

## 研究ノート

# 遺伝性糖尿病ラットの心筋細胞活動電位に対する コンピュータシミュレーションによる検討

<sup>1</sup>土 田 勝 晴      <sup>2</sup>山 邊 優 子

<sup>1</sup> 同志社女子大学・薬学部・医療薬学科・教授

<sup>2</sup> 同志社女子大学・薬学部・医療薬学科・創薬理論科研究室（2008年4月～2011年3月）

## Computer-simulated study on cardiac ventricular action potentials in genetically diabetic rats

<sup>1</sup> Katsuharu Tsuchida      <sup>2</sup> Yuko Yamabe

<sup>1</sup> Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Doshisha Women's College of Liberal Arts, Professor

<sup>2</sup> Laboratory of Rational Medicinal Science, Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Doshisha Women's College of Liberal Arts, 2008-2011

### Abstract

The objective of this study was to examine the cardiac action potentials in the genetically induced diabetic WBN/Kob rats by using a mathematical model on the action potential. The final goal was to obtain theoretical insight into the ionic mechanisms responsible for the ventricular action potential in rats with genetic diabetes.

Our computer programming was conducted mainly according to the equations used in the model described by Pandit et al. (2001). The in vitro data of cardiac action potentials were used by mainly citing our previous papers already published by Tsuchida & Watajima (1994, 1997). The comparative studies between the theoretical data and the in vitro data were performed. According to our in vitro data, we had observed the decrease in the transient outward K current (Ito) by 40%, therefore we decreased the simulated Ito by 40% in the present computer simulation. This manipulation increased the action potential duration of 50% repolarization (APD<sub>50</sub>) by 119%. The in vitro data had indicated the prolongation of APD<sub>50</sub> by 113%. Thus, the computer-simulated data coincided with the in vitro data obtained from WBN/Kob rats. In addition, this manipulation induced the small decrease in the peak intracellular Ca concentration (Ca<sub>i</sub>), and the prolongation of the duration of the increase in the Ca<sub>i</sub>. The steady-state outward K current (IK<sub>ss</sub>) was increased and the duration of its increase was prolonged. The inward rectifying K current (IK<sub>1</sub>) was not changed in the peak value, but the course of the current flow with time was prolonged. The L-type Ca current (ICaL) was decreased, but its inactivation was slowed. The NaCa exchange current (INaCa) was shifted inwardly. Sarcolemmal Ca pump current (ICaP) was shifted outwardly, and the outward increase in the ICaP with time was prolonged. It is considered that the above mentioned various changes of ion movements were induced by the change of Ito secondarily. In conclusion, the computer simulation could reproduce the data obtained from our in vitro experiments in rat cardiac myocytes with genetic diabetes. Therefore, the simulation is a very useful mean to analyze the ionic current mechanisms in the rat cardiac action potential.

## 諸 言

心筋細胞における活動電位の形成には種々のイオンチャネルを中心にイオンポンプやイオンイクスチェンジャー更には細胞内 Ca 動態が複雑に関与している。概略図を図1に示す。パッチクランプ法等による電気生理学的研究方法の発展とコンピュータ技術の発達に伴い、心筋活動電位の形成メカニズムを数理モデルを作成してコンピュータ上で再現し、病態や薬物作用の解析に用いる研究が進展してきている。活動電位のコンピュータシミュレーションは Hodgkin & Huxley が常微分方程式で表現したことに始まる (1952年)<sup>1)</sup>。その後、Noble (1960年) により  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  チャネルに基づいた心筋活動電位のシミュレーションが提示され<sup>2)</sup>、続いて Beeler と Reuter (1977年) が  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルを加えてシミュレーションを行い<sup>3)</sup>、Luo と Rudy (1991, 1994年) がより多様な細胞膜チャネルと細胞内イオン動態を考慮した心筋活動電位シミュレーションモデルを提案した<sup>4)</sup>。最近では本邦においては、野間らによる Kyoto モデル (2003年以降) が考案され、野間、松岡、皿井らにより、15種類のイオンチャネルと4種類のトランスポーター、リアノジン受容体、収縮性、細胞内代謝を含む精緻なモデルが確立され、simBio として一般公開されて活用されるに至っている<sup>5-8)</sup>。その他幾つかの研究グループのシミュレーションモデルの提示とそれに基づく研究結果が報告されている。本研究においては、Pandit & Demir ら (2001年) のラット心室筋細胞のコンピュータシミュレーションで用いている数理モデル<sup>9)</sup>を主に利用して、simBio システムも利用しつつシミュレーションモデルの作成を行った。次に本実験の最終的目標である遺伝性糖尿病ラット心筋細胞の活動電位の理論的解析を行った。インスリン非依存性の遺伝性糖尿病モデルラット (WBN/Kob) の心室筋細胞の活動電位波形やイオンチャネル及び輸送系の電流変化がどのような時間的経過をたどるのか、今回作成したコンピュータモデルに対して我々が既に報告しているパッチクランプのデータを入力してシミュレーションを行い、電気生理学的解析と考察を行った。ただし必要に応じて他の研究者の実験データも引用した。

## 材料及び方法

コンピュータプログラムの作成に当たっては、Pandit ら (2001年) の数理モデルに準じた数式を用いた<sup>9)</sup>。プログラミングは simBio (Matsuoka, Sarai, Noma ら、2003

-2007年) システムを利用しつつ行った<sup>5-8)</sup>。イオン電流の常微分方程式は java で記述し、特有な数式を有する機能要素と変数との相互作用および初期値は xml を用いて記述した。積分エンジンで常微分方程式の初期値問題を解き、結果はグラフ表示される。

今回の検討課題として重要となった  $\text{Ca}^{2+}$ -independent transient outward current, Ito, の常微分方程式の概略は下記の通りである<sup>9)</sup>。他のイオンチャネル、トランスポーター、イクスチェンジャーに関する常微分方程式も Appendix に示した通りである。また生の細胞実験から得られたデータの使用に関しては、我々が既に報告した WBN/Kob 遺伝性糖尿病ラット心室筋細胞についての Tsuchida & Watajima (1994, 1997年)<sup>10-12)</sup> の論文中から、パッチクランプによる膜電位固定下でのカリウム、カルシウム電流変化の値を用いた。ストレプトゾトシン誘発 I 型糖尿病ラットとの比較では、Wang ら (1995年)<sup>13)</sup>、Hattori ら (2000年)<sup>14)</sup>、及び Shimoni ら (1998年) の実験データ<sup>15)</sup> についても必要に応じて言及した。

$$I = g_r r (as + bs_{\text{slow}})(V - Ek), a = 0.886, B = 0.114$$

$$\bar{r} = \frac{1}{1 + e^{(V + 10.6)/-11.42}}$$

$$\bar{s} = \bar{s}_{\text{slow}} = \frac{1}{1 + e^{(V + 45.3)/6.8841}}$$

$$\frac{dr}{dt} = \frac{\bar{r} - r}{\tau_f}, \tau_f = f(V)$$

$$\frac{ds}{dt} = \frac{\bar{s} - s}{\tau_s}, \tau_s = g(V)$$

$$\frac{ds_{\text{slow}}}{dt} = \frac{\bar{s}_{\text{slow}} - s_{\text{slow}}}{\tau_{s_{\text{slow}}}}, \tau_{s_{\text{slow}}} = h(V)$$

