

다형 심실빈맥의 예측을 위한 $dV_m/dt_{\text{Max_repol}}$ 의 이온채널 전도도에 대한 민감도 분석

정다운¹ · 유예담¹ · Aroli Marcellinus¹ · 임기무^{1,2*}

¹IT융복합공학과 금오공과대학교, ²메디컬IT융합공학과 금오공과대학교

Sensitivity Analysis of $dV_m/dt_{\text{Max_repol}}$ to Ion Channel Conductance for Prediction of Torsades de Pointes Risk

Da Un Jeong¹, Yedam Yoo¹, Aroli Marcellinus¹ and Ki Moo Lim^{1,2*}

¹Department of IT Convergence Engineering, Kumoh National Institute of Technology,

²Department of Medical IT Convergence Engineering, Kumoh National Institute of Technology

(Manuscript received 29 August 2022 ; revised 13 October 2022 ; accepted 20 October 2022)

Abstract: Early afterdepolarization (EAD), a significant cause of fatal ventricular arrhythmias including Torsade de Pointes (TdP) in long QT syndromes, is a depolarizing afterpotential at the plateau or repolarization phase in action potential (AP) profile early before completing one pace. AP duration prolongation is related to EAD but is not necessarily accounted for EAD. Several computational studies suggested EAD can form from an abnormality in the late plateau and/or repolarization phase of AP shape. In this sense, we hypothesized the slope during repolarization has the characteristics to predict TdP risk, mainly focusing on the maximum slope during repolarization ($dV_m/dt_{\text{max_repol}}$). This study aimed to predict the sensitivity of $dV_m/dt_{\text{max_repol}}$ to ion channel conductances as a TdP risk metric through a population simulation considering multiple effects of simultaneous reduction in six ion channel conductances of g_{NaL} , g_{Kd} , g_{Ks} , g_{to} , g_{K1} , and g_{CaL} . Additionally, we verified the availability of $dV_m/dt_{\text{max_repol}}$ for TdP risk prediction through the correlation analysis with qNet, the representative TdP metric. We performed the population simulations based on the methodology of Gemmel et al. using the human ventricular myocyte model of Dutta et al. Among the six-ion channel conductances, $dV_m/dt_{\text{max_repol}}$ and qNet responded most sensitively to the change in g_{Kd} , followed by g_{NaL} . Furthermore, $dV_m/dt_{\text{max_repol}}$ showed a statistically significant high negative correlation with qNet. The $dV_m/dt_{\text{max_repol}}$ values were significantly different according to three TdP risk levels of high, intermediate, and low by qNet ($p < 0.001$). In conclusion, we suggested $dV_m/dt_{\text{max_repol}}$ as a new biomarker metric for TdP risk assessment.

Key words: $dV_m/dt_{\text{max_repol}}$, Torsades de Pointes (TdP), Population model, Ion channel conductance, Human ventricular cell model

1. 서론

비심장약물임에도 불구하고 심혈관계에 부작용을 발생시키거나 다형 심실빈맥(Torsade de Pointes, TdP)을 유발시킬 수 있는 약물들이 증가함에 따라 의약품국제제화위원회(International Council for Harmonisation Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)는 이러한 약물들이 시장에 유통되기 전 개발단계에서 걸러 내기 위해 2005년에 약물의 심혈관 안정성평가가 지침을 제정하였다[1,2]. 해당 심혈관 안정성평가 지침들은 심전도의 QT

*Corresponding Author : Ki Moo Lim
Kumoh National Institute of Technology, Gumi, Gyeongbuk,
Republic of Korea
Tel: +82-54-478-7780
E-mail: kmlim@kumoh.ac.kr

본 연구는 식품의약품안전처(22213MFDS3922)와 한국연구재단 이공학기초연구사업(2022R1A2C2006326), 과학기술정보통신부 및 정보통신기획평가원의 지역지능화혁신인재양성(Grand ICT연구센터) 사업의 연구결과로 수행되었음(IITP-2022-2020-0-01612).

간격의 연장 여부를 통해 약물의 다형 심실빈맥의 유발 여부를 판단하고 있다. 특히, 비임상 평가 가이드라인인 S7B는 약물에 의한 이온채널의 차단 효과 실험 중 하나인 human ether-à-go-go related gene(hERG) assay를 통해 수집된 Hill 계수와 반수 최대 억제농도(half maximal inhibitory concentration, IC50)를 사용해 QT 간격의 연장 여부를 평가한다[3-5]. hERG assay를 통한 안정성 평가 방법은 고감도로 고위험 약물을 정확하게 분류할 수 있지만, 특이도가 낮아 질병치료를 효과가 있는 무독성 약물도 고위험 약물로 분류될 수 있다[6]. 실제로, verapamil, ranolazine과 같이 QT 간격을 연장시키기는 하지만 다형 심실빈맥은 유발하지 않는 약물들이 기존 가이드라인의 엄격한 규제에 의해 판매가 제한되기도 하였다[7,8]. 기존 비임상 평가 가이드라인의 낮은 특이도는 다형 심실빈맥을 유발하지 않는 약물들도 오판으로 인해 개발이 중단될 수 있어 장기적으로 약물 개발에 부정적인 영향을 미칠 수 있다[2,9-11].

이러한 ICH 가이드라인의 개정을 위해 2013년 US Food and Drug Administration(FDA) 본부에서 주최된 Think-Tank meeting에서 13개의 관련 주요 기관들에 의해 Comprehensive in Vitro Proarrhythmia Assay(CiPA) 프로젝트가 수립되었다[11]. CiPA 프로젝트는 다중 이온 전류에 대한 약물 효과를 확인하기 위한 시험관 내(in vitro) 평가, 약물의 독성 예측을 위한 in silico 컴퓨터 모델링 평가, 제1상 임상 시험에서의 in vitro 심전도(Electrocardiogram, ECG) 바이오마커 평가, 인간 줄기 세포기반 심실 심근세포에 대한 in vitro 약물 영향 평가의 4가지 실무 그룹으로 구성되어 있다. 특히, 단일 막 단백질을 사용하는 패치클램프는 이온 채널간 상호작용의 관찰이 어렵다. 이에 전체 이온 채널이 통합된 환경에서 약물에 대한 심근세포의 반응을 확인할 필요성이 대두되었고 CiPA 프로젝트의 in silico 그룹은 hERG 채널을 기반으로 하던 기존 지침을 다중 이온 채널 기반의 in silico 분석 방법으로 전환할 것을 제안하였다[7,12-15].

이에 FDA에서는 약물에 의해 변화된 hERG 채널의 역학적 특성을 고려할 수 있도록 I_{Kr} 채널의 방정식을 수정한 Ohara Rudy(ORD) 심근세포 모델을 통해 세포 내부로 유입되는 이온 전하량을 정량화 한 in silico 바이오 마커인 qinward를 계산하여 약물의 다형 심실빈맥 유발 위험성을 평가하였다[16,17]. 이후 FDA에서는 해당 ORD 모델에 인간 심근세포를 사용한 실험결과를 바탕으로 약물 반응성을 hERG 채널의 동적 매개변수를 추가하여 전부정맥 위험성 평가를 위해 최적화한 모델(Dutta-ORD)을 사용해 새로운 다형 심실빈맥의 위험성 지표인 qNet을 제안하였다[17]. qNet은 6개의 이온채널을 통해 이동하는 전하들의 변화를 정량화 한 것으로 순서형 로지스틱 회귀분석을 통해 qNet

이 약물의 다형 심실빈맥 유발 위험성을 평가하기에 적합한 바이오 마커임을 보여주었다; qNet이 0.0579 nC/pF 이하이면 다형 심실빈맥의 발생 위험성이 높은 고위험 약물로, 0.0689 nC/pF 이상이면 저위험 약물로 분류된다[6,17].

