

Rendimiento de los Marcapasos Biológicos en Modelos Animales de Bloqueo AV: Una Revisión del Alcance

M. J. Galeano Blanco¹, C. Chapa González^{2*}

¹Ingeniería Biomédica, Universidad Autónoma de Bucaramanga, Bucaramanga, Colombia.

²Instituto de Ingeniería y Tecnología, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez, México

*christian.chapa@uacj.mx

Abstract—The electronic pacemakers have some complications and limitations for which in the last two decades it has been investigated about biological pacemakers as an alternative treatment. The present study undertakes a scoping review of research on biological pacemakers assessed in an in vivo model of complete heart block to determine which approach has promoted the greatest restoration of heart rate. To achieve that, some databases were used to identify papers published 2011-2021, from which we retrieved 151 papers and after the identification and screening process only 6 articles were included. Of these articles, 4 articles had a pig as an animal model and 2 rats. The most common approach to design a biological pacemaker is gene therapy, alone or with cells in a hybrid approach. Only one study had a cell-based approach, which also achieved the heart rate closest to the normal physiological range of pigs. For rat's models, the heart rate reported after the complete heart block were not physiologically relevant. In conclusion, the most promising therapy is the one based on cells, because it maintained the heart rate of the animal model within relevant physiological values over 2 weeks. In addition, to develop a permanent biological pacemaker is essential research about a better persistence of the expression for gene-based approach and long-term function assessment for any approach.

Palabras clave—Animal model, biological pacemaker, heart block, heart rate.

I. INTRODUCCIÓN

Una de las complicaciones cardíacas más graves es la disfunción del marcapasos, como el bloqueo cardíaco completo (también conocido como bloqueo cardíaco de tercer grado o bloqueo auriculoventricular AV) y el síndrome sinusal, que puede provocar insuficiencia cardíaca e incluso la muerte; para esta disfunción el marcapasos electrónico es el único tratamiento actual [1]. Varios estudios han reportado a cerca de las complicaciones de estos dispositivos, como lo son neumotórax, perforaciones, desprendimiento de cables, hematomas e infecciones, etc. [2], [3]. Los marcapasos electrónicos tienen además algunas limitaciones, como la interferencia electromagnética, la necesidad de una cirugía de trasplante, la falta de respuesta emocional, el tamaño fijo y el uso de baterías. [1].

Ante las complicaciones y limitaciones de los marcapasos electrónicos, el concepto de marcapasos biológico surgió como un tratamiento potencial para la disfunción del marcapasos. El primer artículo que data del

desarrollo de un marcapasos biológico se publicó en el 2002 utilizando un vector adenoviral en un enfoque de terapia génica [4]. Hasta el 2004 se publicó el primer marcapasos biológico basado en un enfoque híbrido gen-células, que consistía en células madre mesenquimales humanas (hMSC) que cargaban el gen marcapasos de ratón HCN2 (canal 2 activado por nucleótidos cíclicos activado por hiperpolarización) a través de electroporación en lugar de un vector viral como sistema de entrega de gen [5]. De esta manera, las investigaciones continuaron en los últimos 20 años y hasta el momento no existe una revisión previa que compare el rendimiento obtenido en modelos animales de los marcapasos biológicos. Por este motivo, se realizó una revisión de alcance para mapear sistemáticamente la investigación realizada en esta área y de esta manera entender el estado actual para orientar los trabajos de investigación futuros. Tomando la frecuencia cardíaca (FC) como parámetro clave para comparar los estudios, se formuló la siguiente pregunta de investigación: en los últimos 10 años, ¿qué enfoque de marcapasos biológico ha promovido la mayor restauración de la FC en animales con bloqueo cardíaco completo?

