

## 心肌保护治疗研究临床前评估改进标准解读

汪莉莉 易钰涵 赵蕾

[关键词] 心肌保护; 动物实验; 缺血再灌注损伤; 临床试验

[中图分类号] R54 [文献标志码] A [文章编号] 1007-5062(2024)09-1007-04

目前, 心血管疾病尤其是冠状动脉粥样硬化性心脏病 (coronary atherosclerotic heart disease, CAHD), 是全球发病率和死亡率最高的疾病之一<sup>[1-2]</sup>, 而急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是 CAHD 最主要的死亡原因<sup>[3]</sup>。对于 AMI 而言, 及时恢复血流灌注能够有效减小患者的梗死面积, 但同时可导致心肌细胞进一步损伤, 这种现象被称为心肌缺血再灌注损伤 (ischemia-reperfusion injury, IRI)<sup>[4]</sup>。目前, 多种心肌保护疗法聚焦于预防或减少 IRI<sup>[5]</sup>, 以延缓梗死后心力衰竭的发展, 包括缺血预适应 (ischemic preconditioning, IPC)、缺血后适应 (ischemic postconditioning, IPost) 和远程缺血预适应 (remote ischemic preconditioning, RIC)<sup>[6-7]</sup>。

然而, 虽然多项心肌保护措施在动物实验中显示出良好效果, 但却未在临床试验中取得积极结果<sup>[5-10]</sup>。心肌保护疗法临床转化失败的问题已经成为 2011 年至 2021 年间, 该领域前 10 篇高被引文献的聚焦热点, 反映出了当前该领域的主要研究挑战<sup>[8]</sup>。究其原因, 可能源于实验设计不严谨、临床合并症的存在以及动物实验与临床试验的终点差异等<sup>[6-7, 11]</sup>。研究指出, 在心血管领域的顶级期刊上发表的文章中, 仅有少数研究遵循了随机化、盲法及样本量估计等关键的实验设计原则<sup>[11]</sup>。这表明大量设计不严谨的动物实验研究可能导致了错误的研究结论, 进而降低了新型心肌保护疗法治疗效果的重复性。此外, 在动物实验阶段, 通常选择年轻及健康的动物<sup>[6-8, 10]</sup>, 以准确评估新型疗法缩小梗死面积的治疗效果<sup>[10, 12]</sup>。但在真实临床情境中, 患者通常合并多种危险因素和并发症<sup>[6-8, 10]</sup>, 且除梗死面积外, 心功能的长期变化情况对其预后水平也至关重要。这

种动物实验与临床试验间和受试对象和实验目标的差异进一步导致了新型心肌疗法临床转化的失败。为此, 欧盟心脏保护科技合作组织 (the European union cardioprotection cooperation in science and technology) 组织集结了一批专家, 启动了“CA16225”项目<sup>[13]</sup>, 在 2021 年提出了“改进心肌保护治疗研究临床前评估” (improving preclinical assessment of cardioprotective therapies, IMPACT) 标准<sup>[14]</sup>, 并建立了一个新型心肌保护疗法的多中心临床前研究网络。IMPACT 标准旨在通过严谨的实验设计, 筛选出有潜力进入临床试验的干预措施, 以促进新型心肌保护疗法从动物实验到临床试验的成功转化。本文对 IMPACT 标准进行以下解读。

一、改进心肌保护治疗研究临床前评估标准的总体原则

为提高临床转化效率, IMPACT 标准制定了一套从小型至大型动物模型的多步骤在体评估流程, 并在此基础上制定了详细的最低标准和推荐标准, 以筛选出适合进行临床试验的干预措施 (图 1)。

为增加实验设计的严谨性, IMPACT 标准参考既往关于动物实验的一般<sup>[11, 15-16]</sup>及特殊<sup>[12, 17]</sup>要求, 在实验设计方面中提出了具体要求。内容如下: ①为减少偏倚, 实验动物应按随机化原则进行分组, 若条件允许, 治疗分配及结果分析应进行盲法处理; ②研究人员需提前明确纳入和排除标准, 并在研究中详细说明; ③为确保统计功效, 应根据预期成效以及梗死面积和微循环阻塞 (microvascular obstruction, MVO) 测量的重复性差异, 提前明确所需的样本量。④实验评估的主要终点指标为梗死面积, 但应考

基金项目: 北京市自然科学基金 (7222302)

