

# Ischémie–reperfusion myocardique — Préconditionnement

## Myocardial ischaemia and reperfusion — Preconditioning

R. Tissier · B. Ghaleh · A. Berdeaux

© SRLF et Springer-Verlag France 2011

### Introduction

En 1999, l'incidence annuelle du syndrome coronaire aiguë était respectivement de 4,34 et 1,03 ‰ pour les hommes et femmes provenant de 37 pays industrialisés [1]. L'infarctus du myocarde est la conséquence la plus grave de ce syndrome. Il constitue par ailleurs l'une des principales causes de morbidité dans le monde. La généralisation des approches de revascularisation coronaire (thrombolyse ou angioplastie percutanée) a permis d'améliorer considérablement le pronostic de cette affection [2]. Cependant, la reperfusion d'une artère occluse n'est que rarement instaurée avant qu'une part importante du myocarde ne soit infarcté. Cette perte de myocarde viable et contractile conduit à terme à une insuffisance cardiaque postischémique chez une large proportion de patients. Dans la mesure où il paraît difficile de réduire aujourd'hui davantage les délais de revascularisation dans les pays occidentaux (*door to balloon time*), il est indispensable de développer des approches complémentaires permettant d'augmenter la résistance du myocarde à l'ischémie et aux lésions de reperfusion. Dans ce contexte, l'une des premières approches cardioprotectrices décrites est le preconditionnement. L'étude de ce phénomène a permis de comprendre les bases mécanistiques de la cardioprotection et a abouti à la découverte d'une autre approche cardioprotectrice plus pertinente pour une translation clinique : le postconditionnement.

### Définitions et historique

#### Préconditionnement ischémique

En 1986, Murry et al. [3] ont montré sur un modèle de chien anesthésié que la taille de l'infarctus du myocarde induit par une occlusion coronaire de 40 minutes était considérablement réduite lorsque cette occlusion était précédée par quatre cycles brefs d'occlusion–reperfusion. Ils découvraient ainsi l'aptitude de brefs épisodes ischémiques à induire une cardioprotection endogène et lui donnaient le nom de « preconditionnement ischémique du myocarde ». Il est cependant rapidement apparu qu'il ne s'agissait que d'un retard à l'apparition de la mort cellulaire, puisque l'allongement de la durée de l'occlusion coronaire rendait ce phénomène progressivement impuissant à réduire la taille de l'infarctus [3,4].

#### Préconditionnement tardif du myocarde

En 1993, Marber et al. [5] ont montré que le preconditionnement suivait en fait une cinétique biphasique en laissant apparaître :

- une première fenêtre de protection d'apparition très rapide, mais de courte durée (une à trois heures)
- une seconde fenêtre, qui débute 12 à 24 heures plus tard et persiste jusqu'à la 72<sup>e</sup> heure. Ces fenêtres de preconditionnement sont respectivement décrites sous les termes de « preconditionnement précoce » et « preconditionnement tardif ».

#### Préconditionnement pharmacologique du myocarde

L'étude du preconditionnement ischémique a permis de mettre en évidence l'implication de nombreuses voies de signalisation. De multiples études ont alors eu pour objectif de mimer ce phénomène naturel par différentes substances, on parle alors de preconditionnement pharmacologique. Ce type de preconditionnement peut également être précoce ou tardif et a pu être observé à la suite de l'administration de

---

R. Tissier (✉)

École nationale vétérinaire d'Alfort,  
7, avenue du Général-de-Gaulle,  
F-94704 Maisons-Alfort cedex, France  
e-mail : rtissier@vet-alfort.fr

B. Ghaleh · A. Berdeaux  
Faculté de médecine, université Paris-Est,  
Créteil, France

bradykinine [6,7], d'agonistes des récepteurs A1 ou A3 de l'adénosine [8–10], de donneurs directs de NO [11,12], de dérivés nitrés [13], de morphine [14] ou encore d'un agoniste des récepteurs  $\delta$ 1 aux opiacés [15]. Par définition, le terme de préconditionnement pharmacologique sera employé lorsqu'une molécule active des récepteurs ou médiateurs impliqués dans le préconditionnement ischémique (ex. : protéine Gi/o ou protéine-kinase C [PKC]).

