

EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS PARA O LEVOSIMENDAN COMO FERRAMENTA FARMACOLÓGICA NA CARDIOPREVENÇÃO

SCIENTIFIC EVIDENCES FOR LEVOSIMENDAN AS A PHARMACOLOGICAL TOOL IN CARDIOPREVENTION

Gildean Pereira Costa¹, Marina Gomes Catanheda¹, Isabela Carolyne de Melo Costa¹, Wesley do Nascimento Silva¹, João Pedro Silva Majewski¹, Emanuel Ribeiro de Brito Júnior¹, João Pedro de Lima dos Santos¹, Rachel Melo Ribeiro¹

¹Laboratório de Farmacologia, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), 65080-805, São Luís, MA, Brasil.

Palavras-chave: Farmacologia clínica, Levosimendan, Cardioprevenção

Introdução: A doença isquêmica cardíaca representa importante causa de mortalidade, e seu tratamento envolve medicamentos que atuam no restabelecimento do fluxo coronário. Pacientes que sobrevivem à isquemia ainda podem manter alguma disfunção cardíaca. Este trabalho busca analisar por meio de uma revisão sistemática os efeitos cardioprotetores do levosimendan (LVZ), um sensibilizador de cálcio usado na insuficiência cardíaca. **Metodologia:** Foram utilizados artigos originais escritos na língua inglesa publicados nas bases de dados do PubMed, de acordo com as diretrizes preconizadas pelo PRISMA. Foram excluídos comentários, livros e revisões de literatura. Foram levantados 23 artigos, entre 2017 e 2022, selecionados 07 artigos ao final, após extensivas análises. **Resultados:** Os ensaios biológicos acerca do LVZ compreenderam modelos murinos, *in vivo* (n=04), *ex vivo* (n=04), com corações isolados e *in vitro* (n=04), com cardiomiócitos isolados. O LVZ mostrou importante cardioproteção, com melhora dos parâmetros ecocardiográficos, bioquímicos e histológicos quando comparados aos grupos controles, com mecanismos de cardioproteção sugerindo modulação da via PI3K/Akt/mTOR e de canais mitocondriais de potássio. O fármaco ainda mostrou reduzir a cardiotoxicidade induzida pela doxorubicina e pela homocisteína. **Conclusão:** Os resultados mostram a necessidade de novos estudos para elucidação mais precisa dos mecanismos de ação, assim como a condução de ensaios clínicos que incluam variáveis concretas capazes de interferir na efetividade do levosimendan como medicamento cardiopreventivo.

Keywords: Clinical pharmacology, Levosimendan, Cardioprevention.

Introduction: Ischemic heart disease represents a significant cause of mortality, and its treatment involves drugs that act to restore coronary flow. Patients who survive ischemia may still maintain some cardiac dysfunction. This work seeks to analyze, through a systematic review, the cardioprotective effects of levosimendan (LVZ), a calcium sensitizer used in heart failure. **Methodology:** Original articles written in English published in PubMed databases were used, in accordance with the guidelines recommended by PRISMA. Comments, books, and literature reviews were excluded. 23 articles were raised, and between 2017 and 2022, 07 articles were selected at the end, after extensive analysis. **Results:** The biological assays about LVZ comprised murine models, *in vivo* (n=04), *ex vivo* (n=04), with isolated hearts, and *in vitro* (n=04), with isolated cardiomyocytes. LVZ showed important cardioprotection, with improvement in echocardiographic, biochemical, and histological parameters compared to control groups, with cardioprotective mechanisms suggesting modulation of the PI3K/Akt/mTOR pathway and mitochondrial potassium channels. The drug reduces the cardiotoxicity induced by doxorubicin and homocysteine. **Conclusion:** new studies are needed to corroborate the current findings, with the conduction of clinical trials that include concrete variables capable of interfering with the effectiveness of levosimendan as a cardiopreventive medication.