## 結 果

Java 及び xml でのプログラミングは Appendix に示した通りである。このプログラムにおいて、Tsuchida & Watajima の実験データに基き数理パラメーターの変更を行った。この時の活動電位の変化を表1にまとめ、活動電位や各種イオン電流、細胞内 Ca 濃度のグラフは図2~4に示した。プログラミングの結果の活動電位は、肉片に刺入した微小電極法を用いた我々の実験での活動電位と比べ、静止膜電位、活動電位振幅、活動電位持続時間ともにやや大きめではあったが、数多くの既報論文で認められる数値の範囲内であった<sup>9,13-15)</sup>。正常ラットに比べ WBN/Kob 遺

表1 コンピュータシミュレーションによる活動電位波形

パラメーター	静止膜電位	活動電位振幅	APD <sub>50</sub>	APD <sub>90</sub>
正常心筋	-83.5mV	111.1mV	29.6ms	59.9ms
Ito40%低下	-82.0mV	109.0mV	64.9ms	98.8ms
Ito40%、INaCa30%低下	-82.0mV	109.0mV	64.4ms	98.7ms

APD<sub>50</sub>: 50%再分極時の活動電位持続時間

APD<sub>90</sub>: 90%再分極時の活動電位持続時間

伝性糖尿病ラットでは、単離細胞のパッチクランプ実験で一過性外向き K 電流、Ito が40%低下していたことより<sup>10)</sup>、今回のシミュレーションでも Ito のコンダクタンスを40%減少させた。なおこの時、他の電流系 L 型 Ca 電流 (ICaL)、ステディーステイト外向き K 電流 (IKss)、内向き整流 K 電流 (IK<sub>1</sub>) はパッチクランプ実験の結果で変化がなかったので、数値パラメーターを変更しなかった。Ito 減少により活動電位の持続時間 APD<sub>50</sub> (50%再分極時の活動電位持続時間) は119%増大した。また APD<sub>90</sub> (90%再分極時の活動電位持続時間) は65%増大した。静止膜電位は僅かに浅くなり、活動電位振幅は僅かに減少した。細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度については、静止膜電位では増加し、またそのピーク値は0.19から0.173  $\mu$ M にやや減少したが、Ca 濃度の上昇の持続時間は延長した。他のイオン電流の変動が様々に認められた。IKss はピークが増大し持続時間が延長、IK<sub>1</sub> のピーク値は不変であったが、一過性増大過程は遅延した。Ito も不活性化の遅延が認められている。ICaL ではピーク値は減少したが、不活性化は延長した。Na、Ca 交換電流 (INaCa) は内向きにシフトしたが、外向き及び内向きへの電流の振幅は変わらなかった。Ca ポンプ電流、ICaP は外向きにシフトし、活動電位に伴いみられる外向き電流はピーク値を除いて増加し、増加の持続時間は延長した。次に Hattori ら (2000年) データ<sup>14)</sup> に従って、Ito 変更に加えて INaCa を30%減少させると活動電位波形、他の電流波形はほとんど変化せず、Ca 濃度も変化は認められなかった。

## 考 察

Hodgkin-Huxley 型の膜モデル<sup>1)</sup> に始まった神経細胞膜の活動電位に関する研究は、心筋細胞の膜モデルにも応用され、細胞膜イオンチャネル、イオンポンプ、細胞内イオン動態、筋小胞体 (SR) での Ca 動態が加えられ複雑で精緻な膜モデルが Luo & Rudy や Noma らによりコンピュータ上で再現されてきている<sup>4-8)</sup>。これらを用いて、不整脈

等の発生メカニズム、あるいは薬物効果の研究に汎用されるに至っている。本邦では Noma らの考案による Kyoto モデルが最もよく知られている<sup>5-8)</sup>。このモデルは simBio として一般公開されており、その中でモルモット、ヒトの心筋活動電位プログラムが提示されている。我々は以前、遺伝性糖尿病ラットの心筋活動電位変化に興味を持ち、細胞を使用した電気生理学的変化を検討してきたが<sup>10-12)</sup>、これら実験データをコンピュータシミュレーションで解析し直し、理論的に考察することに興味をもった。なお Pandit らは既にストレプトゾトシン誘発の I 型糖尿病モデルラットのコンピュータシミュレーションを行っている<sup>16)</sup>。我々の作成したコンピュータモデルは、simBio のシステムを利用しながら、Pandit らの数値モデル<sup>9)</sup> を主に取り入れて、プログラミングを行い、実験データとの相関性を検討した。Tsuchida & Watajima の生の実験データでは、対照となった19ヶ月齢の正常ウィスターラットに比べ同月齢の遺伝性糖尿病ラットで Ito が40%低下していたことより<sup>10)</sup>、シミュレーションでも Ito のコンダクタンスを40%減少させた。これにより活動電位の持続時間 APD<sub>50</sub> は119%増大した。生の実験データでも APD<sub>50</sub> は113%増大していた<sup>10)</sup>。Ito の減少により生ずる APD<sub>50</sub> の延長の程度は実験データとシミュレーションとで、一致している。この時シミュレーションでは、Ito の不活性化の遅延が認められている。細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度については、そのピーク値は減少したが、静止膜電位での Ca 濃度の上昇がみられ、さらに Ca 濃度の上昇の持続時間は延長した。他のイオン電流の変動が様々に認められた。IKss はピークが増大し持続時間が延長、IK<sub>1</sub> ではピーク値は不変であったが、増大までの時間は遅延した。ICaL ではピーク値は減少したが、不活性化は延長した。INaCa は内向きにシフトした。このことから、ICaNa を介して細胞内 Ca の排出が促進されていると考えられる。また ICaP もピークの瞬間を除いて全期間を通じて外向き電流が大きくなったことより、Ca 排出が促進していることが考えられる。Ito を減少させた場合に起こる活動電位発生中の細胞内 Ca 濃度、IKss、IK<sub>1</sub>、ICaL、