FDA에서 다형 심실빈맥의 지표로서 제안한 qNet은 많은 선행연구 결과를 통해 in silico 시뮬레이션을 통해 계산되는 바이오 마커인 활동전위를 기반으로 한 특징(활동전위의 탈분극에서 50%와 90% 재분극이 일어나기까지의 기간; APD_{50} , APD_{90} , 활동전위 삼각측량; APD_{tri} , 활동 전위의 최고점, AP_{peak} ; 휴지기에서의 활동전위: $AP_{resting}$)과 과도기 칼슘 농도를 기반으로 한 특징(칼슘 농도 그래프에서 탈분극 발생부터 50%와 90% 재분극까지의 기간, CaD_{50} , CaD_{90} , 칼슘 농도의 삼각측량: CaD_{tri} , 칼슘 농도의 최고점; Ca_{peak} , 이완기에서의 칼슘 농도; $Ca_{diastole}$)보다 약물의 다형 심실빈맥 유발 위험성 분류에서 높은 정확도를 보여주었다[17-19].

앞서 언급한 것과 같이 qNet 외에도 약물의 부정맥 유발 위험성을 예측하기 위해 다양한 in silico 지표들이 제안되었으며, 이온채널들의 변화에 따른 각 지표들의 민감도를 확인한 선행연구들도 있었다[14,18]. 표 1은 약물의 부정맥 유발 위험성을 평가하기 위해 사용되었던 대표적 In-silico 특징들을 보여준다. Passini 등은 인간 기반의 컴퓨터 모델을 통해 I_{Na} , I_{CaL} , I_{Kr} 채널의 다중 차단에 대한 민감도를 APD_{90} 과 비교하여 전기적 수축기와 기계적 수축기의 시간적 차이인 Electromechanical window(EMw)를 다형 심실빈맥의 유발 위험성을 확인하기 위한 지표로써 제안하였다[14]. Parikh 등은 Dutta-ORD 모델을 사용해 심근세포의 다형 심실빈맥 발생 여부 확인을 위해 사용되는 주요 전기생리학적 바이오 마커들(qNet, APD_{90} , APD_{50} , AP_{peak} , $Ca_{diastole}$, Ca_{peak} , CaD_{90} , CaD_{50})의 7개 이온채널(I_{Na} , I_{NaL} , I_{Ks} , I_{K1} , I_{to} , I_{CaL} , I_{Kr}) 및 hERG채널에서의 약물 결합 모델 변수(Ku, Valf)에 대한 민감도 분석을 수행하였다[18]. 이들은 모두 2쌍의 순열로 구성된 가상 모집단을 사용해 각 바이오 마커들에 대한 이온채널의 동시 효과를 성공적으로 관찰하였으나 다중 채널들의 상호적 효과에 대한 바이오 마커들의 변동은 확인하지 못하였다.

긴 QT 증후군에서 다형 심실빈맥을 포함한 치명적인 심실 부정맥의 중요한 원인인 조기 탈분극(early afterdepolarization, EAD)은 심근세포의 활성 주기가 완료되기 전 활동전위의 안정기 또는 재분극 단계에서 초기에 발생하는 탈분극 후 전위를 의미하는 것으로 일반적으로 APD의 연장과 관련이 있지만, APD의 연장이 반드시 초기 탈분극의 유발로 연결되는 것은 아니다. Guo 등은 전산연구를 통해 등락을 반복하는 활동전위에서 발생한 APD의 연장 만이 초기 탈분극을 넘어 다형 심실빈맥을 유발할 수 있음을 밝혔다[20]. 이러한 Guo의 전산 연구를 기반으로 Tomek 등은 활동전

위 형상에서 늦은 고원기 또는 재분극 기간에서 발생한 이상적 특징으로부터 조기 탈분극이 발생하는 것을 확인하였다[21].

이러한 결과를 바탕으로 본 논문에서는 활동전위의 재분극 동안의 기울기가 다형 심실빈맥 유발 위험성을 예측할 수 있는 형상적 특징으로 사용될 수 있을 것이라는 가정하에 약물의 심장독성 평가 위험성을 평가하기 위한 새로운 지표로써 활동전위의 재분극 동안의 최대 기울기(dV_m/dt_{Max_repol})를 제안하였다. 또한, 약물에 의해 변화하는 6개의 주요 이온 채널(I_{NaL} , I_{Kr} , I_{Ks} , I_{to} , I_{K1} , I_{CaL})의 민감도를 다차원 밀도 모델링을 통해 분석하였으며, qNet과의 상관성 분석을 통해 제안하는 새로운 지표인 dV_m/dt_{Max_repol} 의 다형 심실빈맥 유발 위험성 예측 지표로의 가용성을 검증하였다.

II. 연구 방법

1. 인간 심실 세포의 In silico 모델

이온채널에 대한 dV_m/dt_{Max_repol} 의 민감도는 약물에 의한 심근세포의 반응 관찰을 위해 Dutta 등이 최적화한 인간 심실세포의 전기생리학 모델인 Dutta-Ohara Rudy (Dutta-ORD) 모델을 사용하였다[16,17]. Dutta-ORD 모델은 심내막 세포(endocardial cell)의 5개 이온채널 전도도 방정식에 환산 계수(I_{Kr} -1.013, I_{Ks} -1.870, I_{K1} -1.698, I_{CaL} -1.007, I_{NaL} -2.661)를 적용하여 실험 데이터에 대한 in silico 모델의 적합도를 향상시켜 시뮬레이션을 통한 실험 결과의 재현율이 높다[17]. 본 시뮬레이션을 수행하기 전, 어떠한 이온채널의 전도도 변화도 적용되지 않은 조건(control)에서 심근세포가 정상상태(steady-state)에 도달하도록 하기 위해 20,000개의 활동전위를 생성하였으며 안정된 심근세포로부터 이온 채널의 26개 정적 게이트 변수 정보를 저장하고 이를 밀도 모델링 시뮬레이션의 초기 조건으로 사용하였다[17,22].

2. 다차원 밀도 모델링 및 시뮬레이션 프로토콜

본 연구는 qNet의 계산 시 고려되는 Inet 전류에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 의 민감도를 다차원 밀도 모델링 방법을 통해 분석하였으며, Inet 전류로 I_{Kr} , I_{Ks} , I_{K1} , I_{to} , I_{NaL} , I_{CaL} 의 여섯 가지 이온채널들의 전기전도도에 따른 qNet과 dV_m/dt_{Max_repol} 의 분포를 비교하였다. 여기서 다차원 밀도 모델링 시뮬레이션은 Gemmel 등이 제안한 밀도 모델링 방법을 기반으로 하였다[23]. 밀도 모델링 시뮬레이션은 각 이온채널들의 전도도에 환산인자를 곱함으로써 약물에 의해 이온채널 전류가 변화하는 현상을 모사하였으며, 여섯 가지 이온채널들의 전도도가 정상적인 조건(control)에서부터

25% 감소하였을 때, 50% 감소하였을 때, 75% 감소하였을 때에 따른 전체 4,096개의 조합조건에서 qNet과 dV_m/dt_{Max_repol} 의 두 가지 바이오 마커들을 계산하였다. 모든 in silico 시뮬레이션은 서맥(bradycardia) 조건에서 조기탈분극이 발생하는 조건을 확인하기 위해 2,000ms의 자극 주기를 가진 가상 심근 세포를 사용해 수행되었으며, 각 이온채널 조합조건 시 정상상태에 도달하였을 때의 in silico 바이오 마커를 계산하기 위해 1,000회의 활동전위를 생성하였다. 여기서 마지막 250회의 자극에 의해 생성된 활동전위 중에서 재분극 시 기울기가 가장 큰 값을 dV_m/dt_{Max_repol} 지표로 사용하였으며, 재분극 시 기울기가 가장 큰 박동에서 I_{Kr} , I_{Ks} , I_{K1} , I_{to} , I_{NaL} , I_{CaL} 의 I_{Net} 전류들의 총합 계산하여 qNet 지표로 사용하였다[17,22].