INTRODUÇÃO

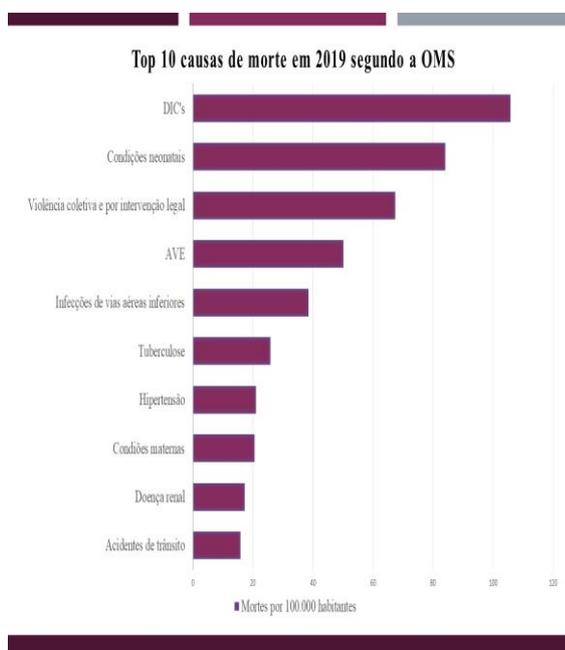
A doença isquêmica cardíaca (DIC) têm sido a principal causa de mortalidade há anos, apresentando entre os anos 2000 e 2019 aumento de 2 milhões para 8,9 milhões de mortes, respectivamente. No Brasil, os números seguem a tendência mundial, com a taxa de mortalidade crescendo de 73,16 em 2000 para 78,57 em cada 100.000 habitantes em 2019 (WHO, 2020). Entre os fatores de risco da doença estão a maior idade, tabagismo, etilismo, obesidade, sedentarismo, hiperlipidemia e hipertensão (KHAN *et al.*, 2020; LIBBY *et al.*, 2019).

O quadro fisiopatológico envolve a desregulação do fluxo coronário com o desequilíbrio entre oferta e demanda do oxigênio para o miocárdio (NICOLAU *et al.*, 2021). Dessa forma, o tratamento farmacológico busca reduzir o consumo de oxigênio e reforçar a perfusão tecidual, e é composto de antitrombóticos, antianginosos e modificadores do risco cardiovascular (estatinas e anti-hipertensivos) (JENSEN; HJORTBAK; BØTKER, 2020)

O principal antitrombótico é o ácido acetilsalicílico (AAS) isolado ou associado a um segundo antiplaquetário. Anticoagulantes, como enoxaparina, também podem ser adotados. Nitratos atuam como vasodilatadores, e betabloqueadores na redução da atividade adrenérgica

(NICOLAU *et al.*, 2021). As estatinas, por sua vez, contribuem principalmente com a redução dos níveis séricos de lipoproteína de baixa densidade (LDL)-colesterol e deve ser aliada às mudanças nos hábitos de vida (KARMALI *et al.*, 2016; LIM, 2013).

Figura 1: Representação das principais causas de óbito no mundo (WHO, 2020).



FISIOPATOLOGIA DAS DOENÇAS ISQUÊMICAS CARDÍACAS

A aterosclerose é a principal causa de isquemia, e leva a lesão endotelial associada à inflamação crônica, que exacerba a adesão leucoplaquetária e promove depósito de LDL. A inflamação evolui com acúmulo de células necróticas no endotélio e maior produção de matriz extracelular, com espessamento da camada íntima e redução do lúmen arterial (KOEPPEN *et al.*, 2018; KUMAR *et al.*, 2013; LIBBY *et al.*, 2019).

A placa aterosclerótica pode ainda sofrer ruptura, liberando substâncias pró-coagulantes e pró-trombóticas, capaz de obstruir algum segmento posterior. A disfunção endotelial reduz a angiogênese e promove a remodelação dos microvasos e perda de capilares. (KUNADIAN *et al.*, 2020; LIBBY *et al.*, 2019; MEJÍA-RENTERÍA *et al.*, 2017; SEVERINO *et al.*, 2020). Com prejuízo da perfusão, o metabolismo anaeróbico aumenta os níveis de lactato e o estresse oxidativo (RAMACHANDRA *et al.*, 2020). Além disso, pacientes que sobrevivem à isquemia ainda podem manter alguma disfunção cardíaca, o que abre espaço para outras cardiopatias futuras, como a ICC (LIBBY *et al.*, 2019).

LEVOSIMENDAN: ASPETOS FARMACOLÓGICOS

O levosimendan é um sensibilizador de cálcio, usado na insuficiência cardíaca descompensada devido à sua ação inotrópica e vasodilatadora. Como agente inotrópico,

aumenta a sensibilidade ao cálcio pela troponina C no miocárdio, garantindo maior estabilidade do complexo. Dessa forma, há maior afinidade entre as fibras de actina e de miosina, sem aumento do consumo de ATP e de oxigênio (KARTH *et al.*, 2003). Além disso, o inotropismo pelo levosimendan não prejudica o relaxamento miocárdico diastólico, pois sua ação é dependente de cálcio, e os níveis citoplasmáticos do íon tendem a cair durante a diástole (KASIKCIOGLU; CAM, 2006).