INaCa の変化は Ito のコンダクタンスの減少の結果、二次的に生じたものと考えられる。ストレプトゾトシン誘発の I 型糖尿病モデルラットを用いた、Wang & Kiyosue らの心筋細胞パッチクランプ実験では IKss の減少を認めているが<sup>13)</sup>、我々の遺伝性糖尿病モデルでは、膜電位固定下で IK<sub>1</sub> や IKss の膜電流変化を認めなかった<sup>10)</sup>、IKss や IK<sub>1</sub> に関しては数理モデルのパラメーターを変更しなかった。一方、Shimoni らによるフルクトース負荷食誘発の II 型糖尿病ラットでは、Ito は変化せず、IKss はむしろ増加するという<sup>15)</sup>。同じインスリン非依存性の II 型糖尿病ラットでもその成因により、チャネル電流の変動には相当な相違点があると考えられる。つけ加えれば Shimoni らのストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットの Ito、IKss のデータは、Wang & Kiyosue らのデータと同様であった。また我々の実験データでは ICaL も変動が認められなかった<sup>11)</sup>、パラメーター変更を行わなかった。次に、INaCa に関しては、ラット心室筋の活動電位で APD<sub>90</sub> の延長に寄与する可能性があるという報告<sup>17)</sup>があるため、パラメーター変更を試みた。INaCa については、我々は実験的に未検討であったため、I 型糖尿病モデルではあるが、Hattori ら (2000年) のデータ<sup>14)</sup>に従って INaCa を 30% 減少させて、その影響を検討した。これにより活動電位、イオン電流及び細胞内 Ca 濃度はほとんど変化しなかった。INaCa の変更による活動電位への影響は軽微であったことから、INaCa の遺伝性糖尿病ラットの活動電位波形へ及ぼす影響についてもきわめて少ないと考えられる。以上のコンピュータシミュレーション結果は、概して我々のインスリン非依存性の遺伝性糖尿病ラット (WBN/Kob) を使用した活動電位変化の in vitro の実験結果<sup>10-12)</sup> とほぼ符合している。また我々が in vivo で観察した遺伝性糖尿病ラットでの心筋収縮速度の減少は<sup>11)</sup>、コンピュータシミュレーションでの細胞内 Ca 濃度の変化からは、うまく説明できないものの、弛緩速度の減少は良く説明できることが明らかになった。心筋細胞のコンピュータシミュレーションにより細胞膜、細胞内で生じている様々なチャネル活動、イオン動態の変化が時間的に定量化され総合的にとらえることが可能と考えられる。

## 引用文献

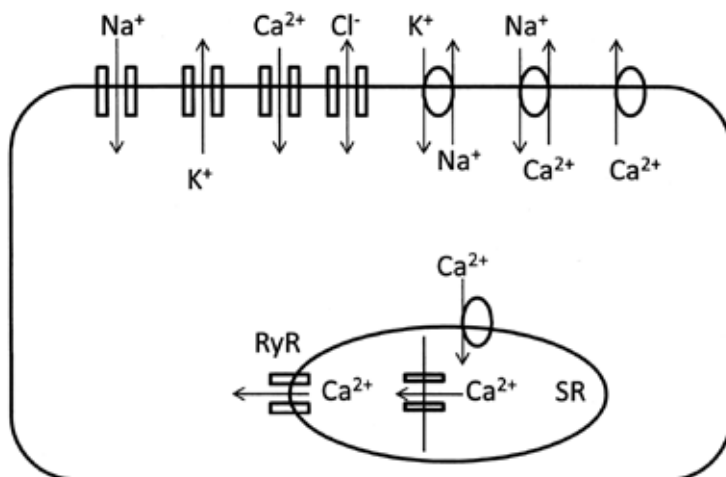
- 1) Hodgkin AL, Huxley AF (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conductance and excitation in nerve. *J Physiol* 117: 500-544.
- 2) Noble D (1960) Cardiac action and pacemaker potentials based on the Hodgkin-Huxley equations. *Nature* 188: 485-497.
- 3) Beeler GW, Reuter H (1977) Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibers. *J Physiol* 268: 177-210.
- 4) Luo CH, Rudy Y (1994) A dynamic model of the cardiac ventricular action potential. I. Stimulation of ionic currents and contraction changes. *Circ Res* 74: 1071-1096.
- 5) Matsuoka S, Sarai N, Kuratomi S, Ono K, Noma A (2003) Role of individual ionic current systems in ventricular cells hypothesized by a model study. *Jap J Physiol* 53: 105-123.
- 6) 皿井伸明、野間昭典 (2007) 不整脈研究の最新動向: Kyoto モデル — 心筋細胞の包括的数理モデル. *医学のあゆみ* 216: 18-24.
- 7) 皿井伸明編 simBio 心筋細胞 (Kyoto モデル) のコンピュータ・シミュレーション 2006年 京都通信社 (京都)
- 8) Matsuoka S, Sarai N, Jo H, Noma A (2004) Simulation of ATP metabolism in cardiac excitation-contraction coupling. *Prog Biophys Mol Bio* 85: 279-299.
- 9) Pandit SV, Clark RC, Giles WR, Demir SS (2001) A mathematical model of action potential heterogeneity in adult rat left ventricular myocytes. *Biophys J* 81: 3029-3051.
- 10) Tsuchida K, Watajima H (1997) Potassium current in ventricular myocytes from genetically diabetic rats. *Am J Physiol* 273: E695-E700.
- 11) Tsuchida K, Watajima H (1994) Calcium current in rat diabetic ventricular myocytes. *Am J Physiol* 267: H2280-H2289.
- 12) 土田勝晴、渡島広 (1997) 遺伝性糖尿病ラット心室筋細胞の膜電流と心機能. *心電図* 17: 322-328.
- 13) Wang DW, Kiyosue T, Shigematsu S, Arita M (1995) Abnormalities of K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> currents in ventricular myocytes from rats with chronic diabetes. *Am J Physiol* 269: H1288-H1296.
- 14) Hattori Y, Matsuda N, Kimura J, Ishitani T, Tamada A, Gando S, Kemmotsu O, Kanno M (2000) Diminished function and expression of the cardiac Na<sup>+</sup>-

- 
- Ca<sup>2+</sup> exchanger in diabetic rats: implication in Ca<sup>2+</sup> overload. *J Physiol* 527: 85–94.
- 15) Shimoni Y, Ewart HS, Severson D (1998) Type I and II models of diabetes produce different modifications of K<sup>+</sup> currents in rat heart: role of insulin. *J Physiol* 507: 485–496.
- 16) Pandit SV, Giles WR, Demir SS (2003) A mathematical model of the electrophysiological alterations in rat ventricular myocytes in type-I diabetes. *Biophys J* 84: 832–841.
- 17) Weisser-Thomas J, Nguyen Q, Schuettel M, Thomas D, Dreiner U, Grohe C, Meyer R (2007) Age and hypertrophy related changes in contractile post-rest behavior and action potential properties in isolated rat. *Age* 29: 205–217.