作者单位: 100029 首都医科大学附属北京安贞医院-北京市心肺血管疾病研究所 医学影像科

通信作者: 赵蕾, 博士, 主任医师, 医学影像学, 心血管影像。Email: s2006430@126.com

考虑进行包括 MVO 在内的综合评估；⑤终点指标的评估应严格遵循盲法原则。

为确保心肌保护研究的结果具备可重复性，IMPACT 标准倡导实施多中心研究。目前，已有多个聚焦于心肌保护的研究联盟成立，如心脏保护干预措施临床前评估联盟<sup>[18-21]</sup>和西班牙心血管生物研究网络中心发起的大型动物心肌保护研究平台<sup>[22]</sup>。这些联盟致力于探索新型心肌保护疗法的有效性和可重复性，以促进其向临床试验的顺利转化，对心肌保护研究具有重要意义。

基于严格的实验设计要求和多中心评估，IMPACT 标准规范了心肌保护领域的动物实验，并通过多中心的数据积累和对比分析，为心肌保护研究结果的有效性和可重复性提供了更加严密及全面的临床前评估。在此基础上，IMPACT 标准逐步探索新型疗法在不同模型中的心肌保护效能，为进一步临床试验奠定了坚实的基础。

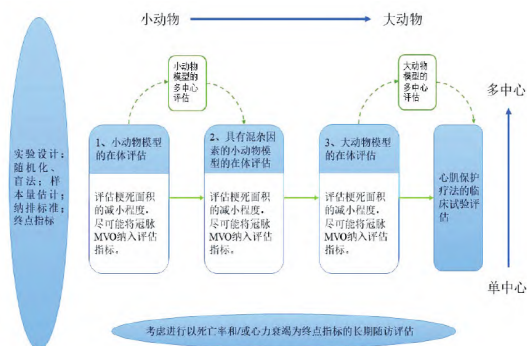


图 1 改进心肌保护治疗研究临床前评估标准的总体框架  
注：微循环栓塞 (microvascular obstruction, MVO)

## 二、改进心肌保护治疗研究临床前评估标准的具体内容

1. 第一步：在健康小动物模型中完成在体评估  
为模拟真实世界的临床情境，IMPACT 标准指出，需

表 1 IMPACT 标准关于新型心肌保护治疗研究临床前评估的具体内容

项目	第 1 步	第 1 步 (可选)	第 2 步	第 3 步	第 3 步 (可选)
最低标准	1、至少在一种小动物模型中完成在体评估 (如小鼠、大鼠或兔子)	1、至少在一种小动物模型中完成在体评估	1、在具有至少一种混杂因素的小动物模型中完成在体评估 (如年龄、糖尿病和抗血小板治疗)	1、至少在一种大动物模型中完成在体评估, 如猪。	1、至少在 3 个中心内完成评估
	2、完成单中心评估	2、至少在 3 个中心内完成评估	2、建立急性 IRI 模型 (再灌注至少持续 2h, 建议延长至 24h)	2、完成单中心评估	2、建立急性 IRI 模型 (再灌注至少持续 2h, 建议延长至 72h)
	3、建立急性 IRI 模型 (再灌注至少持续 2h, 建议延长至 24h)	3、建立急性 IRI 模型 (再灌注至少持续 2h, 建议延长至 24h)	3、评估指标为梗死面积与危险区的比值, 建议将冠状动脉 MVO 纳入评估指标。	3、建立急性 IRI 模型 (再灌注至少持续 2h, 建议延长至 72h)	3、评估指标为梗死面积与危险区的比值, 建议将冠状动脉 MVO 纳入评估指标。
	4、评估指标为梗死面积与危险区的比值, 建议将冠状动脉 MVO 纳入评估指标。	4、评估指标为梗死面积与危险区的比值, 建议将冠状动脉 MVO 纳入评估指标。		4、评估指标为梗死面积与危险区的比值, 建议将冠状动脉 MVO 纳入评估指标。	
推荐标准	1、至少在 2 个物种中完成在体评估	1、至少在 2 个物种中完成在体评估	1、在不同性别、至少具有 2 种混杂因素的小动物模型中完成在体评估。	1、在不同性别、至少具有 2 种混杂因素的小动物模型中完成在体评估。	1、至少在 2 个物种中完成在体评估
	2、建立慢性 IRI 模型 (再灌注至少持续 28 天)	2、建立慢性 IRI 模型 (再灌注至少持续 28 天)	2、建立慢性 IRI 模型 (再灌注至少持续 28 天)	2、建立慢性 IRI 模型 (再灌注至少持续 3 个月)	2、建立慢性 IRI 模型 (再灌注至少持续 3 个月)
	3、评估指标为梗死面积与左心室质量的比值及左心室重构水平 (评估时间至少持续至恢复血流灌注后 28d)	3、评估指标为梗死面积与左心室质量的比值及左心室重构水平 (评估时间至少持续至梗死后 28d)	3、评估指标为梗死面积与左心室质量的比值及左心室重构水平 (评估时间至少持续至梗死后 28d)	3、评估指标为梗死面积与左心室质量的比值及左心室重构水平 (评估时间至少持续至梗死后 3 个月)	3、评估指标为梗死面积与左心室质量的比值及左心室重构水平 (评估时间至少持续至梗死后 3 个月)

