

## Editorial

## Recreación del nódulo sinusal mediante reprogramación somática: ¿un sueño hecho realidad?



## Recreating the Sinus Node by Somatic Reprogramming: A Dream Come True?

Eugenio Cingolani y Eduardo Marbán\*

Cedars-Sinai Heart Institute, Los Angeles, California, Estados Unidos

Historia del artículo:

On-line el 13 de julio de 2015

Los marcapasos electrónicos han sido el tratamiento estándar durante más de 50 años<sup>1</sup> para los pacientes con bradicardia sintomática causada por trastornos como el síndrome del seno enfermo, el bloqueo cardiaco completo y el bloqueo cardiaco congénito<sup>2</sup>. Los dispositivos electrónicos efectivos están sujetos a fallos de funcionamiento, retirada de generadores y electrodos, complicaciones relacionadas con los implantes e infecciones<sup>3</sup>. Aunque la incidencia no es alta, las infecciones asociadas al dispositivo continúan aumentando, afectan a más del 2% de los marcapasos implantados<sup>4</sup> y a menudo obligan a retirar por completo el dispositivo y aplicar un tratamiento con antibióticos sistémicos, a la hospitalización y a colocar un marcapasos de apoyo transitorio en los pacientes que dependen de él<sup>5</sup>. Otra población de riesgo importante en la que podrían aportar un beneficio los marcapasos biológicos son los fetos que presentan un bloqueo cardiaco congénito (con frecuencia relacionado con anticuerpos anti-Ro/SSA maternos)<sup>6</sup>. En estos casos no pueden utilizarse dispositivos electrónicos intrauterinos y a menudo se produce una hidropesía fetal de consecuencias mortales, debido a su incapacidad de mantener una frecuencia cardiaca que sea suficiente para asegurar la circulación<sup>7</sup>.

Como alternativa a los dispositivos electrónicos, tanto nuestro grupo<sup>8</sup> como otros investigadores<sup>9</sup> llevamos trabajando más de una década en el desarrollo de alternativas biológicas a los marcapasos electrónicos. Ha habido muchas contribuciones importantes en este campo, y a pesar de la visión favorable de la prensa general (por ejemplo, Briggs<sup>10</sup>), expertos en el tema<sup>11</sup> han expresado opiniones escépticas acerca de las perspectivas de aplicación clínica. El objetivo de este artículo editorial es examinar las diferentes estrategias de marcapasos biológicos, prestando especial atención a su potencial de traslación al ser humano.

**MARCAPASOS BIOLÓGICOS: ¿QUÉ ESTRATEGIA ES PREFERIBLE?**

En el ámbito preclínico se han estudiado diferentes enfoques: a) enfoques basados en células madre<sup>12</sup>; b) híbridos (enfoques basados en células y en genes)<sup>12</sup>; c) terapia génica con

sobreexpresión de un único canal iónico o combinaciones de varios<sup>12</sup> (lo que se denomina reingeniería funcional), y más recientemente, d) terapia génica para alcanzar una reprogramación somática<sup>13,14</sup>.

Se han utilizado diversas estrategias basadas en células madre, como las de células madre embrionarias<sup>15,16</sup> o células pluripotenciales inducidas, que son capaces de diferenciarse para dar lugar a células cardiacas con latido espontáneo y generar una actividad de marcapasos biológico a corto plazo. Aunque en general son eficaces, no están exentas de problemas: su injerto puede prender de manera limitada y es posible que se produzca un rechazo (que requiera tratamiento inmunosupresor), y pueden ser proarritmias, dada la heterogeneidad de la población de células obtenida con las técnicas actuales de aislamiento y purificación. Como resultado de esta heterogeneidad, las diferentes duraciones del potencial de acción (que afectan a la repolarización del miocardio) pueden crear un sustrato para la aparición de arritmias inducidas por una reentrada funcional.

Los enfoques híbridos, en los que las células madre se «cargan» con genes de canales iónicos, se han utilizado para aportar el gen de interés sin necesidad de un vector viral<sup>12</sup>. La mayor experiencia existente con este enfoque se ha obtenido con células madre mesenquimatosas humanas que han sido «cargadas» con una de las familias de genes operados por nucleótido cíclico activado por hiperpolarización (HCN, *hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide-gated*), que se encargan de la generación de la corriente *funny* (curiosa o rara) de marcapasos o  $I_f$ . La principal ventaja de este enfoque es que las células madre mesenquimatosas humanas son, en cierta medida, no inmunógenas. Por otra parte, tienden a migrar del lugar de inyección, con la posibilidad de crear múltiples focos ectópicos de automatismo<sup>17</sup>.