II. METODOLOGÍA

La revisión se realizó siguiendo la lista de verificación de elementos de informe preferidos para revisiones sistemáticas para revisiones de alcance (PRISMA-ScR), de esta manera:

A. Criterios de Elegibilidad

Los artículos debían ser publicados entre el período 2011-2021, escritos en inglés, centrados en la evaluación de marcapasos biológicos de cualquier enfoque (basado en células, en genes o un híbrido de gen-células) e incluía una evaluación cuantitativa de la FC en un modelo animal de bloqueo AV. Por el contrario, se excluyeron los artículos si eran de un tipo diferente a un artículo de investigación, no encajaban en el marco conceptual de este estudio (artículos irrelevantes), no realizaban un modelo animal de bloqueo AV, no teníamos acceso al artículo, los autores no hicieron un análisis estadístico, no se incluyó un grupo de control y si no se evaluó o informó la frecuencia cardíaca después del bloqueo AV.

B. Fuente de Información y Búsqueda

Para identificar los documentos potencialmente relevantes, se realizaron búsquedas en *Web of Science*, *PubMed* y *Scopus*. Para las tres bases de datos, la estrategia de búsqueda fue: *(biological) AND (pacemaker OR pacing) AND (cardiac or heart) AND ("in vivo" OR "animal model") AND (block OR blocked)*. No obstante, con las dos primeras fuentes, la estrategia de búsqueda se utilizó para *all fields*, mientras que con *Scopus* solo para *Title-abstract-keywords*. Los artículos se filtraron por tipo de documento (artículo de investigación) y se exportaron a la *Web Library de Mendeley*, en donde se eliminaron los duplicados.

C. Selección de Fuentes de Evidencia

La selección de títulos y resúmenes fue realizada mientras que se excluyeron los artículos de revisión, artículos de conferencias o aquellos no relacionados con modelos animales de bloqueo AV y para aquellos trabajos sin acceso, pero relevantes para este estudio, se envió un correo electrónico al autor para la correspondencia y a la biblioteca de la Universidad Autónoma de Bucaramanga para recuperarlos. Luego, se evaluaron los textos completos de todos los artículos potencialmente elegibles según los criterios de elegibilidad, para finalmente decidir si incluir o excluir los estudios.

D. Extracción de Datos

El mismo revisor desarrolló una tabla en Microsoft Excel para informar la especie del modelo animal de bloqueo AV, año de publicación, tipo de terapia utilizada, lugar de inyección del marcapasos biológico, vector viral (si se utilizó), tipo de células (si se utilizaron), la cronología de los procedimientos y los valores cuantitativos de la FC luego del bloqueo AV de los grupos experimentales de interés.

III. RESULTADOS

A. Selección de las Fuentes de Evidencia

La estrategia de búsqueda arrojó 29 documentos en *Web of Science*, 57 en *PudMed* y 65 en *Scopus*. Luego de pasar por las etapas de identificación y selección, seis artículos fueron incluidos en la revisión de alcance, como se evidencia en el diagrama de flujo de la figura 1.

A. Resultados de las Fuentes de Evidencia Individuales

De los seis artículos incluidos, cuatro fueron de un modelo porcino y dos murinos. La Tabla I relaciona los datos relevantes de cada fuente de evidencia.

El enfoque más común en el diseño de marcapasos biológico fue la terapia génica, sola [6]–[9] o con células en un enfoque híbrido [8], [10]. Entre los estudios que incluyeron terapia génica, el único sistema de administración de genes fue el vector viral, con un 80% usando adenovirus [6], [7], [9], [10] y un 60% bajo la expresión del factor de transcripción T-box 18 (Tbx18) [6], [8], [9]. En cuanto a la ubicación del marcapasos, en el 50% de los artículos el sitio

