

Protection tissulaire : une nouvelle piste*

Tissue protection: a new approach

L. Argaud · M. Cour

Reçu le 18 septembre 2013 ; accepté le 6 novembre 2013
© SRLF et Springer-Verlag France 2013

Résumé Les infarctus viscéraux demeurent la première cause de mortalité à travers le monde, malgré le développement des stratégies de revascularisation précoce. La taille de l'infarctus est déterminée non seulement par la sévérité de l'ischémie mais également par des processus physiopathologiques initiés à la reperfusion. Expérimentalement, il est possible de limiter l'étendue des lésions de reperfusion par des séquences brèves d'ischémie–reperfusion appliquées, soit avant, soit juste après une ischémie prolongée, dénommées selon le cas préconditionnement ou postconditionnement ischémique. Le conditionnement ischémique agit en activant des voies de signalisations intracellulaires convergeant vers la mitochondrie pour inhiber l'ouverture du pore de transition de perméabilité (PTP) mitochondrial. Ainsi, un postconditionnement pharmacologique peut également être réalisé par l'utilisation de substances, telles que la cyclosporine A (un puissant inhibiteur du PTP mitochondrial), administrée à la reperfusion et capable de prévenir la mort cellulaire dans de nombreux modèles d'ischémie-reperfusion, de même que chez l'Homme. Cet article de mise au point centrera son propos sur les données précliniques du conditionnement tissulaire (ischémique et pharmacologique) et leurs perspectives de translation à l'Homme vers de nouvelles thérapeutiques en réanimation.

Mots clés Ischémie–reperfusion · Infarctus du myocarde · Accident vasculaire cérébral · Postconditionnement · Pore de transition de perméabilité mitochondrial · Cyclosporine A

Abstract Visceral infarctions remain the leading cause of mortality in the world, in spite of the development of early reperfusion strategies. Infarct size is determined not only by the severity of ischemia but also by pathological processes initiated at reperfusion. Experimental evidences suggest that brief ischemia-reperfusion periods, called ischemic preconditioning or postconditioning, and performed either before or just after a sustained ischemia, respectively, limit reperfusion injuries. Ischemic conditioning activates several primary pathways that inhibit mitochondrial permeability transition pore opening. Thus, pharmacological interventions like cyclosporine A, a potent permeability transition pore inhibitor, are also able to reduce cell death, when administered at reperfusion (pharmacological postconditioning), in numerous ischemia-reperfusion models including in humans. This review will focus on the physiological preclinical data on both ischemic and pharmacological conditioning that are relevant to their translation to clinical therapeutics in intensive care medicine.

Keywords Ischemia-reperfusion · Myocardial infarction · Stroke · Postconditioning · Mitochondrial permeability transition pore · Cyclosporine A

L. Argaud (✉) · M. Cour
Service de réanimation médicale, hospices civils de Lyon,
groupe hospitalier Édouard-Herriot, 5, place d'Arsonval,
F-69437 Lyon, France
e-mail : laurent.argaud@chu-lyon.fr

Faculté de médecine Lyon-Est, université de Lyon,
université Claude-Bernard Lyon-I,
F-69373 Lyon, France

Inserm UMR 1060, équipe 5 « cardioprotection »,
F-69373 Lyon, France

* Cet article correspond à la conférence faite par l'auteur au congrès de la SRLF 2014 dans la session : *Traitement du syndrome coronarien aigu*.

Introduction

Les infarctus viscéraux (et leurs conséquences) demeurent la première cause de mortalité dans le monde, sans perspective d'évolution de ce classement d'ici les années 2020 [1]. En France, on dénombre chaque année de l'ordre de 125 000 syndromes coronariens aigus (SCA) et au moins autant d'accidents vasculaires cérébraux (AVC), responsables d'une lourde morbidité, véritable enjeu de santé publique. Les principaux déterminants classiques des lésions cellulaires sont relativement bien connus : durée de l'occlusion vasculaire, taille de la zone à risque (quantité de tissus dépendant du

territoire vasculaire concerné), importance du débit collatéral [2]. Aujourd'hui, seules les mesures de prévention cardiovasculaire mais surtout la précocité d'intervention des secours sont à même de prévenir l'étendue de l'infarctus tissulaire. On sait pourtant que la probabilité de décéder après un accident ischémique cardiaque ou cérébral et que (dans le cas le plus favorable) la lourdeur des séquelles fonctionnelles sont directement corrélées à la quantité de tissu infarcté. Que ce soit pour le cœur ou le cerveau, d'importants progrès ont été réalisés ces 20 dernières années pour faciliter l'accès du plus grand nombre de patients à une stratégie de reperfusion, lorsque celle-ci est possible. Néanmoins, les contraintes logistiques et temporelles (dépendant des organes) restent importantes, rendant parfois difficile toute revascularisation précoce. La reperfusion apparaît pourtant comme une étape clé de l'évolution de l'infarctus tissulaire, capable du meilleur (pour abrégé les conséquences de l'ischémie) mais aussi du pire (pour induire par elle-même des lésions) [3]. Une recherche expérimentale intensive dans le domaine de l'ischémie–reperfusion (I/R) a permis d'identifier de nouvelles pistes pour contrôler les conséquences néfastes de la reperfusion. Les perspectives thérapeutiques de ces recherches sont, à l'évidence, intéressantes pour le clinicien, puisqu'elles permettent d'envisager, dès à présent, les futurs traitements pharmacologiques de la reperfusion qui font aujourd'hui cruellement défaut à l'arsenal thérapeutique du réanimateur. Des approches translationnelles sont d'ores et déjà engagées pour tester, par des études de « preuve de concept », ces hypothèses de protection tissulaire chez l'Homme [4].

Dualité de la reperfusion

La reperfusion est en soi un objectif thérapeutique, en particulier dans l'infarctus du myocarde. Initialement (jusqu'au début des années 1980), la revascularisation n'était envisagée que comme une intervention capable de limiter les lésions consécutives à l'ischémie et stabiliser ainsi la taille de l'infarctus à un niveau défini par la durée de l'occlusion vasculaire (Fig. 1) [5]. Pourtant, dans le même temps étaient publiées des observations en faveur d'effets secondaires de la reperfusion atténuant le bénéfice de la revascularisation [6]. Ainsi est né le terme de *reperfusion injuries* pour caractériser les quatre effets adverses classiques de la revascularisation myocardique :

- arythmies de reperfusion ;
- dysfonctions endothéliales, dont la forme majeure se traduit par une absence de rétablissement de la perfusion coronaire (*no reflow*) ;
- anomalies transitoires de la fonction contractile s'appliquant à un myocarde pourtant viable, caractéristiques du *stunning* ou sidération myocardique ;
- nécrose de reperfusion [3].

