهمی در پیشبرد پدیده متاستاز در تومورهای جامد، که سلول‌هایشان تحت هیپوکسی هستند، دارند (Allen *et al.*, 2006; Barar & Omid, 2013; Bousquet *et al.*, 2015; Goodwin *et al.*, 2015).

توسعه شبکه تأمین خون تومور با تشکیل ریزرگ‌های جدید با تأثیر عوامل رگ‌زایی تومور همراه است (Folkman, 1990; Vaupel *et al.*, 1989) و بسیار متفاوت از شبکه موجود در بافت طبیعی است و معمولاً طیف وسیعی از ناهنجاری ساختاری و عملکردی را نشان می‌دهد. این ناهنجاری‌ها منجر به کاهش جریان خون شده و به دنبال آن با کاهش تحویل اکسیژن (و مواد مغذی) به سلول‌های تومور، شرایط هیپوکسیک ایجاد می‌شود (Brown, 2000; Vaupel *et al.*, 2002; Vaupel *et al.*, 1989). بدین ترتیب هیپوکسی، با ایجاد تغییر در ریز محیط توموری منجر به متاستاز و افزایش مقاومت در برابر درمان شده و یک عامل پیش‌آگهی در بدخیمی محسوب می‌شود (Germanova *et al.*, 2022). تأثیر هیپوکسی بر متاستاز به‌واسطه افزایش تجمع لاکتات در ریز محیط توموری توسط چندین کار پژوهشی مورد مطالعه قرار گرفته است (Hashemzadeh *et al.*, 2020). سوکسینات یک واسطه چرخه اسیدتری کربوکسیلیک است که معمولاً به ماتریکس میتوکندری محدود می‌شود و سوبسترای سوکسینات دهیدروژناز می‌باشد. وضعیت هیپوکسی سبب تجمع سوکسینات در ماتریکس می‌شود که بدنال آن سوکسینات به سیتوپلاسم حمل شده و در محیط خارج سلولی ترشح می‌شود. سوکسینات سیتوزولی مازاد، عامل تثبیت HIF-1 α می‌باشد که منجر به تشدید عوارض هیپوکسی می‌شود. گزارش‌های اخیر نشان می‌دهد که سوکسینات ترشح شده از سلول‌های سرطانی، مهاجرت سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهد (Kuo *et al.*, 2022).

شدت اعمال هیپوکسی در طی مدت زمان ۴۵ دقیقه غلظت متابولیت سوکسینات افزایش می‌یابد.



شکل ۲. نمودارهای ۱ تا ۵ تأثیر هیپوکسی بر غلظت سوکسینات به‌ازای مقادیر مختلف HIF-1 طی ۴۵ دقیقه در مقایسه با تأثیر نورموکسی و آنوکسی

از کارهای تجربی و براساس قانون جرم-عمل Mass-Action محاسبه شد.

$$d[CE]/dt = K_{Eh} * [HIF - 1] \quad (\text{رابطه ۲})$$

در جایی که $d[CE]$ تغییر در سطح آنزیم تحت تأثیر HIF-1 را نشان می‌دهد، دوره قرارگرفتن در معرض هیپوکسی است و [HIF-1] نشان‌دهنده سطح HIF-1 است که معیار شدت هیپوکسی است.

معادله Michaelis-Menten به‌عنوان پایه جهت بررسی سینتیک برهم‌کنش بین آنزیم‌ها و متابولیت‌ها استفاده شد.

برای حل سیستم معادلات یک سیستم معادله براساس معادلات فوق طراحی شد که از ۱۶ معادله دیفرانسیل معمولی (ODE) تشکیل شده است که تمام فعل و انفعالات موجود در مسیر را شامل می‌شود. سیستم معادلات مورد استفاده در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار Matlab Mathworks (R2024a) حل شد. حلگر ODE 113 برای حل کردن معادله دیفرانسیل شانزده تایی استفاده شد. این مدل‌سازی با هدف تعیین مقدار اثرات سطح اکسیژن بر روی آنزیم‌ها و متابولیت‌های درگیر در چرخه کربس و تعیین تنظیم‌کننده‌های کلیدی طراحی گردید. جدول تکمیلی ۱S شامل مجموعه شرایط اولیه و پارامترهای مورد استفاده در مطالعه حاضر است. بیش‌تر پارامترها از مقالات علمی و دو پایگاه بیولوژیکی معتبر، از جمله BRENDA و Sabio-RK گرفته شد. سایر اطلاعات نیز براساس نتایج تحقیقات قبلی محاسبه شده است.