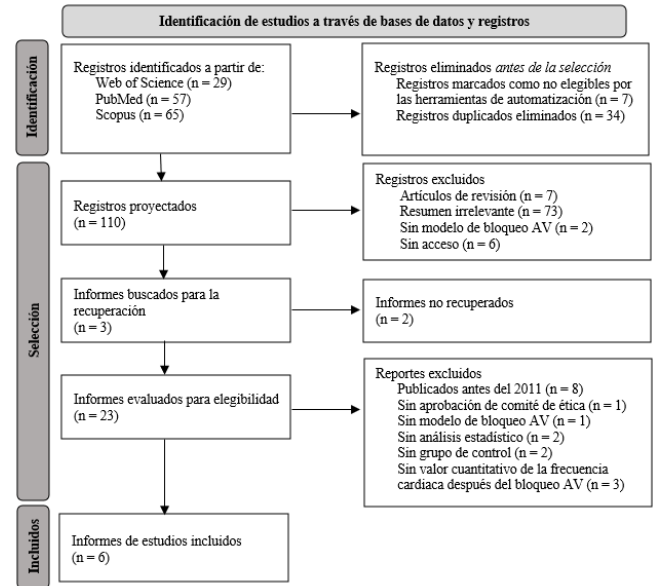


Fig. 1 Diagrama de flujo de la selección de las fuentes de evidencia de inyección fue el ventrículo izquierdo (VI) [7], [8], [11], el 33% fue el ventrículo derecho (VD) [9], [10] y en solo un artículo fue la región del haz de His [6].

En cuanto a los modelos porcinos, tres estudios inyectaron los marcapasos biológicos en el mismo momento del bloqueo AV, también utilizaron vectores adenovirales, pero los sitios de inyección fueron diferentes [6], [9], [10]. Mientras que, en otro estudio -también el único con una terapia basada en células- los autores ejecutaron el bloqueo AV cuatro semanas después de la inyección del marcapasos biológico, con el fin de lograr la diferenciación *in vivo* de hMSC derivadas de tejido adiposo (haMSC) con características de marcapasos cardíaco dado un cultivo previo en un medio celular personalizado (suplemento RPMI-B27 + BMP4) [11]. En relación con las evaluaciones de la FC, teniendo en cuenta que la FC normal fisiológicas de los cerdos es de 80-90 lpm [12], el diseño de marcapasos biológico que alcanzó el valor más cercano fue el de la terapia celular, en el cual se observaron ritmos ventriculares regulares y espontáneos a lo largo de 15 días luego del bloqueo AV, y al día 14 la FC fue de $72.2. \pm 3.6$ lpm en cerdos trasplantados con haMSC [11]. Sin embargo, estos animales siempre tenían un marcapasos electrónico como respaldo, programado a 80 lpm después del bloqueo cardíaco y un día después se establecieron en 40 lpm para los días siguientes, pero durante la evaluación de la frecuencia cardíaca se establecieron en 30 lpm. Adicionalmente, este marcapasos biológico era sensible a la estimulación catecolaminérgica y diferentes evaluaciones de los sitios de inyección mostraron abundante expresión de proteínas específicas de marcapasos en los canales 1 y 4 activados por hiperpolarización activados por nucleótidos cíclicos (HCN1 y HCN4), el canal de calcio Cav1.2, y las conexinas Cx31.9 y Cx45, además no se observó inflamación o signos de inmunorechazo o formación de tumores.

TABLA I
DATOS RELEVANTES DE CADA FUENTE DE EVIDENCIA

Ref	Animal	Basado en	Sitio de inyección	Vector Viral	Células	Aspectos remarcables	Frecuencia cardiaca (lpm)
[11]		Células	Pared libre VI	-	dhaMSCs	Marcapasos electrónico, inyecciones, 4 ws bloqueo AV, 14d evaluación FC	72.2 ± 3.6
[6]		Genes	Región del haz de Hiz	Adenovirus Tbx18	-	Marcapasos electrónico, bloqueo AV, inyecciones, 8 ws evaluación FC en el día, noche y media (24h) pero reportada por semana.	62.4 ± 3
[9]	Cerdos	Genes	Posteroseptum superior VD	Adenovirus Tbx18	-	Marcapasos electrónico, bloqueo AV, inyecciones, evaluación FC: 2-14d cada 3d	65 - 80
[10]		Gen-células	Pared libre VD	Adenovirus HCN4	MSCs	Bloqueo AV, marcapasos electrónico e inyecciones. 1 ws quitaron el marcapasos temporal. 1 - 4 ws evaluación FC por semana.	53 ± 5
[8]		Gen-células	Pared anterolateral VI	Lentivirus Tbx18	hiPSCMs	Inyecciones, 14d corazón perfundido tipo Langendorff, bloqueo AV y evaluación FC	93 ± 8
[7]	Ratas	Genes	Pared libre VI	Lentivirus Tbx18	-	Inyecciones, 5-7 d corazón perfundido tipo Langendorff, bloqueo AV y evaluación FC	77 ± 13
		Genes		Adenovirus SK4	-	Inyecciones, 5-7 d corazón perfundido tipo Langendorff, bloqueo AV y evaluación FC	98.1 ± 8.9
		Genes		Adenovirus HCN2	-	Inyecciones, 5-7 d corazón perfundido tipo Langendorff, bloqueo AV y evaluación FC	111.7 ± 5.5
		Genes		Adenovirus SK4/HCN2	-	Inyecciones, 5-7 d corazón perfundido tipo Langendorff, bloqueo AV y evaluación FC	139.9 ± 21.9

