

Nové možnosti ovplyvnenia rozsahu ischemických poškodení

Burda, R., Burda J.

Klinika úrazovej chirurgie, UNLP, Rastislavova 43, Košice

Súhrn: Prispôsobovanie sa podmienkam je jednou z kľúčových schopností živej hmoty. Od čias kedy bola prispôsobivosť spoznaná sa jej štúdium rozšírilo z úrovne druhov až na bunky a molekuly. Jeden z prejavov prispôsobivosti je nazývaný preto, že zvyšuje odolnosť proti nedostatočnému zásobovaniu orgánov alebo ich častí krvou – **ischemická tolerancia**. Odborná definícia hovorí, že ak je organizmus, alebo jeho časť, vystavený primeranému stresu, ktorý ho nezničí, je schopný vybudovať si obranu, ktorá ho na určitú dobu proti rovnakému alebo podobnému stresu chráni. Ľudovo povedané: čo Ťa nezabije to Ťa posilní. Ide o mimoriadne silný endogénny obranný mechanizmus umožňujúci prežiť doslova násobky smrteľných dávok.

Funkčnosť fenoménu ischemickej tolerancie bola dokázaná u všetkých doteraz študovaných druhov živočíchov a vo všetkých študovaných tkanivách. Na rozdiel od stagnujúcej farmakologickej terapie ischemických a postischemických stavov, významný pokrok v poznaní ischemickej tolerancie spočíva v použití postkondicionovania a najmä jeho formy vzdialeného postkondicionovania umožní v krátkej dobe vypracovanie postupov bezpečného reprodukovateľného kondicionovania napr. neinvazívnou krátkodobou ischemizáciou intaktnej končatiny alebo injekčným podaním vhodných stresorov. Využitie tohto spôsobu ochrany organizmu či jeho jednotlivých súčastí, je doslova pred dverami klinickej medicíny.

Kľúčové slová: ischémia, ischemická tolerancia, postkondicionovanie

Summary

The adaptation to the conditions is one of the key skills of a living matter. From the time when it was discovered a level of studying was extended from the species to the cells, molecules and genes. One of the manifestations of adaptability is called **ischemic tolerance** because that increases the resistance against insufficient blood supply to the organs or its parts. Professional definition says that if is an organism, or its part subjected to adequate stress that it does not destroy, is able to build the defence which protects it for some time against the same or similar lethal stress. Simply expressed - "What doesn't kill you makes you stronger". It is a surprisingly robust endogenous defensive mechanism allowing to survive multiples of lethal doses. This tolerance has been demonstrated in all animal species and in all tissues so far studied. In contrast to the stagnant pharmacological therapy of ischemic and postischemic damage, the significant advances in knowledge of the ischemic tolerance and in particular use of postconditioning, especially remote postconditioning, allows us to expect in the short time the development of safe and reproducible e.g. short limb ischemia or injection of appropriate stressors. The use of this mode of protection of the organism or its individual components is really in front of the doors of the clinical medicine.

Key words: ischemia, ischemic tolerance, postconditioning

Úvod

Ischemické poškodenie mozgu je treťou najčastejšou príčinou smrti po srdcovom infarkte a rakovine. Každý šiesty človek bude mať počas svojho života cievnu mozgovú príhodu, v inom vyjadrení - každých 6 sekúnd niekto niekde vo svete zomiera na ischemické poškodenie mozgu. Rovnako

závažnými stavmi s tragickými následkami sú aj toxické poškodenie mozgu a úrazy mozgu a miechy často končiace smrťou alebo trvalými vážnymi následkami, ktoré nie sú liečiteľné, ani výrazne terapeuticky ovplyvniteľné z pohľadu súčasnej medicíny (1,2,3,4). Tieto situácie sú nielen osobnou a rodinnou tragédiou, ale aj mimoriadne nákladnou finančnou záťažou pre celú spoločnosť.

