

Водители ритма нового поколения: от электрических устройств до биологических пейсмейкеров

Владимир Николаевич Ослопов¹, Аида Халид кызы Мамедова^{1*},
Динара Наилевна Нафеева¹, Елена Владимировна Хазова¹,
Юлия Владимировна Ослопова²

¹Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

²Казанский (Приволжский) федеральный университет,
г. Казань, Россия

Реферат

Изобретение электрокардиостимулятора в середине XX века привело к революции в терапии заболеваний проводящей системы сердца. Продолжалось усовершенствование электрокардиостимуляторов. В 1962 г. в г. Каунасе удалось выпустить первую небольшую серию наружных электрокардиостимуляторов для чрескожной и прямой стимуляции. Они становились меньше по размеру и легче по весу, однако проблемы инфицирования инородного тела и ограниченного срока эксплуатации остались нерешёнными. Современная высокотехнологичная медицина стремится к созданию менее травматичных электрокардиостимуляторов, но, тем не менее, биологические кардиостимуляторы могут расширить терапевтический арсенал для лечения кардиологических пациентов, будучи наиболее физиологичными для человека. Концепция искусственного биологического водителя ритма включает создание органической конструкции, которая вырабатывает спонтанный ритм из места имплантации конструкции в сердечной мышце. Были использованы различные генные и клеточные подходы для создания биологических кардиостимуляторов: подход функциональной реорганизации (использование аденовирусных векторов для гиперэкспрессии генов, кодирующих ионные каналы в кардиомиоцитах), гибридный подход (использование фибробластов для доставки генов ионных каналов, обеспечивающих автоматизм сердца), подход соматического репрограммирования (гиперэкспрессия транскрипционного фактора TBX18 с использованием аденовирусных векторов, который перепрограммирует кардиомиоциты в индуцированные клетки синоатриального узла, создавая кардиостимуляторную активность), клеточный подход (трансплантация стволовых клеток в определённое место в сердце с созданием тем самым биологической стимуляции). Современные методы электрокардиостимулирования и разрабатываемые концепции биологического водителя ритма наглядно показывают возможность устранения текущих проблем, связанных с использованием искусственного водителя ритма, путём замены его на биологический. Каждый из подходов (генный, клеточный, гибридно-клеточный, соматический репрограммирующий) имеет свои преимущества и недостатки, что предрасполагает к дальнейшему их изучению и усовершенствованию с целью внедрения биологического кардиостимулятора в клиническую практику.

Ключевые слова: биологический водитель ритма, генная терапия, клеточная терапия, электрокардиостимулятор.

Для цитирования: Ослопов В.Н., Мамедова А.Х., Нафеева Д.Н., Хазова Е.В., Ослопова Ю.В. Водители ритма нового поколения: от электрических устройств до биологических пейсмейкеров. *Казанский мед. ж.* 2021; 102 (6): 916–922. DOI: 10.17816/KMJ2021-916.

Next-generation pacemakers: from electrical devices to biological pacemakers

V.N. Oslopov¹, A.Kh. Mamedova¹, D.N. Nafeeva¹, E.V. Khazova¹, Yu.V. Osloпова²

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

Abstract

The invention of an electric pacemaker in the middle of the 20th century led to a revolution in the treatment

of cardiac conduction system diseases. The improvement of pacemakers continued. In 1962, the first small series of external pacemakers for percutaneous and direct stimulation was produced in Kaunas. After a while, electric pacemakers became more reliable, smaller and lighter in weight, but the problem of foreign body associated infection and limited service life remained unresolved. Modern high-tech medicine strives to create less invasive electric pacemakers, but nevertheless, biological pacemakers can expand the therapeutic arsenal for the treatment of cardiac patients, being the most physiological for humans. The concept of an artificial biological pacemaker consists of the creation of an organic structure that generates a spontaneous rhythm from the implantation site in the myocardium. Various gene and cellular approaches were used to create biological pacemakers: a functional reorganization approach (use of adenovirus vectors for hyperexpression of genes encoding ion channels in cardiomyocytes); hybrid approach (use of fibroblasts to deliver genes of ion channels that provide heart automation); somatic reprogramming approach (overexpression of the transcription factor TBX18 using adenoviral vectors, which reprograms cardiomyocytes into induced sinoatrial node cells, creating cardiac stimulatory activity); cellular approach (transplantation of stem cells to a specific place in the heart, thereby creating biological stimulation). Modern methods of electrical cardiac stimulation and the developed concepts of the biological pacemaker clearly show the possibility of eliminating current problems associated with the use of an artificial pacemaker by replacing it with a biological one. Each of the approaches (gene, cellular, hybrid-cellular, somatic reprogramming) has its own advantages and disadvantages, which predisposes to further study and improvement in order to introduce a biological pacemaker into clinical practice.