### Préconditionnement à distance

Przyklenk et al. [16] ont été les premiers à démontrer chez des chiens anesthésiés que de brèves occlusions de l'artère coronaire circonflexe diminuaient la taille de l'infarctus induit par une occlusion de 60 minutes sur l'artère antérieure du ventricule gauche. Cela supposait qu'une ischémie myocardique régionale était susceptible de préconditionner la totalité du myocarde. Ce phénomène pourrait s'expliquer soit par un phénomène « mécanique » d'étirement myocardique au cours de l'ischémie [17], soit par l'activation de voies neurohumorales concernant le myocarde dans son entier [18].

De manière plus surprenante, le préconditionnement myocardique peut être induit à distance par une occlusion des artères mésentériques [19] ou rénales [20] chez le rat ou le lapin. Il peut également être induit par une sténose de l'artère fémorale associée à une stimulation électrique du muscle gastrocnémien chez le lapin [21] ou par une simple occlusion de cette artère chez le porc [22]. Ce phénomène de préconditionnement interorgane fait intervenir l'activation de systèmes neurohumoraux tels que la voie des opiacés [23], de l'adénosine [20] ou de la bradykinine [19], dont l'intervention dans le préconditionnement ischémique classique est bien connue.

### Autres formes de préconditionnement myocardique

L'état de préconditionnement cardiaque peut également être induit par des procédures non pharmacologiques et apparemment indépendantes des situations classiques d'ischémie. Il est pourtant difficile d'exclure l'existence d'une composante ischémique dans plusieurs de ces stimuli préconditionnants. Nous pourrions par exemple citer le préconditionnement induit par :

- un entraînement électrosystolique cardiaque [24] ;
- un choc thermique [25, 26] ;
- un étirement ventriculaire gauche [17] ;
- un exercice musculaire [27].

### Préconditionnement et nature de la protection conférée

Les effets cardioprotecteurs du préconditionnement peuvent être évalués sur toutes les conséquences délétères de l'isché-

mie–reperfusion, c'est-à-dire principalement la sidération myocardique, l'infarctus du myocarde, les arythmies ventriculaires et la dysfonction endothéliale. Par ailleurs, il importe de distinguer les effets du préconditionnement ischémique de ceux des différents préconditionnements pharmacologiques, ainsi que ceux du préconditionnement précoce par rapport à ceux du préconditionnement tardif. En effet, en fonction de ces différents paramètres, l'effet cardioprotecteur du préconditionnement peut être très différent. À titre d'exemple, le préconditionnement ischémique précoce est très puissant pour réduire la taille d'infarctus dans des modèles d'occlusion coronaire prolongée [28–30], alors que le préconditionnement tardif est peu efficace dans ce contexte [31–34]. À l'inverse, le préconditionnement tardif permet de protéger contre la sidération myocardique [12,35,36], alors que le préconditionnement précoce est inefficace [37].

### Préconditionnement chez l'homme

L'existence du phénomène de préconditionnement a été clairement démontrée sur des cultures de cardiomyocytes humains soumis à un court épisode hypoxique. Cette brève hypoxie était en effet capable de réduire la mortalité provoquée par une hypoxie ultérieure de longue durée (90 minutes) [38]. Cette démonstration expérimentale a été confirmée par de nombreux essais cliniques. Au cours de chirurgie de pontages aortocoronaires, il a ainsi été montré que deux épisodes préalables de trois minutes de clampage de la crosse aortique pouvaient augmenter la concentration en ATP de biopsies myocardiques réalisées pendant un clampage ultérieur et prolongé (dix minutes) [39]. De plus, lors d'angioplasties percutanées, la douleur angineuse et le sus-décalage du segment ST étaient de moindre intensité au cours du second épisode de gonflement du ballonnet intravasculaire que lors du premier [40]. Cela suggérait que le premier gonflement induisait une protection contre les effets des gonflements ultérieurs. Par ailleurs, Klöner et al. [41] ont montré que les conséquences fonctionnelles et lésionnelles d'un syndrome coronaire aigu étaient plus favorables chez les patients ayant préalablement présenté des crises d'angor qui auraient ainsi « préconditionné » le myocarde. Il semblerait que ce phénomène disparaisse chez les individus âgés, même si cela reste controversé [42,43]. Cette notion est par ailleurs soutenue par un certain nombre de travaux expérimentaux [44].