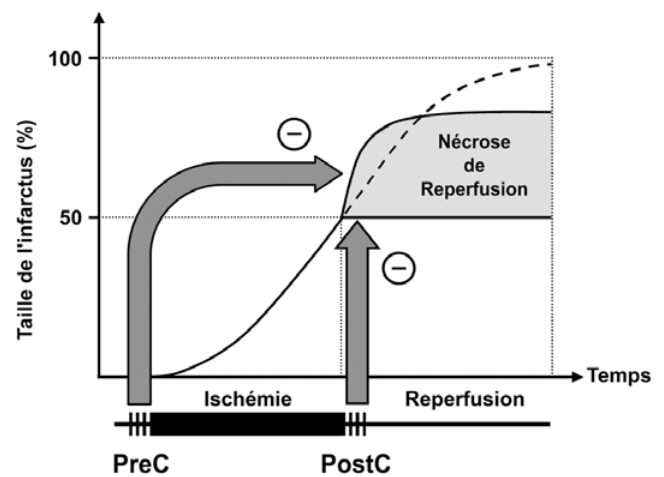


Fig. 1 Développement des lésions tissulaires d'ischémie–reperfusion. La progression des lésions cellulaires consécutives à l'ischémie ne peut être stoppée que par la restauration d'un flux sanguin dans le territoire vasculaire concerné. Pourtant, la reperfusion est, par elle-même, source de lésions irréversibles. Le postconditionnement ischémique (PostC), qui consiste à appliquer au tout début de la recirculation des périodes d'ischémie–reperfusion brèves, est à même de limiter l'extension des lésions cellulaires, apportant ainsi la preuve expérimentale de la nécrose de reperfusion. On admet que le préconditionnement ischémique (PreC), réalisé avant une ischémie–reperfusion prolongée, agit par des mécanismes proches pour limiter également les lésions induites par la reperfusion

Le principe des lésions de reperfusion est aujourd'hui admis également chez l'Homme pour le cœur mais aussi pour le cerveau [3,7–9]. On admet qu'environ 50 % des lésions d'infarctus pourraient être la conséquence de la reperfusion (Fig. 1) [10].

Sur le plan physiopathologique, au moins trois mécanismes délétères pour la cellule ischémique sont présents au début de la reperfusion : un stress radicalaire intense, une surcharge calcique cytosolique et mitochondriale (consécutif aux mécanismes compensateurs de l'excès de protons) et une correction rapide de l'acidose allant parfois jusqu'à une alcalose intracellulaire transitoire [4]. En effet, pendant l'ischémie, la production d'adénosine triphosphate (ATP) devient insuffisante pour assurer le métabolisme et la survie cellulaire. La glycolyse anaérobie devient alors la principale source de production d'ATP mais génère une acidose intracellulaire par accumulation de protons et de lactate [11]. Cette acidose active alors des pompes ioniques comme l'échangeur Na^+/H^+ afin de restaurer le pH intracellulaire. La surcharge sodique compensatrice de l'acidose active elle-même d'autres pompes comme l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, favorisant l'apparition in fine d'une inévitable surcharge calcique [11,12]. La reperfusion réintroduit brutalement de l'oxygène en grande quantité dans des cellules qui en étaient

privées. La chaîne respiratoire mitochondriale, fonctionnellement endommagée par l'ischémie, ne peut pas utiliser correctement tout cet excès d'oxygène en présence de substrats énergétiques. Ainsi, au lieu de ne synthétiser que de l'ATP, la mitochondrie produit aussi en grand nombre des espèces radicalaires de l'oxygène (*reactive oxygen species*, ROS). La réactivation des pompes ioniques corrige rapidement l'acidose intracellulaire, mais au prix d'une surcharge calcique cytosolique et mitochondriale encore plus grande, pouvant être directement ou indirectement, elle-même, à l'origine d'une surproduction de ROS [12].

Au niveau de la mitochondrie, la surcharge calcique matricielle, associée au stress radicalaire et aux rapides variations de pH, entraîne une perméabilisation de sa membrane interne, un événement connu depuis des décennies sous le terme de transition de perméabilité mitochondriale [13]. Ce phénomène de transition de perméabilité est sous la dépendance de l'ouverture d'un mégacanal non sélectif, appelé pore de transition de perméabilité (PTP), laissant passer à travers la membrane interne de la mitochondrie toute molécule de taille inférieure à 1 500 Da [14]. La force osmotique générée par la perméabilisation de la membrane interne provoque un gonflement de la matrice mitochondriale par entrée d'eau, ce qui conduit à une rupture de la membrane externe, plus fragile, et à la libération de facteurs proapoptotiques tels que le cytochrome C [15]. Ce changement brutal de l'homéostasie mitochondriale provoque également le découplage de la chaîne respiratoire mitochondriale et un déficit énergétique pouvant être incompatible avec la survie cellulaire. L'effondrement du potentiel de membrane qui en résulte s'accompagne alors non seulement d'un arrêt de la synthèse d'ATP mais aussi de son hydrolyse, aggravant encore le déficit énergétique cellulaire.

La nature moléculaire du PTP est à ce jour encore mal connue, même si l'on pense qu'il s'agit d'un assemblage multiprotéique. Plusieurs protéines pourraient être concernées : porine (VDAC, *voltage-dependant anion channel*), transporteur des nucléotides adényliques (ANT, *adenine nucleotide translocator*), cyclophiline D (CypD), voire F_0F_1 ATP synthase [14–16]. Néanmoins, sur la base de données expérimentales obtenues à l'aide de modèles *in vivo* d'I/R myocardique et cérébrale, chez des animaux transgéniques, la CypD est la seule protéine à avoir fait la preuve de son rôle constitutif du PTP [17,18]. L'ouverture du PTP est classiquement favorisée par l'effondrement du potentiel de membrane mitochondriale, la déplétion en nucléotides adényliques (dont l'ATP), l'accumulation de phosphates inorganiques, la surcharge calcique et le stress oxydant, toutes ces conditions étant réunies à la reperfusion [15]. Inversement, l'acidose mais également certains cations, tels que le Mg^{2+} , diminuent la probabilité d'ouverture du PTP. Indépendamment de ses effets immunosuppresseurs, en se fixant sur la CypD, la ciclosporine A (CsA) est l'inhibiteur de référence de l'ouverture du PTP [19].

En résumé, la revascularisation, salvatrice pour le tissu ischémique, peut aussi être à l'origine d'une nécrose de reperfusion mettant en jeu des mécanismes mitochondriaux. Il est admis depuis les travaux du groupe d'Halestrap dans les années 1990 que le PTP reste fermé pendant l'ischémie en raison de l'acidose, s'ouvrant dans les toutes premières minutes de la reperfusion grâce à la conjonction de trois facteurs propices à son ouverture : augmentation du pH intracellulaire, surcharge calcique et production massive de ROS (Fig. 2) [20]. Ces résultats obtenus dans le myocarde ont depuis été largement reproduits dans différents autres organes (cerveau, foie...), laissant ainsi entrevoir de nouvelles perspectives de protection cellulaire après la période ischémique [14,21].