Keywords: biological rhythm driver, gene therapy, cell therapy, electric pacemaker.

For citation: Oslopov V.N., Mamedova A.Kh., Nafeeva D.N., Khazova E.V., Oslopova Yu.V. Next-generation pacemakers: from electrical devices to biological pacemakers. *Kazan Medical Journal*. 2021; 102 (6): 916–922. DOI: 10.17816/KMJ2021-916.

Возникновение электрического импульса происходит в синоатриальном узле (SAN — от англ. sinoatrial node), далее он распространяется в нисходящем направлении, возбуждая различные отделы сердца. При патологии проводящей системы происходит замедление сердечного ритма, что ведёт к несоответствию между потребностью организма в кровообращении и реальным поступлением крови [1]. Как решение этой проблемы, медицина прибегает к имплантации электронных кардиостимуляторов.

Со временем электрокардиостимуляторы (ЭКС) совершенствовались, становились меньше по размеру и легче по весу, появились более совершенные двух- и трёхкамерные модели. Современный ЭКС состоит из подкожного генератора, литий-ионной батареи и ряда проводов с электродами на кончиках. Он способен отслеживать электрические импульсы предсердий и желудочков, частоту дыхания, скорость движения тела, что позволяет регулировать сердечный ритм с учётом физиологических потребностей.

Несмотря на эффективность ЭКС, пациенты с ними имеют ряд ограничений в зонах с электромагнитным полем, что влияет на качество их жизни, также возможен риск инфицирования инородного тела инфекционным агентом [2]. Кроме того, использование ЭКС также имеет ряд проблем у детей в связи с меньшими размерами тела, чем у взрослого, быстрым ростом, а также вследствие анатомических изменений, связанных с наличием врождённых пороков

сердца [3]. В целом рекомендована эпикардальная кардиостимуляция пациентам с массой тела <15 кг и/или с изменённой анатомией (например, с наличием внутрисердечного шунта или при одиночном желудочке).

Эпикардальные электроды для стимуляции нередко склонны к поломкам, и их часто необходимо заменять либо новым эпикардальным электродом, либо эндокардиальной системой, если это возможно. При использовании технологии современных аккумуляторов генераторы необходимо заменять каждые ~10 лет, что требует многократной замены генераторов с соответствующей связанной с данной процедурой совокупностью рисков и осложнений, таких как дислокация эндокардиальных электродов, повышение порога стимуляции, гематома в области ложа ЭКС, пневмоторакс, перфорация миокарда. Альтернативные источники энергии, такие как пьезоэлектрическая энергия [4,5] и солнечная энергия, в настоящее время находятся на доклинических этапах изучения американскими учёными — С. Dagdeviren и соавт. [6].

Биологические кардиостимуляторы, полученные переносом генов, слиянием клеток или трансплантацией стволовых клеток, предоставляют альтернативу электронным устройствам. Современная высокотехнологичная медицина стремится к созданию менее травматичных ЭКС, но, тем не менее, биологические кардиостимуляторы могут расширить терапевтический арсенал для лечения кардио-

логических пациентов, будучи наиболее физиологичными для человека [7]. Принципиальные направления в создании биологического кардиостимулятора — увеличение частоты сокращений пейсмейкера и индукция активности в новом очаге [8].

Биологические кардиостимуляторы. Различные биологические подходы для улучшения сердечной автономности были исследованы на протяжении многих лет, их цель — использование клеток, функционально схожих с клетками SAN (естественными клетками, стимулирующими работу сердца) [9]. Были описаны различные генные и клеточные подходы для создания биологических кардиостимуляторов.

1. Подход функциональной реорганизации. Аденовирусные векторы используют для гиперэкспрессии генов, кодирующих ионные каналы (один канал или комбинацию каналов) в кардиомиоцитах. К примеру, для увеличения количества управляемых циклическими нуклеотидами гиперполяризационно-активируемых каналов (HCN — от англ. hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels) и уменьшения количества калиевых каналов внутреннего выпрямления (KIR) путём гиперэкспрессии доминантной отрицательной конструкции (KIR2.1AAA) [10].