$$qNet = \int (I_{NaL} + I_{CaL} + I_{Kr} + I_{Ks} + I_{K1} + I_{to}) dt \quad (1)$$

여섯 가지 이온채널 전도도의 다중 감소에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 의 민감도는 Clutter기반의 다차원 기록방법을 기반으로 표현되었으며 이를 통해 다양한 이온채널 전도도 감소 조합 중에서도 각 이온채널 전도도의 개별적 효과를 쉽게 관찰할 수 있었다[23,24]. 연구에서 사용한 다차원 기전도도 비율에 따라 계산된 바이오마커 값들을 각 이온채널 전도도의 영향에 따라 배열하여 2차원의 컨투어 맵 형태로 시각화 하는 것으로 다음과 같은 단계를 갖는다(그림 1). ‘차원적층’ 과정은 크게 3가지 단계로 나뉜다. 1) 6개의 이온 채널 중 2개의 이온채널을 무작위로 선택하여 각각 x축과 y축에 할당한다. 그리고 선택되지 않은 나머지 4개의 이온채널 전도도에 변화가 없는 상태에서 선택된 2가지 이온채널 전도도변화에 따른 In-silico 바이오마커 값의 2차원 프로파일 지도를 작성한다. 예를 들어, 무작위로 선택된 이온채널 전도도가 g_{Ks} 와 g_{Kr} 이면, 나머지 4개의 이온채널 전도도(g_{K1} , g_{to} , g_{NaL} , g_{CaL})의 변화가 없는 조건에서 g_{Ks} 와 g_{Kr} 이 정상 범위에서 25%, 50%, 75% 감소함에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 과 qNet의 분포를 2차원 프로파일 맵으로 표현한다. 2) 이후, 나머지 4개의 이온채널 전도도에서 무작위로 2개의 이온채널 전도도를 선택하고 x축과 y축에 할당하여 In-silico 바이오마커 값을 2차원 맵으로 표현한다. 3) 이러한 과정을 마지막 2개의 이온채널 전도도까지 반복하여 다차원 데이터를 2차원 프로파일 지도를 통해 가시화한다.

작성된 2차원 형태의 다차원 적층 지도는 x 축과 y축에 여섯개의 이온채널 전도도가 무작위 순서로 나열되어 있어, 지도의 각 이온채널 전도도의 눈금 크기 또한 무작위로 설정되어 있다. 따라서, In-silico 바이오마커 값에 미치는 영향력과 눈금의 크기가 비례할 수 있도록 최적화 과정을 통해 이온채널전도도의 순서를 재배열하였다. 2차원 형태의 다차원 적층 지도는 이미지 처리 시 인접한 픽셀 간 절대

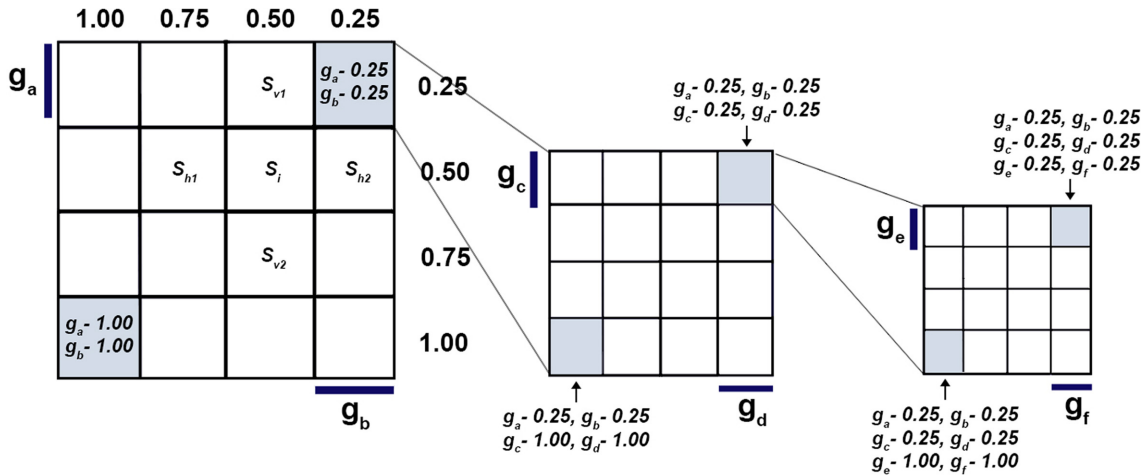


그림 1. 차원 적층을 통한 밀도모델링의 시각화 방법; $g_{\#}$, 6개 이온채널의 전기전도도
 Fig. 1. Visualization method of population modeling using a dimensional stacking; $g_{\#}$, conductance of 6 ion channels

차이의 총합을 계산하여 특정 윈도우 내의 상관도(유사도)를 평가하는 영역기반 정합 방법을 기반으로 최적화하였다[23-25]. 이를 위해 여섯 가지 이온채널 전도도를 x축과 y축에 나열할 수 있는 360개의 순서조합($6!/2$; x축과 y축 배열이 대칭적으로 동일함) 중에서 특정 지점 주변에 인접한 4개 지점과의 절대오차의 총합이 최소가 되는 순서조합을 최적화 배열로 선택하여 재배치하였다(식 (2))[24,26].

$$\text{optimization map} = \text{minimum} \left\{ \sum_{i=1}^{\text{all scenarios}} (|s_{h1}-s_i|+|s_{v1}-s_i|+|s_{h2}-s_i|+|s_{v2}-s_i|) \right\} \quad (2)$$

여기서 s_{h1} , s_{v1} , s_{h2} , s_{v2} 는 특정한 이온채널 전도도 조합 (s_i) 조건에서 계산된 지표 값에 중형방향으로 인접한 지표 값을 의미한다(그림 1). 이러한 최적화 최적화 과정을 통해 dVm/dt_{Max_repol} 지표에 미치는 영향력이 큰 이온채널의 전도도가 제일 바깥의 가장 큰 눈금(g_a , g_b)에, 영향력이 작은 이온채널 전도도가 제일 안쪽의 가장 작은 눈금(g_e , g_f)에 오도록 재배열하였다. 본 연구에서는 여섯 가지 이온채널의 전도도 변화에 따른 dVm/dt_{Max_repol} 의 민감도를 비롯해 다형 심실빈맥 유발 위험성 지표로의 사용가능성을 검증하기 위해 qNet의 밀도 모델링 맵과 비교하였다.

3. dVm/dt_{Max_repol} 지표의 검증 및 상관성 분석

dVm/dt_{Max_repol} 의 다형 심실빈맥 유발 위험도에 따른 차이를 확인하기 위해 qNet에 의해 나뉘어진 다형 심실빈맥 유발 위험도 dVm/dt_{Max_repol} 의 차이를 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)을 통해 통계적으로 확인하였으며, qNet과의 상관성 분석을 통해 계산된 Pearson 상관계수를 통해 다형 심실빈맥 유발 위험성 지표로의 사용가능성을 확인하였다. 또한, 단일 회귀 분석을 기반으로 여섯 개의 이온채

널 전도도를 독립변수로 두 가지 in silico 바이오마커들을 종속 변수로 설정하여 각 이온채널이 미치는 개별적 영향을 확인하였다.