Quanto às propriedades vasodilatadoras do fármaco, parecem resultar da ativação de canais de potássio dependentes de ATP nos miócitos vasculares. (KASIKCIOGLU; CAM, 2006). Além disso, como não há elevação da concentração citosólica de cálcio, há uma menor incidência de arritmias, o que garante boa tolerabilidade ao levosimendan (KARTH *et al.*, 2003).

O levosimendan possui rápida meia vida de distribuição, baixo volume de distribuição e alta ligação a proteínas plasmáticas (97-98%) (ANTILA; SUNDBERG; A LEHTONEN, 2007). Tem meia vida de eliminação em torno de 1h e sofre metabolismo principalmente hepático, sendo conjugado com a glutatona na formação de metabólitos inativos excretados na urina e nas fezes (FIGGITT; GILLIES; GOA, 2001).

Apesar dos avanços, muitas vias enzimáticas do levosimendan ainda não foram completamente elucidadas, e muitos estudos continuaram a investigar sua função cardioprotetora, assim como seus benefícios em comparação a outros inotrópicos (PAPP *et al.*, 2020). Neste sentido, este trabalho busca analisar as publicações que investigam os efeitos cardioprotetores do levosimendan através de uma revisão, buscando sintetizar os efeitos identificados e os principais mecanismos propostos.

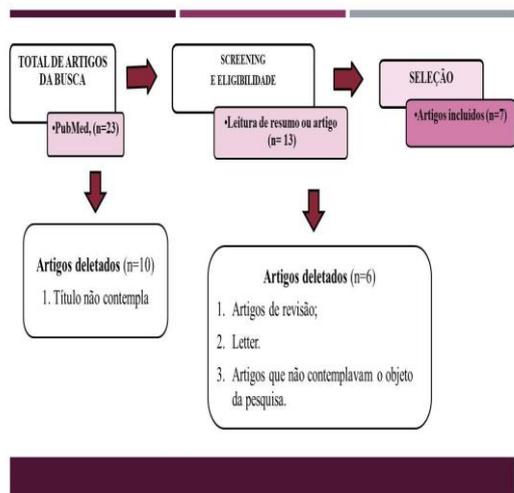
METODOLOGIA

Para o desenvolvimento do trabalho, foi realizado uma busca criteriosa de artigos científicos originais publicados nas bases de dados do PubMed, utilizando os descritores levosimendan or cardioprotective, combinadas por meio do operador booleano AND, de acordo com as diretrizes preconizadas pelo PRISMA.

Como critérios de inclusão foram considerados os estudos originais, que apresentaram os descritores no título ou no resumo e escritos na língua inglesa. Foram excluídos os artigos escritos em outras línguas, que não inglês, além daqueles cujo título ou resumo/abstract não se adequou ao tema proposto. Excluíram-se também comentários, livros e revisões de literatura.

O levantamento de dados bibliográficos entre 2017 a 2022 resultou no total de 23 artigos científicos. Após extensivas análises, apenas 7 trabalhos preencheram todos os critérios de seleção e foram incluídos neste estudo, conforme mostrado na Figura 4.

Figura 2 - Diagrama de recuperação e seleção de evidências de pesquisa bibliográfica de acordo com as diretrizes do PRISMA.



RESULTADOS

Após a utilização dos critérios de inclusão e exclusão foram selecionados n = 7 manuscritos sobre possível efeito cardioprotetor do levosimendan, investigado por meio de ensaios laboratoriais em murinos. Os trabalhos mostraram 4 modelos *in vivo*, 3 modelos *ex vivo* com corações isolados e 4 modelos *in vitro* com cardiomiócitos isolados. A Tabela 1 descreve resumidamente os artigos incluídos, destacando o tipo do estudo, o local de execução e os principais achados.

