

РОЛЬ ГЕННЫХ И КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В СОЗДАНИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПЕЙСМЕЙКЕРА

*Л. А. Бокерия**, *М. В. Еремеева*, *Ю. А. Чудиновских*

Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева (дир. – академик РАМН Л. А. Бокерия)
РАМН, Москва

Одним из знаменательных событий в медицине XX в. было создание искусственных водителей ритма – электронных кардиостимуляторов. С момента появления первого искусственного водителя ритма в 1957 г. электронные кардиостимуляторы показали себя с очень хорошей стороны и помогли спасти жизнь многим пациентам. Тем не менее, электронные кардиостимуляторы обладают и определенными недостатками. Во-первых, они не способны регулировать реакцию миокарда на физические и эмоциональные нагрузки. Во-вторых, масса электрокардиостимуляторов и размер электродов не всегда могут

оптимально соответствовать физическому росту и развитию пациента. В-третьих, из-за возможных смещений имплантированного электрода в сердце в некоторых случаях невозможна оптимальная активация возбуждения и сокращения миокарда. В-четвертых, искусственные водители ритма подлежат регулярному тестированию, и через каждые 5–10 лет следует проводить замену батареек. В-пятых, на работу электронного пейсмейкера могут оказывать влияние различные электронные приборы. Таким образом, необходим поиск альтернативного метода лечения нарушений ритма.

* Адрес для переписки: e-mail: leoan@online.ru

Одним из возможных решений этой проблемы стало создание биологического водителя ритма, который обладает некоторыми преимуществами перед электронными устройствами [1]. Во-первых, при биологической кардиостимуляции нет необходимости в имплантации электродов или замене аккумуляторного устройства. Во-вторых, биологический пейсмейкер генерирует устойчивый ритм в течение всей жизни организма. Но в то же время он обладает способностью адаптироваться к изменениям в организме человека, так как может отвечать на воздействие автономной нервной системы, изменяя частоту сердечных сокращений при физической нагрузке и в зависимости от изменений эмоционального статуса. В-третьих, имплантация биологического пейсмейкера осуществляется в зону, которая является оптимальной для активации и распространения возбуждения миокарда, что способствует улучшению эффективности сокращения миокарда и сердечного выброса. В-четвертых, при применении биологического пейсмейкера меньше риск индукции проаритмогенных эффектов или других осложнений, таких как воспаление, инфекция или неоплазия. Активное развитие генной и клеточной терапии в течение последних десятилетий позволяет надеяться, что такой биологический пейсмейкер будет создан и в арсенале антиаритмических методов появится новый способ лечения аритмий на основании патофизиологического подхода.

На сегодняшний день в экспериментальных исследованиях по разработке технологии биологического пейсинга применялись два основных подхода: введение специфических пейсмейкерных генов в составе плазмидных или вирусных векторов и использование различных типов стволовых клеток [1].

ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Генная терапия направлена на модификацию кардиомиоцитов, которые в результате применения технологий генной инженерии приобретают функции пейсмейкерных клеток. Генетическая модификация клеток приводит либо к увеличению экспрессии специфических пейсмейкерных генов, что способствует нарастанию генерируемой частоты сердечных сокращений за счет увеличения входящего ионного тока, либо к прекращению экспрессии определенных генов, что ведет к снижению генерируемой частоты в результате уменьшения выходящего ионного тока. С помощью этих электрических сигналов, генерируемых генетически модифицированными кардиомиоцитами и/или специализированными проводящими клетками, возможна трансформация частоты сердечных сокращений в доминантном пейсмейкере. Также

путем трансфекции генов с целью повышения автоматизма возможна модуляция ответа пейсмейкерных клеток на регуляцию со стороны вегетативной нервной системы [18].

Первые работы по созданию биологического пейсмейкера были направлены на активацию β_2 -адренорецепторов, что приводит к фосфорилированию соответствующих мембранных белков и усилению входящих токов. J. M. Edelberg и соавт. попытались создать биологический пейсмейкер по принципу стимуляции экспрессии генов β_2 -адренергических рецепторов в миокарде за счет введения в предсердия свиньи специально сконструированного плазмидного вектора с геном, кодирующим экспрессию β_2 -адренорецепторов [5]. В результате увеличивалась частота основного ритма, генерируемого в ткани предсердий в ответ на воздействие катехоламинов. Несмотря на привлекательность этой стратегии биологического пейсинга, отмечалась кратковременная эффективность в течение 24 ч. Также осталось неизвестным, произошла ли в данном случае коррекция нарушенной функции существующего пейсмейкера или появилась новая пейсмейкерная активность. В то же время не следует забывать и о потенциально возможных проаритмогенных эффектах от избыточного воздействия катехоламинов на сердце человека [5].