یافته‌های پژوهش

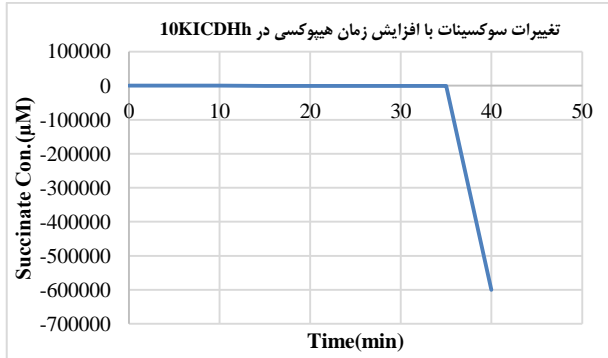
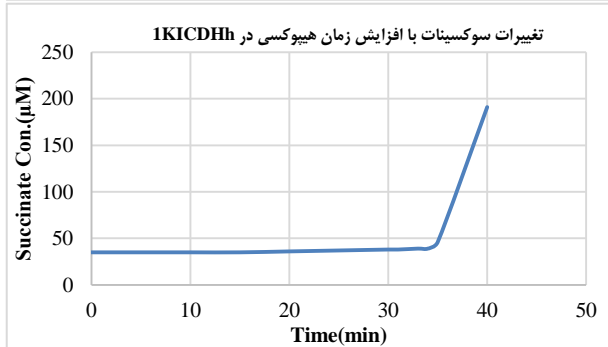
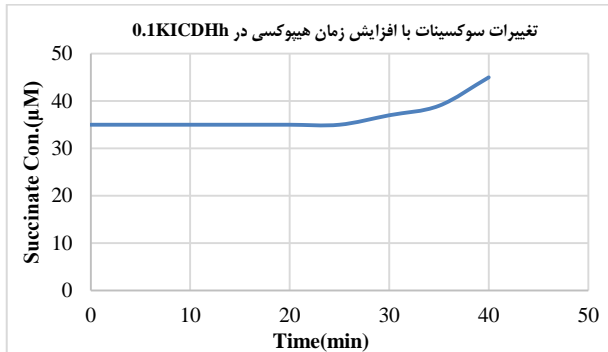
تأثیر سطوح مختلف اکسیژن بر غلظت سوکسینات

برای بررسی تغییرات میزان سوکسینات در برابر زمان به‌ازای مقادیر مختلف HIF-1، دستگاه معادلات به‌ازای مقادیر HIF-1 از صفر تا ۱ و با گام‌های ۰/۳ در بازه زمانی ۴۵ min حل گردید. نتایج حاصل از پنج بار حل دستگاه به‌ازای شدت‌های مختلف هیپوکسی در مقایسه با نورموکسی (HIF-1=0) و آنوکسی (HIF-1=1) نمودارهای (۱) تا (۵) مربوط به شکل (۲) نشان داده شده است. در این نمودارها محور X بیانگر زمان اعمال هیپوکسی بر حسب دقیقه می‌باشد که برای همه نمودارها ۴۵ دقیقه آمده است، محور Y بیانگر تغییرات غلظت متابولیت سوکسینات به‌عنوان شاخص متغیر ناشی از اعمال هیپوکسی می‌باشد که با واحد میکرومول بیان شده است. همان‌طور که مشهود است تغییرات منحنی در نمودارها از وضعیت نورموکسی (HIF-1=0) تا وضعیت آنوکسی (HIF-1=1) نشان می‌دهد در صورت افزایش

آنالیز حساسیت

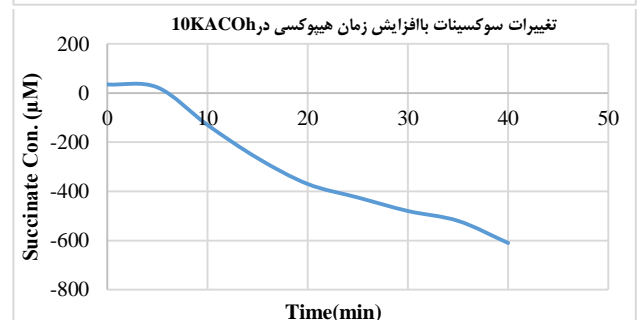
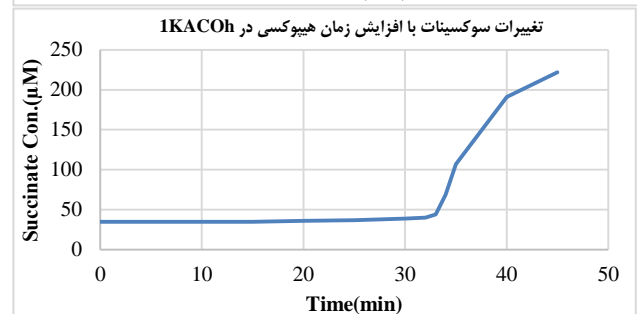
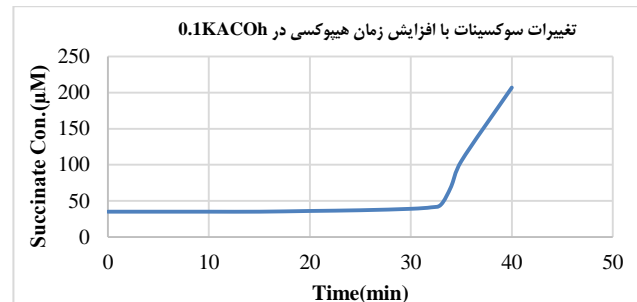
به‌منظور بررسی حساسیت پیش‌بینی‌های مدل نسبت به تأثیرپذیری آنزیم‌های چرخه کربس از هیپوکسی، ثابت تأثیر هیپوکسی بر بیان هر یک از آنزیم‌ها (K_{Eh}) نسبت به مقدار محاسبه‌شده (گزارش‌شده در جدول ۱) ده برابر کاهش ($0/1 K_{Eh}$) و ۱۰ برابر افزایش ($10 K_{Eh}$) داده شد. در هر بار حل دستگاه معادلات، در شرایط هیپوکسی کامل ($HIF-1=1$)، مقدار K_{Eh} یکی از آنزیم‌ها با مقدار ۱۰ یا $0/1$ برابری جایگزین شده و اثر این تغییر در میزان سوکسینات نسبت به مقدار مرجع مقایسه شد. این روند برای تک‌تک آنزیم‌ها، در شرایطی که مقدار K_{Eh} سایر آنزیم‌ها ثابت نگاه‌داشته شده، تکرار شد. برای آنزیم آکونیتاز مقدار K_{ACoh} برابر با $0/6 \text{ min}^{-1}$ محاسبه و در جدول (۱) گزارش شده است. در وضعیت هیپوکسی کامل ($HIF-1=1$) غلظت سوکسینات به‌ازای K_{ACoh} برابر با $0/6 \text{ min}^{-1}$ ، $0/6 \text{ min}^{-1}$ و 6 min^{-1} برای K_{ACoh} ، طبق پیش‌بینی مدل محاسبه شده و نتایج در نمودارهای (۳-A) قابل مقایسه می‌باشد.