## 謝 辞

本研究は同志社女子大学2011年度研究助成金を用いて実施された。





Na<sup>+</sup>チャネル( $I_{Na}$ )、K<sup>+</sup>チャネル( $I_{to}$ ,  $I_{Kss}$ ,  $I_{K1}$ )、Ca<sup>2+</sup>チャネル( $I_{CaL}$ )  
 Cl<sup>-</sup>チャネル( $I_{Cl}$ )、Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ポンプ( $I_{NaK}$ )、Na<sup>+</sup>Ca<sup>2+</sup>交換( $I_{NaCa}$ )  
 Ca<sup>2+</sup>ポンプ( $I_{CaP}$ ; 筋細胞膜上、筋小胞体SR膜上)、リアノジン受容体(RyR)

図 1. 心筋細胞の細胞膜イオン動態モデル。

主要な略語の説明：

$I_{CaL}$  : L 型 Ca 電流、 $I_{to}$  : 一過性外向き K 電流、 $I_{Na}$  : Na 電流、 $I_{Kss}$  : ステディーステイト外向き K 電流、 $I_{K1}$  : 内向き整流 K 電流、 $I_{NaK}$  : Na,K ポンプ電流、 $I_B$  : バックグラウンド電流、 $I_{NaCa}$  : Na,Ca 交換電流、 $I_{CaP}$  : 筋細胞膜 Ca ポンプ電流、 $Ca_i$  : 細胞内 Ca 濃度

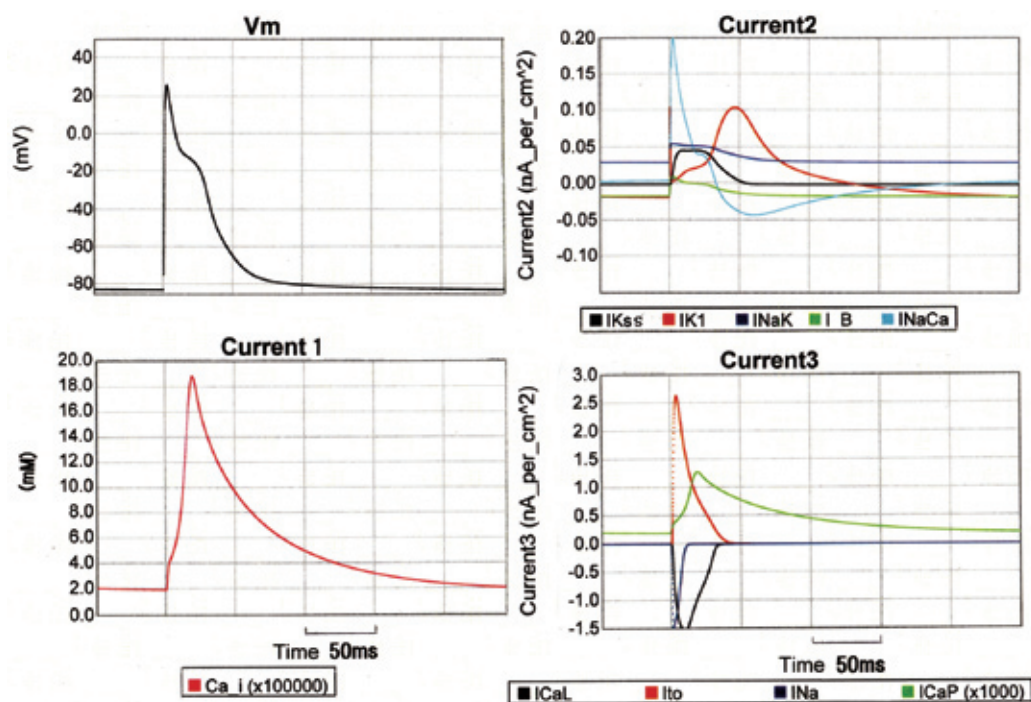


図 2. 正常ラット心室筋細胞。

正常心室筋細胞モデルで、3.33Hz 刺激時の活動電位を  $V_m$  (mV)、細胞内 Ca 濃度を Current 1 (mM)、各種イオン電流を Current 2, 3 (nA/cm<sup>2</sup>) に示す。Current の縮尺は x 数値で補正を行っている。