Tabela 1 - Publicações científicas sobre o uso do levosimendan na prevenção de eventos isquêmicos cardíacos.

| Título | País | Amostra/ Método do Estudo | Resultados | Referência |
|---|-------|---|--|--------------------------------|
| Cardioprotective and Anti-Aggregatory Effects of Levosimendan on Isoproterenol-Induced Myocardial Injury in High-Fat-Fed Rats Involves Modulation of PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway and Inhibition of Apoptosis: Comparison to Cilostazol | Egito | Estudo experimental <i>in vivo</i> em ratos. Compara os efeitos antiagregantes e cardioprotetores do levosimendan e do cilostazol no IAM induzido por isoproterenol. | Levosimendan mostrou-se superior ao cilostazol na cardioproteção, sendo ambos igualmente favoráveis na antiagregação plaquetária. Levosimendan mostrou maior fosforilação da via PI3K/Akt/mTOR, com maior redução de marcadores apoptóticos. | Tawfik <i>et al.</i> (2018) |
| Cardioprotective and functional effects of levosimendan and milrinone in mice with cecal ligation and puncture-induced sepsis | Japão | Estudo experimental <i>in vivo</i> em camundongos; <i>ex vivo</i> com corações isolados; e <i>in vitro</i> com cardiomiócitos isolados. Compara efeitos cardioprotetores de | Levosimendan inibiu inflamação cardíaca e reduziu marcadores de lesão miocárdica, porém apresentou efeito inotrópico reduzido. Milrinona manteve seus benefícios inotrópicos e | Yamashita <i>et al.</i> (2018) |

| | | | | |
|---|----------|---|--|---------------------------------|
| | | levosimendan e milrinona na sepse induzida por CLP. | eduziu marcadores de lesão miocárdica, porém mostrou-se pró-inflamatória. | |
| Preconditioning by Levosimendan is Mediated by Activation of Mitochondrial Ca²⁺-Sensitive Potassium (mBKCa) Channels | Alemanha | Estudo experimental <i>ex vivo</i> em corações isolados de ratos. Investiga a cardioproteção dose-dependente pelo levosimendan na isquemia induzida, e o papel dos canais mBKCa. | Levosimendan 0,3µM apresentou maior redução do infarto para menor dose do medicamento. Tal efeito foi completamente anulado por paxilina, um inibidor de canais mBKCa, sugerindo envolvimento dos canais na cardioproteção. | Bunte <i>et al.</i> (2018) |
| Cardioprotective effect of levosimendan against homocysteine induced mitochondrial stress and apoptotic cell death in H9C2 | Irã | Ensaio experimental <i>in vitro</i> com células miocárdicas com lesão induzida por homocisteína na presença de diferentes concentrações de levosimendan. | O pré-tratamento com levosimendan aumentou a viabilidade das células contra lesão induzida por Hcy de forma dose-dependente, com redução do estresse oxidativo e melhora dos marcadores de apoptose. | Aminzadeh <i>et al.</i> (2018) |
| Levosimendan prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity in time- and dose-dependent manner: implications for inotropy | Grécia | Estudo experimental <i>in vivo</i> em camundongos e <i>in vitro</i> com cardiomiócitos isolados. Avalia os efeitos do levosimendan na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina. Ainda compara levosimendan, milrinona e dobutamina. | Dose única de levosimendan mostrou melhor redução do estresse oxidativo e do prejuízo ao VE induzidos por doxorubicina. Levosimendan mostrou maior ativação das vias Akt/AMPKα/eNOS e AMPK-PKA/GMPC-PKG/PLN, com maior dependência de AMPK-PKA. Mostrou ainda maior cardioproteção em comparação a outros inotrópicos. | Efentakis <i>et al.</i> (2020) |
| Levosimendan Protects against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity by Regulating the PTEN/Akt Pathway | China | Estudo experimental <i>in vivo</i> em camundongos e <i>in vitro</i> com cardiomiócitos isolados. Avalia o efeito do levosimendan na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina. | Levosimendan atenuou o prejuízo hemodinâmico e a lesão miocárdica induzida por doxorubicina. Também inibiu o aumento da PTEN, melhorando a expressão de Akt. A inibição da Akt aboliu o efeito protetor do levosimendan. | Li <i>et al.</i> (2020) |
| The Coadministration of Levosimendan and Exenatide Offers a Significant Cardioprotective Effect to Isolated Rat Hearts against Ischemia/Reperfusion Injury | Grécia | Estudo experimental <i>ex vivo</i> com corações isolados submetidos a isquemia-reperusão, com avaliação hemodinâmica, histológica e bioquímica na presença de levosimendan e exenatide. | Levosimendan isolado melhorou o fluxo coronário, reduziu arritmias e diminuiu o estresse oxidativo. Porém, a coadministração com exenatide mostrou efeitos cardioprotetores superiores à administração isolada de levosimendan. | Leivaditis <i>et al.</i> (2022) |