برای آنزیم ایزوسیترات دهیدروژناز مقدار K_{ICDHh} برابر با $0/5 \text{ min}^{-1}$ محاسبه و در جدول (۱) گزارش شده است. در وضعیت هیپوکسی کامل ($HIF-1=1$) غلظت سوکسینات به‌ازای K_{ICDHh} برابر $0/5 \text{ min}^{-1}$ و $1/5 \text{ min}^{-1}$ برای K_{ICDHh} ، طبق پیش‌بینی مدل محاسبه شده و نتایج در نمودارهای (۳-B) قابل مقایسه می‌باشد.



نمودارهای ۳-B. پیش‌بینی مدل برای حساسیت غلظت سوکسینات به تغییرات ثابت تأثیر $HIF-1$ بر آنزیم ایزوسیترات دهیدروژناز (K_{ICDHh})

برای آنزیم سوکسینات دهیدروژناز مقدار K_{SDHh} برابر با $0/4 \text{ min}^{-1}$ محاسبه و در جدول (۱) گزارش شده است. در وضعیت هیپوکسی کامل ($HIF-1=1$) غلظت سوکسینات به‌ازای K_{SDHh} ، طبق پیش‌بینی مدل محاسبه شده و نتایج در نمودار (۳-C) قابل مقایسه می‌باشد.

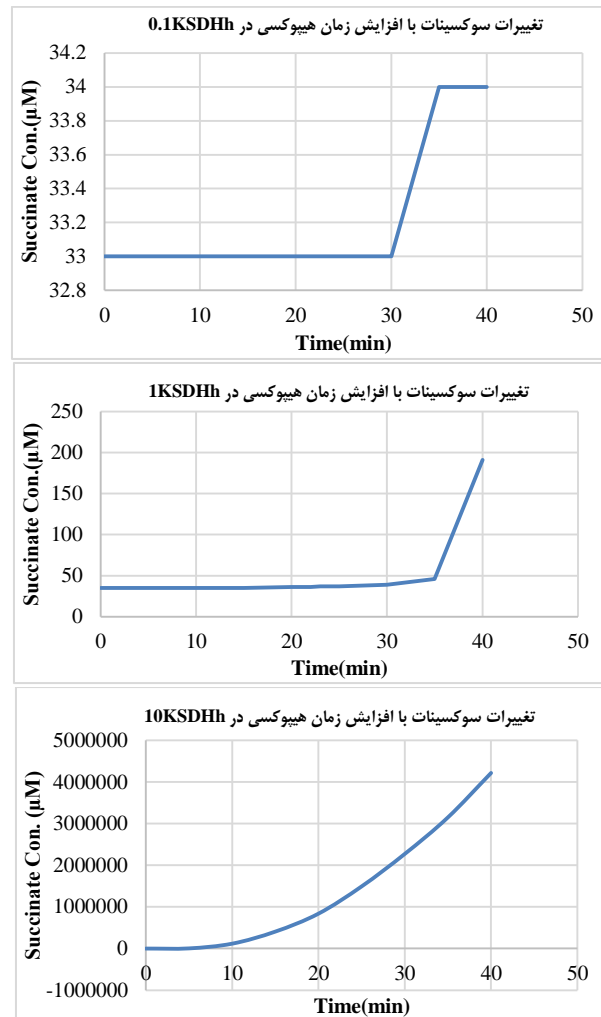


نمودارهای ۳-A. پیش‌بینی مدل برای حساسیت غلظت سوکسینات به تغییرات ثابت تأثیر $HIF-1$ بر آنزیم آکونیتاز (K_{ACoh})

افزایش می‌یابد. در مطالعات تجربی نیز، نتایج حاصل از نمونه خون داوطلبان طی فعالیت عضلانی چنین روندی را بین تغییر در غلظت سوکسینات و زمان، در سطوح مختلف اکسیژن، نشان می‌دهد (Atallah & Heinemann, 2022). بنابراین، نتایج حاصل از مطالعات آزمایشگاهی نیز، یافته‌های مشابه با پیش‌بینی مدل ما را گزارش کردند (Zhang & Lang, 2023).