2. Стволовые клетки. Кластер стволовых клеток получают из эмбриональных стволовых клеток человека или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, которые трансплантируют в определённое место в сердце для захвата окружающего миокарда, создавая тем самым биологическую стимуляцию.

3. В гибридном подходе клетки (мезенхимальные стволовые клетки человека или фибробласты) используют для доставки генов ионных каналов (например, генов, кодирующих компоненты каналов HCN) для обеспечения автоматизма сердца [11]. Доставка с помощью мезенхимальных стволовых клеток человека требует соединения кардиомиоцитов с ними при помощи щелевого контакта, тогда как для доставки генов с помощью фибробластов необходимо слияние клеток [12].

4. При соматическом репрограммировании гиперэкспрессия Т-бокс транскрипционного фактора TBX18 с использованием аденовирусных векторов перепрограммирует кардиомиоциты в индуцированные клетки SAN, повторяя свойства SAN и, следовательно, создавая кардиостимуляторную активность [10, 13].

Генные подходы. Самый ранний генный подход для повышения автоматизма сердца включал гиперэкспрессию генов, которые

кодируют β_2 -адренергические рецепторы человека, в предсердиях мышей и свиньи [14]. Хотя этот подход не позволил создать биологический кардиостимулятор, скорость эндогенного SAN была увеличена за счёт увеличения количества β_2 -адренергических рецепторов, доступных для связывания с эндогенными катехоламинами [15].

Первый биологический кардиостимулятор *de novo* был создан с помощью генной терапии, о чём было сообщено в 2002 г. Стратегия американских учёных J. Miake и E. Marban заключалась в том, чтобы освободить «электрический тормоз», который подавляет автоматизм в кардиомиоцитах желудочков путём ингибирования эндогенного KIR.

KIR — специфическое подмножество калиевых каналов. В настоящее время идентифицировано семь подсемейств KIR в клетках разных тканей животных различных видов. Основная роль каналов KIR — восстановление мембранного потенциала покоя при гиперполяризации за счёт проведения слабого тока калия внутрь клетки. За счёт гиперэкспрессии KIR2.1-доминантно-негативной конструкции (KIR2.1AAA) уменьшается количество функциональных ионных KIR (кодируемых семейством генов KIR2; также известных как KCNJ2) в миокарде морских свинок [15].

Подавление тока входящего выпрямления (IK1) вызывает самопроизвольную деполяризацию кардиомиоцитов желудочков, тем самым генерируя биологическую активность кардиостимулятора. Последующие исследования показали, что избыточная экспрессия KIR2.1AAA не только влияла на потенциал покоя (вызывая спонтанную деполяризацию), но также приводила к увеличению продолжительности потенциала действия [10]. Диффузное подавление IK1 в миокарде желудочков может predispose к аритмиям, это клинически отмечают при семейном синдроме удлинённого интервала QT типа 7 (REF 82). Потенциальные проаритмические эффекты очагового подавления IK1 (что необходимо для создания биологической активности кардиостимулятора) не были описаны в этих проверочных исследованиях на мелких животных [16]. Принимая во внимание это важное соображение, каждая биологическая терапия, которая может повысить автоматизм сердца, должна быть тщательно исследована в нескольких доклинических моделях (включая крупных животных с низкой частотой сердечных сокращений), чтобы исключить потенциальные проаритмические эффекты.

Также A.N. Plotnikov и соавт. рассматривают возможность экспрессии пейсмейкерных

f-каналов синусового узла (If-каналов) в нормальных рабочих кардиомиоцитах путём гиперэкспрессии HCN-каналов, а именно HCN2 [17]. Аденовирусные конструкции с мышинным HCN2 доставляли открытой торакотомией в основание ушка левого предсердия. Через 4 дня после инъекции анестезированные собаки имели спонтанные ритмы, которые возникли из левого предсердия после подавления синусового ритма посредством вагусной стимуляции.