« Conditionner » le myocarde pour contrôler la reperfusion

C'est en 2003 que Zhao et al. ont décrit un nouveau concept de protection anti-ischémique, qu'ils ont baptisé

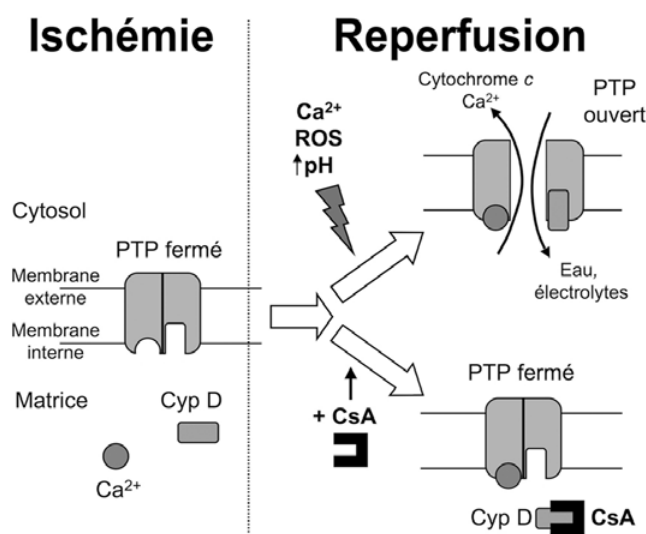


Fig. 2 Ouverture du pore de transition de perméabilité (PTP) mitochondrial au cours de l'ischémie–reperfusion. Au cours de l'ischémie–reperfusion, l'ouverture du PTP mitochondrial est un événement clé, précipitant la cellule vers la mort cellulaire. On admet que pendant l'ischémie, malgré l'arrêt du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale, le PTP demeure dans une configuration fermée (favorisée par l'acidose) permettant de maintenir l'imperméabilité de la membrane mitochondriale interne. Au début de la reperfusion, la conjonction d'une surcharge calcique (Ca^{2+}), d'un excès d'espèces radicalaires de l'oxygène (ROS) et de l'augmentation du pH intracellulaire concourt à augmenter la probabilité d'ouverture du PTP avec ses conséquences délétères : gonflement matriciel, libération de médiateurs proapoptotiques (cytochrome c). La ciclosporine A (CsA), en se fixant sur la cyclophiline D (CypD) de la matrice mitochondriale prévient l'ouverture du PTP

postconditioning [22]. Le postconditionnement (PostC) ischémique consistait alors à réaliser expérimentalement des séquences courtes d'I/R au moment de la désocclusion coronaire, après une période d'ischémie prolongée. Les auteurs ont montré pour la première fois, à l'aide d'un modèle expérimental d'infarctus chez le chien, que la réalisation de clampages-déclampages coronaires juste après une occlusion artérielle prolongée réduisait la taille finale de l'infarctus d'environ 50 % [22]. Montrant ainsi que des interventions qui n'ont lieu qu'au moment de la désocclusion coronaire sont capables de réduire considérablement la taille de l'infarctus, il s'agissait de la première démonstration du concept de « nécrose de reperfusion » (Fig. 1) [10,21,22]. Cette découverte faisait suite à près de 20 ans de recherche expérimentale sur le préconditionnement ischémique (décrit pour la première fois par Murry et al. en 1986), c'est-à-dire la possibilité de protéger des conséquences d'une occlusion coronaire prolongée (infarctoïde) par des cycles courts d'I/R appliqués avant l'ischémie [23,24]. Przyklenk et al. avaient également rapporté dès 1993 la possibilité de conditionner le myocarde à distance (*remote conditioning*) en réalisant des I/R non léthales dans un autre territoire vasculaire [25]. Même si le préconditionnement demeure aujourd'hui encore le *gold standard* en matière de cardioprotection, son développement clinique est resté limité dans la mesure où cette intervention doit, par définition, être appliquée avant la survenue de l'événement ischémique [24]. La possibilité de protéger le myocarde par un PostC a, par la suite, été confirmée par de nombreuses équipes (dont la nôtre), chez la plupart des espèces animales de laboratoire, soulignant ainsi l'effet ubiquitaire de ce phénomène cytoprotecteur (Fig. 3) [4]. Il faut noter cependant que la fenêtre temporelle pendant laquelle il est possible de protéger le myocarde à la reperfusion est probablement étroite. L'équipe ayant décrit pour la première fois le PostC a en effet rapporté que décaler d'une minute seulement (à la reperfusion) la séquence d'I/R protectrice entraînait une perte totale de la cardioprotection [26]. Ces résultats sont toutefois à nuancer par une étude plus récente de Roubille et al., ces auteurs ayant montré qu'il ne s'agissait probablement pas d'un mécanisme de « tout-ou-rien » mais d'un effet progressif, le niveau de protection étant inversement corrélé avec le délai de mise en œuvre du PostC [27]. En résumé, préconditionnement et PostC sont probablement deux modalités d'induction de mécanismes cytoprotecteurs proches, agissant sur les lésions myocardiques irréversibles induites par la reperfusion (Fig. 1). Cependant, les possibilités de translation clinique du PostC apparaissent bien plus évidentes pour le clinicien [21,28].

Les mécanismes cellulaires par lesquels le PostC induit la cardioprotection sont incomplètement connus à ce jour [4]. Il est cependant assez probable que le préconditionnement et le PostC utilisent des voies de signalisation communes. Au

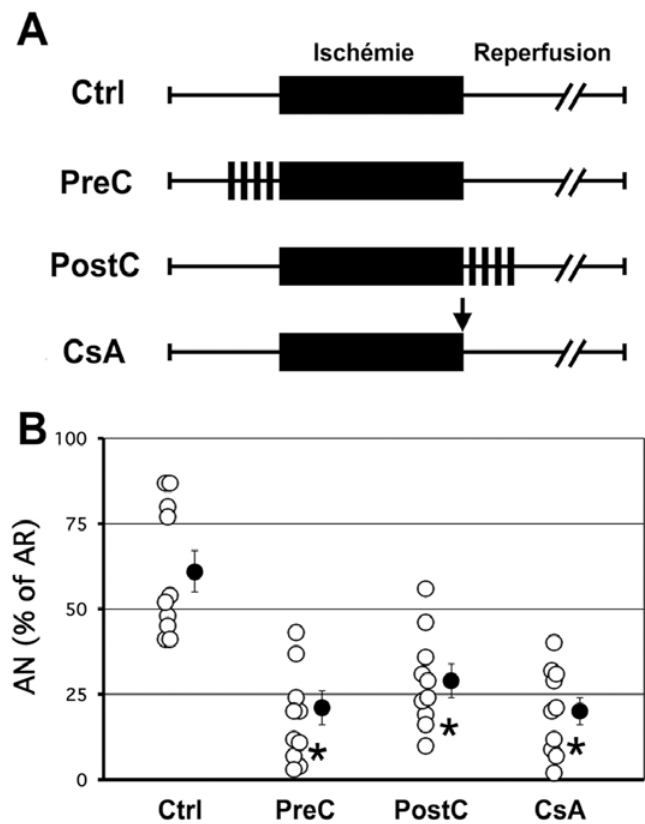


Fig. 3 Cardioprotection par conditionnement ischémique. Les protocoles expérimentaux classiques de conditionnement myocardique (A) consistent soit à appliquer de brèves périodes d'ischémie-reperfusion avant un infarctus du myocarde expérimental (préconditionnement, PreC) ou au début de la restauration du flux coronaire (postconditionnement, PostC), soit à administrer une substance à la reperfusion, telle la ciclosporine A (CsA), capable d'activer les voies de protection cellulaire. Dans cet exemple, les mesures de taille d'infarctus, obtenues à partir de notre modèle classique d'infarctus du myocarde chez le lapin anesthésié, objectivent la puissance de l'effet cardioprotecteur du conditionnement myocardique. En effet, comparativement à des animaux n'ayant pas reçu d'autre intervention (animaux témoins, Ctrl), quelle que soit la modalité (ischémique ou pharmacologique), l'aire nécrosée (AN), exprimée en pourcentage de l'aire à risque (AR), est significativement réduite dans les groupes d'animaux ayant reçu un conditionnement myocardique. Les cercles vides représentent les données individuelles, les cercles pleins les valeurs moyennes ± écarts-types au sein de chaque groupe. * $p < 0,01$ versus Ctrl