VI: ventrículo izquierdo; ws: semanas; Bloqueo AV: bloqueo auriculoventricular; FC: frecuencia cardíaca; dhaMSC: células madre mesenquimales humanas diferenciadas derivadas de tejido adiposo; lpm: latidos por minuto; Tbx18: factor de transcripción T-box 18; VD: ventrículo derecho; HCN4: canal 4 regulado por nucleótidos cíclicos activado por hiperpolarización; MSCs: células madre mesenquimales; hiPSCM: cardiomiocitos derivados de células madre humanas pluripotentes inducidas; SK4: Canales de potasio activados por calcio; HCN2: canal 2 regulado por nucleótidos cíclicos activado por hiperpolarización.

En los otros tres estudios de modelos porcinos, la FC no fue tan regular como en la terapia basada en células; de hecho, este parámetro fisiológico tendió a disminuir después de cierto punto, pero en general permaneció significativamente más alto que en el grupo de control. Veamos cada estudio.

Zhang et al. desarrollaron un marcapasos biológico autólogo utilizando un autoinjerto de hMSC obtenidas de la médula ósea de los cerdos y transfectadas con el vector de adenovirus del gen HCN4 [10]. Después de 2 semanas de autoinjerto, la FC y el porcentaje de latidos de estimulación del grupo experimental se volvieron significativamente más altos que en el grupo de control, 53 ± 5 lpm frente a 38 ± 4 lpm y $69 \pm 10\%$ frente a $28 \pm 8\%$, respectivamente. Además, estas dos medidas aumentaron desde la semana uno hasta la tres, a partir de lo cual disminuyeron.

Hu. et al. diseñaron un marcapasos biológico bajo el enfoque de "puente al dispositivo" para soporte cronotrópico temporal sin hardware [9]. En este artículo, después de 2 días de la entrega del gen, la FC fue significativamente mayor en los animales transducidos con Tbx18 en comparación con los grupos de control, lo que persistió por 2 semanas; después del día 11 la FC tuvo una tendencia a la baja.

Dawkins et al. investigaron si la estimulación biológica anterógrada podía prevenir o revertir la miocardiopatía inducida por estimulación del ventrículo derecho (PICM) [6]. Después de 1 semana de transferencia del gen Tbx18, la frecuencia cardíaca diurna (día/noche) y media por semana fue mayor en los cerdos inyectados con Tbx18 en comparación con el grupo de control y permaneció así hasta el final del estudio (8 semanas). En el último día, la FC fue de 70.3 ± 1.5 lpm en el día, 56.1 ± 0.6 en la noche y una media de 62.4 ± 3 lpm, requiriendo un $45 \pm 2.6\%$ de estimulación electrónica de respaldo, este requerimiento tuvo una tendencia ascendente a

lo largo de las semanas, mientras que la FC media tendió a disminuir. Otro resultado relevante fue la disminución progresiva de adenovirus intramiocárdico que expresaba Tbx18: en la semana cuatro se detectó un número mínimo de partículas virales y en la semana ocho no se encontró rastro alguno.