Ионные каналы If состоят из белков семейства HCN, существующих в виде четырёх изоформ ионных каналов HCN. Первая, вторая и четвёртая изоформы встречаются только в миокарде, третья — в головном мозге [18]. Для встраивания в вирусный вектор используют ген HCN2, так как свойства этой изоформы наиболее близки к нативному току [19]. Последующие исследования той же группы продемонстрировали, что инъекция аденовируса, экспрессирующего HCN2, в левую ножку пучка Гиса, приводила к возникновению спонтанных желудочковых ритмов после вагусной стимуляции. Эти два независимых исследования продемонстрировали способность создавать биологическую кардиостимуляцию путём функциональной геной инженерии: либо подавляя IK1 (тем самым вызывая самопроизвольную деполяризацию кардиомиоцитов желудочков), либо экспрессируя каналы If в нормальных рабочих кардиомиоцитах.

Клеточные подходы. Человеческие эмбриональные стволовые клетки могут дифференцироваться в самопроизвольно возбуждающиеся кардиомиоциты [20]. Трансплантация *in vivo* полученных из эмбриональных стволовых клеток кардиомиоцитов морским свинкам привела к биологической активности кардиостимулятора, что подтвердилось оптическим картированием *ex vivo* [21]. После абляции атриовентрикулярного узла у тех животных, которым ранее вводили кардиомиоциты, полученные из эмбриональных стволовых клеток, проявлялась спонтанная биологическая кардиостимуляторная активность в месте инъекции (продемонстрировано оптическим картированием). Учитывая человеческое происхождение этих клеток, иммуносупрессия была необходима для предотвращения отторжения [15].

SAN-подобные кардиомиоциты, полученные из индуцированных человеком полипотентных стволовых клеток (iPSC), использовали для создания биологической кардиостимуляции *in vitro* и *in vivo* [22]. В другом исследовании кардиомиоциты, полученные из iPSC, были внедрены в сердца собак при помощи откры-

той торакотомии. Биологическая активность кардиостимулятора зарегистрирована только у 50% животных с частотой сердечных сокращений 40–50 в минуту [11]. Существенные недостатки данного метода — возможность трансплантированных эмбриональных стволовых клеток окончательно дифференцироваться в кардиомиоциты и при этом терять свои ЭКС-характеристики, а также необходимость в иммуносупрессии.

Современные технологии iPSC создают смешанную популяцию клеток с различными фенотипами, и необходимо учитывать, что незрелые клетки способны дифференцироваться в клетки различных типов (например, тератомы), мигрировать по организму. Также встаёт вопрос о довольно продолжительном сроке создания iPSC (до нескольких месяцев) [23].

Российские учёные Н.Ш. Загидуллин и Ш.З. Загидуллин в своих исследованиях, проведённых совместно с лабораторией Кёльнской университетской клиники, электропорировали мышинные эмбриональные стволовые клетки плазмидой, содержащей ген предсердного натрийуретического гормона, играющего важную роль в развитии предсердий. В культуре были обнаружены веретенообразные клетки, обладающие пейсмейкерной активностью, отличающиеся по своей морфологии от треугольных и многоугольных клеток, не подходящих для использования в качестве биологического пейсмейкера. Также в ходе эксперимента было показано, что культивирование нагруженных плазмидой эмбриональных стволовых клеток с эндотелином-1 приводило к сдвигу в пользу увеличения концентрации веретенообразных клеток с пейсмейкероподобными электрофизиологическими характеристиками в целях их дальнейшего применения как биопейсмейкеров [24].

В некоторых экспериментальных исследованиях было изучено использование биологического пейсмейкера совместно с ЭКС. Подобное сочетание потенциально обладает дополнительными преимуществами перед их изолированным применением: биологический пейсмейкер будет модулировать частоту сердечных сокращений в зависимости от физической и психоэмоциональной нагрузки, в то время как электрический компонент сможет «подстраховать» ритм сердца в случае «выключения» биологического пейсмейкера. Такой тандем будет более физиологичным для организма и увеличит срок службы батареек ЭКС.

Н.Ш. Загидуллиным и Ш.З. Загидуллиным были также изучены электрофизиологические

свойства изоформ HCN1, HCN2 и HCN4 в физиологическом и гиперкалиевом растворах при экспрессии в овариальных клетках китайских хомячков для определения гена-кандидата при создании биологического пейсмейкера. В ходе исследований было выявлено, что из трёх изоформ HCN1 показала самую быструю кинетику активации, далее следовала HCN2, самой «медленной» изоформой оказалась HCN4. Кроме того, HCN1 превосходила HCN2 и, в особенности, HCN4 в плотности тока. Изоформа HCN2 по электрофизиологическим параметрам наиболее близка к нативному If-току, что позволяет рекомендовать её в качестве реального кандидата при создании биологического пейсмейкера [25].