注: IRI: 缺血再灌注损伤

建立急性心肌缺血及再灌注模型<sup>[2]</sup>, 具体内容见表 1<sup>[14]</sup>。考虑到不同模型心脏大小和形态的差异, 实验的终点评估指标应是梗死面积与危险区的比值, 通常用百分比表示。但鉴于 MVO 在心肌损伤和修复中的核心作用, IMPACT 标准推荐将其也纳入终点指标。此外, 推荐标准则建议至少在两种小动物中随访长期结果, 以实现更全面的评估。

2. 第二步: 在具有混杂因素的小动物模型中完成在体评估

临床合并症的存在和用药是影响新型心肌保护疗法临床转化的关键因素<sup>[6-8, 10]</sup>。在健康模型中完成评估后, IMPACT 标准要求至少在至少具有一种混杂因素的动物模型中进一步评估。

研究指出, 糖尿病和高脂血症会减弱 IPC、IPost 和 RIC 等干预措施的心脏保护效能<sup>[6-7, 23]</sup>。Ruiz 等<sup>[24]</sup>的研究表明, 年龄是影响心肌保护疗法干预效果的独立因素。此外, 抗血小板治疗在心梗患者中的广泛应用也是一个需要着重考量的因素。因此, IMPACT 标准推荐在动物实验阶段, 将代谢性疾病、年龄和抗血小板治疗考虑在内。更高的评估标准则要求在不同性别且具有多种混杂因素的动物模型中实施干预措施<sup>[25]</sup>, 并进行心功能的长期随访评估。

3. 第三步: 在大动物模型中完成在体评估

在开展临床试验之前, 必须在大动物模型中准确评估新型心肌保护疗法的有效性和安全性。鉴于与人类心脏解剖和梗死分布的相似性, 猪通常是此类研究的首选动物模型<sup>[26]</sup>。与小动物模型不同的是, 在大动物模型中, IMPACT 标准建议在再灌注后 72h 测量终点指标。此外, 为实现更全面的评估, 研究至少还需在再灌注 3 个月对动物心脏进行病理检查和磁共振成像。

为提高研究结果的可信度和可重复性, 完成单中心大动物模型的在体评估后, IMPACT 标准推荐进一步开展多中心评估。这种大动物模型的多中心实验合作和数据共享, 充分考虑了实验条件的多样性和复杂性, 对心肌保护研究的临床转化至关重要。

三、小结

- 综上所述, IMPACT 标准通过严谨的实验设计规范了心肌保护领域的动物实验, 强调了多中心合作和标准化流程的重要性, 并在此基础上倡导建立更符合真实临床情境的动物模型, 对心肌保护研究具有重要意义。然而, 该标准所倡导的一些在体评估步骤, 如建立大动物模型, 需要较高的资金投入和复杂的实验操作, 限制了其广泛应用。此外, 由于动物和人类心肌在解剖和生理上的差异, 心肌

保护疗法在两者之间的最佳作用时间点和机制可能也有所不同。因此, 在实际应用中, 仍需权衡考虑不同物种之间的差异性、实验设计的一致性以及干预时间点的重要性, 以提高研究结果的可靠性和可重复性。最后, 期待通过 IMPACT 标准, 未来的心肌保护研究更加规范严谨, 从而提高基础研究的临床转化率, 最终实现减少急性心肌梗死患者再灌注损伤、改善预后的目标。

## 参考文献

- [1] 左璐, 王媛, 肖园. 冠状动脉 CTA 评价冠心病患者斑块和血清标志物预后关系的研究 [J]. 心肺血管病杂志, 2023, 42(10): 1067-1072.
- [2] Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target [J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 92-100.
- [3] 刘璐璐, 何华. 细胞外囊泡在急性心肌梗死治疗中的研究进展 [J]. 心肺血管病杂志, 2024, 43(4): 429-432.
- [4] Basalay MV, Yellon DM, Davidson SM. Targeting myocardial ischaemic injury in the absence of reperfusion [J]. Basic Res Cardiol, 2020, 115(6): 63.
- [5] Heusch G. Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective [J]. Nat Rev Cardiol, 2020, 17(12): 773-789.
- [6] Ferdinandy P, Andreadou I, Baxter GF, et al. Interaction of cardiovascular nonmodifiable risk factors, comorbidities and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by pharmacological treatments and ischemic conditioning [J]. Pharmacol Rev, 2023, 75(1): 159-216.
- [7] Ferdinandy P, Hausenloy DJ, Heusch G, et al. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning [J]. Pharmacol Rev, 2014, 66(4): 1142-1174.
- [8] Bai M, Zhang J, Chen D, et al. Insights into research on myocardial ischemia/reperfusion injury from 2012 to 2021: A bibliometric analysis [J]. Eur J Med Res, 2023, 28(1): 17.
- [9] Cour M, Lecour S. Remote ischaemic conditioning: In search of a suitable match [J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(12): 704-705.
- [10] Heusch G. Critical issues for the translation of cardioprotection [J]. Circ Res, 2017, 120(9): 1477-1486.
- [11] Ramirez FD, Motazedian P, Jung RG, et al. Methodological rigor in preclinical cardiovascular studies: Targets to Enhance reproducibility and promote research translation [J]. Circ Res, 2017, 120(12): 1916-1926.