Сущность следующей стратегии, предложенной J. Miake и соавт., заключалась в манипуляции активностью калиевых ионных каналов кардиомиоцитов [11]. Для этой цели специальную генную конструкцию (аденовирусный вектор со встроенным мутантным геном *Kir 2.1*, кодирующим одну из белковых субъединиц калиевого ионного канала) вводили в миокард желудочков морской свинки. Через 3–4 дня после инъекции увеличивался автоматизм *in situ* (на электрокардиограмме регистрировался спонтанный ритм и потенциалы действия кардиомиоцитов), в изолированных кардиомиоцитах пролонгировалась 4-я фаза потенциала действия (деполяризация). Однако уменьшение реполяризующего калиевого ионного тока также приводило к пролонгированию реполяризации [11]. Главной опасностью применения этого биологического водителя ритма являются возможные проаритмогенные эффекты в связи с уменьшением ионного тока калия, что само по себе может стать причиной аритмии. В то же время до конца было не ясно, какой из входящих токов играл ключевую роль в пейсмейкерной функции в данном случае.

M. R. Rosen и соавт. провели ряд исследований, сосредоточенных на повышении интенсивности пейсмейкерного тока I_p , который в норме генерируется только в клетках синоатриального

узла [13, 17]. Пейсмейкерный ток, или ток автоматизма, — это уникальный ионный ток, формирующийся из ионов натрия и калия, не увеличивающий длительности потенциала действия и регулируемый автономной нервной системой [18]. Ионные каналы I_f состоят из белков семейства *HCN*, существующих в виде четырех изоформ ионных каналов *HCN* [2]. Первая, вторая и четвертая изоформы встречаются только в миокарде, третья — в головном мозге. Общим для всех изоформ этих ионных каналов является то, что они открываются во время гиперполяризации мембраны и пропускают внутрь ток ионов натрия, что играет ключевую роль в развитии функции водителя ритма, а процесс открытия-закрытия ионного канала регулируется циклическими нуклеотидами. Эти свойства ионных каналов играют важную роль в предотвращении развития проаритмогенных эффектов, потому что ток осуществляется только во время 4-й фазы и не происходит во время 2-й или 3-й фазы; таким образом, не происходит пролонгации потенциала действия, что могло бы привести к появлению аритмии. Все изоформы белка *HCN* имеют участок, связывающийся с цАМФ. В результате связывания с цАМФ происходит позитивная активация канала и быстро начинается 4-я фаза деполяризации [2]. Эта способность ионных каналов регулироваться цАМФ обеспечивает возможность автономного контроля за пейсмейкерной частотой. К настоящему времени уже начаты исследования по оценке возможности применения генов *HCN2* и *HCN4* для создания биологического пейсмейкера. В экспериментах использовались два вирусных вектора. Первый из них был аденовирус, который экспрессируется только в эписомах, поэтому через 2–4 нед его экспрессия в клетках прекращается. Вторым был лентивирус, который встраивается в геном клетки и в дальнейшем экспрессируется в течение всей жизни клетки.

Ж. Ци и соавт. в экспериментальном исследовании на собаках показали, что введенный в миокард левого предсердия ген *HCN2* мыши в составе аденовирусной конструкции, меченной флуоресцентной меткой (*HCN2+GFP*), хорошо экспрессируется в предсердиях (по данным иммунофлуоресцентной микроскопии), и спустя 3–4 дня в кардиомиоцитах регистрируется пейсмейкерный ток I_f . *In vivo* у всех четырех собак был выявлен левопредсердный спонтанный ритм при искусственно созданной атриовентрикулярной блокаде и введении *HCN2+GFP*, в то время как ни у одного животного в группе контроля, которым была введена только флуоресцентная метка GFP, не было выявлено источника спонтанного ритма в левом предсердии [16]. Кроме того, было определе-

но, что при инъекции конструкции *HCN2+GFP* в левое предсердие функция генерирования электрических импульсов чувствительна к воздействию катехоламинов или вагусной стимуляции и частота сердечных сокращений может соответственно увеличиваться или уменьшаться.