ENSAIOS IN VIVO COM MODELOS MURINOS

Os trabalhos encontrados reconhecem o potencial cardioprotetor do levosimendan, que se mostrou superior em administração isolada ou coadministração em alguns modelos. Os achados estão resumidos na figura 3. Tawfik *et al.* (2018) comparou os efeitos antiagregantes e cardioprotetores do levosimendan (10 mg/kg oral, 2x/dia) e do cilostazol (24 mg/kg intraperitoneal, 1x/dia), um inibidor da fosfodiesterase 3 (PDE3) no IAM induzido por isoproterenol (85 mg/kg). Para isso, dividiu-se 50 ratos em 5 grupos: grupo com dieta normal + isoproterenol; dieta hipercalórica (HFD) + placebo de isoproterenol; HFD + isoproterenol, sendo este o grupo controle; HFD + isoproterenol + cilostazol; e HFD + isoproterenol + levosimendan. Houve uma melhora do perfil lipídico em ratos tratados com levosimendan em comparação ao grupo controle, com redução do colesterol total, triglicerídeos e LDL e aumento do HDL, porém inferiores ao grupo cilostazol. Tanto o levosimendan quanto o cilostazol reduziram a agregação plaquetária de forma semelhante e apresentaram diminuição dos biomarcadores inflamatórios e oxidativos, como óxido nítrico-sintase induzida (iNOS) aórtica, molécula de adesão intercelular (ICAM) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). A redução da ICAM foi maior com levosimendan do que com cilostazol. Levosimendan ainda atenuou mais fortemente marcadores de lesão cardíaca, exibindo menor elevação do segmento ST no eletrocardiograma e menores níveis de LDH, CK e CK-MB. Além disso, marcadores pró-inflamatórios NF- κ B, TNF- α e IL-6 foram mais diminuídos pelo levosimendan do que pelo cilostazol. O mesmo ocorreu com os marcadores de estresse oxidativo, revelando maior declínio dos níveis de malondialdeído (MDA) e maior atividade de glutatona reduzida (GSH). Os autores também identificaram uma maior ativação da via PI3K/Akt/mTOR pelo levosimendan, superior ao cilostazol, além de um melhor arranjo das fibras musculares cardíacas danificadas pelo isoproterenol, com melhor escore histopatológico ($1,16 \pm 0,25$ levosimendan vs. $3,8 \pm 0,4$ controle). Marcadores apoptóticos foram mais controlados com levosimendan, com redução de caspase-3 pró-apoptótica e aumento de Bcl-2 antiapoptótica. Os autores sugeriram uma influência da ativação da PI3K/Akt/mTOR na regulação dos mecanismos antiapoptóticos e cardioprotetores do levosimendan.

De forma semelhante, Yamashita *et al.* (2018) avaliou a cardioproteção em um modelo de sepse induzida, comparando levosimendan (0,5 μ g/kg/min) e milrinona (0,5 μ g/kg/min), também inibidor da PDE3. Camundongos foram divididos em 2 grupos: um grupo sofreu sepse induzida por cirurgia de ligadura e perfuração cecal (CLP), e o grupo controle passou por cirurgia placebo. Ambos os grupos ainda foram subdivididos em 3 grupos, com administração de levosimendan ou milrinona ou placebo 18h após a cirurgia. Os resultados mostraram que ratos sépticos tratados com levosimendan tiveram menor expressão de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e MCP-1), menor infiltração de leucócitos, e redução nos níveis de troponina-I (TnI) e de proteína de ligação de ácidos graxos do

tipo cardíaco (H-FABP). O grupo que recebeu milrinona teve redução nos níveis de troponina I e H-FABP semelhante ao levosimendan, mas mostrou maior atividade pró-inflamatória. Milrinona ainda mostrou maior ativação da Akt, e seus efeitos na redução da TnI foram anulados pelo inibidor de PI3K/Akt Wortmanina (1mg/kg), sugerindo a participação dessa via na cardioproteção estabelecida. Milrinona (0,01 mg/kg) e levosimendan (0,01 mg/kg) ainda acentuaram a porcentagem de encurtamento (PE) e da FE do VE em falso-operados, mas apenas milrinona teve sucesso em garantir uma resposta inotrópica eficaz em camundongos sépticos. Os autores atribuíram a menor atividade inotrópica do levosimendan à menor sensibilidade ao cálcio na sepse, que não anula os efeitos da milrinona via PDE3.