Za posledných 20 rokov bol v oblasti použitia nových farmaceutických prípravkov pri liečbe poškodenia mozgu dosiahnutý len malý pokrok (5). Navyše aj niektoré látky vyvinuté na ochranu nervového tkaniva (zmenšenie rozsahu infarktu, predĺženie terapeutického okna na reperfúziu terapiu resp. minimalizáciu postischemického reperfúzneho poškodenia radikálmi alebo zápalovou reakciou), ktoré boli veľmi sľubné v predklinických testoch zlyhali pri klinickom nasadení (6, 7). Podobne, neuroprotektívna terapia nebola úspešná ani pri klinických testoch po traumách hlavy (8). Po zlyhaní viac ako 50 látok vo viac ako 100 klinických štúdiách sa klinici môžu oprávnene pýtať: „Je neuroprotektívna terapia cievnych mozgových príhod a úrazových ischemických poškodení mozgu len fantáziou vymyslenou vedcami základného výskumu?“ (9). Ale práve zlyhanie farmakologickej neuroprotektívnej stratégie obrátilo pozornosť na štúdium endogénnych neuroprotektívnych mechanizmov mozgu. Po prvých dôkazoch na srdcovom svale bol fenomén ischemickej tolerancie dokázaný aj v CNS a iných orgánoch a tkanivách. Tolerancia funguje aj u všetkých doteraz študovaných druhov živočíchov vrátane ľudí. Tento endogénny obranný mechanizmus bol charakterizovaný v dvoch podobách, konkrétne ako ischemický prekondicioning a ischemický postkondicioning. Podstatou prekondicionovania je, že krátke subletálne epizódy ischemie sú schopné aktivovať v organizme ochranu umožňujúcu prežiť aj tým najcitlivejším bunkám bez prísunu krvi či kyslíka časy niekoľkonásobne prevyšujúce časy

smrteľné. A nielen to, takto získaná tolerancia chráni aj pred stresmi iného pôvodu ako je nedostatok kyslíka (krížová tolerancia). Platí to aj v opačnom usporiadaní – pôsobenie niekoľko desiatok často protichodných stresorov (napr. hypoxia, hyperoxia, hypertermia, hypotermia, chemické látky ako noradrenalín, bradykinín, kyseliny linolénová a 3-nitropropiónová, lypopolysacharid a iné) je schopné aktivovať ochranu mozgu proti ischemii (10, 11, 12, 13). Nevýhodou tohto spôsobu ochrany je, že musí byť použitý pred výskytom letálnej ischemie, teda v klinike sa to prakticky týka len plánovaných operácií.

Experimentálne výsledky

V poslednom desaťročí však došlo pri štúdiu ischemickej tolerancie k významnému pokroku a to hneď v niekoľkých oblastiach. Zhao so spolupracovníkmi v roku 2003 publikovali pozorovanie, že ak na začiatku reperfúzie po ischemii srdca použili niekoľko cyklov krátkej reperfúzie striedanej s krátkymi obdobiami ischemie dosiahli významné zlepšenie stavu (14). Tento postup bol v stovkách prác potvrdený najmä na srdci, ale aj ostatných študovaných orgánoch, a tiež na mozgu (15, 16, 17, 18). Určitá špecifita po prechodných ischemiách mozgu (simulácia zastavenia srdcovej činnosti, topenia, dusenia), kde dochádza k tzv. oneskorenej smrti neurónov (delayed neuronal death, čo je proces prakticky totožný s apoptózou), umožnila Burdovi a spol. dokázať, že postkondicioning realizovaný krátkou subletálnou ischemiou sa dá efektívne použiť až po hranicu kedy reálne dochádza k začiatku oneskorenej smrti, čiže v optimálnom prípade až 48 hodín po krátkodobej ischemii, tzv. neskorý postkondicioning (19, 20, 21, 22). Neskôr sa podarilo dokázať, že nielen pri ischemii, ale aj pri apoptózu vyvolávajúcich intoxikáciách, je možné pre postkondicioning použiť aj injekčne podané stresory, t.j. farmakologický

postkondicioning (norepinefrín, 3-nitropropiónová kyselina, bradykinín) (20, 23, 24). Tento postup umožňuje predĺžiť dobu prežívania neurónov bez kyslíka až na dvojnásobok (10 min), a okrem toho navyše otvára prekvapujúco široké dvojdňové terapeutické okno. Logicky však platí, že čím je ischemický, traumatický alebo toxický zásah ťažší tým kratšie je terapeutické okno pre aplikáciu kondicionovania. Je však potrebné upozorniť, že použitie antioxidantov alebo vychytávačov kyslíkových radikálov znemožňuje vznik tolerancie (23, 25, 26). Antioxidanty sú účinné ak sa podávajú preventívne, pri podávaní po ischemii je ich účinnosť nízka, a tým, že bránia aktivácii vnútorných obranných mechanizmov, môžu pri výskyte opakovanej mozgovej príhody alebo intoxikácie spôsobiť kumuláciu poškodení. Tento poznatok by rozhodne stál za experimentálne overenie pri snahe odstrániť z organizmu nežiaduce bunky.