آنالیز حساسیت

به منظور بررسی اثر تغییرات K_{Eh} هر آنزیم، بر روی پیش‌بینی‌های مدل، آنالیز حساسیت انجام گرفت. مقادیر پارامتر K_{Eh} برای هر آنزیم از محاسبات ما به دست آمده است (جدول ۱). به منظور بررسی قدرت پیش‌بینی‌های مدل در برابر تغییرات K_{Eh} ، مقدار این پارامتر برای هر آنزیم در بازه‌ای از ۰/۱ تا ۱۰ برابر مقدار گزارش شده در جدول (۱) تغییر داده شد. مقدار سوکسینات براساس مقادیر جدید K_{Eh} برای هر آنزیم، درحالی که این پارامتر برای آنزیم‌های دیگر برابر مقدار گزارش شده در جدول (۱) در نظر گرفته شده، محاسبه گردید. مقایسه غلظت‌های سوکسینات به دست آمده، براساس K_{Eh} ، $0.1 * K_{Eh}$ و $10 * K_{Eh}$ برای هر آنزیم نشان داد که تغییرات در K_{PDHh} ، K_{MDHh} ، K_{FASEh} ، K_{SCSh} ، K_{AKGDHh} ، K_{CSh} و K_{PCh} تأثیر مهمی بر تولید سوکسینات ندارد (مطابق پارامتر میزان ثابت تأثیر HIF-1 در جدول (۱) که با K_{Eh} نشان داده شده است). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پیش‌بینی‌های مدل در بازه وسیعی از تغییرات K_{Eh} برای آنزیم‌های سیتراز، آلفاکتوگوتارات دهیدروژناز، فوماراز، سوکسینیل کوآستاز، پیرووات کربوکسیلاز، پیرووات دهیدروژناز و ملات دهیدروژناز پایدار می‌ماند. در مقابل، نتایج نشان می‌دهد مدل پیشنهادی حساسیت بالایی به تغییرات K_{SDHh} ، K_{ICDHh} و K_{ACOh} در تولید سوکسینات دارد (شکل ۳-A, B, C). همان‌طور که شکل‌های (۳-A, B, C) نشان می‌دهد با تغییر مقادیر K_{Eh} نسبت به مقدار گزارش شده در جدول (۱)، برای هر کدام از این سه آنزیم، مقدار سوکسینات تولید شده طی چرخه کربس تا حد قابل توجهی تغییر می‌یابد که نشان‌دهنده حساسیت مدل به این پارامترها می‌باشد. با توجه به این که طبق پیش‌بینی مدل افزایش K_{ACOh} ، K_{SDHh} و K_{ICDHh} تولید سوکسینات را شدیداً تحت تأثیر قرار می‌دهد (مطابق پارامتر میزان ثابت تأثیر HIF-1 در جدول (۱) که با K_{Eh} نشان داده



نمودارهای ۲-C. پیش‌بینی مدل برای حساسیت غلظت سوکسینات به تغییرات ثابت تأثیر HIF-1 بر آنزیم سوکسینات دهیدروژناز (K_{SDHh})

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

پیش‌بینی‌های مدل

تأثیر سطوح مختلف اکسیژن بر غلظت سوکسینات

در معادلات ما هیپوکسی بر پایه غلظت‌های مختلف HIF-1 نشان داده شده است. در پروژه حاضر تغییرات در غلظت‌های درون سلولی سوکسینات به‌عنوان یکی از شاخص‌ترین متابولیت‌های چرخه کربس که تحت تأثیر سطح اکسیژن می‌باشد، مطالعه شده است. تحت شرایط هیپوکسی تغییرات در سطح متابولیت سوکسینات افزایشی بود که با مطالعات قبلی انطباق داشت. بر پایه آنالیز ما اثر هیپوکسی بر عملکرد آنزیم، احتمالاً برای آنزیم‌های تولیدکننده و مصرف‌کننده سوبسترای مانند سوکسینات به تعادل می‌رسد. همان‌طور که شکل (۲) نشان می‌دهد غلظت سوکسینات، در پاسخ به افزایش سطوح HIF-1 طی ۴۵ min