III. 연구 결과

그림 2는 차원 적층을 통해 시각화된 dVm/dt_{Max_repol} 과 qNet의 여섯 가지 이온채널 전도도에 따른 밀도 모델링 시뮬레이션 결과를 맵을 보여준다. 활동전위의 재분극 시 기울기는 APD의 연장여부에 따라 증가하며 조기탈분극이 발생한 경우 dVm/dt_{Max_repol} 은 양의 값을 가지게 된다. 하지만, 본 연구의 밀도 모델링 시뮬레이션을 통한 이온채널 전도도 조합 조건에서는 조기탈분극이 발생하지 않아 dVm/dt_{Max_repol} 지표는 모두 음의 값을 가졌다. dVm/dt_{Max_repol} 의 차원 적층 맵은 왼쪽 상단에서 오른쪽 하단으로 갈수록 지표 값이 작아지는 것을 보여주었다. qNet은 dVm/dt_{Max_repol} 과 반비례하였으며 차원 적층 맵의 왼쪽 상단에서 오른쪽 하단으로 갈수록 qNet이 증가하였다. 이러한 결과는 그림 3의 산점도와 상관성 분석에서도 동일하게 나타났으며 여섯 가지 이온채널 전도도 변화에 대한 각 바이오 마커의 상관관계는 서로 반대의 경향을 보여주었다. 그림 3의 삼전도는 각 In-silico 바이오마커들과 이온채널 전도도변화도 간의 단위와 값이 분포하는 범위 차이를 고려하여 최소가 0, 최대가 1이 되도록 정규화하여 작성되었다. dVm/dt_{Max_repol} 은 gKr, gKs, gto에 대해 음의 상관관계를 gNaL, gpCa, gK1에 대해 양의 상관관계를 보여주었으며 qNet은 dVm/dt_{Max_repol} 과 반대의 경향을 보여주었다. 그에 따라 qNet과 dVm/dt_{Max_repol} 의 피어슨 상관계수는 -0.96으로 높은 음의 상관관계가 있음을 확인하였다(그림 3a-b).

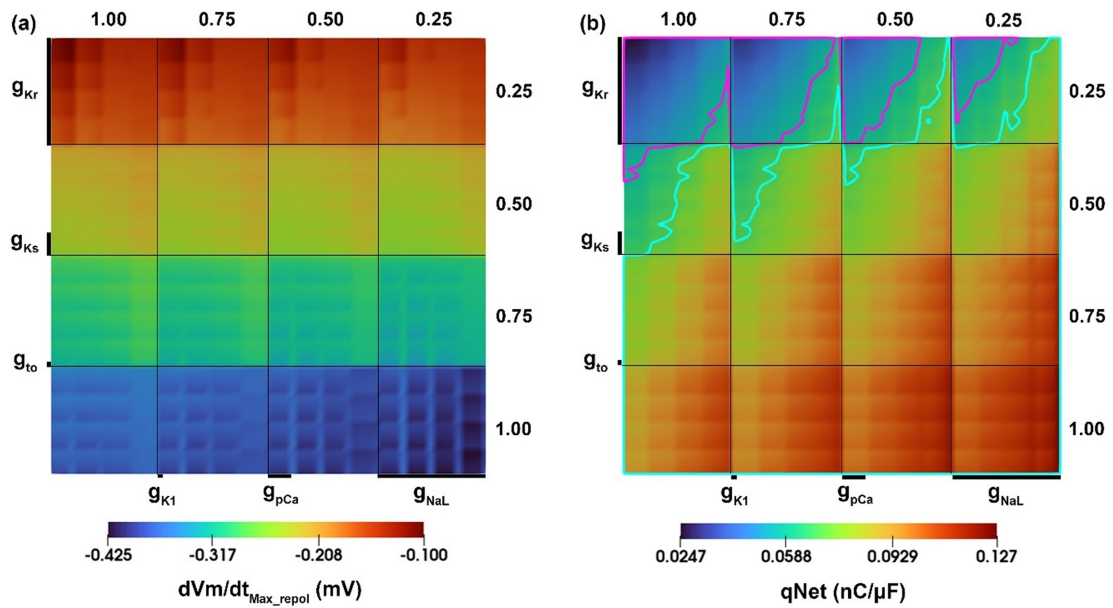


그림 2. 이온채널 전기전도도에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 과 q_{Net} 의 밀도모델링 컨투어
 Fig. 2. Population modeling contour of dV_m/dt_{Max_repol} and q_{Net} according to the ion channel conductance

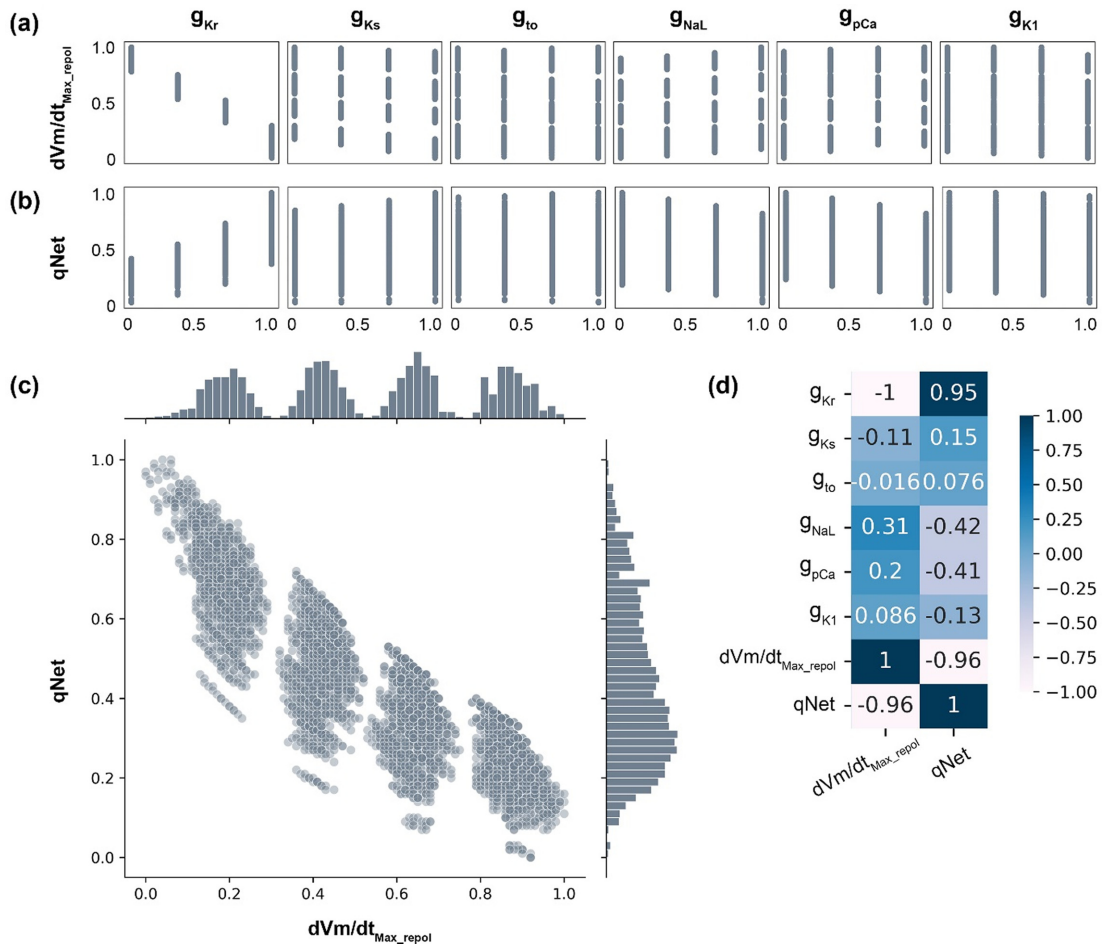


그림 3. 이온채널 전도도에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 과 q_{Net} 의 상관성분석; (a), dV_m/dt_{Max_repol} ; (b), q_{Net} ; (c), dV_m/dt_{Max_repol} 와 q_{Net} 의 상관관계; (d), 피어슨 상관계수
 Fig. 3. Correlation analysis of dV_m/dt_{Max_repol} and q_{Net} according to the ion channel conductance; (a), dV_m/dt_{Max_repol} ; (b), q_{Net} ; (c), correlation between dV_m/dt_{Max_repol} and q_{Net} ; (d), Pearson correlation coefficients