А. N. Plotnikov и соавт. показали на модели собак, что ген *HCN2*, введенный в левую ножку пучка Гиса в составе аденовирусной конструкции, хорошо экспрессируется в миокарде желудочков [12]. После инъектирования аденовирусной конструкции, содержащей ген *HCN2*, в проводящую систему левого желудочка посредством катетера под флуороскопическим контролем тем же собакам создавалась искусственная атриовентрикулярная блокада при стимуляции блуждающего нерва или радиочастотной абляции атриовентрикулярного узла. Через 4–7 дней после инъекции и угнетения активности синусного узла в месте инъекции определялся устойчивый ритм с частотой 50–55 уд/мин в покое. При воздействии катехоламинов частота увеличивалась до 90 уд/мин. Повышенная экспрессия *HCN2* подтверждена при проведении иммуногистохимического и биофизического исследований [12].

При оценке влияния частоты, генерируемой биологическим водителем ритма при создании мутантных или химерных ионных каналов, только в одном исследовании были получены удовлетворительные результаты [3]. При мутации E324A гена *HCN2* увеличивается чувствительность пейсмейкерных клеток к катехоламинам, что было продемонстрировано в биофизических исследованиях, но не было выявлено достоверных различий в сравнении с диким типом ионных каналов *HCN2* [3]. При создании химеры *HCN2/12* участок, который формирует пору, был представлен белком *HCN1*. Он легче активировался, чем *HCN2*, а амино- и карбокситерминальные участки представлены субъединицей *HCN2*, более точно отвечающей на воздействие цАМФ, чем *HCN1*. В результате было отмечено развитие тахикардии с частотой сердечных сокращений 220 уд/мин при блокаде I_f [13]. Однако в настоящее время не получена такая химерная конструкция, которая обеспечивала бы генерацию сердечного ритма 60–70 уд/мин и в то же время отвечала бы на автономную регуляцию со стороны вегетативной нервной системы [7, 13].

Следует отметить, что, несмотря на перспективность применения вирусных векторов, не получено доказательств долговременной экспрессии векторного гена в клетках хозяина. Например, геном аденовируса существует в виде эписом, которые в каждом цикле деления клетки подвергаются репликации с помощью ДНК-полимеразы

клетки. Вирусная ДНК может встраиваться линейно в геном инфицированной клетки, но и в этом случае в результате иммунного ответа организма возможна элиминация вируса и возвращение клетки в исходное состояние. Также могут возникать трудности при попадании *AdHCN2* в клетку, так как большинство людей ранее переносили простудные заболевания аденовирусной этиологии и у них возможно сохранение высокого титра антител к аденовирусному капсиду. Другие векторы, например РНК-содержащие ретровирусы, более эффективно передаются, интегрируются в геном и длительно экспрессируются, но в то же время они потенциально патогенны в связи с наличием онкогенных последовательностей [17].

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ

Вследствие того, что применение вирусных векторов сопряжено с определенным риском, в частности с передачей вирусных заболеваний, поиск других способов создания биологического водителя ритма продолжается. Одним из перспективных источников для создания биологического пейсмейкера являются эмбриональные клетки человека, которые можно культивировать и форсировать их дифференциацию в пейсмейкерные клетки [8]. Другой источник — это мезенхимальные стволовые клетки человека [14] и другие типы клеток, которые могут служить основой для доставки гена *HCN* в миокард [4].

Применение эмбриональных человеческих клеток

Эмбриональные стволовые клетки способны дифференцироваться в пейсмейкерные клетки. L. Gerstein и соавт. в качестве субстрата для создания биологического пейсмейкера использовали эмбриональные стволовые клетки [6]. При трансплантации в миокард желудочков свиньи с полной индуцированной атриовентрикулярной блокадой эмбриональные стволовые клетки человека проявляли пейсмейкерные функции спустя несколько месяцев [8]. Трансплантированные клетки образовывали функциональные соединения с кардиомиоцитами свиньи, что обеспечивало передачу электрического импульса и генерацию сердечного сокращения. Однако существуют факторы, препятствующие клиническому применению эмбриональных стволовых клеток, — это необходимость иммуносупрессии и их онкогенный потенциал. В то же время сохраняется возможность дифференцировки трансплантированных эмбриональных стволовых клеток в обычные кардиомиоциты, неспособные к генерации электрических импульсов [6].