Une autre évidence concernant le préconditionnement chez l'homme est l'existence du phénomène du *warm-up*, qui a d'ailleurs été décrit avant même la découverte du préconditionnement [45]. Dans cette circonstance, on constate que des patients « angineux stables » soumis à une première épreuve d'effort puis à une période de repos sont capables au

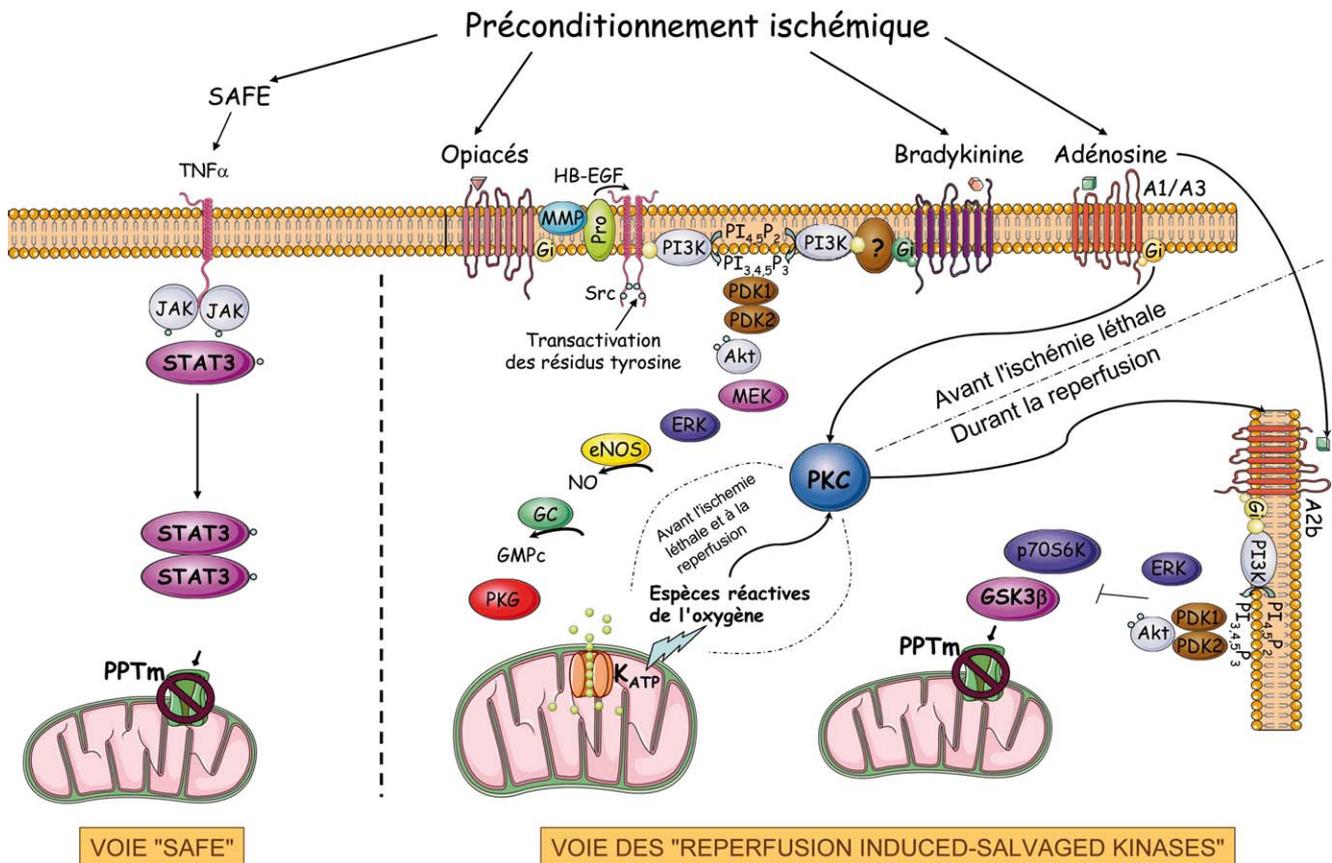
cours d'une seconde épreuve de réaliser un exercice plus important avant l'apparition des symptômes d'angor [45,46]. Tous ces éléments suggèrent donc clairement l'existence du phénomène de preconditionnement ischémique précoce chez l'homme. D'autres travaux ont par ailleurs suggéré l'existence d'un preconditionnement pharmacologique précoce induit par l'adénosine [47] ou le nicorandil [48,49].