- [ 12 ] Botker HE, Hausenloy D, Andreadou I, et al. Practical guidelines for rigor and reproducibility in preclinical and clinical studies on cardioprotection [ J ] . Basic Res Cardiol, 2018, 113(5): 39.
- [ 13 ] Hausenloy DJ, Heusch G. Translating cardioprotection for patient benefit: The EU-CARDIOPROTECTION COST action [ J ] . J Am Coll Cardiol, 2019, 73(15): 2001-2003.
- [ 14 ] Lecour S, Andreadou I, Botker HE, et al. Improving preclinical assessment of cardioprotective therapies (IMPACT) criteria: Guidelines of the EU-CARDIOPROTECTION COST action [ J ] . Basic Res Cardiol, 2021, 116(1): 52.
- [ 15 ] Danos O, Davies K, Lehn P, et al. The ARRIVE guidelines, a welcome improvement to standards for reporting animal research [ J ] . J Gene Med, 2010, 12(7): 559-560.
- [ 16 ] Hooijmans CR, de Vries R, Leenaars M, et al. Improving planning, design, reporting and scientific quality of animal experiments by using the gold standard publication checklist, in addition to the ARRIVE guidelines [ J ] . Br J Pharmacol, 2011, 162(6): 1259-1260.
- [ 17 ] Lecour S, Botker HE, Condorelli G, et al. ESC working group cellular biology of the heart: Position paper: improving the preclinical assessment of novel cardioprotective therapies [ J ] . Cardiovasc Res, 2014, 104(3): 399-411.
- [ 18 ] Bolli R. CAESAR's legacy: A new era of rigor in preclinical studies of cardioprotection [ J ] . Basic Res Cardiol, 2021, 116(1): 33.
- [ 19 ] Jones SP, Tang XL, Guo Y, et al. The NHLBI-sponsored consortium for preclinical assessment of cardioprotective therapies (CAESAR): A new paradigm for rigorous, accurate, and reproducible evaluation of putative infarct-sparing interventions in mice, rabbits, and pigs [ J ] . Circ Res, 2015, 116(4): 572-586.
- [ 20 ] Lefer DJ, Bolli R. Development of an NIH consortium for preclinical Assessment of CARDioprotective therapies (CAESAR): A paradigm shift in studies of infarct size limitation [ J ] . J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2011, 16(3-4): 332-339.
- [ 21 ] Schwartz Longacre L, Kloner RA, Arai AE, et al. New horizons in cardioprotection: Recommendations from the 2010 National Heart, Lung, and blood institute workshop [ J ] . Circulation, 2011, 124(10): 1172-1179.
- [ 22 ] Rossello X, Rodriguez-Sinovas A, Vilahur G, et al. CIBER-CLAP (CIBERCV cardioprotection large animal platform): A multicenter preclinical network for testing reproducibility in cardiovascular interventions [ J ] . Sci Rep, 2019, 9(1): 20290.
- [ 23 ] Penna C, Andreadou I, Aragno M, et al. Effect of hyperglycaemia and diabetes on acute myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection by ischaemic conditioning protocols [ J ] . Br J Pharmacol, 2020, 177(23): 5312-35.
- [ 24 ] Ruiz-Meana M, Bou-Teen D, Ferdinandy P, et al. Cardiomyocyte ageing and cardioprotection: consensus document from the ESC working groups cell biology of the heart and myocardial function [ J ] . Cardiovasc Res, 2020, 116(11): 1835-1849.
- [ 25 ] Perrino C, Ferdinandy P, Botker HE, et al. Improving translational research in sex-specific effects of comorbidities and risk factors in ischaemic heart disease and cardioprotection: position paper and recommendations of the ESC working group on cellular biology of the heart [ J ] . Cardiovasc Res, 2021, 117(2): 367-385.
- [ 26 ] Heusch G, Skyschally A, Schulz R. The in-situ pig heart with regional ischemia/reperfusion - ready for translation [ J ] . J Mol Cell Cardiol, 2011, 50(6): 951-963.

( 2024-03-23 收稿 )

( 本文编辑 吴桂贤 )