Гибридный генно-клеточный подход. В гибридном генно-клеточном подходе используют клетки, несущие гены кардиостимуляторной активности (например, гены, кодирующие каналы HCN). Путём открытой торакотомии собакам с полной атриовентрикулярной блокадой были введены человеческие мезенхимальные стволовые клетки, сконструированные для экспрессии канала кардиостимулятора HCN2 [26]. Проявилась биологическая кардиостимуляторная активность: частота желудочковых сокращений составляла 50–60 в минуту, признаки клеточного или гуморального отторжения отсутствовали.

Потенциальные преимущества данного подхода — отсутствие вирусного вектора (используемого в большинстве подходов генной терапии) и необходимости в иммуносупрессии (учитывая низкую иммуногенность мезенхимальных стволовых клеток человека). Препятствие для внедрения вирусного вектора — активизация иммунной системы организма, вследствие чего модифицированные клетки возвращаются в исходное состояние, а также наличие патогенного потенциала. Недостатки этого подхода: довольно низкая частота сердечных сокращений (40–45 в минуту), возможность миграции и дальнейшей дифференциации мезенхимальных стволовых клеток человека [11].

В следующем гибридном подходе американскими учёными и учёными из Тайваня Y.F. Hu и соавт. были использованы инженерные сингенные фибробласты, экспрессирующие HCN1, инъецированные в сердца морских свинок, для индукции слияния клеток с окружающими эндогенными желудочковыми клетками [27]. Образовавшиеся гетерокарионы фибробластов-миоцитов проявляли биологическую кардиостимуляторную активность в месте инъекции. Хотя эта альтернатива представля-

ет собой невирусный подход, не связанный со стволовыми клетками, необходимы дополнительные доклинические исследования с использованием минимально инвазивной системой доставки клеток в миокард (например, с помощью венозного катетера без необходимости торакотомии или артериального доступа) [7].

Соматические репрограммирующие подходы. Подход соматического репрограммирования заключается в гиперэкспрессии гена, кодирующего человеческий эмбриональный фактор транскрипции TBX18 в кардиомиоцитах желудочков, индуцируя превращение кардиомиоцитов в клетки SAN, которые напоминают эндогенные клетки кардиостимулятора SAN11 [28]. Они обладали всеми характеристиками, которые присущи естественным пейсмейкерам (автоматическое и циклическое генерирование потенциалов действия, которые передаются атриальным и вентрикулярным кардиомиоцитам и вызывают их электрическое возбуждение и механическое сокращение) [29].

При таком подходе вся программа экспрессии генов меняется, что приводит к изменениям физиологических и морфологических свойств клеток. Интересно, что индуцированные клетки SAN обладали многими фенотипическими и функциональными характеристиками нативных клеток SAN11, что служит благоприятным перспективным признаком [12]. Более того, соматическое репрограммирование *in vivo* с помощью TBX18 создало биологический ритм кардиостимулятора в сердцах морских свинок, который не только происходил из места инъекции, но также реагировал на катехоламины [13]. Репрограммированные водители ритма следовали естественному суточному циклу подъёма и падения скорости сердечных сокращений, а также обеспечивали учащение сердцебиения при физических нагрузках [10].

Хронология биологических кардиостимуляторов. Трудно предсказать, сколько времени понадобится биологическим водителям ритма, чтобы внедриться и оказать существенное влияние на клиническую практику. Хронология разработки имплантируемого кардиовертера-дефибриллятора служит для этого полезным ориентиром. Первоначальная концепция, возникшая в середине 1960-х годов у кардиолога Мишеля Мировского, впервые была представлена в 1970 г. Идея не была признана со стороны кардиологов [30].

О первом клиническом применении имплантируемого кардиовертера-дефибриллятора сообщили через 10 лет. Были отобраны пациенты с повторяющимися эпизодами остановки

сердца, несмотря на обычную терапию. Имплантация была выполнена открытой торакотомией в 1980 г. в операционной больницы Джона Хопкинса кардиологом Мишель Мировским [31]. Устройство оказалось достаточно эффективным.

В течение следующих трёх десятилетий имплантация кардиовертера-дефибриллятора стала полностью чрескожной. Ежегодно кардиовертер-дефибриллятор профилактически имплантируют сотням тысяч пациентов [32]. Биологические кардиостимуляторы остаются на данный момент на доклинической стадии. Как и в случае с имплантируемым кардиовертером-дефибриллятором, эта технология не была признана сообществом кардиологов [33]. Только время покажет, преуспеет ли биологический кардиостимулятор в клинической практике, и, если да, насколько значительным будет эффект в реальности.