En ce qui concerne le preconditionnement tardif, il a été montré que le phénomène du *warm-up* disparaissait lorsque les deux épreuves d'effort étaient réalisées à 24 heures d'intervalle [46]. Cependant, un autre essai clinique a démontré l'existence d'un preconditionnement pharmacologique tardif induit par la nitroglycérine chez l'homme [50]. Cette étude a été réalisée chez deux groupes de patients porteurs d'une sténose coronaire et soumis à une angioplastie percutanée. Le premier groupe de patients avait reçu un placebo et l'autre de la nitroglycérine la veille de l'angioplastie.

L'administration préalable du dérivé nitré avait permis de diminuer l'intensité du sus-décalage du segment ST lors du gonflement du ballonnet intravasculaire pendant l'angioplastie. Il s'agissait là de la première description clinique d'un preconditionnement pharmacologique tardif chez l'homme.

## Mécanisme d'action cardioprotecteur du preconditionnement

La Figure 1 illustre les principales voies de signalisation impliquées dans le preconditionnement ischémique précoce. Au cours du stimulus preconditionnant, les cycles d'occlusion-reperfusion libèrent des substances endogènes (opioïdes, bradykinines et adénosine) capables de stimuler des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines Gi [51]. La stimulation de ces récepteurs entraîne



**Fig. 1** Représentation simplifiée de la signalisation du preconditionnement ischémique précoce *SAFE*: survivor activating factor enhancement (*SAFE*); *TNFα*: tumor necrosis factor alpha; *STAT-3*: signal transducer and activator of transcription-3; *MMP*: metalloprotéinases matricielles; *HB-EGF*: heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor; *Pro*: pro-*HB-EGF*; *PI3K*: phosphatidylinositol 3-kinase; *PI4:5P2*: phosphatidylinositol bisphosphate; *PI3:4:5P3*: phosphatidylinositol trisphosphate; *MEK*: mitogen activated protein kinase kinase; *ERK*: extracellular-signal regulated kinase; *NO*: monoxyde d'azote; *NOS*: NO synthase; *eNOS*: NOS endothéliale; *GC*: guanylyl cyclase; *PKG*: protéine-kinase G; *PKC*: protéine-kinase C; *KATP*: canaux potassiques ATP-dépendents; *p70S6K*: p70S6 kinase; *GSK-3β*: glycogen synthase kinase-3β; *PPTm*: pore de perméabilité de transition mitochondriale.

une transduction du signal via le récepteur de l'*epidermal growth factor* [52,53], la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) [54,55], l'Akt [56], l'*extracellular signal-regulated kinase 1/2* (ERK1/2), la eNOS [57] et la protéine-kinase G (PKG) [58]. La PKG active les canaux  $K_{ATP}$  mitochondriaux ( $mK_{ATP}$ ) [59–61] et entraîne une production d'espèces réactives de l'oxygène [61,62] et l'activation de la PKC [63,64]. La PKC peut aussi être activée par les récepteurs A1 et A3 de l'adénosine qui activent les phospholipases C et D et produisent du diacylglycérol (DAG). Lors de la reperfusion, une seconde voie de signalisation s'active, impliquant à nouveau la PI3K et l'ERK1/2 [65,66]. Ces kinases ont ainsi été appelées *reperfusion-induced salvaged kinase* (RISK). Elles activent la *glycogen synthase kinase 3 $\beta$*  (GSK-3 $\beta$ ) [66] et cela conduit à une inhibition de l'ouverture du pore de perméabilité de transition mitochondrial (PPTm) [67,68]. L'ouverture de ce pore peut aboutir à la dépolarisation de la mitochondrie, à l'arrêt de la production d'ATP, à l'apparition d'un gonflement mitochondrial et éventuellement à des ruptures membranaires. Lorsque la majorité des mitochondries d'une cellule est affectée, la cellule meurt de nécrose par carence énergétique alors que le processus de mort par apoptose est probablement plus lent, par relargage de cytochrome C, si le nombre de mitochondries concernées est réduit [69].