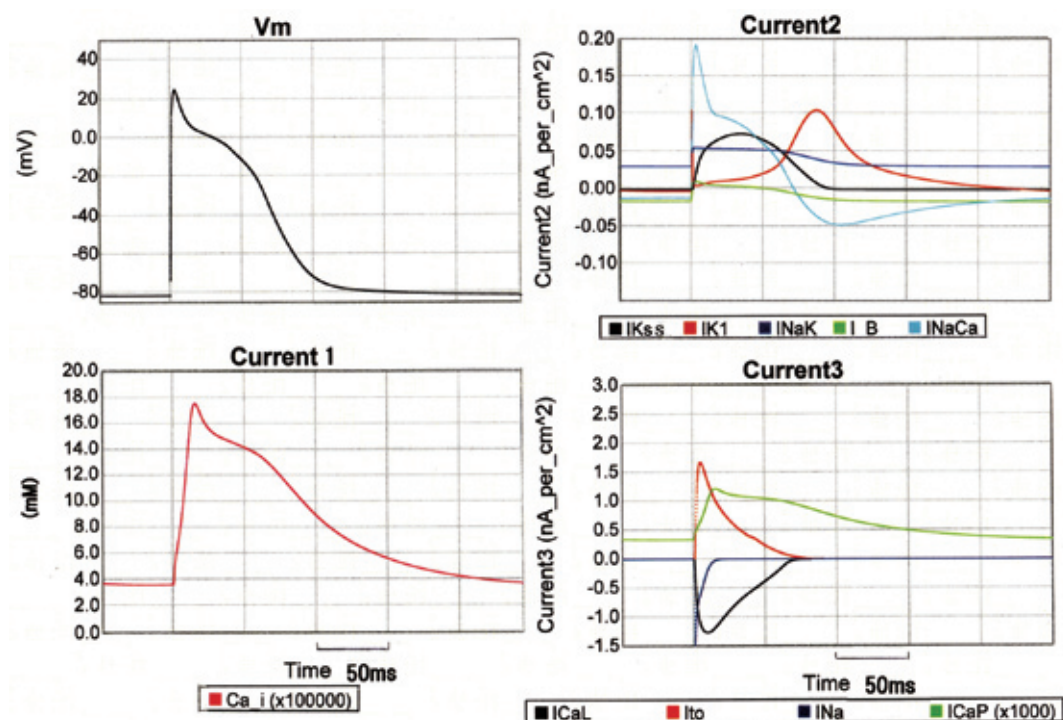


図3. Ito40%減少時のラット心室筋細胞。

正常心室筋細胞モデルで、Ito のコンダクタンスを40%減少させた際の3.33Hz 刺激時の活動電位を Vm (mV)、細胞内 Ca 濃度を Current 1 (mM)、各種イオン電流を Current 2, 3 (nA/cm<sup>2</sup>) に示す。Current の縮尺は x 数値で補正を行っている。

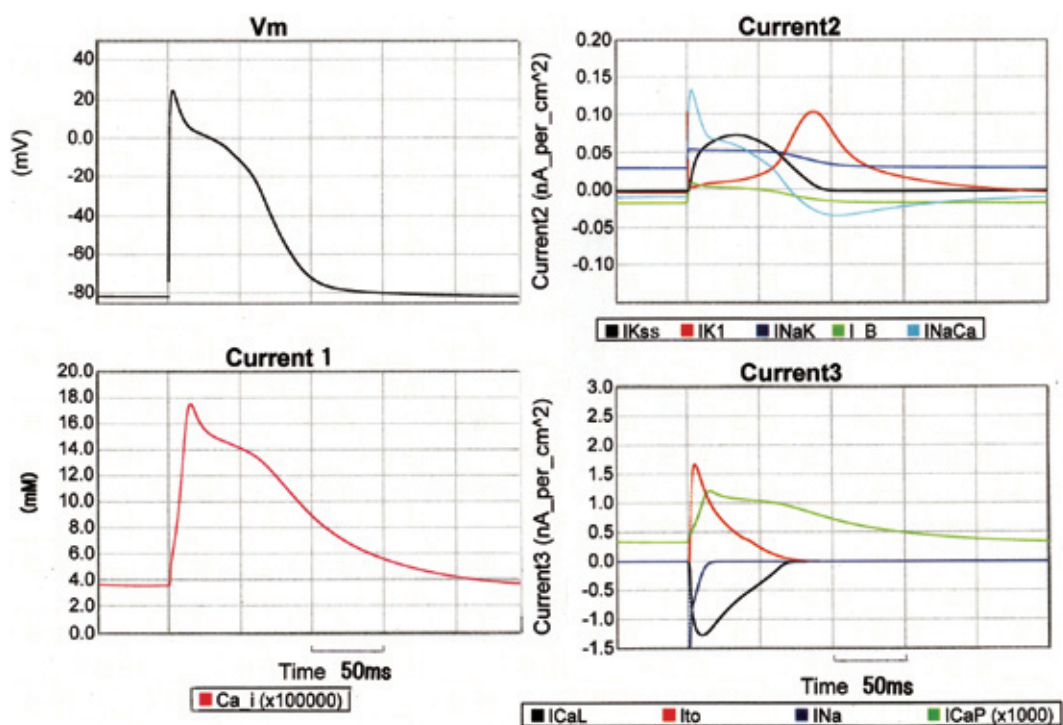


図4. Ito40%、INaCa30%減少時のラット心室筋細胞。

正常心室筋細胞モデルで、Ito を40%減少させ、さらに INaCa を30%減少させた際の3.33Hz 刺激時の活動電位を Vm (mV)、細胞内 Ca 濃度を Current 1 (mM)、各種イオン電流を Current 2, 3 (nA/cm<sup>2</sup>) に示す。Current の縮尺は x 数値で補正を行っている。