moins quatre *triggers* du PostC paraissent impliqués dans l'initiation de la signalisation cytoprotectrice. Le premier d'entre eux, à avoir été mis en évidence par analogie avec le préconditionnement, semble être l'activation par les occlusions-désocclusions coronaires de récepteurs membranaires à des substances autacoïdes (adénosine, bradykinine, dérivés opioïdes, par exemple) [29]. Le deuxième

mécanisme initiateur de la cardioprotection pourrait être le pH intracellulaire. En effet, comme cela a été décrit précédemment, l'extrusion d'ions H^+ à la reperfusion génère une augmentation du pH intracellulaire qui, paradoxalement, favorise dans certaines conditions la mort cellulaire, en particulier lorsqu'elle est associée à une surcharge calcique et à un stress oxydant important. Des études récentes suggèrent en effet que le PostC retarderait la correction de l'acidose intracellulaire [30,31]. Il a par ailleurs été montré, à l'aide d'un modèle d'ischémie régionale sur cœur isolé-perfusé, que l'administration de solutés acides lors de la désocclusion coronaire protège le myocarde [30]. Utilisant un modèle proche, Inserte et al. ont également rapporté que des cycles brefs d'occlusion-désocclusion coronaire lors de la reperfusion retardaient l'alcalinisation intracellulaire et limitaient ainsi les lésions cardiomyocytaires irréversibles [31]. Troisièmement, le calcium intramitochondrial semble avoir un rôle dans l'induction du PostC. Sun et al. ont en effet montré que le PostC hypoxique améliorerait la survie cellulaire après une I/R et que l'effet observé était associé à des concentrations calciques plus faibles dans le cytosol et les mitochondries [32]. Argaud et al., utilisant un modèle *in vivo*, ont également rapporté que même si le PostC ischémique ne limitait pas la surcharge calcique, les mitochondries isolées à partir du myocarde d'animaux postconditionnés étaient significativement plus résistantes à une surcharge calcique réalisée *in vitro* [33]. Enfin, le niveau de stress oxydant est probablement un élément déterminant de la protection cellulaire, avec une capacité du PostC à limiter la production radicalaire par un redémarrage probablement plus progressif de la chaîne respiratoire mitochondriale [32].

La découverte des voies de médiation du signal protecteur du PostC fait également l'objet d'une recherche active. La voie de signalisation qui possède le plus grand niveau de preuve de son rôle dans le PostC est certainement la voie dite *reperfusion injury survival kinase* (RISK) dont l'activation fait suite à celle de récepteurs membranaires aux substances autacoïdes (cf. ci-dessus) [29]. Cette voie RISK comprend deux cascades de médiations cytosoliques : celle de la phosphatidyl inositol-3-kinase-Akt (PI3-Akt) et celle de l'*extracellular signal regulated kinase* (MEK-ERK), toutes deux inhibant une enzyme agissant sur la mitochondrie, la *glycogen synthase kinase-3 β* (GSK3 β) (Fig. 4). Indépendamment de la voie RISK, de plus en plus de données suggèrent également le rôle de la voie *survivor activating factor enhancement* (SAFE), activée via des récepteurs membranaires par de petites doses de *tumor necrosis factor alpha* (TNF α), pour véhiculer le signal cytoprotecteur jusqu'au noyau cellulaire via JAK (*janus kinase*) et la voie STAT (*signal transducer and activator of transcription*) (Fig. 4) [34].

Depuis près de dix ans, le PTP est apparu comme le point de convergence du plus grand nombre des mécanismes décrits ci-dessus, jouant ainsi un rôle essentiel d'effecteur

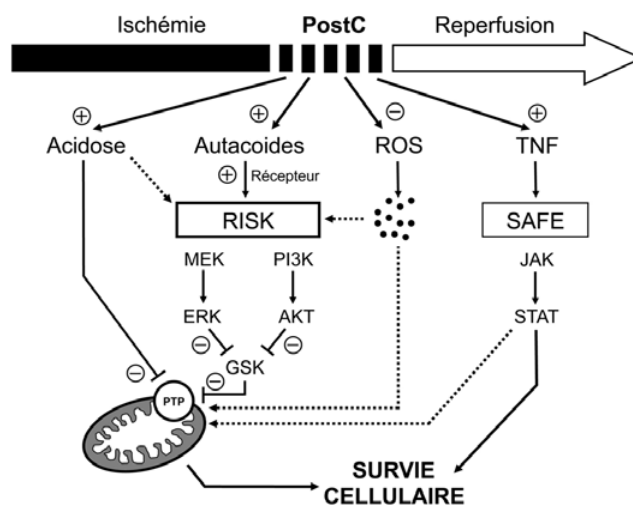


Fig. 4 Modèle de signalisation du postconditionnement. La séquence d'ischémie-reperfusion brève caractéristique du postconditionnement ischémique (PostC) concourt, par plusieurs mécanismes, à prévenir la mort cellulaire. On admet que la production d'autacoïdes est l'activateur préférentiel de la voie de signalisation RISK (*reperfusion injury survival kinase*), qui comprend deux cascades de médiations cytosoliques : celle de la phosphatidyl inositol-3-kinase-Akt (PI3K-AKT) et celle de l'*extracellular signal regulated kinase* (MEK-ERK), qui inhibent la *glycogen synthase kinase-3 β* (GSK). Le PostC prolonge également l'acidose intracellulaire pendant les premières minutes de la reperfusion et module la production des radicaux libres de l'oxygène (ROS). Ces mécanismes inhibent l'ouverture du pore de transition de perméabilité (PTP) mitochondrial, effecteur final de la protection cellulaire. De petites quantités de *tumor necrosis factor alpha* (TNF α) pourraient également activer la voie SAFE (*survivor activating factor enhancement*), et transmettre ainsi un signal de survie cellulaire par l'intermédiaire de JAK (*janus kinase*) et de la voie STAT (*signal transducer and activator of transcription*)

dans la signalisation du PostC (Fig. 4) [4,21,35]. Le rôle majeur du PTP dans la cardioprotection avait déjà été mis en évidence au cours du préconditionnement [36]. Argaud et al. ont été les premiers à montrer que le PostC ischémique augmentait la charge de calcium nécessaire pour ouvrir le PTP, suggérant fortement un mécanisme CypD-dépendant [35]. À noter que le maintien pendant plus longtemps d'un pH acide à la reperfusion, la diminution de la surcharge calcique mitochondriale et la prévention du stress radicalaire observés au cours du PostC sont des éléments de nature à diminuer la probabilité d'ouverture du PTP. Ces résultats ont été confirmés par la suite par des travaux réalisés sur des animaux transgéniques. Les souris CypD $^{-/-}$, qui ne peuvent pas être postconditionnées, développent naturellement des infarctus plus petits que les animaux témoins, suggérant ainsi que les effets du PostC passent bien par l'inhibition du PTP [37].