Outre cette voie de signalisation dépendante des RISK (PI3K–Akt ; ERK1/2), une autre voie de signalisation a récemment été mise en évidence. Il s'agit de la voie du *survivor activating factor enhancement* (SAFE) qui inclut le *tumor necrosis factor alpha* (TNF $\alpha$ ) et le *signal transducer and activator of transcription-3* (STAT-3). Cette voie conduit également à une inhibition de l'ouverture du PPTm. Après un stimulus préconditionnant, la voie SAFE et la voie des RISK agissent de concert. L'inhibition d'une des voies conduit donc à l'inhibition de la seconde [70].

Le preconditionnement tardif agit par un mécanisme différent de celui du preconditionnement précoce [71]. Le stimulus preconditionnant est toujours dépendant de l'activation des récepteurs couplés aux protéines G et de divers éléments de signalisation (PKC,  $K_{ATP}$ ...). Cela est suivi par l'activation de facteurs de transcription, dont le plus important est le *nuclear factor  $\kappa$ -B* [72], et à l'expression de protéines augmentant la résistance du myocarde à l'ischémie telles que la monoxyde d'azote synthase inductible (NOSi) [73,74], la cyclo-oxygénase inductible (COX-2) [75], l'aldose reductase [76] ou encore des protéines antiapoptotiques [77].

## Conclusion

Le preconditionnement ischémique du myocarde constitue une approche cardioprotectrice extrêmement puissante expérimentale. La translation clinique de ce concept est difficile à envisager, mais l'étude de son mécanisme d'action a permis

de comprendre les bases physiopathologiques de la cardioprotection. Les nombreux travaux sur le preconditionnement ont ainsi ouvert la voie à la découverte et à l'étude du preconditionnement myocardique, dont la pertinence pour une translation clinique a déjà été largement démontrée.

**Conflit d'intérêt :** les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

## Références

1. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mähönen M, et al (1999) Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. *Lancet* 353:1547–57
2. Schömig A, Ndrepepa G, Kastrati A (2006) Late myocardial salvage: time to recognize its reality in the reperfusion therapy of acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 27:1900–7
3. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA (1986) Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74:1124–36
4. Gumina RJ, Buerger E, Eickmeier C, et al (1999) Inhibition of the  $Na^+/H^+$  exchanger confers greater cardioprotection against 90 minutes of myocardial ischemia than ischemic preconditioning in dogs. *Circulation* 100:2519–26; discussion 469–72
5. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM (1993) Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation* 88:1264–72
6. Kositprapa C, Ockaili RA, Kukreja RC (2001) Bradykinin B2 receptor is involved in the late phase of preconditioning in rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 33:1355–62
7. Linz W, Wiemer G, Scholkens BA (1997) Beneficial effects of bradykinin on myocardial energy metabolism and infarct size. *Am J Cardiol* 80:118A–23A
8. Liu GS, Richards SC, Olsson RA, et al (1994) Evidence that the adenosine A3 receptor may mediate the protection afforded by preconditioning in the isolated rabbit heart. *Cardiovasc Res* 28:1057–61
9. Takano H, Bolli R, Black RG Jr, et al (2001) A(1) or A(3) adenosine receptors induce late preconditioning against infarction in conscious rabbits by different mechanisms. *Circ Res* 88:520–8
10. Tsuchida A, Liu GS, Wilborn WH, Downey JM (1993) Pretreatment with the adenosine A1 selective agonist, 2-chloro-N6-cyclopentyladenosine (CCPA), causes a sustained limitation of infarct size in rabbits. *Cardiovasc Res* 27:652–6
11. Nakano A, Liu GS, Heusch G, et al (2000) Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classical ischemic preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 32:1159–67
12. Takano H, Tang XL, Qiu Y, et al (1998) Nitric oxide donors induce late preconditioning against myocardial stunning and infarction in conscious rabbits via an antioxidant-sensitive mechanism. *Circ Res* 83:73–84
13. Banerjee S, Tang X-L, Qiu Y, et al (1999) Nitroglycerin induces late preconditioning against myocardial stunning via a PKC-dependent pathway. *Am J Physiol* 277:H2488–H94
14. Schultz JEJ, Hsu AK, Gross GJ (1996) Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. *Circ Res* 78:1100–4