Vízia uplatnenia v humánnej medicíne

Z hľadiska možného použitia rýchleho postkondicioningu v klinickej praxi je nutné realizovať ho ako niekoľkonásobné krátke prerušenie reperfúzie bezprostredne po skončení ischemie, čo je v teréne a v niektorých prípadoch aj na špecializovaných pracoviskách ťažké alebo nemožné. Praktické využitie by prichádzalo do úvahy pri šití ciev v chirurgii. Neskorý postkondicioning sa dá použiť pri stavoch vyvolávajúcich oneskorenú smrť neurónov (apoptózu). Sem patria krátkodobé prechodné ischemie, alebo dlhodobé neúplné ischemie a intoxikácie. Účinnosť neskorého postkondicioningu však pri silnejších atakoch klesá, na druhej strane dá sa očakávať, že by mohol byť kombinovaný s inou liečbou s výnimkou antioxidantov.

A predsa je tu nádej. Metóda, ktorá je použiteľná aj v klinickej praxi po krátkodobých globálnych ischemiách, intoxikáciách aj ložiskových

ischémiách spôsobených upchatím alebo spazmom ciev. Je to metóda jednoduchá, lacná, a pri zachovaní istých zásad aj bezpečná. Dá sa použiť bezprostredne počas alebo po ischémii aj neskoršie, najlepšie opakovane. Tou nádejou je tzv. vzdialená ischemická tolerancia (remote ischemic tolerance, RIP). Už v roku 1993 Przyklenk so spolupracovníkmi publikoval zistenie, že krátka ischémia (prekondicioning) použitá v jednej časti myokardu vyvoláva toleranciu a znižuje dopad infarktu po ischemizácii inej časti srdcového svalu (27). Už v roku 2004 Wang so spolupracovníkmi dokázali, že tolerancia sa šíri do iných častí tela humorálnymi mediátormi (28). A opäť sa potvrdilo, že tento fenomén funguje aj na iných orgánoch vrátane mozgu a to nielen ako prekondicioning, ale aj ako postkondicioning. Podľa Gritsopoulosa a jeho kolegov je vzdialený postkondicioning pri predchádzaní následkov experimentálneho infarktu myokardu u králikov dokonca účinnejší ako priamy postkondicioning robený na rovnakej koronárnej tepne (29). Veľmi sľubné výsledky publikovali Sun so spoluautormi, ktorí po 90-minútovom upchatí *a. cerebri media* použili ako neskorý vzdialený postkondicioning obojstranný 5-minútový podváz femorálnych artérií pričom takýto zásah aplikovaný 6 hodín po ischémii znížil rozsah infarktu na polovinu (30).

Popri rôznych experimentálnych modeloch spočívajúcich v postkondicionovaní krátkou ischémiou obličiek resp. individuálnych svalov už boli vyskúšané aj postupy použité na ľuďoch, konkrétne 2- až 3-násobným striedaním krátkych 5-minútových ischémií a reperfúzií. Ischémie boli robené na hornej časti ramena alebo stehna po nafúknutí 9 cm širokého turniketu na tlak 200 mm Hg (30). Ich výsledky priniesli výrazné zlepšenie stavu endotelu kapilár v porovnaní s 20-minútovou ischémiou kontralaterálnej končatiny bez therapeutickej reperfúzie.