dV_m/dt_{Max_repol} 은 g_{NaL} 과 g_{pCa} 는 감소하지 않고 g_{Kr} , g_{Ks} , g_{to} , g_{K1} 이 75%감소하였을 때 -0.0995 mV로 최대였으며, g_{Kr} , g_{Ks} , g_{K1} 이 감소하지 않고 g_{to} , g_{NaL} , g_{pCa} 가 75%감소하였을 때 -0.4255 mV로 가장 작았다. $qNet$ 은 g_{Kr} , g_{Ks} 는 감소하지 않고 g_{to} , g_{NaL} , g_{pCa} , g_{K1} 이 75%감소하였을 때 0.1266 nC/ μ F으로 가장 높았으며, g_{NaL} , g_{pCa} , g_{K1} 은 감소하지 않고 g_{Kr} , g_{Ks} , g_{to} 가 75% 감소하였을 때 0.0247 nC/ μ F으로 가장 낮았다. 한편, 어떠한 이온채널 전도도에도 변화가 없는 정상적인 조건에서 dV_m/dt_{Max_repol} 은 -0.3902 mV, $qNet$ 은 0.0932 nC/ μ F이었다(그림 2). dV_m/dt_{Max_repol} 에 가장 많은 영향을 미치는 이온채널 전도도는 g_{Kr} 과 g_{NaL} 이었으며, 두 이온채널 전도도 중에서는 종방향의 색 차이가 횡방향의 색 차이 보다 더 현저하게 큰 것을 통해 g_{Kr} 에 대한 민감도가 더 높은 것을 확인하였다(그림 2a). 이러한 결과는 각 이온채널의 변화 정도와 dV_m/dt_{Max_repol} 의 상관관계 및 산점도 그래프에서도 마찬가지로였으며 g_{Kr} 과 dV_m/dt_{Max_repol} 는 피어슨 상관관계수가 -1로 매우 높은 음의 상관관계를 가짐을 확인하였다. g_{Kr} 은 $qNet$ 과도 0.95의 매우 높은 양의 상관성을 보여주었다. dV_m/dt_{Max_repol} 와 $qNet$ 의 이온채널 전도도에 대한 민감도는 g_{Kr} 다음으로 g_{NaL} 이 가장 높았으며, 다음은 g_{pCa} , g_{Ks} , g_{K1} , g_{to} 순이었다.

$qNet$ 의 차원 적응 맵은 Li 그룹에서 제안한 약물의 다형 심실빈맥 유발 위험도를 분류하는 $qNet$ threshold 값의 경계를 함께 보여준다(그림 2b). 여기서 청록색(cyan)의 경계는 저위험 약물을 분류하는 Threshold1값(0.0689 nC/ μ F)이며 자홍색(magenta)의 경계는 고위험 약물을 분류하는 Threshold2값(0.0579 nC/ μ F)이다[6]. 전체 4,096개의 이온채널 전도도 조합 중에서 $qNet$ 지표에 의해 고위험군으로 분류된 조합은 617개로 이중 97%는 공통적으로 g_{Kr} 이 75%감소하였으며 나머지 3%는 g_{Kr} 이 50% 감소하였다. 위험군으로 분류된 조합의 $qNet$ 은 평균 0.0474 nC/ μ F이었으며 dV_m/dt_{Max_repol} 은 -0.1533 mV이었다. $qNet$ 에 의해 저위험군으로 분류된 조합은 3,019가지이며 이들의 평균 $qNet$ 은 0.929 nC/ μ F, dV_m/dt_{Max_repol} 은 -0.3074 mV이었다. 세 가지 위험군 조합 중에서 중간위험군의 조합은 460가지로 가장 작았으며 중간위험군의 $qNet$ 은 평균 0.0634 nC/ μ F, 평균 dV_m/dt_{Max_repol} 는 -0.1926이었다. ANOVA 검정 결과 $qNet$ 에 의해 나뉘어진 세 가지 다형 심실빈맥 위험도에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 지표 값은 $F = 2,177.17$, $p = 0.000$ 으로 통계적으로 유의한 차이를 보여주었으며, 나뉘어진 세 다형 심실빈맥 위험군의 표본 수가 다르며 이분산 조건을 가정한 Games Howell 사후 검정 결과에서도 다형 심실빈맥 위험군에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 값의 차이가 통계적으로 유의했다($p < 0.001$, 그림 4).

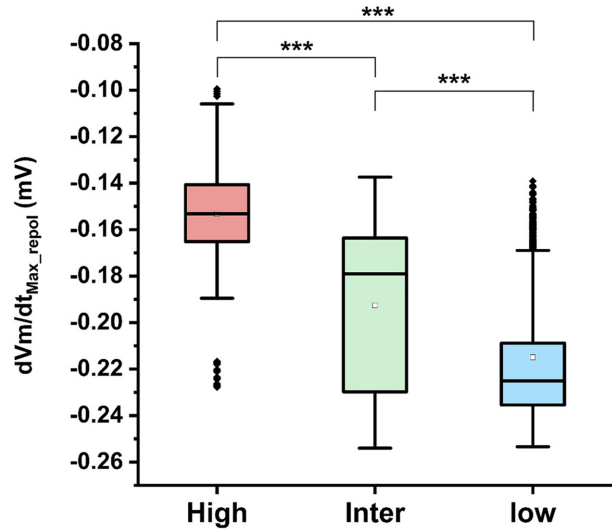


그림 4. $qNet$ 임계값에 의해 결정된 다형 심실빈맥 유발 위험도에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 의 상자수염그림; 상자그림은 데이터 분포의 상위 25%와 하위 25%를 기준으로 작성되었으며 상자그림에서 직선은 중앙값을, 상하의 수염은 사분위 범위수에 1.5배 떨어진 값을, 사각형(\square)은 평균값을, 다이아몬드(\blacklozenge)는 이상값(outlier)을 의미함. 별표(***)는 각 다형 심실빈맥 유발 위험 그룹 간의 통계적 유의한 차이를 보여줌($p < 0.001$).

Fig. 4. Box-whisker plot of dV_m/dt_{Max_repol} according to the TdP risk decided by $qNet$ thresholds; box plot was drawn based on upper quartile of 25% and lower quartile of 25% with the median value as a solid line, upper and lower 1.5 times of interquartile range as whisker, the mean value in a square shape (\square), and outliers in a diamond shape (\blacklozenge). Asterisk (***) denotes the statistically significant difference between TdP-risk groups ($p < 0.001$).