Применение мезенхимальных стволовых клеток

В отличие от эмбриональных стволовых клеток мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки не способны спонтанно генерировать электрические импульсы, но у них имеются все необходимые ионные каналы для осуществления пейсмейкерной функции. В то же время коннексиновые соединения (Cx43 и Cx40) обеспечивают распространение тока между клетками по путям низкой резистентности [19]. Эти свойства мезенхимальных стволовых клеток делают их чрезвычайно привлекательными для создания биологического пейсмейкера. M. R. Rosen и соавт. в настоящее время продолжают исследования по созданию биологического пейсмейкера с помощью генных технологий (создание вирусных векторов, несущих пейсмейкерные гены), а также клеточной терапии. Согласно одной из гипотез биологический пейсмейкер может быть создан из эмбриональных стволовых клеток, дифференцирующихся в условиях *in vitro* в пейсмейкерные клетки, обладающие функцией автоматизма. Другим же направлением в разработке концепции биологического пейсинга является применение мезенхимальной стволовой клетки в качестве платформы для доставки пейсмейкерных генов (I_f -ионных каналов). Выявлено также, что при трансплантации в миокард они образуют межклеточные соединения с кардиомиоцитами, что обеспечивает эффективное распространение электрического импульса. В то же время происходит формирование участка в миокарде, клетки которого обладают функцией водителя ритма. M. R. Rosen и соавт. предложили гипотезу, согласно которой мезенхимальные стволовые клетки способны эффективно объединяться электрически друг с другом и с кардиомиоцитами. Электрическое объединение клеток возможно за счет повышенной экспрессии *HCN2* в трансфицированных геном *HCN2* мезенхимальных стволовых клетках. При этом мезенхимальные стволовые клетки способны к гиперполяризации, в то время как соседние миоциты находятся в состоянии реполяризации. При гиперполяризации генерируется входящий ионный ток, что приводит к инициации деполяризации и генерации потенциала действия в миоцитах. Таким образом, при функциональном объединении клеток мезенхимальная стволовая клетка обеспечивает деполяризацию, в то время как миоцит генерирует потенциал действия [12, 16].

A.V. Mattioli и соавт. на моделях поражений миокарда у экспериментальных животных наблюдали улучшение функционального состояния миокарда при применении клеточной терапии, однако

было выявлено возникновение аритмогенного субстрата при применении миобластов. Формирование аритмогенного субстрата с возможной индукцией развития ригентри было объяснено с позиций образования электрической гетерогенности миокарда вследствие различий в электрических свойствах мембран клеток реципиента и донора. Эти результаты экспериментальных исследований формирования аритмогенного субстрата при клеточной терапии, с точки зрения А. Mattioli и соавт., могут быть использованы при создании биологического пейсмейкера из стволовых клеток и разработке нефармакологического метода лечения фибрилляции предсердий. Возможно, что при применении клеточной терапии появится шанс контролировать ритм при фибрилляции предсердий нефармакологическим путем и не понадобится катетерная абляция для создания атриовентрикулярной блокады высокой степени [10].

И. Ротарова и соавт. трансфецировали мезенхимальные стволовые клетки человека геном, кодирующим синтез белков ионных каналов, ответственных за формирование ионного тока (*mHCN2*). *In vitro* трансфецированные клетки были культивированы совместно с кардиомиоцитами желудочка новорожденных крыс. Далее было выявлено, что в этой смешанной культуре клеток происходит генерация импульсов с частотой 161 ± 4 уд/мин в отличие от культуры, содержащей нетрансфецированные пейсмейкерным геном клетки (93 ± 16 уд/мин). На следующем этапе культура клеток, содержащая трансфецированные мезенхимальные стволовые клетки геном *HCN2*, вводилась собакам субэпикардially в стенку левого желудочка, а животным контрольной группы вводилась культура клеток с нетрансфецированными мезенхимальными стволовыми клетками. При выключении функции синусного узла сердце продолжало спонтанно сокращаться с частотой 45 ± 1 сокращений в минуту в группе экспериментальных животных, которым была введена контрольная культура в миокард. В группе животных, которым вводилась культура, содержащая трансфецированные мезенхимальные стволовые клетки, была отмечена генерация импульсов с частотой 61 ± 5 сокращений в минуту. При проведении иммуногистохимического исследования было выявлено, что мезенхимальные стволовые клетки человека формируют межклеточные соединения с кардиомиоцитами. В этом исследовании было продемонстрировано, что генетически модифицированные мезенхимальные стволовые клетки могут экспрессировать ген *HCN2* *in vitro* и *in vivo*. Таким образом, эта стратегия генетической модификации мезенхимальных стволовых клеток может использоваться при создании биологического

пейсмейкера в качестве системы доставки пейсмейкерных генов в миокард [15].