جدول ۱. مقادیر پارامترها

پارامترها و مقادیر اولیه	میزان	منابع
	(μM)	
[isocitrate]0	34	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[fumarate]0	105	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[succinate]0	33	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[malate]0	290	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[oxaloacetate]0	26	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[acetylcoa]0	9.6	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[pyruvate]0	180	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[alphaketoglutarate]0	106.5	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[succoa]0	850	(Smith & Williamson, 1971)
[citrate]0	61.5	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[sdh]0	15.6	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[icdh]0	109	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[fh]0	2000	(Kobayashi <i>et al.</i> , 1981)
[akgdh]0	11.15	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[mdh]0	154	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[pc]0	21	(Jomain-Baum & Schramm, 1978)
[scs]0	17.3	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
[aco]0	25	(Zatta <i>et al.</i> , 2000)
[pdh]0	25	(Karpova <i>et al.</i> , 2004)
[cs]0	10.7	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
	(μM)	
Kmsdh1	550	(Maklashina <i>et al.</i> , 2006)
Kmsdh2	20	(Maklashina <i>et al.</i> , 2006)
Kmicdh1	220	(Matteo <i>et al.</i> , 2017)
Kmicdh2	500	(Matteo <i>et al.</i> , 2017)
Kmfh1	13	(Kobayashi <i>et al.</i> , 1981)
Kmfh2	1900	(Bulku <i>et al.</i> , 2018)
Kmakgdh	300	(McCORMACK & Denton, 1979)
Kmmdh1	190	(Yao <i>et al.</i> , 2011)
Kmmdh2	405	(Yao <i>et al.</i> , 2011)
Kmpc	57	(Jomain-Baum & Schramm, 1978)
Kmscs	55	(Johnson <i>et al.</i> , 1998)
Kmaco1	5300	(Baothman <i>et al.</i> , 2013)
Kmaco2	900	(Baothman <i>et al.</i> , 2013)
Kmpdh	29300	(Karpova <i>et al.</i> , 2004)
Km _{cs}	40	(Simcock <i>et al.</i> , 2011)
	$\mu\text{M min}^{-1}$	
Vm _{SDH}	49	(Kita <i>et al.</i> , 1988)
Vm _{ICDH}	22	(Soundar <i>et al.</i> , 2003)
Vm _{FH}	650	(Behal & Oliver, 1997)
Vm _{a-KGDH}	11.3	(McCORMACK & Denton, 1979)
Vm _{MDH}	10.8	(Pitson <i>et al.</i> , 1999)
Vm _{PC}	40	(Bartolucci <i>et al.</i> , 1987)
Vm _{SCS}	111	(Simcock <i>et al.</i> , 2011)
Vm _{ACO}	0.012	(Zatta <i>et al.</i> , 2000)
Vm _{PDH}	11	(Karpova <i>et al.</i> , 2004)
Vm _{CS}	111	(Pitson <i>et al.</i> , 1999)
	min^{-1}	
Kcat _{sdh1}	1782	(Maklashina <i>et al.</i> , 2006)
Kcat _{sdh2}	278.4	(Maklashina <i>et al.</i> , 2006)
Kcat _{icdh1}	5148	(Matteo <i>et al.</i> , 2017)
Kcat _{icdh2}	1.2	(Matteo <i>et al.</i> , 2017)
Kcat _{fh1}	20400	(Ajalla Aleixo <i>et al.</i> , 2019)
Kcat _{fh2}	9120	(Ajalla Aleixo <i>et al.</i> , 2019)
Kcat _{akgdh}	840	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
Kcat _{mdh1}	504.56	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
Kcat _{mdh2}	273132	(Dagani <i>et al.</i> , 1984)
Kcat _{pc}	7165.2	(Hsieh <i>et al.</i> , 2006)
Kcat _{scs}	8400	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
Kcat _{aco1}	318	(Baothman <i>et al.</i> , 2013)
Kcat _{aco2}	64.8	(Baothman <i>et al.</i> , 2013)
Kcat _{pdh}	1105	(Martras <i>et al.</i> , 2004)
Kcat _{cs}	17000	(Albe <i>et al.</i> , 1990)
Kd _{sdh}	0.0001	(Lee <i>et al.</i> , 2018)
Kd _{icdh}	0.091	(Herold <i>et al.</i> , 2023)
Kd _{mdh}	0.00018	(Weinberg & Utter, 1979)
Kd _{pc}	0.0001	(Weinberg & Utter, 1979)
Kd _{aco}	0.0096	(Gardner <i>et al.</i> , 1995)
Kd _{pdh}	0.000056	(Weinberg & Utter, 1979)
Kd _{cs}	0.0001	(Weinberg & Utter, 1979)
K _{s_{sdh}}	0.4	(Powell & Jackson, 2003)
K _{icdh}	-1.5	(Liu <i>et al.</i> , 2017)
K _{mdh}	-0.03	(Takahashi <i>et al.</i> , 1996)
K _{pch}	-0.033	(Van den Thillart & Smit, 1984)
K _{aco}	-0.6	(Powell & Jackson, 2003)
K _{pdh}	-0.04	(Le Moine <i>et al.</i> , 2011)
K _{cs}	-0.02	(Le Moine <i>et al.</i> , 2011)

شده است) که این تأثیر در مورد آنزیم‌های آکونیتاز و ایزوسیترات دهیدروژناز با کاهش شدید تولید (طبق شکل‌های ۳-A, B) و در مورد آنزیم سوکسینات دهیدروژناز با افزایش شدید تولید (طبق شکل ۳-C) در سطح سوکسینات همراه شده است. تصور بر این است که در صورت تأیید یافته‌های ما توسط کارهای آزمایشگاهی، تنظیم بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آکونیتاز (ACO)، سوکسینات دهیدروژناز (SDH) و ایزوسیترات دهیدروژناز (ICDH) می‌تواند به‌عنوان اهداف مهم کنترل چرخه کربس معرفی گردد. با توجه به یافته‌های این مطالعه در خصوص افزایش پیوسته غلظت سوکسینات ناشی از افزایش ثابت تأثیر HIF-1 بر آنزیم سوکسینات دهیدروژناز و از آنجایی که قبلاً نیز نقش آنزیم SDH به‌عنوان تنظیم‌کننده مهم در چرخه کربس مشخص شده است (Cesare Marincola *et al.*, 2025)، این مسئله می‌تواند تاییدی بر ظرفیت مدل پیشنهادی در پیش‌بینی وقایع مولکولی مربوط به این آنزیم کلیدی طی چرخه کربس باشد. با توجه به این واقعیت‌ها، همبستگی بین نتایج حاصل از مطالعه تئوری ما و پژوهش‌های آزمایشگاهی می‌تواند نشان‌دهنده ظرفیت مدل ما در توضیح چرخه کربس و تعیین تنظیم‌کننده‌های کلیدی آن باشد. در مقایسه تأثیر افزایش ۱۰ برابری و کاهش ۱۰ برابری K_{ICDH} و K_{ACO} بر تولید سوکسینات آنچه بر طبق نتایج پیش‌بینی مدل مشهود است، تأثیر افزایشی نسبی K_{ACO} ۰/۱ و K_{ICDH} ۰/۱ مشابه با مقدار پایه K_{ACO} ۱ و K_{ICDH} ۱ بر تولید سوکسینات از یک‌سو و تأثیر کاهش‌دهنده K_{ACO} ۱۰ و K_{ICDH} ۱۰ در قیاس با مقدار پایه K_{ACO} ۱ و K_{ICDH} ۱ بر تولید سوکسینات از سوی دیگر می‌باشد. بنابراین طبق نتایج مدل پیش‌بینی می‌شود با افزایش ۱۰ برابری هیپوکسی اعمال‌شده به آنزیم‌های آکونیتاز و ایزوسیترات دهیدروژناز ساختار و عملکرد این دو آنزیم دچار اختلال شده و به‌دنبال آن با کاهش شدید تولید سوکسینات، چرخه کربس متوقف می‌گردد. از آنجایی که این دو آنزیم چرخه کربس فقط تا حد مشخصی در برابر اعمال هیپوکسی باعث افزایش غلظت سوکسینات می‌شوند، اما با افزایش شدید هیپوکسی با مختل شدن ساختار و عملکردشان باعث توقف چرخه کربس می‌شوند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت این دو آنزیم نسبت به آنزیم سوکسینات دهیدروژناز اولویت پایین‌تری در ایفای نقش کلیدی در تنظیم چرخه کربس می‌توانند داشته باشند.