Заключение. В настоящее время одним из методов лечения нарушений проводящей системы служит применение ЭКС. При успешном тестировании биологические кардиостимуляторы могут предоставить терапевтическую альтернативу современным ЭКС [34]. Первым подходом к созданию биологического кардиостимулятора было экспрессирование β_2 -адренергических рецепторов в кардиомиоцитах для усиления пейсмекерной активности или создания пейсмекера *de novo*. Для этого гены, кодирующие β_2 -адренергические рецепторы, с помощью аденовирусного вектора были введены в кардиомиоциты правого предсердия у мышей и свиней. В обоих случаях базальный уровень частоты сердечных сокращений увеличился на 40–50%, однако новый очаг пейсмекерной активности в миокардиальной ткани создать не удалось.

Ещё одним вариантом увеличения частоты сердечных сокращений было использование доминантной негативной конструкции для уменьшения входящего ректифицирующего (выпрямляющего) калиевого тока, который сдвигает потенциал покоя в более позитивную сторону, увеличивая тем самым частоту сердечных сокращений. В данном случае, однако, большой проблемой оказалось расширение потенциала действия, что потенциально может привести к удлинению интервала QT и соответствующему проаритмогенному эффекту.

Одним из эффективных вариантов создания биологического кардиостимулятора оказалась трансфекция гена HCN2 в кардиомиоциты с помощью аденовируса. Исследования последних лет показали возможность трансплантационной

пересадки в миокард пейсмекероподобных кардиомиоцитов, полученных из эмбриональных стволовых клеток. Такие клетки экспрессируют ток If и ритмично сокращаются.

Таким образом, в перспективе существуют реальные возможности для создания биологических пейсмекеров, полученных при трансфекции миокардиальных клеток HCN генами, а также с использованием генетически модифицированных человеческих мезенхимальных стволовых клеток. Каждый из подходов (генный, клеточный, гибридно-клеточный, соматический репрограммирующий) имеет свои преимущества и недостатки, что предрасполагает к дальнейшему их изучению, усовершенствованию с целью внедрения биологического кардиостимулятора в клиническую практику.

Участие авторов. В.Н.О., А.Х.М., Д.Н.Н., Е.В.Х., Ю.В.О. приняли одинаковое участие в подготовке статьи.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson R.H., Boyett M.R., Dobrzynski H., Moorman A.F. The anatomy of the conduction system: implications for the clinical cardiologist. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2013; 6: 187–196. DOI: 10.1007/s12265-012-9433-0.
2. Anderson R.H., Ho S.Y. The architecture of the sinus node, the atrioventricular conduction axis, and the x atrial myocardium. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 1998; 9: 1233–1248. DOI: 10.1111/j.1540-8167.1998.tb00097.x.
3. Fortescue E.B., Berul C.I., Cecchin F., Walsh E.P., Triedman J.K., Alexander M.E. Patient, procedural, and hardware factors associated with pacemaker lead failures in pediatrics and congenital heart disease. *Hear. Rhythm.* 2004; 1: 150–159. DOI: 10.1016/j.hrthm.2004.02.020.
4. Dagdeviren C., Yan S., Joe P., Ghaffari R., Balooch G., Usgaonkar K., Onur Gur, Phat L.T., Jessi R.C., Meyer M., Yewang S.R., Webb C., Tedesco A.S. Conformal piezoelectric systems for clinical and experimental characterization of soft tissue biomechanics. *Nat. Mater.* 2015; 14: 728–736. DOI: 10.1038/nmat4289.
5. Dagdeviren C., Yan S., Joe P., Ghaffari R., Balooch G., Usgaonkar K., Onur Gur, Phat L.T., Jessi R.C., Meyer M., Yewang S.R., Webb C., Tedesco A.S. Conformal piezoelectric energy harvesting and storage from motions of the heart, lung, and diaphragm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111: 1927–1932. DOI: 10.1073/pnas.1317233111.
6. Haeberlin A., Zurbuchen A., Walpen S., Schaefer J., Niederhauser T., Huber C., Tanner H., Servatius H., Seiler J., Haeberlin H., Fuhrer J., Vogel R. The first batteryless, solar-powered cardiac pacemaker. *Heart Rhythm.* 2015; 12: 1317–1323. DOI: 10.1016/j.hrthm.2015.02.032.
7. Van Weerd J.H., Christoffels V.M. The formation and function of the cardiac conduction system. *Development.* 2016; 143: 197–210. DOI: 10.1242/dev.124883.