Principe du postconditionnement pharmacologique

Aidée par une meilleure connaissance à la fois de la physiopathologie des lésions de reperfusion mais aussi de la signalisation du conditionnement myocardique, l'administration à la reperfusion de substances ciblant les acteurs de la transmission du signal protecteur s'est avérée efficace pour protéger le myocarde des conséquences de l'I/R. Le concept de PostC pharmacologique s'est ainsi imposé comme une évidence, offrant la possibilité d'intervenir tardivement, mais efficacement, pour prévenir les lésions d'I/R indépendamment de toute intervention mécanique. Les premiers travaux expérimentaux ont été publiés à la fin des années 1990. Des interventions réalisées immédiatement avant la reperfusion et ciblant les récepteurs aux substances autacoïdes (adénosine, opioïdes, bradykinine), en amont des voies de signalisation, étaient alors efficaces pour prévenir les lésions myocardiques irréversibles d'I/R [38]. De nombreuses études se sont également consacrées à l'activation pharmacologique de la voie RISK à la reperfusion [39]. Cette activation, ayant une efficacité superposable à celle du PostC ischémique, peut se faire directement en utilisant des facteurs de croissance tels que l'insuline ou l'érythropoïétine (EPO) par exemple, ou de manière plus indirecte en activant la voie PI3-Akt par de nombreuses substances parmi lesquelles les estrogènes ou les statines [39]. Une autre approche de conditionnement pharmacologique a consisté à tester l'hypothèse selon laquelle modifier le milieu intracellulaire pouvait limiter les lésions d'I/R. Les résultats des expérimentations ayant utilisé des antioxydants pour limiter la production de ROS ou des antagonistes calciques pour limiter les conséquences de la surcharge calcique restent plus controversés [40].

L'identification du PTP comme l'effecteur le plus probable de la protection cellulaire a représenté un tournant dans l'évolution du PostC pharmacologique. Le PTP est en effet un substrat de l'activité GSK3 β (ultime kinase de la voie RISK), sensible aux variations calciques intracellulaires, mais également la cible mitochondriale de nombreuses voies proapoptotiques [13,15,21,40]. Hausenloy et al. ont été les premiers à rapporter que l'administration de CsA au moment de la désocclusion coronaire réduisait la taille finale de l'infarctus dans un modèle d'ischémie régionale sur cœur isolé-perfusé [41]. Argaud et al. ont obtenu *in vivo*, chez le lapin, des résultats similaires (réduction de près de 50 % de la nécrose myocardique), par l'administration intraveineuse à la reperfusion de CsA ou de son dérivé non-immunosuppresseur NIM811, un inhibiteur spécifique du PTP [35,42]. Ces travaux, reproduits depuis par de nombreuses équipes à travers le monde, ont ouvert le champ à d'autres applications du PostC pharmacologique.

Applications à l'AVC et aux autres organes

Le cœur est resté pendant longtemps le modèle d'étude de choix des conséquences de l'I/R. La disponibilité de modèles animaux présentant une circulation coronaire terminale proche de celle de l'Homme, chez lesquels il était relativement aisé de contrôler les déterminants des lésions d'I/R, a permis des découvertes importantes concernant la cinétique d'apparition des lésions et les possibilités de protéger les tissus des conséquences d'une occlusion-désocclusion vasculaire. Ces principes de nécrose de reperfusion et de protection tissulaire par conditionnement (ischémique ou pharmacologique) ont progressivement pu être transposés à d'autres organes (dont l'analyse est souvent plus complexe) avec au premier rang d'entre eux le cerveau [43].

En effet, plusieurs groupes ont rapporté la possibilité de postconditionner le cerveau. Zhao et al. ont été les premiers à montrer en 2006 qu'il était possible de protéger le cerveau de rats soumis à un AVC expérimental par des I/R brèves appliquées à la reperfusion [44]. Des résultats proches ont par la suite pu être obtenus dans d'autres modèles de rongeurs [43]. Pignataro et al. ont en particulier rapporté que, par similitude avec la connaissance de la signalisation intracellulaire du PostC myocardique, la voie RISK, et plus particulièrement PI3-Akt, était également impliquée dans les voies de neuroprotection du cerveau soumis à une I/R [45]. Plus récemment, Sun et al. ont montré que le PostC cérébral était un mécanisme CypD-dépendant, reproduit par la CsA et bloqué par l'atractyloside (un « ouvreur » du PTP) [46]. Ces résultats de l'efficacité du PostC pharmacologique par la CsA dans l'AVC expérimental ont également été confirmés par plusieurs autres études précliniques [47]. Bien qu'il s'agisse d'une substance lipophile, la pénétration dans le tissu cérébral de la CsA, liée dans le sérum aux lipoprotéines, reste cependant modérée [48]. Des posologies élevées de CsA doivent donc être utilisées pour obtenir cet effet. Néanmoins, la perméabilité de la barrière hématoencéphalique est particulièrement sensible aux « agressions ». La rupture de cette barrière dans les suites d'un AVC est donc un facteur favorisant la diffusion de la CsA dans le tissu cérébral lésé. De plus, la CsA est connue pour ses propriétés d'inhibition de la P-glycoprotéine et des pompes effluentes de molécules anormalement présentes dans les cellules endothéliales des capillaires sanguins au niveau de la barrière hématoencéphalique. Ainsi, la CsA a la capacité (à forte dose) d'augmenter sa propre concentration dans le compartiment encéphalique.

Avec un niveau de preuve toutefois plus faible, des travaux intéressants rapportent également la possibilité de postconditionner des organes dans lesquels les ischémies segmentaires sont naturellement plus rares tels que le rein, le foie, l'intestin ou le muscle squelettique [49]. Une douzaine d'observations publiées ces cinq dernières années ont par

exemple objectivé l'efficacité du PostC ischémique pour protéger le rein des conséquences de l'I/R [50]. Comme pour le cœur ou le cerveau, des mécanismes de cytoprotection dépendants des ROS, de la voie RISK et du PTP y ont été mis en évidence [50]. Récemment, Lin et al. ont également rapporté l'efficacité du PostC ischémique pour protéger le foie d'une ischémie régionale, via une modulation de la perméabilité de transition mitochondriale [51]. À noter qu'il existe par ailleurs dans tous ces organes des preuves expérimentales de la sensibilité des lésions d'I/R à une intervention pharmacologique telle que la CsA, reproduisant l'effet du PostC ischémique [14,49–51].

Plus largement, ces concepts peuvent probablement être extrapolés à l'ensemble des lésions cellulaires d'I/R rencontrées en réanimation, que l'agression soit focale ou plus globale. Il existe en effet des arguments directs ou indirects pour penser que dans toutes les situations où des tissus souffrent d'une I/R (chirurgie, transplantation, traumatologie, arrêt cardiaque, état de choc...), une partie des lésions est accessible à une intervention de type PostC. En neurotraumatologie par exemple, des données consistantes font de la CsA une substance prometteuse pour prévenir les lésions cérébrales et médullaires [47,48,52]. Pour ne prendre qu'un autre exemple de situation médicale, Cour et al. ont récemment montré dans une étude préclinique (modèle d'arrêt cardiaque hypoxique chez le lapin) que l'inhibition pharmacologique du PTP par une administration intraveineuse de CsA (ou d'un de ses dérivés non immunosuppresseurs), au début de la réanimation cardiopulmonaire, prévenait le syndrome post-arrêt cardiaque, c'est-à-dire la défaillance multiviscérale consécutive à l'I/R globale [53].