محدودیت‌های مطالعات مدل‌سازی

طبق تعریف، مدل نمایش یا نقشه‌ای از پدیده مورد نظر است که با توجه به هدف، با حذف جزئیات و اجزایی که اهمیت نداشته‌اند، ساده شده است. به گونه‌ای که اندازه و اهمیت نسبی اجزا و رابطه میان اجزا تا حد امکان به اصل شبیه باشد. مدل‌سازی امکان بررسی و پیش‌بینی رفتار سیستم در مواجهه با انواع متغیرها یا پارامترهای مختلف یک وضعیت واقعی را فراهم می‌کند. از سوی دیگر، استفاده از ساده‌سازی و فرضیات باعث می‌گردد دقت مطالعه به میزان دقت داده‌ها و فرضیات مورداستفاده وابسته باشد. در نتیجه لازم است نتیجه مطالعات مبتنی بر مدل‌سازی توسط مطالعات تجربی مورد ارزیابی قرار گیرد.

در ادامه مطالعات تکمیلی پیشنهاد می‌گردد، مطالعه بررسی اثر هیپوکسی بر چرخه گلیکوژنز و مسیری پنتوز فسفات نیز صورت پذیرد تا با ادغام نتایج حاصل از آن‌ها با نتایج به‌دست‌آمده از یافته‌های مشابه در چرخه کریس و مسیر گلیکولیز بتوان تحلیل‌های جامع‌تری در جهت کمک به پیش‌آگهی، تشخیص و درمان مناساز در تومورهای سرطانی دست یافت.

هم‌چنین پیشنهاد می‌شود روش محاسباتی حاضر برای مطالعه سایر عوامل ایجادکننده استرس بر مسیرهای زیستی مختلف، به‌منظور تعیین تنظیم‌کننده‌های کلیدی مسیرها، به‌کار رود. در گام بعدی طراحی مطالعات آزمایشگاهی مناسب می‌تواند، نتایج حاصل از مدل ارائه‌شده ما را ارزیابی و مدل را تکمیل نماید.

تشکر و قدردانی

از تمامی استادان و کارکنان محترم دپارتمان زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور تهران شرق و نیز استادان گروه ریاضی دانشگاه تبریز که در اجرای پروژه حاضر همکاری صمیمانه‌ای داشتند، تشکر و قدردانی می‌گردد. لازم به توضیح است این مطالعه به‌دلیل عدم مداخله انسانی یا حیوانی نیاز به اخذ مجوز اخلاقی از دانشگاه پیام نور تهران شرق نداشت.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

References

- Adolph, C., Cheung, C.-Y., McNeil, M. B., Jowsey, W. J., Williams, Z. C., Hards, K., ..., & Buckley, B. J. (2024). A dual-targeting succinate dehydrogenase and F1Fo-ATP synthase inhibitor rapidly sterilizes replicating and non-replicating Mycobacterium tuberculosis. *Cell chemical biology*, 31(4), 683-698. e687.
- Ajalla Aleixo, M. A., Rangel, V. L., Rustiguel, J. K., de Pádua, R. A., & Nonato, M. C. (2019). Structural, biochemical and biophysical characterization of recombinant human fumarate hydratase. *The FEBS journal*, 286(10), 1925-1940.
- Atallah, R., Olschewski, A., & Heinemann, A. (2022). Succinate at the crossroad of metabolism and angiogenesis: roles of SDH, HIF1 α and SUCNR1. *Biomedicines*, 10(12), 3089.
- Allen, J. W., Khetani, S. R., Johnson, R. S., & Bhatia, S. N. (2006). In vitro liver tissue model established from transgenic mice: role of HIF-1 α on hypoxic gene expression. *Tissue engineering*, 12(11), 3135-3147.
- Annibaldi, A., & Widmann, C. (2010). Glucose metabolism in cancer cells. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 13(4), 466-470.
- Barar, J., & Omid, Y. (2013). Dysregulated pH in tumor microenvironment checkmates cancer therapy. *BioImpacts: BI*, 3(4), 149.
- Baothman, O. A., Rolfe, M. D., & Green, J. (2013). Characterization of Salmonella enterica serovar Typhimurium aconitase A. *Microbiology*, 159(Pt_6), 1209-1216.
- Baysal, B. E., Alahmari, A. A., Rodrick, T. C., Tabaczynski, D., Curtin, L., Seshadri, M., ..., & Sexton, S. (2022). Succinate dehydrogenase inversely regulates red cell distribution width and healthy life span in chronically hypoxic mice. *JCI insight*, 7(17), e158737.
- Behal, R. H., & Oliver, D. J. (1997). Biochemical and molecular characterization of fumarase from plants: purification and characterization of the enzyme—cloning, sequencing, and expression of the gene. *Archives of biochemistry and biophysics*, 348(1), 65-74.
- Bulku, A., Weaver, T. M., & Berkmen, M. B. (2018). Biochemical characterization of two clinically-relevant human fumarase variants defective for oligomerization. *The open biochemistry journal*, 12, 1.
- Bousquet, P. A., Sandvik, J. A., Arntzen, M. Ø., Jeppesen Edin, N. F., Christoffersen, S., Kregel, U., Pettersen, E. O., & Thiede, B. (2015). Hypoxia strongly affects mitochondrial ribosomal proteins and translocases, as shown by quantitative proteomics of HeLa cells. *International journal of proteomics*, 2015(1), 678527.
- Brown, J. M. (2000). Exploiting the hypoxic cancer cell: mechanisms and therapeutic strategies. *Molecular medicine today*, 6(4), 157-162.
- Cesare Marincola, F., Masu, D., Libonati, V., Tozzi, M., Isola, R., Vargiu, R., ..., & Ghiani, G. (2025). Metabolic response to an acute bout of mild dynamic exercise performed under normobaric moderate hypoxia: A NMR-based metabolomics study. *PLoS one*, 20(7), e0325447.