15. Schultz JEJ, Hsu AK, Nagase H, Gross GJ (1998) TAN-67, a delta 1-opioid receptor agonist, reduces infarct size via activation of Gi/o proteins and KATP channels. *Am J Physiol* 274:H909–H14
16. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, et al (1993) Regional ischemic “preconditioning” protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 87:893–9
17. Ovize M, Kloner RA, Przyklenk K (1994) Stretch preconditions canine myocardium. *Am J Physiol* 266:H137–H46
18. Heusch G, Schulz R (2002) Remote preconditioning. *J Mol Cell Cardiol* 34:1279–81
19. Schoemaker RG, van Heijningen CL (2000) Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *Am J Physiol* 278:H1571–H6
20. Pell TJ, Baxter GF, Yellon DM, Drew GM (1998) Renal ischemia preconditions myocardium: role of adenosine receptors and ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol* 275:H1542–H7
21. Birnbaum Y, Hale SL, Kloner RA (1997) Ischemic preconditioning at a distance: reduction of myocardial infarct size by partial reduction of blood supply combined with rapid stimulation of the gastrocnemius muscle in the rabbit. *Circulation* 96:1641–6
22. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, et al (2002) Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 106:2881–3
23. Patel HH, Moore J, Hsu AK, Gross GJ (2002) Cardioprotection at a distance: mesenteric artery occlusion protects the myocardium via an opioid sensitive mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 34:1317–23
24. Vegh A, Papp JG, Parratt JR (1994) Prevention by dexamethasone of the marked antiarrhythmic effects of preconditioning induced 20 hours after rapid cardiac pacing. *Br J Pharmacol* 113:1081–2
25. Richard V, Laude K, Artigues C, et al (2002) Heat stress increases endothelium-dependent relaxations and prevents reperfusion-induced endothelial dysfunction. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 29:956–62
26. Yamashita N, Hoshida S, Taniguchi N, et al (1998) Whole-body hyperthermia provides biphasic cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in the rat. *Circulation* 98:1414–21
27. Yamashita N, Hoshida S, Otsu K, et al (1999) Exercise provides direct biphasic cardioprotection via manganese superoxide dismutase activation. *J Exp Med* 189:1699–706
28. Aouam K, Tissier R, Bruneval P, et al (2005) Preconditioning of salvaged myocardium in conscious rabbits with postinfarction dysfunction. *Am J Physiol* 288:H2763–H9
29. Cohen MV, Liu GS, Downey JM (1991) Preconditioning causes improved wall motion as well as smaller infarcts after transient coronary occlusion in rabbits. *Circulation* 84:341–9
30. Cohen MV, Yang X-M, Downey JM (1999) Smaller infarct after preconditioning does not predict extent of early functional improvement of reperfused heart. *Am J Physiol* 277:H1754–H61
31. Miki T, Swafford AN, Cohen MV, Downey JM (1999) Second window of protection against infarction in conscious rabbits: real or artifactual. *J Mol Cell Cardiol* 31:809–16
32. Tissier R, Aouam K, Berdeaux A, Ghaleh B (2003) Evidence for a ceiling of cardioprotection with a nitric oxide donor-induced delayed preconditioning in rabbits. *J Pharmacol Exp Ther* 306:528–31
33. Tissier R, Souktani R, Bruneval P, et al (2002) Adenosine A1-receptor induced late preconditioning and myocardial infarction: reperfusion duration is critical. *Am J Physiol* 283:H38–H43
34. Tissier R, Souktani R, Parent de Curzon O, et al (2001) Pharmacological delayed preconditioning against ischaemia-induced ventricular arrhythmias: effect of an adenosine A(1)-receptor agonist. *Br J Pharmacol* 134:1532–8