8. Cohen I., Brink P., Robinson B., Rosen M. The why, what, how and when of biological pacemaker. *Nature Clin. Pract.* 2005; 2: 374–375. DOI: 10.1038/ncpcardio0276.
9. Cingolani E., Marbán E. Recreating the sinus node by somatic reprogramming: a dream come true? *Rev. Esp. Cardiol.* 2015; 68: 743–745. DOI: 10.1016/j.rec.2015.04.011.
10. Hu Y.F., Dawkins J.F., Cho H.C., Marban E., Cingolani E. Biological pacemaker created by minimally invasive somatic reprogramming in pigs with complete heart block. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6: 245ra94. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008681.
11. Chauveau S., Anyukhovsky E.P., Ben-Ari M., Naor S., Jiang Y.P., Danilo P.Jr., Rahim T., Burke S., Qiu X., Potapova I.A. Induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes provide *in vivo* biological pacemaker function. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* 2017; 10: e004508. DOI: 10.1161/CIRCEP.116.004508.
12. Liechty K.W., Mackenzie T.C., Shaaban A.F., Radu A., Moseley A.B., Deans R., Marshak D.R., Flake A.W. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after *in utero* transplantation in sheep. *Nat. Med.* 2000; 6: 1282–1286. DOI: 10.1038/81395.
13. Lloyd M., Reynolds D., Sheldon T., Stromberg K., Hudna H.T., Demmer W.M., Omar R., Ritter P., Hummel J., Mont L., Steinwender C., Duray G.Z. Rate adaptive pacing in an intracardiac pacemaker. *Heart Rhythm.* 2017; 14: 200–205. DOI: 10.1016/j.hrthm.2016.11.016.
14. Edelberg J.M., Aird W.C., Rosenberg R.D. Enhancement of murine cardiac chronotropy by the molecular transfer of the human β_2 adrenergic receptor cDNA. *J. Clin. Invest.* 1998; 101: 337–343. DOI: 10.1172/JCI1330.
15. Edelberg J.M., Huang D.T., Josephson M.E., Rosenberg R.D. Molecular enhancement of porcine cardiac chronotropy. *Heart.* 2001; 86: 559–562. DOI: 10.1136/heart.86.5.559.
16. Riedel M., Jou C.J., Lai S., Lux R.L., Moreno A.P., Spitzer K.W., Christians E., Tristani-Firouzi M., Benjamin I.J. Functional and pharmacological analysis of cardiomyocytes differentiated from human peripheral blood mononuclear-derived pluripotent stem cells. *Stem. Cell Rep.* 2014; 3: 131–141. DOI: 10.1016/j.stemcr.2014.04.017.
17. Baruscotti M., Bucchi A., DiFrancesco D. Physiology and pharmacology of the cardiac pacemaker (“funny”) current. *Pharmacol. Ther.* 2005; 107: 59–79. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.01.005.
18. Zhang H., David H.L., Shlapakova I.N., Zhao X., Danilo P., Robinson R.B., Cohen I.S., Dan Qu, Zhiyun Xu, Rosen M.R. Implantation of sinoatrial node cells into canine right ventricle: Biological pacing appears limited by the substrate. *Cell Transplant.* 2011; 20 (11–12): 1907–1914. DOI: 10.3727/096368911X565038b.
19. Silva J., Rudy Y. Mechanism of pacemaking in I_{k1} -downregulated myocytes. *Circul. Res.* 2003; 92: 261–263. DOI: 10.1161/01.RES.0000057996.20414.C6.
20. Xu C., Police S., Rao N., Carpenter M.K. Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Circul. Res.* 2002; 91: 501–508. DOI: 10.1161/01.RES.0000035254.80718.91.
21. Xue T., Cho H.C., Akar F.G., Tsang S., Jones S.P., Marban E., Tomaselli G.F., Li R.A. Functional integration of electrically active cardiac derivatives from genetically engineered human embryonic stem cells with quiescent recipient ventricular cardiomyocytes: insights into the development of cell-based pacemakers. *Circulation.* 2005; 111: 11–20. DOI: 10.1161/01.CIR.0000151313.18547.A2.