- Dagani, F., Marzatico, F., Curti, D., Zanada, F., & Benzi, G. (1984). Effect of prolonged and intermittent hypoxia on some cerebral enzymatic activities related to energy transduction. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 4(4), 615-624.
- Eskandani, M., Vandghanooni, S., Barar, J., Nazemiyeh, H., & Omidi, Y. (2017). Cell physiology regulation by hypoxia inducible factor-1: Targeting oxygen-related nanomachineries of hypoxic cells. *International journal of biological macromolecules*, 99, 46-62.
- Folkman, J. (1990). What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? In (Vol. 82, pp. 4-7): Citeseer.
- Gatenby, R. A., & Gillies, R. J. (2004). Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nature reviews cancer*, 4(11), 891-899.
- Goodwin, M. L., Gladden, L. B., Nijsten, M. W., & Jones, K. B. (2015). Lactate and cancer: revisiting the Warburg effect in an era of lactate shuttling. *Frontiers in nutrition*, 1, 27.
- Gardner, P. R., Nguyen, D., & White, C. W. (1994). Aconitase is a sensitive and critical target of oxygen poisoning in cultured mammalian cells and in rat lungs. *Proceedings of the National Academy of sciences*, 91(25), 12248-12252.
- Germanova, E., Khmil, N., Pavlik, L., Mikheeva, I., Mironova, G., & Lukyanova, L. (2022). The role of mitochondrial enzymes, succinate-coupled signaling pathways and mitochondrial ultrastructure in the formation of urgent adaptation to acute hypoxia in the myocardium. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 14248.
- Hsieh, C.-W., Huang, C., Bederman, I., Yang, J., Beidelschies, M., Hatzoglou, M., ..., & Croniger, C. M. (2011). Function of phosphoenolpyruvate carboxykinase in mammary gland epithelial cells [S]. *Journal of lipid research*, 52(7), 1352-1362.
- Hashemzadeh, S., Shahmorad, S., Rafei-Tabar, H., & Omidi, Y. (2020). Computational modeling to determine key regulators of hypoxia effects on the lactate production in the glycolysis pathway. *Scientific Reports*, 10(1), 9163.
- Johnson, J. D., Muhonen, W. W., & Lambeth, D. O. (1998). Characterization of the ATP-and GTP-specific succinyl-CoA synthetases in pigeon: the enzymes incorporate the same α -subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 273(42), 27573-27579.
- Jomain-Baum, M., & Schramm, V. L. (1978). Kinetic mechanism of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) from rat liver cytosol. Product inhibition, isotope exchange at equilibrium, and partial reactions. *Journal of Biological Chemistry*, 253(10), 3648-3659.
- Karpova, T., Danchuk, S., Huang, B., & Popov, K. M. (2004). Probing a putative active site of the catalytic subunit of pyruvate dehydrogenase phosphatase 1 (PDP1c) by site-directed mutagenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1700(1), 43-51.
- Kita, K., Takamiya, S., Furushima, R., Ma, Y.-c., Suzuki, H., Ozawa, T., & Oya, H. (1988). Electron-transfer complexes of *Ascaris suum* muscle mitochondria. III. Composition and fumarate reductase activity of complex II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 935(2), 130-140.
- Kobayashi, K., Kamimura, T., & Tuboi, S. (1982). Studies on the turnover rates of cytosolic and mitochondrial fumarases in rat liver. *The Journal of Biochemistry*, 91(5), 1511-1518.
- Kuo, C.-C., Wu, J.-Y., & Wu, K. K. (2022). Cancer-derived extracellular succinate: a driver of cancer metastasis. *Journal of biomedical science*, 29(1), 93.
- Lee, J. J., Segar, D. J., Morrison, J. F., Mangham, W. M., Lee, S., & Asaad, W. F. (2017). Subdural hematoma as a major determinant of short-term outcomes in traumatic brain injury. *Journal of neurosurgery*, 128(1), 236-249.
- Le Moine, C. M., Morash, A. J., & McClelland, G. B. (2011). Changes in HIF-1 α protein, pyruvate dehydrogenase phosphorylation, and activity with exercise in acute and chronic hypoxia. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 301(4), R1098-R1104.
- Liu, D.-C., Zheng, X., Zho, Y., Yi, W.-R., Li, Z.-H., Hu, X., & Yu, A.-X. (2017). HIF-1 α inhibits IDH-1 expression in osteosarcoma. *Oncology Reports*, 38(1), 336-342.
- Maklashina, E., Iverson, T. M., Sher, Y., Kotlyar, V., Andréll, J., Mirza, O., ..., & Weiner, J. H. (2006). Fumarate reductase and succinate oxidase activity of *Escherichia coli* complex II homologs are perturbed differently by mutation of the flavin binding domain. *Journal of Biological Chemistry*, 281(16), 11357-11365.
- Martras, S., Alvarez, R., Martínez, S. E., Torres, D., Gallego, O., Duester, G., ..., & Pares, X. (2004). The specificity of alcohol dehydrogenase with cis-retinoids: activity with 11-cis-retinol and localization in retina. *European Journal of Biochemistry*, 271(9), 1660-1670.
- Matteo, D. A., Grunseth, A. J., Gonzalez, E. R., Anselmo, S. L., Kennedy, M. A., Moman, P., ..., & Sohl, C. D. (2017). Molecular mechanisms of isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) mutations identified in tumors: The role of size and hydrophobicity at residue 132 on catalytic efficiency. *Journal of Biological Chemistry*, 292(19), 7971-7983.
- McCORMACK, J. G., & Denton, R. M. (1979). The effects of calcium ions and adenine nucleotides on the activity of pig heart 2-oxoglutarate dehydrogenase complex. *Biochemical Journal*, 180(3), 533-544.
- Nguyen, L. K., Cavadas, M., Scholz, C. C., Fitzpatrick, S. F., Bruning, U., Cummins, E. P., Tambuwala, M. M., Manresa, M. C., Kholodenko, B. N., & Taylor, C. T. (2015). A dynamic model of the hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) network. *J Cell Sci*, 128(2), 422.
- Pitson, S. M., Mendz, G. L., Srinivasan, S., & Hazell, S. L. (1999). The tricarboxylic acid cycle of *Helicobacter pylori*. *European Journal of Biochemistry*, 260(1), 258-267.