## Appendix

Model20110901model\_full

```

/*
 * Created on 20110223:
 */
package org.simBio.bio.RatLeftVentricularMyocytes;

import org.simBio.core.Node;
import org.simBio.core.Reactor;

public class Model20110901model_full extends Reactor {

    //
    public Node Na_i;
    double Na_i;

    public Node INaCa;

    public Node Ca_i;

    public Node K_i;
    public double Ko = 5.4;

    public Node E;
    public Node Istim;
    public Node ICaL;
    public Node IKs;
    public Node IKa;
    public Node INa;
    public Node I_B;
    public Node IK;
    public Node IBNa;
    public Node IBCa;
    public Node IK1;

    double E_CaL = 65.0;
    double TCa_inact = 0.009;
    public double d_d;
    public double f11_f;
    public double f12_f;
    double Td;
    double Tf11;
    double Tf12;
    double Ca_sa;
    double Ca_inact_c;
    public Node dd;
    public Node f11;
    public Node f12;
    public Node Ca_inact;
    public Node Cadd;

    double g_CaL = 0.031;
    double ICaL;
    double F = 96487.0;
    double R = 8314.0;
    double Temperature = 298.0;
    double Cao = 1.2;
    double Nao = 140.0;
    double Capacitance = 100E-6;
    double GBNa = 8.015E-5;
    double GBCa = 3.24E-5;

    // IKaK
    double INaKmax = 0.08;
    double KNaK = 1.5;
    double KNaKs = 10.0;
    double dNaCa = 0.0001;
    double INaCa = 0.9984E-5;

    public Node Tac;
    public Node Thi;
    public Node Tj;
    public Node Na_m;
    public Node Na_h;
    public Node Na_j;
    public Node Na_m_;
    public Node Na_h_;
    public Node Na_j_;
    public Node rsc;
    public Node Ssc;
    public Node rr;
    public Node ss;
    public Node Sslow;
    public Node Ito;
    public Node INaK;
    public double rr_;
    public double ss_;
    public double Sslow_;
    public Node Tr;

    public Node Ta;
    public Node TSslow;
    double Ito_a = 0.886;
    double Ito_b = 0.114;
    double gt = 0.035;
    double Ito;
    double gK1 = 0.024;
    public double period = 1;
    double pulsewidth = 0.003;
    double offset = 0.05;
    double threshold = -3.0;
    double period52 = 0.5;
    double tchange = -1.0;
    public Node ICaP;

    public Node Cact;
    public Node CaJSE;
    public Node CaJSE;
    public Node y;

    double RTONF = (R * Temperature) / F;
    public Node d;
    public Node f;

    public Node f2;
    public Node f2ds;
    public Node Caup;

    public Node FrAct;
    public Node FrPred;
    public Node Carell;
    public Node CaCalmod;
    public Node CaTrop;

    protected void calculate(double t) {
        double Ca_i_ = Ca_i.getValue();
        double CaCalmod_ = CaCalmod.getValue();
        double Calmod = 0.02;
        double aCalmod = 100000.0;
        double bCalmod = 50.0;
        double dCaCalmod = (Calmod - CaCalmod_) * aCalmod * Ca_i_ - CaCalmod_ * bCalmod;
        double Trop = 0.05;
        double aTrop = 100000.0;
        double bTrop = 200.0;
        double dCaTrop = CaTrop.getValue();
        double dCaTrop = (Trop - CaTrop_) * aTrop * Ca_i_ - CaTrop_ * bTrop;

        double E_ = E.getValue();
        double E_CaL = 65.0;
        double EKs = R * Temperature / F * Math.log(Nao / Na_i.getValue());
        double EK = R * Temperature / F * Math.log(Cao / K_i.getValue());
        double rsc_ = 1 / (1 + Math.exp((E_ + 11.5) / (-11.82)));
        double Ssc_ = 1 / (1 + Math.exp((E_ + 37.5) / 5.884));
        double Trsc = 10.0 / (45.16 * Math.exp(0.03577 * (E_ + 50.0)) + 98.9 * Math.exp(-0.1 * (E_ + 38.0)));
        double TSsc = 2.1;
        rsc.addDydt((rsc_ - rsc.getValue()) / Trsc);
        Ssc.addDydt((Ssc_ - Ssc.getValue()) / TSsc);
        double gas = 0.007;
        double IKs = gas * rsc.getValue() * Ssc.getValue() * (E_ - EK);
        IKs.setValue(IKs);

        double GBK = 0.000138;
        IKK.setValue(GBK * (E_ - EK));

        double IK1 = ((48.0 / (Math.exp((E_ + 37.0) / 25.0) + Math.exp((E_ + 37.0) / -25.0)) + 10) * 0.0008 / (1 + Math.exp((E_ - EK - 75.77) / -17.0))) + gK1 * (E_ - EK - 1.73) / ((1 + Math.exp(1.613 * F * (E_ - EK - 1.73) / (R * Temperature)))) * (1 + Math.exp((30 - 0.9988) / -0.124)));

        IK1.setValue(IK1);

        double rr_ = 1.0 / (1 + Math.exp((E_ + 10.0) / -11.42));
        double ss_ = 1.0 / (1 + Math.exp((E_ + 45.2) / 5.884));
        double Sslow_ = 1.0 / (1 + Math.exp((E_ + 45.2) / 5.884));
        Tr.setValue(1.0 / (45.16 * Math.exp(0.03577 * (E_ + 50.0)) + 98.9 * Math.exp(-0.1 * (E_ + 38.0))));
        Tj.setValue(0.35 * Math.exp(-(E_ + 70.0) / 15.0) * (E_ + 70.0 / 15.0) + 0.035);
        TSslow.setValue(3.7 * Math.exp(-(E_ + 70.0) / 30.0) * (E_ + 70.0 / 30.0) + 0.035);

        rr.addDydt((rr_ - rr.getValue()) / Tr.getValue());
        ss.addDydt((ss_ - ss.getValue()) / Ts.getValue());
        Sslow.addDydt((Sslow_ - Sslow.getValue()) / TSslow.getValue());

        Ito_a = 0.886;
        Ito_b = 0.114;
        gt = 0.035;
        Ito = gt * rr.getValue() * (Ito_a * ss.getValue() + Ito_b * Sslow.getValue()) * (E_ - EK);
        Ito.setValue(Ito);

        Na_m_.setValue(1 / (1 + Math.exp((E_.getValue() + 45) / (-6.5))));
        Na_h_.setValue(1 / (1 + Math.exp((E_.getValue() + 78.1) / 6.07)));
        Na_j_.setValue(1 / (1 + Math.exp((E_.getValue() + 78.1) / 6.07)));
        EKs = R * Temperature / F * Math.log(Nao / Na_i.getValue());
        double gNaK = 8.8;
        INaK.setValue(0.00126 * ((0.32 * (E_ + 47.13) / (1.0 - Math.exp(-0.1 * (E_ + 47.13)))) + 0.08 * Math.exp(E_ / 11.0)));

        Th.setValue((E_ >= -40.0) ? (0.0004537 * (1.0 + Math.exp((E_ + 10.66) / 11.1))) : 0.00349 / (0.135 * Math.exp((E_ + 80.0) / 6.8) + 3.56 * Math.exp(0.075 * E_) + 3.1 * Math.pow(10, 5) * Math.exp(-0.35 * E_)));

        Tj.setValue((E_ >= -40.0) ? (0.01163 * (1.0 + Math.exp(-0.1 * (E_ + 32.0)))) : Math.exp(-2.535 * Math.pow(10, -7) * E_) * 0.00348 / (E_ + 37.78) / (1.0 + Math.exp(0.311 * (E_ + 79.23))) * (-127140 * Math.exp(0.2444 * E_) - 3.474 * Math.pow(10, -5) * Math.exp(-0.04391 * E_)) * Math.exp(-0.01052 * E_) / (1.0 + Math.exp(-0.1378 * (E_ +