35. Takano H, Tang X-L, Bolli R (2000) Differential role of KATP channels in late preconditioning against myocardial stunning and infarction in rabbits. *Am J Physiol* 279:H2350–H9
36. Tang XL, Takano H, Rizvi A, et al (2002) Oxidant species trigger late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits. *Am J Physiol* 282:H281–H91
37. Ovize M, Przyklenk K, Hale SL, Kloner RA (1992) Preconditioning does not attenuate myocardial stunning. *Circulation* 85:2247–54
38. Ikonomidis JS, Tumiati LC, Weisel RD, et al (1994) Preconditioning human ventricular cardiomyocytes with brief periods of simulated ischaemia. *Cardiovasc Res* 28:1285–91
39. Yellon DM, Alkhulaifi AM, Pugsley WB (1993) Preconditioning the human myocardium. *Lancet* 342:276–7
40. Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, et al (1990) Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. Clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation* 82:2044–51
41. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, et al (1995) Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. A clinical correlate to preconditioning? *Circulation* 91:37–45
42. Abete P, Ferrara N, Cioppa A, et al (1996) Preconditioning does not prevent postischemic dysfunction in aging heart. *J Am Coll Cardiol* 27:1777–86
43. Kloner RA, Przyklenk K, Shook T, Cannon CP (1998) Protection conferred by preinfarct angina is manifest in the aged heart: evidence from the TIMI 4 Trial. *J Thromb Thrombolysis* 6:89–92
44. Schulman D, Latchman DS, Yellon DM (2001) Effect of aging on the ability of preconditioning to protect rat hearts from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 281:H1630–H6
45. Williams DO, Bass TA, Gewirtz H, Most AS (1985) Adaptation to the stress of tachycardia in patients with coronary artery disease: insight into the mechanism of the warm-up phenomenon. *Circulation* 71:687–92
46. Tomai F, Perino M, Ghini AS, et al (1999) Exercise-induced myocardial ischemia triggers the early phase of preconditioning but not the late phase. *Am J Cardiol* 83:586–8, A7–8
47. Leesar MA, Stoddard M, Ahmed M, et al (1997) Preconditioning of human myocardium with adenosine during coronary angioplasty. *Circulation* 95:2500–7
48. Saito S, Mizumura T, Takayama T, et al (1995) Antiischemic effects of nicorandil during coronary angioplasty in humans. *Cardiovasc Drugs Ther* 9(Suppl 2):257–63
49. IONA Study Group (2002) Effect of nicorandil on coronary events in patients with stable angina: the Impact Of Nicorandil in Angina (IONA) randomised trial. *Lancet* 359:1269–75
50. Leesar MA, Stoddard MF, Dawn B, et al (2001) Delayed preconditioning-mimetic action of nitroglycerin in patients undergoing coronary angioplasty. *Circulation* 103:2935–41
51. Cohen MV, Yang XM, Liu GS, et al (2001) Acetylcholine, bradykinin, opioids, and phenylephrine, but not adenosine, trigger preconditioning by generating free radicals and opening mitochondrial KATP channels. *Circ Res* 89:273–8
52. Cohen MV, Philipp S, Krieg T, et al (2007) Preconditioning-mimetics bradykinin and DADLE activate PI3-kinase through divergent pathways. *J Mol Cell Cardiol* 42:842–51
53. Krieg T, Cui L, Qin Q, et al (2004) Mitochondrial ROS generation following acetylcholine-induced EGF receptor transactivation requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF. *J Mol Cell Cardiol* 36:435–43
54. Qin Q, Downey JM, Cohen MV (2003) Acetylcholine but not adenosine triggers preconditioning through PI3-kinase and a tyrosine-kinase. *Am J Physiol* 284:H727–H34
55. Tong H, Chen W, Steenbergen C, Murphy E (2000) Ischemic preconditioning activates phosphatidylinositol-3-kinase upstream of protein kinase C. *Circ Res* 87:309–15