- Powell, C. S., & Jackson, R. M. (2003). Mitochondrial complex I, aconitase, and succinate dehydrogenase during hypoxia-reoxygenation: modulation of enzyme activities by MnSOD. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 285(1), L189-L198.
- Qutub, A. A., & Popel, A. S. (2006). A computational model of intracellular oxygen sensing by hypoxia-inducible factor HIF1 α . *Journal of cell science*, 119(16), 3467-3480.
- Simcock, D., Walker, L., Pedley, K., Simpson, H., & Brown, S. (2011). The tricarboxylic acid cycle in *L3 Teladorsagia circumcincta*: metabolism of acetyl CoA to succinyl CoA. *Experimental parasitology*, 128(1), 68-75.
- Smith, C. M., & Williamson, J. R. (1971). Inhibition of citrate synthase by succinyl-CoA and other metabolites. *FEBS letters*, 18(1), 35-38.
- Soundar, S., Park, J.-H., Huh, T.-L., & Colman, R. F. (2003). Evaluation by mutagenesis of the importance of 3 arginines in α , β , and γ subunits of human NAD-dependent isocitrate dehydrogenase. *Journal of Biological Chemistry*, 278(52), 52146-52153.
- Takahashi, H., Asano, K., & Nakayama, H. (1996). Effect of endurance training under hypoxic condition on oxidative enzyme activity in rat skeletal muscle. *Applied Human Science*, 15(3), 111-114.
- Van den Thillart, G., & Smit, H. (1984). Carbohydrate metabolism of goldfish (*Carassius auratus* L.) Effects of long-term hypoxia-acclimation on enzyme patterns of red muscle, white muscle and liver. *Journal of Comparative Physiology B*, 154(5), 477-486.
- Vaupel, P., Briest, S., & Höckel, M. (2002). Hypoxia in breast cancer: pathogenesis, characterization and biological/therapeutic implications. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 152(13-14), 334-342.
- Vaupel, P., & Harrison, L. (2004). Tumor hypoxia: causative factors, compensatory mechanisms, and cellular response. *The oncologist*, 9(S5), 4-9.
- Vaupel, P., Kallinowski, F., & Okunieff, P. (1989). Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review. *Cancer research*, 49(23), 6449-6465.
- Wang, Y.-H., Yan, Z.-Z., Luo, S.-D., Hu, J.-J., Wu, M., Zhao, J., ..., & Liu, K.-X. (2023). Gut microbiota-derived succinate aggravates acute lung injury after intestinal ischaemia/reperfusion in mice. *European Respiratory Journal*, 61(2).
- Wang, Y., Shi, M., Chu, Z., Yan, X., You, G., Chen, G., & Zhou, H. (2023). Protective effect of bioactive iridium nanozymes on high altitude-related hypoxia-induced kidney injury in mice. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1115224.
- Weinberg, M. B., & Utter, M. F. (1979). Effect of thyroid hormone on the turnover of rat liver pyruvate carboxylase and pyruvate dehydrogenase. *Journal of Biological Chemistry*, 254(19), 9492-9499.
- Yao, Y.-X., Dong, Q.-L., Zhai, H., You, C.-X., & Hao, Y.-J. (2011). The functions of an apple cytosolic malate dehydrogenase gene in growth and tolerance to cold and salt stresses. *Plant physiology and biochemistry*, 49(3), 257-264.
- Zatta, P., Lain, E., & Cagnolini, C. (2000). Effects of aluminum on activity of Krebs cycle enzymes and glutamate dehydrogenase in rat brain homogenate. *European Journal of Biochemistry*, 267(10), 3049-3055.
- Zhang, W., & Lang, R. (2023). Succinate metabolism: a promising therapeutic target for inflammation, ischemia/reperfusion injury and cancer. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1266973.
- Zhao, T., Mu, X., & You, Q. (2017). Succinate: An initiator in tumorigenesis and progression. *Oncotarget*, 8(32), 53819.
- Zhou, C.-H., Zhang, X.-P., Liu, F., & Wang, W. (2015). Modeling the interplay between the HIF-1 and p53 pathways in hypoxia. *Scientific Reports*, 5(1), 13834.