Zdá sa, že čas širokého využitia postkondicionovania robeného pomocou nafukovacej manžety sa rýchlo približuje a ako *ultima ratio* ani nie v zmysle „posledný pokus“, ako skôr skúška za cieľom dosiahnuť liečebný účinok sa dá použiť už teraz a to pri akútnych ischemických stavoch rôznych orgánov. K štandardnému použitiu stačí len doladiť otázky: akú dlhú ischemiu končatiny použiť, v akých intervaloch ju opakovať a či bude účinnejšie opakovanie na tej istej končatine alebo striedanie ďalších troch. Na druhej strane si treba uvedomiť, že reakciou na ischemizáciu končatiny bude prechodné krátkodobé zvýšenie krvného tlaku. Výsledky experimentov sú však nesporné - v experimente simulujúcom vplyv zastavenia srdcovej činnosti na mozog potkanov bolo dokázané, že aj najcitlivejšie neuróny hipokampu dokážu po aplikácii postkondicioningu prežiť bez prísunu krvi a kyslíka viac ako dvojnásobne dlhšiu dobu ako sa donedávna predpokladalo, a pritom si zachovať aj funkčnosť v oblasti učenia a pamäte (20, 23, 24). Najnovšie výsledky dokazujú možnosť zmierniť nepriaznivý vplyv silnejších atakov na ktoré by už jednorazový oneskorený postkondicioning nestačil, nahradením použitia antioxidantov, ktoré blokujú aktiváciu endogénneho obranného mechanizmu, pomocou kombinácie dvoch metód postkondicionovania – prvým bezprostredne po ischemii a druhým až 48 hodín neskôr (32). Podobne ako pri prekondicionovaní aj pri postkondicionovaní sa dá na aktiváciu tolerancie použiť celá škála stresorov, rozdiel je však v tom, že pri prekondicionovaní je organizmus pred plánovaným zákrokom v relatívne, dobrom stave, avšak pri postkondicionovaní nasleduje po ťažkých, apoptózu vyvolávajúcich príhodách, čiže treba voliť postupy, ktoré by umožňovali navodiť ischemickú toleranciu s čo možno najmenšou záťažou. V prípade mozgových príhod samozrejme neprichádza do úvahy krátkodobá ischemia alebo hypoxia mozgu, problematická by mohla byť aj kvôli vzniku radikálov aj

hyperoxiadácia. Ani podanie niektorých látok (napr. bradykinín, norepinefrín, 3 nitropropiónová kyselina, lipopolysacharid, hypotermia, hypertermia sa nejaví vhodné resp. bezpečné. Naproti tomu nasadenie nafukovacej manžety na 10-20 minút nad koleno alebo lakeť u pacientov, ktorým hrozí vážne poškodenie mozgu, dlhotrvajúce bezvedomie, prípadne smrť ak nehrozí krvácanie do mozgu nepredstavuje vážnejší problém. Pokiaľ sa týka času kedy turniket aplikovať, výsledky z laboratórií hovoria, čo najskôr použiť tzv. bezprostredný postkondicioning a potom opakovať v 6, 24 a 48 hodine. Tieto otázky sú stále ešte v štádiu pokusov a bude treba posúdiť aj rozdiely medzi krátkodobou globálnou a permanentnou ložiskovou ischémiou resp. intoxikáciou. V zásade platí - postkondicioning treba aplikovať pred nástupom apoptózy a nástup apoptózy je tým rýchlejší čím ťažšie je postihnutie.

Záver

Zdá sa, že pri posúdení rizík poškodenia organizmu po prerušení krvného zásobovania resp. prívodu kyslíka a pri absencii efektívnej farmakologickej liečby, je použitie krátkodobej ischémie časti končatiny aktivujúcej prekvapujúco silný obranný mechanizmus umožňujúci neurónom prežiť smrteľné dávky poškodenia. A to nielen ischemického ale aj toxického, všeobecne - poškodenia vedúceho k apoptotickej smrti buniek. Ak berieme do úvahy zistenie, že fenomén ischemickej tolerancie bol dokázaný vo všetkých doteraz študovaných tkanivách a všetkých živočíchov mal by popísaný mechanizmus platiť nielen pre mozog ale aj iné nekrózou resp. apoptózou ohrozené tkanivá.

Podakovanie.

Táto práca bola podporená projektom „Nové možnosti záchrany neurónov v procese oneskorenej smrti použitím nešpecifických stresorov.“ financovaným z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Zoznam bibliografických odkazov