IV. 고찰 및 결론

본 연구는 활동전위의 재분극 동안의 기울기인 dV_m/dt_{Max_repol} 가 약물의 다형 심실빈맥 유발 위험성을 예측하기 위한 지표로 사용될 수 있을 것이라는 가정하에 약물에 의해 변화되는 6가지 주요 이온 채널의 민감도를 다차원 밀도 모델링을 통해 분석하고, 기존에 사용되던 유용한 다형 심실빈맥 지표인 $qNet$ 과의 상관성 분석을 수행하였다. 연구를 통한 주된 결과는 다음과 같다. 1) 여섯 가지 이온채널 전도도 중에서 dV_m/dt_{Max_repol} 은 $qNet$ 과 마찬가지로 g_{Kr} 의 변화에 가장 민감하게 반응하였다. 2) 제안한 dV_m/dt_{Max_repol} 은 $qNet$ 과 통계적으로 유의한 높은 음의 상관관계를 보여주었으며 3) $qNet$ 에 의해 나뉘어진 고, 중, 저의 세 가지 다형 심실빈맥 유발 위험 수준에서 dV_m/dt_{Max_repol} 은 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.001$).

그림 3의 산점도 결과에서 dV_m/dt_{Max_repol} 은 $qNet$ 과 달리 4개의 그룹으로 나뉘었다. 이는 $qNet$ 보다 dV_m/dt_{Max_repol} 의

표 1. 약물의 부정맥 유발 위험성 평가 시 사용되는 대표적 In-silico 지표

Table 1. Representative In-silico features using for assessing the proarrhythmic risk of drugs

In-silico features	Definitions
Ionic charge features	qNet The amount of charge moving through the I_{Net} channels (nC/ μ F)
	qInward The amount of charge mobbing through the inward ionic channels of I_{CaL} and I_{NaL} (nC/ μ F)
AP features	APD ₅₀ Action potential duration at 50% repolarization (ms)
	APD ₉₀ Action potential duration at 90% repolarization (ms)
	APD _{tri} Triangulation of action potential duration obtained by calculating the difference between APD ₅₀ and APD ₉₀ (ms)
	AP _{peak} Peak potential of cardiomyocytes (mV)
	AP _{resting} Resting potential of cardiomyocytes (mV)
Ca features	CaD ₅₀ Intracellular calcium duration at 50% returning to baseline (ms)
	CaD ₉₀ Intracellular calcium duration at 90% returning to baseline (ms)
	CaD _{tri} Triangulation of intracellular calcium duration obtained by calculating the difference between CaD ₅₀ and CaD ₉₀ (ms)
	Ca _{peak} Peak concentration of intracellular calcium (nM)
	Ca _{diastole} Calcium concentration at diastolic periods (nM)

이온채널 전도도에 따른 변화도가 크기 때문에 짐작하였다. 이를 뒷받침하여 그림 2의 다차원 적층 지도에서도 qNet 보다 dV_m/dt_{Max_repol} 에서 이온채널 전도도 변화에 따른 색의 경계가 더 뚜렷하게 관찰되었다.

이온채널 게이트는 막전위의 영향을 받고 게이트의 상태는 이온채널을 통해 흐르는 전류에 영향을 미치므로 심근 세포의 막전위와 이온전류는 서로 상호적으로 작용한다[16,17]. 약물이 이온채널을 구성하는 게이트 단백질에 미치는 개별적 영향을 *in vitro* 실험을 통해 확인할 수 있다. 약물 연구를 비롯해서 많은 심장 연구에서 흔히 사용되는 APD₉₀, APD₅₀, AP_{peak}, Ca_{diastole}, Ca_{peak}, CaD₉₀, CaD₅₀ 등의 *in silico* 특징들은 약물에 의해 유도된 특정 효과가 구현된 이온채널의 전기전도도 방정식을 세포 모델에 적용하여 계산된 것으로 약물에 의한 심근세포의 전기생리학적 반응이 정량적으로 예측된 것이다[12,15,18,27]. 특히, qNet은 약물이 주로 영향을 미치는 6개의 이온 채널 전류의 양을 정량화 한 특성으로써 약물의 심장 독성을 반영할 수 있어 약물에 의한 다형 심실빈맥의 유발 여부를 평가하는데 사용된다. 본 연구에서는 qNet 값이 작을수록 약물의 다형 심실빈맥 유발 위험도가 높아지는 경향이 있었으며 이는 FDA에서 수행한 연구결과와 상응하였다[6,17]. 이에 dV_m/dt_{Max_repol} 지표의 다형 심실빈맥 위험가능성을 다양한 *In silico* 바이오마커 중 qNet을 사용해 검증하였으며 본 연구의 결과를 기반으로 dV_m/dt_{Max_repol} 을 다형 심실빈맥의 위험도 평가를 위한 새로운 바이오마커 지표로 제안한다.

본 연구팀은 이전 연구에서 *In-silico* 바이오 마커들의 다형 심실빈맥 위험도 분류 성능을 선형 회귀모형을 통해 비교

하였다[28]. 그 결과 선형 회귀모형에서는 qNet의 분류 성능이 가장 우수하였으나 dV_m/dt_{Max_repol} 에서는 약물의 다형 심실빈맥 위험도에 따른 유의미한 차이가 관찰되지 않았다 [28]. 이 연구의 결과는 약물의 다형 심실빈맥 유발 위험도에 따른 qNet 및 dV_m/dt_{Max_repol} 값 분포 사이에 선형관계를 가정으로 하는 선형 회귀모형을 사용하였기 때문에 비선형의 상관관계를 가진 경우에는 정확한 예측이 어려울 수 있다. 또한, 약물의 심장부정맥 위험성을 평가하기 위해 사용되는 대부분의 *In-silico* 바이오마커들은 이들을 계산하는데 사용되는 *In-vitro* 실험데이터에 영향을 받기 때문에 *In-vitro* 실험데이터의 질에 따라 분류 성능이 달라질 수 있다[29]. 이에 본 연구팀은 최근 연구에서 세 가지 *In-vitro* 실험데이터에 따른 *In-silico* 바이오 마커들의 다형 심실빈맥 위험도 분류 성능을 순서형 로지스틱 회귀모형을 사용해 검증하였으며 그 결과 dV_m/dt_{Max_repol} 의 분류 성능은 qNet의 분류 성능보다 더 높았다[30]. 이에 본 연구에서 우리는 dV_m/dt_{Max_repol} 를 새로운 약물의 심장 부정맥 발생 위험도 평가 지표로서 제안하기 위해 dV_m/dt_{Max_repol} 값이 실제로 다형 심실빈맥 위험도에 따라 통계적으로 유의미한 차이가 있는지를 통해 검증하였다.

I_{Kr} (hERG)채널은 심근세포의 활동전위 생성 시 재분극의 형성에서 중요한 역할을 하며 심전도에서 QT 간격을 연장시켜 다형 심실빈맥을 유발하는 약물들의 주된 표적 전류 채널이다[12]. 본 연구에서 제안한 dV_m/dt_{Max_repol} 도 여섯가지 이온채널 전도도 변화 중에서 g_{Kr} 의 변화에 가장 민감하게 반응하였으며 g_{Kr} 이 감소할수록 dV_m/dt_{Max_repol} 은 증가하고 qNet이 감소하는 것으로 보아 다형 심실빈맥의