En cuanto a los estudios en ratas, estos fueron más similares, ambos utilizaron vectores virales, inyectaron el marcapasos biológico en el VI, implementaron un corazón perfundido tipo Langendorff a los pocos días, luego el bloqueo AV y las evaluaciones pertinentes [7], [8]. Con relación a la FC, dado que el rango normal fisiológico es 400-500 [7], ninguno de los estudios tuvo un valor cercano, siendo la mejor FC reportada por el marcapasos basado en la sobreexpresión de canales de potasio activados por calcio y canal 2 activado por nucleótidos cíclicos activado por hiperpolarización (SK4/HCN2) [7]. En este estudio, Zhao et al. evaluaron además marcapasos que consistían en la expresión SK4 y HCN2 por separado. La sobreexpresión de únicamente SK4 no aumentó significativamente la FC después del bloqueo cardíaco en comparación con el grupo de control. Por el contrario, la FC en el grupo SK4/HCN2 aumentó significativamente en comparación con SK4 o HCN2 (139.9 ± 21.9 lpm, 98.1 ± 8.9 lpm y 111.7 ± 5.5 lpm, respectivamente). Por otra parte, Gorabi et al. investigaron dos enfoques de marcapasos biológicos: entrega de genes de vectores lentivirales de Tbx18 y un enfoque híbrido gen-células utilizando cardiomiocitos derivados de células madre pluripotentes inducidos por humanos (hiPSCM) [8]. En este estudio, la FC en los grupos de intervención fue menor que en el grupo control (GFP) antes y después del bloqueo AV, siendo mayor la FC media de las ratas con células marcapasos Tbx18.

IV. DISCUSIÓN

En esta revisión de alcance, se identificaron únicamente seis estudios, lo que indica una escasez de investigación centrada en el desarrollo de marcapasos biológicos. De los artículos incluidos, solo aquellos con un modelo de cerdo tuvieron un valor de FC cercano al rango fisiológico normal, siendo el mejor enfoque el basado en células, no solo por la mayor FC, sino también porque fue el único estudio donde la frecuencia cardíaca se mantuvo casi constante durante todo el tiempo de observación (15 días), lo que indica una retención de la función marcapasos [11]. Por el contrario, en los otros tres estudios no se mantuvo la función marcapasos, evidenciado en la tendencia a la baja de la FC después de cierto punto [6], [9], [10]. Estos tres estudios tienen en común la implementación de vectores adenovirus, que es el vector viral más común actualmente utilizado en los ensayos clínicos [13]. Pero también, es conocido por su expresión transitoria, lo que significa que la expresión genética estará presente siempre que el virus y la proteína resultante sobrevivan en el hospedador [14]. En efecto, Dawkins et al. encontraron una disminución progresiva de la FC y de las partículas virales que se detectaron a lo largo del tiempo [6]. Sin embargo, en ninguno de los artículos incluidos se investigó la relación entre las partículas virales detectadas con el paso del tiempo con algún parámetro de funcionamiento del marcapasos biológico. Estos hallazgos indican que podría ser necesario un sistema de entrega de genes diferente a los adenovirus para lograr un marcapasos biológico permanente con una función a largo plazo asegurada [6], [9], [10], [14]. En cuanto al estudio basado en terapia celular, dado un periodo de observación de solo 15 días, es necesario estudios más extensos para que sea factible realizar pruebas clínicas. Por otro lado, el marcapasos biológico basado en terapia génica, específicamente en adenovirus, podría ser un enfoque prometedor para aplicaciones temporales como “puente al dispositivo” en pacientes dependientes de marcapasos con infecciones de hardware [9]. Por último, todos los estudios tienen su propia metodología, porque no existe un método estándar de cómo evaluar los marcapasos biológicos, de ahí que tuvieran diferentes métodos de bloqueo cardíaco, ubicación del marcapasos, tiempos entre procedimientos, etc. En consecuencia, podría ser relevante desarrollar una metodología estándar que oriente los estudios futuros.

V. CONCLUSIONES

Se encontró que el enfoque de marcapasos biológicos más prometedor es el basado en células haMSC, debido a que durante 2 semanas logró mantener la FC del modelo animal después del bloqueo AV dentro de valores fisiológicos relevantes. No obstante, aún queda mucho camino por recorrer y trabajo por hacer en el campo de marcapasos biológicos para poder comenzar con ensayos clínicos. Entre los temas de investigación sobresalientes que deben

abordarse se incluyen una mejor persistencia de expresión en el enfoque basado en genes y la evaluación de la función a largo plazo para cualquier enfoque, especialmente necesario para desarrollar marcapasos biológicos permanentes.