Американские исследователи Е. Marban и соавт. также ведут работы по созданию альтернативного биологического пейсмейкера из генетически модифицированных стволовых клеток для трансплантации в миокард [9].

Применение аутологических соматических клеток

Н. С. Cho и соавт. в качестве альтернативы электронному пейсмейкеру предложили метод конверсии кардиомиоцитов желудочков в пейсмейкерные клетки при слиянии с соматическими клетками. Для анализа этой гипотезы проводилось индуцированное химическим путем слияние миоцитов и сингенных фибробластов, генетически модифицированных и способных экспрессировать пейсмейкерный ген *HCN1* (*HCN1*-фибробласты). *HCN1*-фибробласты помещали вместе с изолированными кардиомиоцитами желудочков морской свинки в полиэтиленгликоль-1500. *In vivo* слившиеся клетки кардиомиоцит-*HCN1*-фибробласт спонтанно генерировали электрические импульсы. *In vivo* была зарегистрирована эктопическая желудочковая активность на стороне инъекции, при этом частота генерируемых импульсов увеличивалась при β -адренергической стимуляции. Этот метод чрезвычайно привлекателен тем, что он не связан с необходимостью применения вирусных векторов и стволовых клеток, так как в его основе лежит использование аутологических соматических клеток взрослого организма [4].

Появилась и новая стратегия под названием «тандемный пейсинг», когда у одного пациента применяется и биологический и электронный водитель ритма. М. R. Rosen и соавт. проводили оценку эффективности введения аденовирусного вектора, содержащего ген *HCN2*, в проводящую систему сердца собак с искусственно созданной атриовентрикулярной блокадой, а в правый желудочек вводили эндокардиальный электрод электронного пейсмейкера [3]. В дальнейшем было показано, что биологический пейсмейкер генерирует электрические импульсы более 70% всего времени и способен отвечать на воздействие катехоламинов. Стратегия тандемного пейсинга чрезвычайно привлекательна для применения в клинике, так как большую часть времени происходит генерация электрических импульсов в биологическом пейсмейкере, который, в свою очередь, отвечает на стимуляцию со стороны нервной системы и служит как бы дополнительным компонентом функции сердца человека, в то время как более экономично работает электронный пейсмейкер. Записывающее устройство электрического водителя ритма