En résumé, ces différentes observations expérimentales illustrent bien l'universalité des mécanismes lésionnels au cours de l'I/R, ce, quels que soient le modèle animal, l'organe ou le type d'agression considéré, et le caractère ubiquitaire des voies de protections cellulaires mises en jeu lors du conditionnement d'un tissu ischémique soumis à une reperfusion.

Perspectives cliniques

Postconditionnement ischémique

Même s'il existe de nombreuses preuves des possibilités de préconditionner les cardiomyocytes humains, les applications cliniques du préconditionnement restent rares, essentiellement parce que les situations cliniques d'I/R modérée au cours desquelles il serait utile et/ou possible d'intervenir pour conditionner le myocarde en amont d'une I/R infarctoïde sont marginales : angor préinfarctus, épreuve d'effort, angioplastie coronaire, chirurgie cardiaque... [24]. Les perspectives cliniques du PostC ischémique ou pharmacologique apparaissent néanmoins beaucoup plus prometteuses.

Staat et al. et Thibault et al. ont publié les premiers essais cliniques en faveur du bénéfice du PostC chez l'Homme [54,55]. Staat et al. ont ainsi montré, en prenant en compte les déterminants classiques de la taille d'infarctus, que le PostC ischémique (quatre épisodes d'une minute d'occlusion-désocclusion par le ballon d'angioplastie) réalisé dès la première minute de reperfusion réduisait de 30 à 40 % la nécrose myocardique (estimée par l'aire sous la courbe des marqueurs de cytolyse) [54]. Cet effet bénéfique persistait à six mois et était également associé à une amélioration de la fonction contractile à un an [55]. Des résultats assez superposables ont été publiés par Lonborg et al. avec une méthode de quantification de la nécrose myocardique reposant sur la résonance magnétique nucléaire [56]. La méta-analyse de l'ensemble des données cliniques sur le PostC ischémique confirme l'effet cardioprotecteur de cette intervention [57]. Il semble cependant que les patients ayant une large zone à risque et/ou un débit collatéral négligeable soient les plus à même de bénéficier d'une telle stratégie de cardioprotection [58]. Même s'il n'a jamais été rapporté par les investigateurs d'effet indésirable notables du PostC ischémique, on peut opposer à ce type d'intervention le fait qu'il alourdisse la procédure d'angioplastie et majore (en théorie) le risque de microembolisation. De plus, le PostC ischémique souffre d'au moins de deux limites supplémentaires : le pourcentage encore élevé de patients traités par thrombolyse et/ou ne bénéficiant pas d'une revascularisation précoce par angioplastie et le développement des techniques de thromboaspirations qui semblent intéressantes, pour améliorer le débit sanguin myocardique et in fine le pronostic des patients, mais incompatible avec un PostC ischémique précoce [21].

Postconditionnement à distance

Une lecture originale des données précliniques du conditionnement myocardique, et en particulier des possibilités de transférer une protection cellulaire à partir d'une I/R réalisée dans un autre lit vasculaire, a conduit à tester chez l'Homme l'effet du conditionnement à distance. Le plus grand nombre d'études, avec des résultats le plus souvent positifs, a jusqu'à présent concerné la chirurgie cardiaque, avant laquelle il est possible de réaliser un véritable préconditionnement à distance en appliquant sur un membre des périodes d'ischémies brèves (deux à trois cycles de cinq à dix minutes) [59]. Très récemment, Thielmann et al. ont montré, dans une étude monocentrique, qu'une telle intervention réalisée avant chirurgie de pontage coronaire influençait également, au-delà de la réduction de cytolyse myocardique, la mortalité toute cause confondue à un an, suggérant un effet protecteur « global » du conditionnement tissulaire [60]. Dans l'infarctus du myocarde, Botker et al. ont également rapporté la faisabilité du perconditionnement ischémique à distance à la phase aiguë d'un SCA avec élévation du segment

ST (trois cycles de cinq minutes d'ischémie du membre supérieur pendant le transport préhospitalier avant reperfusion par angioplastie coronaire) [61]. Cette étude manquait cependant de puissance pour mettre en évidence une diminution significative de la taille de l'infarctus dans le groupe traité [61]. À noter que le concept de conditionnement à distance peut également s'appliquer au-delà des conditions physiopathologiques habituelles d'I/R régionale. En effet, dans une étude pilote, Er et al. ont montré le bénéfice de préconditionner un membre pour prévenir de la néphropathie induite par les produits de contrastes iodés utilisés pour une angiographie coronaire [62]. Compte tenu de l'ubiquité des mécanismes de cytoprotection initiés par le conditionnement d'un seul organe, ces approches ouvrent ainsi de nouveaux horizons de protection tissulaire en réanimation pour protéger des conséquences de l'I/R, bien sûr le cœur, mais aussi le cerveau, les reins, le foie, le pancréas, l'intestin, les muscles [58].

Postconditionnement pharmacologique

À côté des interventions mécaniques de conditionnement, le PostC pharmacologique est également une piste privilégiée de protection tissulaire dans les infarctus viscéraux. Il remplit en effet plusieurs des conditions d'une translation clinique rapide à l'Homme [21,58]. Le niveau de preuve de son efficacité est important. L'agent pharmacologique mimant les effets du PostC aurait l'avantage de s'affranchir d'une technique instrumentale, dépendant par définition de l'opérateur, et de pouvoir être administré avant la reperfusion afin d'atteindre sa cible pendant toute la durée critique de la restauration du flux sanguin. De nombreuses interventions pharmacologiques s'appuyant sur la signalisation du PostC ont déjà été testées dans des essais cliniques [21,63,64]. Même si certaines des données de la littérature sont encore contradictoires et nécessiteront la réalisation de nouveaux essais cliniques pour établir des conclusions plus définitives, on peut retenir que les interventions pharmacologiques visant à agir sur le milieu intracellulaire (prévention de l'effet des ROS ou de la surcharge calcique) ou à activer la voie RISK (adénosine, insuline, EPO, statines) ont jusqu'à présent plutôt conduit à des résultats négatifs [21,63,64]. L'hypothermie modérée (< 35 °C) est également à rapprocher du PostC pharmacologique dans la mesure où elle s'appuie sur les mêmes voies de signalisation avec probablement le même effecteur mitochondrial (PTP) et qu'elle peut être réalisée immédiatement avant la restauration du flux sanguin de façon à prévenir les lésions de reperfusion [64,65]. Lors d'une étude pilote, Götberg et al. ont randomisé 20 patients à la phase aiguë d'un infarctus du myocarde, recevant (ou non) de manière aléatoire une stratégie d'hypothermie modérée rapide par voie endovasculaire [66]. Cette intervention, qui ne retardait pas la réalisation de l'angioplastie coronaire,

réduisait de près de 40 % la taille de l'infarctus [66]. Des études de plus large envergure seront bien sûr nécessaires pour confirmer ces données préliminaires.