REFERENCIAS

- [1] Y. Li, K. Wang, Q. Li, and H. Zhang, “Biological pacemaker: from biological experiments to computational simulation,” *Journal of Zhejiang University: Science B*, vol. 21, no. 7, pp. 524–536, Jul. 2020, doi: 10.1631/JZUS.B1900632.
- [2] K. MS, P. MA, E. HJ, K. RV, and H. JE, “Complications related to permanent pacemaker therapy,” *Pacing and clinical electrophysiology : PACE*, vol. 22, no. 5, pp. 711–720, 1999, doi: 10.1111/J.1540-8159.1999.TB00534.X.
- [3] U. EO et al., “Incidence and predictors of short- and long-term complications in pacemaker therapy: the FOLLOWPACE study,” *Heart rhythm*, vol. 9, no. 5, pp. 728–735, May 2012, doi: 10.1016/J.HRTHM.2011.12.014.
- [4] J. Miake, E. Marbán, and H. B. Nuss, “Biological pacemaker created by gene transfer,” *Nature 2002 419:6903*, vol. 419, no. 6903, pp. 132–133, Sep. 2002, doi: 10.1038/419132b.
- [5] P. Irina et al., “Human mesenchymal stem cells as a gene delivery system to create cardiac pacemakers,” *Circulation research*, vol. 94, no. 7, pp. 952–959, Apr. 2004, doi: 10.1161/01.RES.0000123827.60210.72.
- [6] J. F. Dawkins et al., “Antegrade Conduction Rescues Right Ventricular Pacing-Induced Cardiomyopathy in Complete Heart Block,” *Journal of the American College of Cardiology*, vol. 73, no. 13, pp. 1673–1687, 2019, doi: 10.1016/j.jacc.2018.12.086.
- [7] H. Zhao et al., “Overexpression of the medium-conductance calcium-activated potassium channel (SK4) and the HCN2 channel to generate a biological pacemaker,” *Molecular Medicine Reports*, vol. 20, no. 4, pp. 3406–3414, 2019, doi: 10.3892/mmr.2019.10591.
- [8] A. M. Gorabi et al., “Functional biological pacemaker generation by T-Box18 protein expression via stem cell and viral delivery approaches in a murine model of complete heart block,” *Pharmacological Research*, vol. 141, pp. 443–450, 2019, doi: 10.1016/j.phrs.2019.01.034.
- [9] Y. F. Hu, J. F. Dawkins, H. C. Cho, E. Marbán, and E. Cingolani, “Biological pacemaker created by minimally invasive somatic reprogramming in pigs with complete heart block,” *Science Translational Medicine*, vol. 6, no. 245, Jul. 2014, doi: 10.1126/scitranslmed.3008681.
- [10] H. Zhang et al., “Autologous biological pacing function with adrenergic-responsiveness in porcine of complete heart block,” *International Journal of Cardiology*, vol. 168, no. 4, pp. 3747–3751, 2013, doi: 10.1016/j.ijcard.2013.06.012.
- [11] F. F. Darche et al., “In vivo cardiac pacemaker function of differentiated human mesenchymal stem cells from adipose tissue transplanted into porcine hearts,” *World journal of stem cells*, vol. 12, no. 10, pp. 1133–1151, Oct. 2020, doi: 10.4252/wjsc.v12.i10.1133.
- [12] “What is the normal heart and respiratory rate for pigs? – Hogs, Pigs, and Pork,” 2019. <https://swine.extension.org/what-is-the-normal-heart-and-respiratory-rate-for-pigs/> (accessed Jul. 20, 2021).
- [13] J. T. Bulcha, Y. Wang, H. Ma, P. W. L. Tai, and G. Gao, “Viral vector platforms within the gene therapy landscape,” *Signal Transduction and Targeted Therapy 2021 6:1*, vol. 6, no. 1, pp. 1–24, Feb. 2021, doi: 10.1038/s41392-021-00487-6.
- [14] Q. Jihong et al., “Expression and function of a biological pacemaker in canine heart,” *Circulation*, vol. 107, no. 8, pp. 1106–1109, Mar. 2003, doi: 10.1161/01.CIR.0000059939.97249.2C.