El primer marcapasos biológico obtenido *de novo* mediante terapia génica fue el creado por Miake et al<sup>18</sup> en 2002. La sobreexpresión de una mutación negativa dominante (Kir2.1 AAA) de la corriente rectificadora de entrada ( $I_{K1}$ ) convertía un miocito normalmente inactivo en un miocito oscilante, capaz de generar potenciales de acción espontáneos y una actividad de marcapasos biológico *in vivo*. Aunque este enfoque resultó eficaz, el uso de un gen mutante podría ser un problema para la traslación al ser humano, debido a cuestiones de seguridad y a dificultades de registro. Se han desarrollado otros abordajes centrados en la sobreexpresión de formas naturales o mutantes de la familia de genes HCN (encargados de la corriente de marcapasos o  $I_f$ ) en

\* Autor para correspondencia: Cedars-Sinai Heart Institute, 8700 Beverly Boulevard, Davis 1090, Los Angeles, California 90048, Estados Unidos.

Correo electrónico: Eduardo.Marban@csmc.edu (E. Marbán).

Full English text available from: [www.revscardiol.org/en](http://www.revscardiol.org/en)

diferentes modelos en animales pequeños y grandes. Aunque este enfoque tenía la ventaja de la expresión de un gen endógeno, las frecuencias cardíacas alcanzadas no fueron óptimas y los métodos de aplicación eran muy invasivos (abordaje mediante cirugía abierta o por vía arterial/izquierda)<sup>19</sup>.

A diferencia de los métodos de reingeniería funcional, la reprogramación somática intenta crear tejido de nodo sinusal genuino a partir de músculo cardíaco ordinario. Este enfoque comporta la reexpresión de un gen, el *TBX18*, que tiene un papel destacado en el desarrollo del nódulo sinoauricular (NSA) durante la vida embrionaria; esto basta para crear un marcapasos biológico *in situ*<sup>13,14</sup>. Inicialmente, los experimentos realizados *in vitro* demostraron la capacidad del gen *TBX18* humano para reprogramar los miocitos funcionantes normales para que actuaran como células marcapasos o células de NSA inducidas. Además, al inyectarlo en un modelo de bloqueo cardíaco en roedores, los animales con transducción de *TBX18* presentaron una actividad de marcapasos biológico que se originaba en el lugar de la inyección, según indicaban la morfología del QRS y el eje<sup>13</sup>. Al analizar las células de NSA inducidas mediante morfometría y técnicas moleculares, se observó que se parecían a las células de NSA nativas. Las células de NSA inducidas tienen una forma fina y alargada, un aumento de los niveles de *HCN2* (el gen de canal de marcapasos) y *conexina 45* (la unión de hendidura predominante en el NSA), y una disminución de *conexina 43* (la unión de hendidura predominante en el miocardio funcionante normal) y de  $I_{K1}$ <sup>13</sup>. Todas estas características de las células NSA inducidas con *TBX18* simulan las características propias de las células de NSA nativas.

Con el fin de caracterizar mejor los efectos del marcapasos biológico inducido por el *TBX18*, cuando se aplique de manera clínicamente realista, desarrollamos una modificación de un protocolo que ya habíamos descrito con anterioridad<sup>14,20</sup>. De forma resumida, se inyectó el *TBX18* (o un control), a través de un catéter venoso, en la parte posterior alta del tabique. Toda la intervención se llevó a cabo con métodos mínimamente invasivos y limitados al lado venoso. El catéter utilizado para la aplicación del *TBX18* se introdujo a través de la vena femoral y se ha utilizado ampliamente en ensayos de células madre en el ser humano<sup>21</sup>. Tiene interés señalar que los animales que recibieron el *TBX18* presentaron ritmos de biomarcapasos fisiológicamente pertinentes, que les permitieron alcanzar niveles de actividad física superiores a los de los animales de control de la misma edad. Por otra parte, los animales que recibieron el biomarcapasos necesitaron un uso mínimo de marcapasos electrónico de apoyo, a diferencia de los controles, en los que hubo una notable dependencia del marcapasos.