Encore peu étudié en clinique, le PostC pharmacologique de la voie de signalisation effectrice est indéniablement une des pistes les plus prometteuses en matière de protection tissulaire dans les infarctus viscéraux. La CsA est reconnue de manière consensuelle, pour l'inhibition durable du PTP qu'elle confère aux mitochondries d'un tissu ischémique lorsqu'elle est administrée à la reperfusion, comme le produit de choix capable de mimer le PostC ischémique [21,67,68]. Les applications cliniques de cette modalité de PostC, reposant sur un fort rationnel, sont potentiellement majeures, avec un agent pharmacologique déjà largement utilisé dans d'autres indications et capable d'atteindre sa cible lors de la restauration du flux sanguin [68]. En prenant l'exemple du SCA, il pourrait ainsi être administré à une majorité de patients soit en association à la thrombolyse, soit juste avant l'angioplastie coronaire. Piot et al. ont conduit une étude de phase III pour tester l'efficacité du PostC par la CsA dans l'infarctus du myocarde chez l'Homme [69]. Piot et al. ont inclus 58 patients admis en salle d'angioplastie pour un SCA avec élévation du segment ST [69]. Après randomisation, les patients recevaient soit un bolus de CsA, soit du sérum physiologique, juste avant la désocclusion coronaire. Aucun effet indésirable notable n'a été rapporté [69]. La taille de l'infarctus, approchée par l'aire sous la courbe de libération de créatine kinase et par des études complémentaires en imagerie par résonance magnétique nucléaire, était significativement réduite (environ 40 %) chez les patients traités [69]. L'effet de cette réduction de la taille d'infarctus était encore visible six mois après l'infarctus du myocarde et s'accompagnait entre autres d'une moindre dilatation ventriculaire gauche [70]. La même équipe conduit actuellement une large étude multicentrique (identifiant ClinicalTrials.gov: NCT01502774) visant à confirmer ces résultats prometteurs, potentiellement applicables à terme à l'ensemble des patients bénéficiant d'une reperfusion coronaire. Un autre intérêt du PostC pharmacologique par la CsA est qu'il peut également être utilisé dans des situations extrêmes d'I/R globale telles que l'arrêt cardiaque. Sur la base de nos résultats expérimentaux obtenus chez l'animal, nous avons fait l'hypothèse que la CsA, administrée au début de la réanimation cardiopulmonaire, était également à même de prévenir la survenue du syndrome post-arrêt cardiaque chez l'Homme. Nous testons actuellement cette hypothèse dans une étude multicentrique française de preuve de concept (identifiant ClinicalTrials.gov: NCT01595958). Notre groupe conduit également deux autres études cliniques de PostC par la CsA : un essai de neuroprotection dans l'AVC thrombolysé (identifiant ClinicalTrials.gov: NCT01527240) et un essai de cardioprotection après chirurgie valvulaire aortique (identifiant ClinicalTrials.gov: NCT00987207). De nombreuses autres conséquences de l'I/R en réanimation resteront à

investiguer dans le futur par de telles approches thérapeutiques, que ce soit par exemple dans le domaine de la chirurgie, de la traumatologie ou de la transplantation.

En résumé, la conception moderne de la physiopathologie de l'I/R met en avant le rôle crucial de la reperfusion pour induire de graves lésions accessibles à une intervention thérapeutique de type PostC ischémique ou pharmacologique. Le prototype des lésions d'I/R est représenté par l'infarctus viscéral d'un organe vital (cœur ou cerveau par exemple) pour lequel le développement futur de ces deux modalités de protection tissulaire est envisageable. Cependant, dans nombre d'autres situations d'I/R rencontrées en réanimation, qu'elles soient focales ou globales, il est probable que seule la translation vers l'Homme des données précliniques du PostC pharmacologique ou du conditionnement à distance connaisse un essor important. L'identification de la voie effectrice de cette protection tissulaire et de la possibilité d'inhiber pharmacologiquement le PTP par la CsA laisse en effet augurer d'innombrables applications cliniques. Plusieurs études de preuves de concept sont actuellement en cours dans différentes situations cliniques d'I/R (SCA, AVC, arrêt cardiaque). Si les résultats attendus de ces essais se confirment sur des critères de jugement intermédiaires, de larges études multicentriques devront répondre à la question suivante : le PostC améliore-t-il le pronostic des patients ?

Conflit d'intérêt : L. Argaud et M. Cour déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

- Murray CJ, Lopez AD (1997) Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: global burden of disease study. *Lancet* 349:1498–504
- Jennings RB, Reimer KA (1983) Factors involved in salvaging ischemic myocardium: effects of reperfusion of arterial blood. *Circulation* 68:125–36
- Braunwald E, Kloner RA (1983) Myocardial reperfusion: a double edged sword? *J Clin Invest* 76:1713–9
- Cour M, Gomez L, Mewton N et al (2011) Postconditioning: from bench to bedside. *J Cardiovasc Pharm Ther* 16:117–30
- Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB (1977) The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 56:786–94
- Follette D, Fey K, Livesay J, et al (1977) Studies on myocardial reperfusion injury. I. Favorable modification by adjusting reperfusionate pH. *Surgery* 82:149–55
- Kloner RA (1993) Does reperfusion exist in humans? *J Am Coll Cardiol* 21:537–45
- Warach S, Latour LL (2004) Evidence of reperfusion injury, exacerbated by thrombolytic therapy, in human focal brain ischemia using a novel imaging marker of early blood-brain barrier disruption. *Stroke* 35:2659–61
- Khatri R, McKinney AM, Swenson B, Janardhan V (2012) Blood-brain barrier, reperfusion injury, and hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. *Neurology* 79:S52–S7
- Garcia-Dorado D, Piper HM (2006) Postconditioning: reperfusion of “reperfusion injury” after hibernation. *Cardiovasc Res* 69:1–3
- Jennings RB, Reimer KA (1991) The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu Rev Med* 42:225–46
- Piper HM, Meuter K, Schafer C (2003) Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 75:644–8
- Crompton M (2000) Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their role in cell death. *J Physiol* 529:11–21
- Bernardi P, Krauskopf A, Basso E, et al (2006) The mitochondrial permeability transition from in vitro artifact to disease target. *FEBS J* 273:2077–99
- Weiss JN, Korge P, Honda HM, Ping P (2003) Role of the mitochondrial permeability transition in myocardial disease. *Circ Res* 93:292–301
- Giorgio V, Von Stockum S, Antoniel M, et al (2013) Dimers of mitochondrial ATP synthase from the permeability transition pore. *PNAS* 110:5887–92
- Nakagawa T, Shimizu S, Watanabe T et al (2005) Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature* 434:652–58
- Schinzel AC, Takeuchi O, Huang Z et al (2005) Cyclophilin D is a component of mitochondrial permeability transition and mediates neuronal cell death after focal cerebral ischemia. *PNAS* 102:12005–10
- Fournier N, Ducet G, Crevat A (1987) Action of cyclosporine on mitochondrial fluxes. *J Bioenerg Biomembr* 19:297–303
- Griffiths EJ, Halestrap AP (1995) Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J* 307:93–8
- Yellon DM, Hausenloy DJ (2007) Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 357:1121–35
- Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al (2003) Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285:H579–88
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA (1986) Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74:1124–36
- Yellon DM, Downey JM (2003) Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology. *Physiol Rev* 83:1113–51
- Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, et al (1993) Regional “preconditioning” protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 87:893–99
- Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, et al (2004) Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 62:74–85
- Roubille F, Franck-Miclo A, Covinhas A, et al (2011) Delayed postconditioning in the mouse heart in vivo. *Circulation* 124:1330–6
- Heusch G (2013) Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic. *Lancet* 381:166–75
- Hausenloy DJ, Tsang A, Yellon DM (2005) The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning. *Trends Cardiovasc Med* 15:69–75
- Cohen MV, Yang XM, Downey JM (2007) The pH hypothesis of postconditioning: staccato reperfusion reintroduces oxygen and perpetuates myocardial acidosis. *Circulation* 115:1895–903
- Inserte J, Barba I, Hernando V, Garcia-Dorado D (2009) Delayed recovery of intracellular acidosis during reperfusion prevents calcium activation and determines protection in postconditioned myocardium. *Cardiovasc Res* 81:116–22
- Sun HY, Wang NP, Kerendi F, et al (2005) Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation

- and intracellular Ca^{2+} overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288:H1900–H8
33. Argaud L, Gateau-Roesch O, Augeul L, et al (2008) Increased mitochondrial calcium coexists with decreased reperfusion injury in postconditioned (but not preconditioned) hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294:H386–H91
 34. Lecour S (2009) Activation of the protective survivor activating factor enhancement (SAFE) pathway against reperfusion injury: does it go beyond the RISK pathway? *J Mol Cell Cardiol* 47:32–40
 35. Argaud L, Gateau-Roesch O, Raïsky O, et al (2005) Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition. *Circulation* 111:194–7
 36. Argaud L, Gateau-Roesch O, Chalabreysse L, et al (2004) Preconditioning delays Ca^{2+} -induced mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res* 61:115–22
 37. Baines CP, Kaiser RA, Purcell NH, et al (2005) Loss of cyclophilin D reveals a critical role for mitochondrial permeability transition in cell death. *Nature* 434:658–62
 38. Burley DS, Baxter GF (2009) Pharmacological targets revealed by myocardial postconditioning. *Curr Opin Pharmacol* 9:177–88
 39. Hausenloy DJ, Yellon DM (2007) Reperfusion injury salvage kinase signalling: taking a RISK for cardioprotection. *Heart Fail Rev* 12:217–34
 40. Bell RM, Yellon DM (2011) There is more to life than revascularization: therapeutic targeting of myocardial ischemia/reperfusion injury. *Cardiovasc Ther* 29:e67–e9
 41. Hausenloy DJ, Maddock HL, Baxter GF, Yellon DM (2002) Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning? *Cardiovasc Res* 55:534–43
 42. Argaud L, Gateau-Roesch O, Muntean D, et al (2005) Specific inhibition of the mitochondrial permeability transition prevents lethal reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 38:367–74
 43. Zhao H (2009) Ischemic postconditioning as a novel avenue to protect against brain injury after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 29:873–85
 44. Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK (2006) Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 26:1114–21
 45. Pignataro G, Meller R, Inoue K, et al (2008) In vivo and in vitro characterization of a novel neuroprotective strategy for stroke: ischemic postconditioning. *J Cereb Blood Flow Metab* 28:232–41
 46. Sun J, Luan Q, Dong H, et al (2012) Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening contributes to the neuroprotective effects of ischemic postconditioning in rats. *Brain Res* 1436:101–10
 47. Osman MM, Lulic D, Glover L, et al (2011) Cyclosporine A as a neuroprotective agent against stroke: its translation from laboratory research to clinical application. *Neuropeptides* 45:359–68
 48. Cook AM, Whitlow J, Hatton J, Young B (2009) Cyclosporine A for neuroprotection: establishing dosing guidelines for safe and effective use. *Expert Opin Drug Saf* 8:411–9
 49. Zhao ZQ (2010) Postconditioning in reperfusion injury: a status report. *Cardiovasc Drugs Ther* 24:265–79
 50. Van den Akker EK, Manintveld OC, Hesselink DA, et al (2013) Protection against renal ischemia-reperfusion injury by ischemic postconditioning. *Transplantation* 95:1299–305
 51. Lin HC, Lee TK, Tsai CC, et al (2012) Ischemic postconditioning protects liver from ischemia-reperfusion injury by modulating mitochondrial permeability transition. *Basic Exp Res* 93:265–71
 52. Sullivan PG, Thompson M, Scheff SW (2000) Continuous infusion of cyclosporin A postinjury significantly ameliorates cortical damage following traumatic brain injury. *Exp Neurol* 161:631–7
 53. Cour M, Loufouat J, Paillard M, et al (2010) Inhibition of mitochondrial permeability transition to prevent the post-cardiac arrest syndrome. *Eur Heart J* 32:226–35
 54. Staat P, Rioufol G, Piot C, et al (2005) Postconditioning the human heart. *Circulation* 112:2143–8
 55. Thibault H, Piot C, Staat P, et al (2008) Long-term benefit of postconditioning. *Circulation* 117:1037–44
 56. Lonborg J, Kelbaek H, Vejlsstrup N, et al (2010) Cardioprotective effects of ischemic postconditioning in patients with primary percutaneous coronary intervention, evaluated by magnetic resonance. *Circ Cardiovasc Interv* 3:34–41
 57. Zhou C, Yao Y, Zheng Z, et al (2012) Stenting technique, and age are associated with cardioprotection by ischaemic postconditioning in primary coronary intervention: a systematic review of 10 randomized trials. *Eur Heart J* 33:3070–7
 58. Ovize M, Thibault H, Przyklenk K (2013) Myocardial conditioning: opportunities for clinical translation. *Circ Res* 113:439–50
 59. Kharbada RK, Nielsen TT, Redington AN (2009) Translation of remote ischaemic preconditioning into clinical practice. *Lancet* 374:1557–65
 60. Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, et al (2013) Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* 382:597–604
 61. Botker HE, Kharbada R, Schmidt MR, et al (2010) Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomized trial. *Lancet* 375:727–34
 62. Er F, Nia AM, Dopp H, et al (2012) Ischemic preconditioning for prevention of contrast medium-induced nephropathy: randomizes pilot renPro Trial (Renal Protection Trial). *Circulation* 126:296–303
 63. Hausenloy DJ, Botker HE, Condorelli G, et al (2013) Translating cardioprotection for patient benefit: position paper from the Working Group of Cellular Biology of the Heart of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc Res* 98:7–27
 64. Kloner RA (2013) Current state of clinical translation of cardioprotective agents for acute myocardial infarction. *Circ Res* 113:451–63
 65. Tissier R, Ghaleh B, Cohen MV, et al (2012) Myocardial protection with mild hypothermia. *Cardiovasc Res* 94:217–25
 66. Götzberg M, Olivecrona GK, Koul S, et al (2010) A pilot study of rapid cooling by cold saline and envovascular cooling before reperfusion in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Interv* 3:400–7
 67. Gerczuk PZ, Kloner RA (2012) An Update on cardioprotection. *J Am Coll Cardiol* 59:969–78
 68. Hausenloy DJ, Boston-Griffiths EA, Yellon DM (2012) Cyclosporin A and cardioprotection: from investigate tool to therapeutic agent. *Br J Pharmacol* 165:1235–45
 69. Piot C, Croisille P, Staat P, et al (2008) Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 359:473–81
 70. Mewton N, Croisille P, Gahide G, et al (2010) Effect of cyclosporine on left ventricular remodeling after reperfused myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 55:1200–5