1. KINOSHITA, Y., JURGEN WENZEL, H., KINOSHITA, C., SCHWARTZKROIN, P.A. AND MORRISON, R.S. Acute, but reversible, kainic acid-induced DNA damage in hippocampal CA1 pyramidal cells of p53-deficient mice. *Epilepsia*, 2012, vol. 53 Suppl 1, s. 125-133.
2. LITTLE, A.R., MILLER, D.B., LI, S., KASHON, M.L. AND O'CALLAGHAN, J.P. Trimethyltin-induced neurotoxicity: Gene expression pathway analysis, Q-RT-PCR and immunoblotting reveal early effects associated with hippocampal damage and gliosis. *Neurotoxicol. Teratol.*, 2012, vol. 34, s. 72-82.
3. ŠULLA, I., MARŠALA, J., LUKÁČ, I. A light-microscopic study of an early phase of paraplegia induced by ischemia and reperfusion in dogs. *Folia veterinaria*, 2003, vol. 47, p. 200-203.
4. ŠULLA, I., MARŠALA, J., LUKÁČ, I. A light-microscopic study of a delayed phase of paraplegia induced by ischemia and reperfusion in dogs. *Folia veterinaria*, 2004, vol. 48, p. 76-80.
5. PIGNATARO, G., SCORZIELLO, A., DI RENZO, G. AND ANNUNZIATO, L. Post-ischemic brain damage: Effect of ischemic preconditioning and postconditioning and identification of potential candidates for stroke therapy. In *FEBS J.*, 2009, vol. 276, p. 46-57.
6. MARTINEZ-VILA, E. AND SIEIRA, P.I. Current status and perspectives of neuroprotection in ischemic stroke treatment. In *Cerebrovasc. Dis.*, 2001, vol. 11 Suppl 1, p. 60-70.
7. FISHER, M. AND SCHAEBITZ, W. An overview of acute stroke therapy: Past, present, and future. *Archives of internal medicine*. 2000, vol. 160, p. 3196-3206.
8. FADEN, A.I. Neuroprotection and traumatic brain injury: The search continues. In *Arch. Neurol.*, 2001, vol. 58, p. 1553-1555.
9. GLADSTONE, D.J., BLACK, S.E. AND HAKIM, A.M. Toward wisdom from failure: Lessons from neuroprotective stroke trials and new therapeutic directions. In *Stroke*, 2002, vol. 33, p. 2123-2136.
10. KIRINO, T. Ischemic tolerance. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2002, vol. 22, p. 1283-1296.
11. BURDA, J., HREHOROVSKA, M., BONILLA, L.G., DANIELISOVA, V., CIZKOVA, D., BURDA, R., NEMETHOVA, M., FANDO, J.L. AND SALINAS, M. Role of protein synthesis in the ischemic tolerance acquisition induced

- by transient forebrain ischemia in the rat. In *Neurochem. Res.*, 2003, vol. 28, p. 1213-1219.
12. DIRNAGL, U., SIMON, R.P. AND HALLENBECK, J.M. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection. *Trends Neurosci.* 2003, vol. 26, p. 248-254.
 13. GIDDAY, J.M. Cerebral preconditioning and ischaemic tolerance. In *Nat. Rev. Neurosci.*, 2006, vol. 7, p. 437-448.
 14. ZHAO, Z.Q., CORVERA, J.S., HALKOS, M.E., KERENDI, F., WANG, N.P., GUYTON, R.A. AND VINTEN-JOHANSEN, J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: Comparison with ischemic preconditioning. In *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2003, vol. 285, p. H579-588.
 15. TAUSKELA, J. Society for neuroscience--36th annual meeting: Ischemic pre- and postconditioning. In *IDrugs*, 2006, vol. 9, p. 823-826.
 16. ZHAO, H., SAPOLSKY, R.M. AND STEINBERG, G.K. Interrupting reperfusion as a stroke therapy: Ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. In *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2006, vol. 26, p. 1114-1121.
 17. ZHAO, H. The protective effect of ischemic postconditioning against ischemic injury: From the heart to the brain. In *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 2, 2007, p. 313-318.
 18. PIGNATARO, G., MELLER, R., INOUE, K., ORDONEZ, A.N., ASHLEY, M.D., XIONG, Z., GALA, R. AND SIMON, R.P. In vivo and in vitro characterization of a novel neuroprotective strategy for stroke: Ischemic postconditioning. In *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 2008, vol. 28, p. 232-241.
 19. BURDA, J., MATIASOVA, M., GOTTLIEB, M., DANIELISOVA, V., NEMETHOVA, M., GARCIA, L., SALINAS, M. AND BURDA, R. Evidence for a role of second pathophysiological stress in prevention of delayed neuronal death in the hippocampal CA1 region. In *Neurochem. Res.*, 2005, vol. 30, p. 1397-1405.
 20. BURDA, J., DANIELISOVA, V., NEMETHOVA, M., GOTTLIEB, M., MATIASOVA, M., DOMORAKOVA, I., MECHIROVA, E., FERIKOVA, M., SALINAS, M. AND BURDA, R. Delayed postconditioning initiates additive mechanism necessary for survival of selectively vulnerable neurons after transient ischemia in rat brain. In *Cell. Mol. Neurobiol.*, 2006, vol. 26, p. 1139-1149.
 21. DANIELISOVA, V., NEMETHOVA, M., GOTTLIEB, M. AND BURDA, J. The changes in endogenous antioxidant enzyme activity after postconditioning. In *Cell. Mol. Neurobiol.*, 2006, vol. 26, p. 1181-1191.
 22. NEMETHOVA, M., DANIELISOVA, V., GOTTLIEB, M. AND BURDA, J. Post-conditioning exacerbates the mnsod immune-reactivity after