발생 위험도가 높아졌다. 또한, ranolazine, quinidine, flecainide, lidocaine, mexiletine과 약물은 I_{NaL} 채널에 작용하여 I_{NaL} 전류의 양을 감소시켜 QT간격의 연장을 약화시키고 APD를 짧아지게 하는 특성이 있다[12]. 이는 본 연구의 g_{NaL} 과 dV_m/dt_{Max_repol} 및 $qNet$ 과의 상관관계 결과와 상응하였다. 피어슨 상관관계수의 부호는 두 값 사이의 비례 또는 반비례 관계를 나타낸다. 즉, $qNet$ 과 dV_m/dt_{Max_repol} 사이의 음의 상관관계는 $qNet$ 이 증가할수록 dV_m/dt_{Max_repol} 은 감소하며, $qNet$ 이 감소할수록 dV_m/dt_{Max_repol} 은 증가한다는 것을 의미한다. 즉, g_{NaL} 이 낮아질수록 dV_m/dt_{Max_repol} 은 작아지고 $qNet$ 은 증가하여 다형 심실빈맥의 발생 위험도가 낮아짐을 예상하였다. 이러한 결과들은 차원 적층맵에서도 확인할 수 있으며 g_{Kr} 이 감소하고 g_{NaL} 이 감소하지 않는 왼쪽 상단의 다형 심실빈맥 발생 고위험 영역 일수록 dV_m/dt_{max_repol} 이 높고 $qNet$ 이 낮다. 이는 FDA의 선행 연구결과에서도 알 수 있듯 APD가 길어지게 되면 심근세포의 재분극 시 기울기가 완만해져 dV_m/dt_{Max_repol} 이 증가하게 된다[12,31]. 본 연구 결과의 dV_m/dt_{Max_repol} 은 조기탈분극이 발생하지 않아 모두 음수 값을 가졌지만, 약물에 의해 조기탈분극 발생하게 되면 재분극 시의 기울기 양의 값을 가지게 되어 dV_m/dt_{Max_repol} 또한 양수 값을 가질 수 있다[12,31].

이온채널 전도도의 변화에 따른 심근세포의 영향을 확인한 연구들이 수행되었다[32-34]. Gemmel 등은 차원적층 맵을 통해 Shannon 모델과 Mahajan 모델을 사용하여 세포의 자극주기와 이온채널 전도도 변화에 따른 APD_{90} 과 APD_{50} , transient Ca^{2+} 의 양을 확인하였으며 그 결과 Shannon 모델에서는 g_{CaL} 이, Mahajan 모델에서는 g_{NaK} 가 심근세포의 APD 변동에 가장 많은 영향을 미치는 것을 확인하였다[23]. 그들이 사용한 두 가지 in silico 모델은 토끼 맞춤형 심근 세포 모델로 본 연구에서 사용한 인간 심근세포 모델인 Dutta-ORD모델과는 생리학 파라미터에서 차이가 있다. 또한, 그들은 세포의 자극 주기가 400 ms, 600 ms, 1,000 ms 조건에서 이온채널의 전도도 변화에 따른 지표들의 변화를 확인하였으나, 본 연구에서는 서맥 시 조기탈분극 발생을 위해 세포의 자극 주기가 2,000 ms인 조건에서 밀도 모델링 시뮬레이션을 수행하였다. 또한, 본 연구팀은 이전 연구에서 이온채널 전도도에 따른 심근세포의 전기기계지연의 민감도를 차원적층 맵을 통해 확인하였다[35]. 그 결과 심근세포의 전기기계지연의 연장은 g_{CaL} , g_{Ks} , g_{Kr} , g_{K1} 의 변화에 민감하게 반응하여 발생하였으며, 그 중에서는 g_{CaL} 의 영향이 가장 뚜렷함을 확인하였다.

심근세포의 활동전위에서 재분극 시 세포 간의 변동성은 이온 전류 채널의 전도도 변화 영향을 받을 수 있다[23]. 그에 따라 Dutta-ORD가 아닌 다른 인간 심근 세포 모델을

사용하는 경우 dV_m/dt_{Max_repol} 의 이온 채널 전도도에 따른 민감도는 변할 수 있다. Sarker 등은 개인간의 전기생리학적 차이를 고려하여 hERG채널의 차단 정도를 확인하였으며, 다변수 회귀분석을 통해 I_{Kr} 을 차단시키는 약물에 의해 유발된 활동전위의 연장을 약화 또는 약화시키는 이온전류가 무엇인지를 규명하였다[36]. 그 결과 I_{Kr} , I_{Ks} , voltage dependence of I_{Kr} inactivation, I_{CaL} , kinetics of I_{Ks} activation 순으로 약물의 반응이 약화 또는 약화됨을 확인하였으며, 이는 본 연구의 결과와 다소 차이가 있었다. 이에 본 연구팀은 개인 간의 전기생리학적 차이에 의해 여섯 가지 이온채널 전도도 변화에 따른 dV_m/dt_{Max_repol} 의 민감도에 차이가 있을 수 있을 것으로 예상하며 추후 개인간 차이를 고려한 추가 연구를 진행할 예정이다.

현재 가장 유망한 다형 심실빈맥 지표인 $qNet$ 은 In-silico 시뮬레이션을 통해 계산된 6가지 이온 채널을 통과하는 전하량의 총량을 계산하여 얻어진다. 본 연구에서 사용한 dV_m/dt_{Max_repol} 은 $qNet$ 과 마찬가지로 In-silico 시뮬레이션을 통해 계산된 값을 사용하였지만, In-silico 시뮬레이션뿐만 아니라 In-vitro 실험을 통해서도 측정이 가능하기 때문에 실험단계에서 대략적으로 약물의 심장 독성을 확인하는 것이 가능하다. 따라서, 더 많은 약물 실험 데이터를 사용해 충분한 검증이 이루어 진다면 신약 개발 단계에서 실제 독성 검사 전 사전조사로 사용될 수 있을 것이라 예상된다.

References

- [1] Yap, YG, Gamm, AJ, Drug induced QT prolongation and Torsades de Pointes. *Heart*. 2003;89(11):1363-1372.
- [2] Onakpoya, IJ, Heneghan, CJ, Aronson, JK, Post-marketing withdrawal of 462 medicinal products because of adverse drug reactions: A systematic review of the world literature. *BMC Med*. BMC Medicine. 2016;14(1):1-11.
- [3] ICH Guideline, Guideline S7A Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals. *Fed. Regist*. 2000;(66):36791-36792.
- [4] Yao, X, Anderson, DL, Ross, SA, Lang, DG, Desai, BZ, Cooper, DC, Wheelan, P, McIntyre, MS, Bergquist, ML, MacKenzie, KI, Becherer, JD, Hashim, MA, Predicting QT prolongation in humans during early drug development using hERG inhibition and an anaesthetized guinea-pig model. *Br. J. Pharmacol*. 2008;154(7):1446-1456.
- [5] Thomas, G, Killeen, MJ, Grace, AA, Huang, CLH, Pharmacological separation of early afterdepolarizations from arrhythmogenic substrate in Δ KPQ Scn5a murine hearts modelling human long QT 3 syndrome. *Acta Physiol*. 2008;192(4):505-517.
- [6] Li, Z, Ridder, BJ, Han, X, Wu, WW, Sheng, J, Tran, PN, Wu, M, Randolph, A, Johnstone, RH, Mirams, GR, Kuryshev, Y, Kramer, J, Wu, C, Crumb, WJ, Strauss, DG, Assessment of an In Silico Mechanistic Model for Proarrhythmia Risk Pre-