в дальнейшем позволяет кардиологу получить важную информацию об эффективности функционирования и биологического и электронного пейсмейкера [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя данные проведенных исследований можно сделать вывод, что стратегия создания биологического водителя ритма перспективна и биологический пейсмейкер имеет ряд преимуществ по сравнению с электронным. Дальнейшие исследования должны быть направлены в первую очередь на сравнение эффективности биологического и электронного водителей ритма. Теоретически биологический пейсмейкер имеет ряд преимуществ перед электронным: длительность его действия не ограничена, он способен реагировать на физиологические изменения в организме, нет потребности в замене батареек и электродов, меньше риск развития инфекционных осложнений, воспаления и новообразований. Однако не следует забывать о проаритмогенном потенциале. В настоящее время говорить о начале клинического применения биологических водителей ритма еще рано, так как не выработана четкая и эффективная стратегия создания и функционирования безопасного биологического пейсмейкера. Какой участок является наиболее оптимальным для имплантации пейсмейкерных клеток? Есть ли у них способность к миграции? Прежде чем применять биологический кардиостимулятор, необходимо получить ответы на эти вопросы. Кроме того, в наше время электронные водители ритма переживают пик своей популярности, поэтому потребуется определенное время для того, чтобы применение биологических пейсмейкеров стало общепринятым методом лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Розенштраух, Л.В. Создание биологического водителя ритма сердца / Л. В. Розенштраух // Природа. — № 7. — 2005.
2. Biel, M. Cardiac *HCN* channels structure, function, and modulation / M. Biel, A. Schneider, C. Wahl et al. // Trends Cardiovasc. Med. — 2002. — Vol. 12. — P. 202–216.
3. Bucchi, A. Wild-type and mutant *HCN* channels in a tandem biological-electronic cardiac pacemaker / A. Bucchi, A. N. Plotnikov, I. Shlapakova et al. // Circulation. — 2006. — Vol. 114. — P. 992–999.
4. Cho, H. C. Creation of a biological pacemaker by cell fusion / H. C. Cho, Y. Kashiwakura, E. Marbán et al. // Circ. Res. — 2007. — Vol. 100. — P. 1112–1115.
5. Edelberg, J. M. Molecular enhancement of porcine cardiac chronotropy / J. M. Edelberg, D. T. Huang, M. E. Josephson et al. // Heart. — 2001. — Vol. 86. — P. 559–562.
6. Gepstein, L. Experimental molecular and stem cell therapies in cardiac electrophysiology / L. Gepstein et al. // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 2008. — Vol. 1123. — P. 224–231.
7. Kashiwakura, Y. Gene transfer of a synthetic pacemaker channel into the heart: a novel strategy for biological pacing / Y. Kashiwakura, H. C. Cho, A. S. Barth et al. // Circulation. — 2006. — Vol. 114. — P. 1682–1686.
8. Kehat, I. Electromechanical integration of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells / I. Kehat, L. Khimovich, O. Caspi et al. // Nat. Biotechnol. — 2004. — Vol. 22. — P. 1282–1289.
9. Marban, E. Biological pacemakers as a therapy for cardiac arrhythmias / E. Marban, H. C. Cho // Curr. Opin. Cardiol. — 2008. — Vol. 23 № 1. — P. 46–54.
10. Mattioli, A.V. Cell therapy and arrhythmias: state of the art / A.V. Mattioli // G. Ital. Cardiol. — 2008. — Vol. 9, № 4. — P. 251–261.
11. Miake, J. Gene therapy: biological pacemaker created by gene transfer / J. Miake, E. Marban, H. B. Nuss // Nature. — 2002. — Vol. 419. — P. 132–133.
12. Plotnikov, A. N. A biological pacemaker implanted in the canine left bundle branch provides ventricular escape rhythms having physiologically acceptable rates / A. N. Plotnikov, E. A. Sosunov, J. Qu et al. // Circulation. — 2004. — Vol. 109. — P. 506–512.
13. Plotnikov, A. N. *HCN2/12*-channel biological pacemakers manifesting ventricular tachyarrhythmias are responsive to treatment with I_f blockade / A. N. Plotnikov, A. Bucchi, I. Shlapakova et al. // Heart Rhythm. — 2008. — Vol. 5. — P. 282–288.
14. Plotnikov, A. N. Xenografted adult human mesenchymal stem cells provide a platform for sustained biological pacemaker function in canine heart / A. N. Plotnikov, I. Shlapakova, M. J. Szabolcs et al. // Circulation. — 2007. — Vol. 116. — P. 706–713.
15. Potapova, I. Human mesenchymal stem cell as a gene delivery system to create cardiac pacemakers / I. Potapova, A. Plotnikov, Z. Lu et al. // Circ. Res. — 2004. — Vol. 94. — P. 952–959.
16. Qu, J. Expression and function of a biological pacemaker in canine heart / J. Qu, A. N. Plotnikov, P. Danilo et al. // Circulation. — 2003. — Vol. 107. — P. 1106–1109.
17. Rosen, M. R. Cardiac pacing. From biological to electronic or to biological? / M. R. Rosen, P. R. Brink, I. S. Cohen et al. // Circulation: arrhythmia and electrophysiology. — 2008. — Vol. 1. — P. 54.
18. Rosen, M. R. Genes, stem cells and biological pacemakers / M. R. Rosen, P. R. Brink, I. S. Cohen et al. // Cardiovasc. Res. — 2004. — Vol. 64. — P. 12–23.
19. Valiunas, V. Human mesenchymal stem cells make cardiac connexins and form functional gap junctions / V. Valiunas, S. Doronin, L. Valiuniene et al. // J. Physiol. — 2004. — Vol. 555. — P. 617–626.