- experimental cerebral global ischemia and reperfusion in the rat brain hippocampus. In *Cell. Biol. Int.*, 2008, vol. 32, p. 128-135.
23. BURDA, J., DANIELISOVA, V., NEMETHOVA, M., GOTTLIEB, M., KRAVCUKOVA, P., DOMORAKOVA, I., MECHIROVA, E. AND BURDA, R. Postconditioning and anticonditioning: Possibilities to interfere to evoked apoptosis. In *Cell. Mol. Neurobiol.*, 2009, vol. 29, p. 821-825.
 24. DANIELISOVA, V., GOTTLIEB, M., NEMETHOVA, M., KRAVCUKOVA, P., DOMORAKOVA, I., MECHIROVA, E. AND BURDA, J. Bradykinin postconditioning protects pyramidal cal neurons against delayed neuronal death in rat hippocampus. In *Cell. Mol. Neurobiol.*, 2009, vol. 29, p. 871-878.
 25. PUISIEUX, F., DEPLANQUE, D., BULCKAEN, H., MABOUDOU, P., GELE, P., LHERMITTE, M., LEBUFFE, G. AND BORDET, R. Brain ischemic preconditioning is abolished by antioxidant drugs but does not up-regulate superoxide dismutase and glutathion peroxidase. In *Brain Res.*, 2004, vol. 1027, p. 30-37.
 26. DOMORAKOVA, I., MECHIROVA, E., DANKOVA, M., DANIELISOVA, V. AND BURDA, J. Effect of antioxidant treatment in global ischemia and ischemic postconditioning in the rat hippocampus. In *Cell. Mol. Neurobiol.*, 2009, vol. 29, p. 837-844.
 27. PRZYKLENK, K., BAUER, B., OVIZE, M., KLONER, R.A. AND WHITTAKER, P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. In *Circulation*, 1993, vol. 87, p. 893-899.
 28. WANG, W. Z., STEPHESON, L. L., FANG, X. H., KHIABANI, K. T., AND ZAMBONI, W. A.: Ischemic preconditioning-induced microvascular protection at a distance. *J. Reconstr. Microsurg.*, 2004, vol. 20, (2), p. 175-81.
 29. GRITSOPOULOS, G., ILIODROMITIS, E.K., ZOGA, A., FARMAKIS, D., DEMEROUTI, E., PAPALLOIS, A., PARASKEVAIDIS, I.A. AND KREMASTINOS, D.T. Remote postconditioning is more potent than classic postconditioning in reducing the infarct size in anesthetized rabbits. In *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 2009, vol. 23, p. 193-198.
 30. SUN, J., LI, T., LUAN, Q., DENG, J., LI, Y., LI, Z., DONG, H. AND XIONG, L.: Protective effect of delayed remote limb ischemic postconditioning: Role of mitochondrial K_{ATP} channels in a rat model of focal cerebral ischemic reperfusion injury. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 2012, vol. 32, p. 851-859.
 31. LOUKOGEORGAKIS, S.P., WILLIAMS, R., PANAGIOTIDOU, A.T., KOLVEKAR, S.K., DONALD, A., COLE, T.J., YELLON, D.M., DEANFIELD, J.E. AND MACALLISTER, R.J. Transient limb ischemia induces remote preconditioning and remote postconditioning in humans by a K_{ATP}

channel dependent mechanism. In Circulation, 2007, vol. 116, p. 1386-1395.

32. DANIELISOVA, V., BURDA, J., NEMETHOVA, M., GOTTLIEB, M. AND BURDA, R. An effective combination of two different methods of postconditioning. Neurochem Res. 2012, vol. 37, (10), p. 2085-91.

Korešpondenčná adresa:

MUDr. Rastislav Burda, PhD.,
KÚCH, UNLP
Rastislavova 43
040 81 Košice

e-mail: burda@netkosice.sk