```



```
double iNaCa = Math.exp(((gamma - E) / RTDEF)) * NaI3 * Cao;
double iNaCa2 = Math.exp(((gamma - 1.0) * E) / RTDEF) * NaO2 * CaO2 +
    double iNaCa3 = 1.0 + dNaCa * (NaO2 * CaI_ + NaI3 * Cao);

double FrIiNaCa = 0.0010;
double conditionIiNaCaFactor = 1.0;
double iNaCaFactor = conditionIiNaCaFactor;

double iNaCaoyt = (((((1.0 - FrIiNaCa) * iNaCa + ((iNaCa1 - iNaCa2) / iNaCa3) / (1.0 + (CaI_
+ iNaCaFactor:
double prelength = 0.074;
double radius = 0.012;

double pi = 3.14159265358979;
double v = pi * prelength * Math.pow(radius, 2);

double vi = 0.49 * v;
double frvds = 0.1;
double kdecay = 10.0;
double Kkeya = 3.0E-4;
double Kacs = 0.4;
double Karca = 0.5;
double KI = Kkeya * Kacs / Karca;
double Cao_ = Cao; getVatue();

double KZ = CaI_ + (Cao_ * KI) * (Kkeya * Kacs) + Kkeya;

double FrBack = Cao_ * KI / KZ;
double FrUp = (CaI_ / KZ);
double aup = 0.4;
double buo = 0.03;
double conditionSURCAFactor = 1.0;
double iupfactor = conditionSURCAFactor;
double iuo = (FrUp * aup - FrBack * buo) * iupfactor;
double vuop = 0.01 * v;
double FrAct = FrAct.getVatue();
double FrProd_ = FrProd.getVatue();
double FrPrec = 1.0 - (FrAct_ + FrProd_);
double KYDep = 0.0;
double VoIDep = Math.exp(0.08 * (E - 40.0));
double XRegInd = 500.0;
double KmCaOyt = 5.0E-4;
double KmCads = 0.01;
double CaIReg = (CaI_ / (CaI_ + KmCaOyt));
double CadsReg = (Cads_ / (Cads_ + KmCads));

double RegInd = CaIReg + (1.0 - CaIReg) * CadsReg;
double ActRate = KYDep * VoIDep * XRegInd * Math.pow(RegInd, 2);

double Kinact = 60.0;
double InactRate = Kinact * XRegInd * Math.pow(RegInd, 2);
double speedrel = (Q_ < (-50.0)) ? 5.0 : 5.0;
FrAct.addDydt(FrAct * speedrel * ActRate - FrAct_ * speedrel
+ InactRate);

double NFrrProd = 1.0;
FrProd.addDydt(FrAct * speedrel + InactRate - speedrel * NFrrProd
+ FrProd_);

double Kofract = 0.25;
double Kaffil = 250.0;
double LeakRate = 0.05;
double FrOpenRel = Math.pow((FrAct_ / (FrAct_ + Kofract)), 2);
double Carel_ = Carel.getVatue();
double atr = 90.0;
double irel = (FrOpenRel * Kaffil + LeakRate) * Carel_;
CaCalmod.addDydt(dCaCalmod);

double itr = atr * (Cao_ - Carel_);
double vrel = 0.1 * v;
Carel.addDydt(itr * (vap / vrel) - irel);

Cao_.addDydt(iuo * (vi / vup) - itr);
CaIOP_.addDydt(CaIOP);

Ca_i_.addDydt((((iNaCaoyt + iNaCa.getVatue() + 2.0 * (iNaCa3) / (-2.0 * vi * F))
+ (Cads_ * frvds * kdecay - (-iup)) + (irel * (vrel / vi)))
+ (-dCaCalmod + CaIOP)));

Ca_i_.addDydt(beta)*((Jaffer.getVatue()-Jup.getVatue()-itprn.getVatue()-
iNaCa.getVatue()-2*iNaCa.getVatue()+iCap.getVatue())+1.0/(2*WeynonF)));

double onset = 0.049;
double offset = 0.05;
double interval = 0.3;
double amplitude = -10.0;

double t1 = t % interval;
double istim = (onset < t1) && (t1 < offset) ? amplitude : 0.0;
setVatue(Istim);
Istim.setVatue(Istim);

I_B_.setVatue((iBa + iBaCa.getVatue() + iBk.getVatue());

E.addDydt((-iNaCa + iCa + iTo + iXs + iFX + iFNs
+ iKI + I_B_.getVatue() + iNaK + iNaCa
+ iCaP
+ iStim
)/ Capacitance));
```

```

<?sim.xml version="2.0"?>
- <conductor name="simulation" initial_value="0.0">
  <parameter name="duration" initial_value="0.3" units="sec" />
  <parameter name="dtMin" initial_value="0.00001" units="s" />
  <parameter name="dtMax" initial_value="0.0001" units="s" />
  <parameter name="adjustDYoverY" initial_value="0.1" units="dimensionless" />
  <parameter name="elapsedTime" initial_value="0" units="ms" />
  <parameter name="timeStep" initial_value="0" units="ms" />
- <Model name="model">
  className="org.simBio.bio.RatLeftVentricularMyocytes.Model20110901model_full"
  <variable name="Ca_i" initial_value="1.578708E-3" units="mM" />
  <variable name="Na_i" initial_value="1.673519E+1" units="mM" />
  <variable name="INaCa" units="pA_per_cm^2" />
  <variable name="K_i" initial_value="1.392751E+2" units="mM" />
  <!-- <variable name="E" initial_value="-8.050146E+1" units="mV" /> -->
  <variable name="E" initial_value="-75" units="mV" />
  <parameter name="Ko" initial_value="5.4" units="mM" />
  <variable name="Tm" units="" />
  <variable name="Th" units="" />
  <variable name="Tj" units="" />
  <variable name="Na_m" initial_value="4.164108E-3" units="mM" />
  <variable name="Na_h" initial_value="6.735613E-1" units="mM" />
  <variable name="Na_j" initial_value="6.729362E-1" units="mM" />
  <variable name="Na_m_" units="mM" />
  <variable name="Na_h_" units="mM" />
  <variable name="Na_j_" units="mM" />
  <variable name="INa" units="nA_per_cm^2" />
  <variable name="INaK" units="pA_per_cm^2" />
  <variable name="dd" initial_value="2.171081E-06" units="" />
  <variable name="f11" initial_value="9.999529E-1" units="" />
  <variable name="f12" initial_value="9.999529E-1" units="" />
  <variable name="Ca_inact" initial_value="9.913102E-1" units="" />
  <variable name="rss" initial_value="2.907171E-3" units="" />
  <variable name="Sss" initial_value="3.142767E-1" units="" />
  <variable name="IK1" units="pA_per_cm^2" />
  <variable name="rr" initial_value="1.91519E-3" units="" />
  <variable name="ss" initial_value="9.842542E-1" units="" />
  <variable name="Sslow" initial_value="6.421196E-1" units="" />
  <variable name="Tr" units="" />
  <variable name="Ts" units="" />
  <variable name="TSslow" units="" />
  <variable name="Ito" units="nA_per_cm^2" />
  <variable name="Cass" initial_value="8.737112E-5" units="mM" />
  <variable name="CaSR" initial_value="6.607948E-2" units="mM" />
  <variable name="CaNSR" initial_value="6.600742E-2" units="mM" />
  <variable name="y" initial_value="3.578708E-3" units="" />
  <variable name="HTRPNCa" units="" />
  <variable name="LTRPNCa" units="" />
  <variable name="PC1" initial_value="6.348229E-1" units="" />
  <variable name="Po1" initial_value="4.327548E-4" units="" />