22. Protze S.I., Liu J., Nussinovitch U., Ohana L., Backx P.H., Gepstein L., Keller G.M. Sinoatrial node cardiomyocytes derived from human pluripotent cells function as a biological pacemaker. *Nat. Biotechnol.* 2017; 35: 56–68. DOI: 10.1038/nbt.3745.
23. Kaupp U.B., Seifert R. Molecular diversity of pacemaker ion channels. *Annu. Rev. Physiol.* 2001; 63: 235–257. DOI: 10.1146/annurev.physiol.63.1.235.
24. Загидуллин Н.Ш., Загидуллин Ш.З. Возможности конструкции биологических водителей ритма сердца при поражении синусового узла (обзор литературы с собственными исследованиями). *Мед. вестн. Башкортостана.* 2008; 3 (1): 51–56. [Zagidullin N.Sh., Zagidullin Sh.Z. The opportunities of biological pacemakers construction by sinus node impairment. *Meditinskiy vestnik Bashkortostana.* 2008; 3 (1): 51–56. (In Russ)]
25. Загидуллин Н.Ш., Загидуллин Ш.З. Электрофизиологическая характеристика кардиоспецифических изоформ I_f канала. *Казанский мед. ж.* 2009; 90 (2): 27–31. [Zagidullin N.S., Zagidullin S.Z. Electrophysiological characterization of cardio specific isoforms of the I_f channel. *Kazan Medical Journal.* 2009; 90 (2): 27–31. (In Russ.)]
26. Plotnikov A.N., Shlapakova I., Szabolcs M.J., Jr P.D., Lorell B.N., Potapova I.A., Lu Z., Rosen A.B., Mathias R.T., Brink P.R., Robinson R.B., Cohen I.S., Rosen M.R. Xenografted adult human mesenchymal stem cells provide a platform for sustained biological pacemaker function in canine heart. *Circulation.* 2007; 116: 706–713. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.703231.
27. Cho H.C., Kashiwakura Y., Marban E. Creation of a biological pacemaker by cell fusion. *Circul. Res.* 2007; 100: 1112–1115. DOI: 10.1161/01.RES.0000265845.04439.78.
28. Bucchi A., Plotnikov A.N., Shlapakova I., Jr P.D., Kryukova Y., Qu J., Lu Z., Liu H., Pan Z., Potapova I., KenKnight B., Girouard S., Cohen I.S., Brink P.S., Robinson R.B., Rosen M.R. Wild-type and mutant HCN channels in a tandem biological-electronic cardiac pacemaker. *Circulation.* 2006; 114: 992–999. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.617613.
29. Kapoor N., Liang W., Marbán E., Cho H.C. Direct conversion of quiescent cardiomyocytes to pacemaker cells by expression of Tbx18. *Nature Biotechnol.* 2012; 31 (1): 54–62. DOI: 10.1038/nbt.2465.
30. Lown B., Axelrod P. Implanted standby defibrillators. *Circulation.* 1972; 46: 637–639. DOI: 10.1161/01.CIR.46.4.637.
31. Mirowski M., Philip R., Mower M.M., Watkins L., Gott V.L., Schauble J.F., Langer A., Heilman M.S., Kolenik S.A., Fischell R.E., Weisfeldt M.L. Termination of malignant ventricular arrhythmias with an implanted automatic defibrillator in human beings. *N. Eng. J. Med.* 1980; 303: 322–324. DOI: 10.1056/NEJM198008073030607.
32. Mond H.G., Proclemer A. The 11th world survey of cardiac pacing and implantable cardioverter-defibrillators: calendar year 2009 — a World Society of Arrhythmia’s project. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 2011; 34: 1013–1027. DOI: 10.1111/j.1540-8159.2011.03150.x.
33. Bolli R. Dandum semper est tempus: the crucial importance of (and increasing disregard for) the test of time. *Circul. Res.* 2015; 117: 755–757. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.307613.
34. Ослопов В.Н., Милютин О.И., Милютин И.И. Биологический водитель ритма: возможность и методы создания. *Практич. мед.* 2020; 18 (1): 32–37. [Osloпов V.N., Milyutina O.I., Milyutina I.I. Biological pacemaker: possibility and technique of development. *Prakticheskaya meditsina.* 2020; 18 (1): 32–37. (In Russ.)]