### SISTEMAS DE APLICACIÓN: ¿PREPARADOS PARA EL USO CLÍNICO?

Una consideración fundamental por lo que respecta a la aplicación de una terapia biológica (o de cualquier tratamiento) en los pacientes es el carácter no invasivo del método. Ningún médico contemplará la posibilidad de ofrecer a los pacientes una administración con cirugía a tórax abierto (salvo que exista una indicación adicional para practicar la intervención), ni siquiera un abordaje a través del lado izquierdo, con el consiguiente riesgo de hematoma e ictus. Como se ha descrito antes, recientemente hemos desarrollado un sistema mínimamente invasivo (basado en un catéter venoso) para aplicar nuestro gen de biomarcapasos sin necesidad de cirugía a corazón abierto ni de acceder a la circulación del lado izquierdo<sup>14,20</sup>. Esta técnica es una modificación de un cateterismo cardíaco que los clínicos emplean de manera habitual en el laboratorio de electrofisiología humana. Los genes se aplican

mediante un catéter comercial (NOGA Myostar™; Biological Delivery Systems, Diamond Bar, California, Estados Unidos) que puede introducirse hasta el corazón, elaborar un mapa electroanatómico tridimensional e inyectar el biomarcapasos, con un alto grado de precisión, mediante una aguja retráctil.

Otros grupos han propuesto la inyección en el haz izquierdo (a través de la circulación arterial) en casos de infecciones relacionadas con dispositivos<sup>22</sup>. El acceso al lado izquierdo del corazón puede tener consecuencias catastróficas, como ictus y complicaciones vasculares. En un reciente editorial de Rosen<sup>11</sup> se especula con la posibilidad de que pueda haber más riesgos al realizar una inyección en el lado derecho en el contexto de una infección de un dispositivo, pero esto es difícil de justificar dado el carácter sistémico de las infecciones diseminadas a través de la sangre. En nuestra opinión, una técnica de aplicación en el lado derecho, mínimamente invasiva, sería óptima para la traslación de esta tecnología al ámbito clínico.

### PRIMER ENSAYO EN EL SER HUMANO: ¿CUÁL SERÍA LA POBLACIÓN IDEAL?

Como clínicos y científicos, al desarrollar una nueva clase de agentes terapéuticos para tratar mejor a los pacientes es necesario centrarse primero en aquellos de riesgo que no tienen buen pronóstico o para los que no se dispone de otras alternativas favorables con los tratamientos actuales. Hay tres grupos de pacientes que satisfacen esos criterios: a) pacientes con infecciones relacionadas con marcapasos que presentan una dependencia de este y en quienes es necesario retirar el dispositivo para tratar de manera más efectiva la infección<sup>3</sup>; b) pacientes pediátricos con una cardiopatía congénita que presentan una anatomía desfavorable para el uso de dispositivos endovasculares, y que a menudo necesitan múltiples cambios del sistema cuando crecen y llegan a la vida adulta, y c) fetos con un bloqueo cardíaco congénito intrauterino, que con frecuencia desarrollan una hidropesía fetal que lleva a la muerte debido a la ausencia de tratamientos fiables<sup>7</sup>.

### CONCLUSIONES

La idea de recrear un nódulo sinusal mediante una sola inyección de un gen humano, evitando la necesidad de implantar dispositivos electrónicos, puede parecer una de esas narraciones se leen en las novelas de ciencia ficción<sup>23</sup>. Con la introducción de los sistemas de aplicación mínimamente invasivos, los nuevos agentes biológicos y la acumulación de datos de eficacia y seguridad obtenidos en modelos preclínicos de la enfermedad humana, es posible que muy pronto este sueño se convierta en realidad.

### FINANCIACIÓN

Financiado por NIH (*National Institutes of Health*)/NCATS (*National Center for Advancing Translational Science*) UCLA (*University of California, Los Angeles*) CTSI (*Clinical and Translational Science Institute*); subvención número UL1TR000124, Cedars-Sinai Board of Governors Heart Stem Cell Center, Estados Unidos.

### CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Chardack WM, Gage AA, Greatbatch W. A transistorized, self-contained, implantable pacemaker for the long-term correction of complete heart block. *Surgery*. 1960;48:643–54.
2. Tracy CM, Epstein AE, Darbar D, DiMarco JP, Dunbar SB, Mark Estes 3rd NA, et al. 2012 ACCF/AHA/HRS focused update of the 2008 guidelines for device-based therapy of cardiac rhythm abnormalities: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *Circulation*. 2012;126:1784–800.
3. Henrikson CA, Brinker JA. How to prevent, recognize, and manage complications of lead extraction. Part II: avoiding lead extraction–noninfectious issues. *Heart Rhythm*. 2008;5:1221–3.
4. Cabell CH, Heidenreich PA, Chu VH, Moore CM, Stryjewski ME, Corey GR, et al. Increasing rates of cardiac device infections among Medicare beneficiaries: 1990–1999. *Am Heart J*. 2004;147:582–6.
5. Sohail MR, Henrikson CA, Braid-Forbes MJ, Forbes KF, Lerner DJ. Mortality and cost associated with cardiovascular implantable electronic device infections. *Arch Intern Med*. 2011;171:1821–8.
6. Barrios Prieto E, Martínez Ceccopieri DA, Panduro Barón JG, Fajardo Dueñas S. Anticuerpos anti-Ro/SSA y bloqueo cardíaco congénito. *Ginecol Obstet Mex*. 2012;80:417–20.
7. Ambrosi A, Wahren-Herlenius M. Congenital heart block: evidence for a pathogenic role of maternal autoantibodies. *Arthritis Res Ther*. 2012;14:208.
8. Marbán E, Cho HC. Creation of a biological pacemaker by gene- or cell-based approaches. *Med Biol Eng Comput*. 2007;45:133–44.
9. Rosen MR. Conference report: building a biologic pacemaker. *J Electrocardiol*. 2007;40(6 Suppl):S197–8.
10. Briggs H. 'Biological pacemaker' tested in lab. *BBC Health News* (2014) [citado 20 Abr 2015]. Disponible en: <http://www.bbc.com/news/health-28325370>
11. Rosen MR. Gene therapy and biological pacing. *N Engl J Med*. 2014;371:1158–9.
12. Cho HC, Marbán E. Biological therapies for cardiac arrhythmias: can genes and cells replace drugs and devices? *Circ Res*. 2010;106:674–85.
13. Kapoor N, Liang W, Marban E, Cho HC. Direct conversion of quiescent cardiomyocytes to pacemaker cells by expression of *Tbx18*. *Nat Biotechnol*. 2013;31:54–62.
14. Hu YF, Dawkins JF, Cho HC, Marban E, Cingolani E. Biological pacemaker created by minimally invasive somatic reprogramming in pigs with complete heart block. *Sci Transl Med*. 2014;6:245ra94.
15. Gepstein L. Stem cells as biological heart pacemakers. *Expert Opin Biol Ther*. 2005;5:1531–7.
16. Xue T, Cho HC, Akar FG, Tsang SY, Jones SP, Marbán E, et al. 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.
17. Cingolani E. Biological pacemakers: ready for the clinic? *Trends Cardiovasc Med*. 2015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcm.2015.03.003>
18. Miake J, Marban E, Nuss HB. Biological pacemaker created by gene transfer. *Nature*. 2002;419:132–3.
19. Boink GJ, Christoffels VM, Robinson RB, Tan HL. The past, present, and future of pacemaker therapies. *Trends Cardiovasc Med*. 2015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcm.2015.02.005>
20. Cingolani E, Yee K, Shehata M, Chugh SS, Marbán E, Cho HC. Biological pacemaker created by percutaneous gene delivery via venous catheters in a porcine model of complete heart block. *Heart Rhythm*. 2012;9:1310–8.
21. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*. 2003;107:2294–302.
22. Bucchi A, Plotnikov AN, Shlapakova I, Danilo Jr P, Kryukova Y, Qu J, et al. Wild-type and mutant HCN channels in a tandem biological–electronic cardiac pacemaker. *Circulation*. 2006;114:992–9.
23. Borges JL. Ficciones. Buenos Aires: Editorial Sur; 1944.