- diction Under the CiPA Initiative. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2019;105(2):466-475.
- [7] Colatsky, T, Fermini, B, Gintant, G, Pierson, JB, Sager, P, Sekino, Y, Strauss, DG, Stockbridge, N, The Comprehensive in Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) initiative – Update on progress. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* The Authors. 2016; 81:15-20.
- [8] Yim, DS, Five years of the cipa project (2013-2018) - what did we learn?. *Transl. Clin. Pharmacol.* 2018;26(4):145-149.
- [9] Cook, D, Brown, D, Alexander, R, March, R, Morgan, P, Satterthwaite, G, Pangalos, MN, Lessons learned from the fate of AstraZeneca's drug pipeline: A five-dimensional framework. *Nat. Rev. Drug Discov.* Nature Publishing Group. 2014; 13(6):419-431.
- [10] Waring, MJ, Arrowsmith, J, Leach, AR, Leeson, PD, Mandrell, S, Owen, RM, Pairaudeau, G, Pennie, WD, Pickett, SD, Wang, J, Wallace, O, Weir, A, An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nat. Rev. Drug Discov.* Nature Publishing Group. 2015;14(7):475-486.
- [11] Sager, PT, Gintant, G, Turner, JR, Pettit, S, Stockbridge, N, Rechanneling the cardiac proarrhythmia safety paradigm: A meeting report from the Cardiac Safety Research Consortium. *Am. Heart J.* Mosby, Inc. 2014;167(3):292-300.
- [12] Crumb, WJ, Vicente, J, Johannesen, L, Strauss, DG, An evaluation of 30 clinical drugs against the comprehensive in vitro proarrhythmia assay (CiPA) proposed ion channel panel. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* Elsevier Inc. 2016;81:251-262.
- [13] Fermini, B, Hancox, JC, Abi-Gerges, N, Bridgland-Taylor, M, Chaudhary, KW, Colatsky, T, Correll, K, Crumb, W, Damiano, B, Erdemli, G, Gintant, G, Imredy, J, Koerner, J, Kramer, J, Levesque, P, Li, Z, Lindqvist, A, Obejero-Paz, CA, Rampe, D, Sawada, K, Strauss, DG, Vandenberg, JI, A new perspective in the field of cardiac safety testing through the comprehensive in vitro proarrhythmia assay paradigm. *J. Biomol. Screen.* 2016;21(1):1-11.
- [14] Passini, E, Trovato, C, Morissette, P, Sannajust, F, Bueno-Orovio, A, Rodriguez, B, Drug-induced shortening of the electromechanical window is an effective biomarker for in silico prediction of clinical risk of arrhythmias. *Br. J. Pharmacol.* 2019;176(19): 3819-3833.
- [15] Okada, JI, Yoshinaga, T, Kurokawa, J, Washio, T, Furukawa, T, Sawada, K, Sugiura, S, Hisada, T, Screening system for drug-induced arrhythmogenic risk combining a patch clamp and heart simulator. *Sci. Adv.* 2015;1(4):1-8.
- [16] O'Hara, T, Virág, L, Varró, A, Rudy, Y, Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation. *PLoS Comput. Biol.* 2011;7(5):1-29.
- [17] Dutta, S, Chang, KC, Beattie, KA, Sheng, J, Tran, PN, Wu, WW, Wu, M, Strauss, DG, Colatsky, T, Li, Z, Optimization of an in silico cardiac cell model for proarrhythmia risk assessment. *Front. Physiol.* 2017;8(AUG):1-15.
- [18] Parikh, J, Di Achille, P, Kozloski, J, Gurev, V, Global sensitivity analysis of ventricular myocyte model-derived metrics for proarrhythmic risk assessment. *Front. Pharmacol.* 2019; 10(October):1-18.
- [19] Llopis-Lorente, J, Gomis-Tena, J, Cano, J, Romero, L, Saiz, J, Trenor, B, In silico classifiers for the assessment of drug proarrhythmicity. *J. Chem. Inf. Model.* 2020;60(10):5172-5187.
- [20] Guo, D, Liu, Q, Liu, T, Elliott, G, Gingras, M, Kowey, PR, Yan, GX, Electrophysiological properties of HBI-3000: A new antiarrhythmic agent with multiple-channel blocking properties in human ventricular myocytes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2011;57(1):79-85.
- [21] Tomek, J, Bueno-Orovio, A, Passini, E, Zhou, X, Mincholé, A, Britton, O, Bartolucci, C, Severi, S, Shrier, A, Virag, L, Varro, A, Rodriguez, B, Development, calibration, and validation of a novel human ventricular myocyte model in health, disease, and drug block. *Elife.* 2019;8:1-48.
- [22] Weiss, JN, Garfinkel, A, Karagueuzian, HS, Chen, PS, Qu, Z, Early afterdepolarizations and cardiac arrhythmias. *Hear. Rhythm.* Elsevier Inc. 2010;7(12):1891-1899.
- [23] Gemmel, P, Burrage, K, Rodriguez, B, Quinn, TA, Population of computational rabbit-specific ventricular action potential models for investigating sources of variability in cellular repolarisation. *PLoS One.* 2014;9(2):15-19.
- [24] Peng, W, Clutter-Based Dimension Reordering in Multi-Dimensional Data Visualization., 2005.
- [25] Taylor, AL, Hickey, TJ, Prinz, AA, Marder, E, Structure and visualization of high-dimensional conductance spaces. *J. Neurophysiol.* 2006;96(2):891-905.
- [26] Peng, W, Ward, MO, Rundensteiner, EA, Clutter reduction in multi-dimensional data visualization using dimension reordering., in *Proceedings - IEEE Symposium on Information Visualization, INFO VIS*, 2004.
- [27] Parikh, J, Gurev, V, Rice, JJ, Novel two-step classifier for Torsades de Pointes risk stratification from direct features. *Front. Pharmacol.* 2017;8(NOV):1-18.
- [28] Yoo, Y, Jeong, DU, Marcellinus, A, Lim, KM, 약물의 염전성 부정맥 유발 예측 지표로서 심장의 전기생리학적 특징 값들의 검증 Verification of Cardiac Electrophysiological Features as a Predictive Indicator of Drug-Induced Torsades de pointes. *J. Biomed. Eng. Res.* 2022;43(1):19-26.
- [29] Han, X, Samieegohar, M, Ridder, BJ, Wu, WW, Randolph, A, Tran, P, Sheng, J, Stoelzle-Feix, S, Brinkwirth, N, Rotordam, MG, Becker, N, Friis, S, Rapedius, M, Goetze, TA, Strassmaier, T, Okeyo, G, Kramer, J, Kuryshv, Y, Wu, C, Strauss, DG, Li, Z, A general procedure to select calibration drugs for lab-specific validation and calibration of proarrhythmia risk prediction models: An illustrative example using the CiPA model. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* Elsevier. 2020;105(February):106890.
- [30] Jeong, DU, Danadibrata, RZ, Marcellinus, A, Lim, KM, Validation of in silico biomarkers for drug screening through ordinal logistic regression. *Front. Physiol.* 2022;13(1009647): 1-11.
- [31] Chang, KC, Dutta, S, Mirams, GR, Beattie, KA, Sheng, J, Tran, PN, Wu, M, Wu, WW, Colatsky, T, Strauss, DG, Li, Z, Uncertainty quantification reveals the importance of data variability and experimental design considerations for in silico proarrhythmia risk assessment. *Front. Physiol.* 2017;8(NOV):1-17.
- [32] Luo, CH, Rudy, Y, A dynamic model of the cardiac ventricular action potential: I. Simulations of ionic currents and concentration changes. *Circ. Res.* 1994;74(6):1071-1096.
- [33] J.R., H, A., U, Ionic Basis of the Different Action Potential Configurations of Single Guinea-pig Atrial and Ventricular Myocytes. *J. Physiol.* 1985;368(1):525-544.
- [34] Akanda, N, Molnar, P, Stancescu, M, Hickman, JJ, Analysis of toxin-induced changes in action potential shape for drug

- development. *J. Biomol. Screen.* 2009;14(10):1228-1235.
- [35] Qauli, AI, Marcellinus, A, Lim, KM, Sensitivity Analysis of Ion Channel Conductance on Myocardial Electromechanical Delay: Computational Study. *Front. Physiol.* 2021;12(August): 1-18.
- [36] Sarkar, AX, Sobie, EA, Quantification of repolarization reserve to understand interpatient variability in the response to proarrhythmic drugs: A computational analysis. *Heart Rhythm.* Elsevier Inc. 2011;8(11):1749-1755.