56. Krieg T, Qin Q, Philipp S, et al (2004) Acetylcholine and bradykinin trigger preconditioning in the heart through a pathway that includes Akt and NOS. *Am J Physiol* 287:H2606–H11
57. Cohen MV, Yang XM, Downey JM (2006) Nitric oxide is a preconditioning mimetic and cardioprotectant and is the basis of many available infarct-sparing strategies. *Cardiovasc Res* 70:231–9
58. Costa ADT, Garlid KD, West IC, et al (2005) Protein kinase G transmits the cardioprotective signal from cytosol to mitochondria. *Circ Res* 97:329–36
59. Gross GJ, Auchampach JA (1992) Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Circ Res* 70:223–33
60. Gross GJ, Fryer RM (1999) Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels and myocardial preconditioning. *Circ Res* 84:973–9
61. Pain T, Yang X-M, Critz SD, et al (2000) Opening of mitochondrial KATP channels triggers the preconditioned state by generating free radicals. *Circ Res* 87:460–6
62. Tanaka M, Fujiwara H, Yamasaki K, Sasayama S (1994) Superoxide dismutase and N-2-mercaptopyrionyl glycine attenuate infarct size limitation effect of ischaemic preconditioning in the rabbit. *Cardiovasc Res* 28:980–6
63. Ytrehus K, Liu Y, Downey JM (1994) Preconditioning protects ischemic rabbit heart by protein kinase C activation. *Am J Physiol* 266:H1145–H52
64. Liu GS, Cohen MV, Mochly-Rosen D, Downey JM (1999) Protein kinase C- $\epsilon$  is responsible for the protection of preconditioning in rabbit cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 31:1937–48
65. Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu MM, Yellon DM (2005) Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am J Physiol* 288:H971–H6
66. 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
67. Budas GR, Sukhodub A, Alessi DR, Jovanović A (2006) 3'Phosphoinositide-dependent kinase-1 is essential for ischemic preconditioning of the myocardium. *FASEB J* 20:E1924–E34
68. Juhaszova M, Zorov DB, Kim SH, et al (2004) Glycogen synthase kinase-3 $\beta$  mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J Clin Invest* 113:1535–49
69. 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
70. Suleman N, Somers S, Smith R, et al (2008) Dual activation of STAT-3 and Akt is required during the trigger phase of ischaemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 79:127–33
71. Stein AB, Tang X-L, Guo Y, et al (2004) Delayed adaptation of the heart to stress: late preconditioning. *Stroke* 35(11 Suppl 1):2676–9
72. Xuan YT, Tang XL, Banerjee S, et al (1999) Nuclear factor-kB plays an essential role in the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Circ Res* 84:1095–109
73. Shinmura K, Xuan YT, Tang XL, et al (2002) Inducible nitric oxide synthase modulates cyclooxygenase-2 activity in the heart of conscious rabbits during the late phase of ischemic preconditioning. *Circ Res* 90:602–8
74. Xuan YT, Tang XL, Qiu Y, et al (2000) Biphasic response of cardiac NO synthase isoforms to ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Am J Physiol* 279:H2360–H71
75. Shinmura K, Tang X-L, Wang Y, et al (2000) Cyclooxygenase-2 mediates the cardioprotective effects of the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:10197–202
76. Shinmura K, Bolli R, Liu SQ, et al (2002) Aldose reductase is an obligatory mediator of the late phase of ischemic preconditioning. *Circ Res* 91:240–6
77. Stein AB, Bolli R, Guo Y, et al (2007) The late phase of ischemic preconditioning induces a prosurvival genetic program that results in marked attenuation of apoptosis. *J Mol Cell Cardiol* 42:1075–85