  <variable name="Po2" initial_value="6.062540E-10" units="" />
  <variable name="PC2" initial_value="3.647471E-1" units="" />
  <variable name="TSslow" initial_value="0.0" units="" />
  <variable name="INa" units="nA_per_cm^2" />
  <variable name="ICal" units="nA_per_cm^2" />
  <variable name="IKs" units="pA_per_cm^2" />
  <parameter name="Tension" units="" />
  <parameter name="Istim" units="mV" />

  <parameter name="target 1 scale" initial_value="1.0" />
  <parameter name="target 2 scale" initial_value="100.0" />
  <parameter name="target 3 scale" initial_value="1.0" />
  <parameter name="target 4 scale" initial_value="10.0" />
  <parameter name="target 5 scale" initial_value="1.0" />
- <axisY name="Current2" units="nA_per_cm^2">
  <parameter name="min" initial_value="-0.15" />
  <parameter name="max" initial_value="0.2" />
  <component name="pattern" initial_value="0.00#" />
  <parameter name="origin" initial_value="1000.0" />
  <parameter name="length" initial_value="8000.0" />
</axisY>
- <axisX name="Time" units="s">
  <link name="min" initial_value=".../min" />
  <link name="max" initial_value=".../max" />
  <parameter name="origin" initial_value="17000.0" />
  <parameter name="length" initial_value="12000.0" />
  <component name="does plot label" initial_value="false" />
</axisX>
</graph>
- <graph name="Current3">
  <link name="target 1" initial_value="model/ICal" />
  <link name="target 2" initial_value="model/Ito" />
  <link name="target 3" initial_value="model/INa" />
  <link name="target 4" initial_value="model/ICaP" />
  <parameter name="target 1 scale" initial_value="1.0" />
  <parameter name="target 2 scale" initial_value="1.0" />
  <parameter name="target 3 scale" initial_value="1.0" />
  <parameter name="target 4 scale" initial_value="1000.0" />
  <!-- <parameter name="target 7 scale" initial_value="10.0" />
  <parameter name="target 8 scale" initial_value="1000.0" /> -->
- <axisY name="Current3" units="nA_per_cm^2">
  <parameter name="min" initial_value="-1.5" />
  <parameter name="max" initial_value="3.0" />
  <component name="pattern" initial_value="0.00#" />
  <parameter name="origin" initial_value="11000.0" />
  <parameter name="length" initial_value="8000.0" />
</axisY>
- <axisX name="Time" units="s">
  <link name="min" initial_value=".../min" />
  <link name="max" initial_value=".../max" />
  <parameter name="origin" initial_value="17000.0" />
  <parameter name="length" initial_value="12000.0" />
</axisX>
</graph>
</graphPage>
- <stopWatch name="stop watch" initial_value="0.0" units="real/virtual">
  className="org.simBio.sim.analyzer.StopWatch"
  <parameter name="totalTime" initial_value="0" units="msec" />
  <parameter name="lapTime" initial_value="0" units="msec/calc" />
  <link name="elapsedTime" initial_value="elapsedTime" />
</stopWatch>
</conductor>

<parameter name="I_B" units="pA_per_cm^2" />
<parameter name="IBNa" initial_value="0.005" units="pA_per_cm^2" />
<parameter name="IBCa" initial_value="0.001" units="pA_per_cm^2" />
<parameter name="IBK" initial_value="0.015" units="pA_per_cm^2" />
<variable name="ICaP" units="nA_per_cm^2" />
<parameter name="period" initial_value="1" units="s" />
</Model>
- <graphPage name="page" initial_value="0.0">
  className="org.simBio.sim.analyzer.graph.Viewer"
  <parameter name="min" initial_value="0.0" />
  <parameter name="max" initial_value="0.3" />
  <parameter name="interval" initial_value="0.0" units="s" />
  <parameter name="referenceWidth" initial_value="29700.0" />
  <parameter name="referenceHeight" initial_value="21000.0" />
  <parameter name="titleSize" initial_value="16.0" units="pt" />
  <parameter name="legendSize" initial_value="12.0" units="pt" />
  <parameter name="axisSize" initial_value="14.0" units="pt" />
  <parameter name="labelSize" initial_value="12.0" units="pt" />
- <graph name="Vm" className="org.simBio.sim.analyzer.graph.Graph">
  <link name="target 1" initial_value="model/E" />
  <link name="interval" initial_value=".../Interval" />
- <axisY name="Vm" units="mV" className="org.simBio.sim.analyzer.graph.AxisY">
  <parameter name="origin" initial_value="1000.0" />
  <parameter name="length" initial_value="8000.0" />
  <parameter name="min" initial_value="-85.0" />
  <parameter name="max" initial_value="50.0" />
</axisY>
- <axisX name="Time" units="s" className="org.simBio.sim.analyzer.graph.AxisX">
  <link name="min" initial_value=".../min" />
  <link name="max" initial_value=".../max" />
  <parameter name="origin" initial_value="2500.0" />
  <parameter name="length" initial_value="12000.0" />
  <component name="does plot label" initial_value="false" />
</axisX>
</graph>
- <graph name="Stim">
  <link name="target 1" initial_value="model/Istim" />
  <parameter name="target 1 scale" initial_value="1.0" />
- <axisY name="Stim" units="">
  <parameter name="min" initial_value="-15" />
  <parameter name="max" initial_value="4" />
  <component name="pattern" initial_value="0.00#" />
  <parameter name="origin" initial_value="11000.0" />
  <parameter name="length" initial_value="8000.0" />
</axisY>
- <axisX name="Time" units="s">
  <link name="min" initial_value=".../min" />
  <link name="max" initial_value=".../max" />
  <parameter name="origin" initial_value="2500.0" />
  <parameter name="length" initial_value="12000.0" />
  <component name="does plot label" initial_value="true" />
</axisX>
</graph>
- <graph name="Current2">
  <link name="target 1" initial_value="model/IKs" />
  <link name="target 2" initial_value="model/IK1" />
  <link name="target 3" initial_value="model/INaK" />
  <link name="target 4" initial_value="model/I_B" />
  <link name="target 5" initial_value="model/INaCa" />

```