Eftentakis *et al.* (2020), por sua vez, estudou o papel do levosimendan na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina, explorando o efeito dose-dependente do sensibilizador de cálcio. Primeiro, investigou-se os efeitos do levosimendan na cardiotoxicidade subcrônica por doxorubicina (18 mg/kg intraperitoneal, dividida em 6 doses iguais) ao longo de 14 dias, utilizando 42 ratos divididos em 4 grupos: grupo sem intervenção; grupo controle, que recebeu apenas doxorubicina; grupo doxorubicina + levosimendan (24 μ g/kg intraperitoneal, fracionado em 4 doses iguais); e grupo doxorubicina + levosimendan (24 μ g/kg intraperitoneal, bolus no primeiro dia). Nesta fase, os autores encontraram um melhor desempenho com dose única de levosimendan e inibição completa do aumento de TnI. Em contrapartida, o levosimendan fracionado aumentou os níveis de TnI. Ambos os esquemas, porém, resultaram em redução semelhante da fibrose miocárdica e hipertrofia de cardiomiócitos, além de atenuação do estresse oxidativo: diminuição de MDA e espécies reativas de oxigênio (ROS), prevenção das alterações induzidas da iNOS e na superóxido dismutase de manganês (MnSOD). A expressão do complexo nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase-4 (NOX-4) foi, contudo, melhor reduzida com levosimendan bolus. Quanto às vias enzimáticas envolvidas, foi encontrado para dose única de levosimendan: maior fosforilação da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e de Akt; maior fosforilação da subunidade α da AMPK; maiores níveis de GMPc e maior ativação da PKG; maiores níveis de AMPc e maior ativação da PKA; e maior fosforilação da fosfolambam pela PKA e PKG, que favorece a homeostase do cálcio intracelular. Assim, os autores sugeriram que o levosimendan em altas doses (bolus) poderia atuar como inibidor de PDE3, enquanto em baixas doses (fracionado) funcionaria como sensibilizador de cálcio, além de destacarem uma potencial lesão miocárdica na estimulação inotrópica contínua pelo medicamento. Na segunda fase do ensaio, comparou-se os efeitos do levosimendan em 15 camundongos saudáveis contra 21 camundongos transgênicos com prejuízo da fosfolambam cardíaca. Cada um dos dois grupos foi subdividido em 3 subgrupos, com doses iguais à primeira fase do ensaio: grupo sem intervenção; administração de doxorubicina isolada (controle); e doxorubicina + levosimendan bolus, evidenciando o papel da ativação da fosfolambam na cardioproteção promovida pelo levosimendan. Por fim, a

terceira fase avaliou a influência do levosimendan na ação antitumoral da doxorubicina crônica em um modelo de CA de mama induzido, utilizando 37 camundongos divididos em 4 grupos subdivididos em 3 subgrupos semelhantes aos anteriores, onde foi observada melhora da contratilidade miocárdica prejudicada pela doxorubicina, sem prejuízo da atividade antitumoral, comprovado pelo índice volume do tumor/peso corporal estável.

Li *et al.* (2020) também avaliou o papel do levosimendan (1 mg/kg, por gavagem oral 1x por dia) na cardiotoxicidade induzida por doxorubicina (5 mg/kg, intraperitoneal, 1x por semana), por 4 semanas, em 40 camundongos divididos em grupos: controle; controle + levosimendan; doxorubicina; doxorubicina + levosimendan. O grupo que recebeu doxorubicina + levosimendan apresentou melhora no desempenho do VE reduzido pela antraciclina. Levosimendan também reduziu a lesão miocárdica induzida por doxorubicina, com redução da área de seção transversal celular, além de aumentar o índice peso cardíaco/comprimento da tibia e reduzir a expressão dos peptídeos natriuréticos atrial (ANP) e cerebral (BNP). Houve ainda um menor aumento de células apoptóticas, além de redução nos níveis de pró-apoptóticos BAX e caspase-3 e aumento do anti-apoptótico Bcl-2 comparado à doxorubicina isolada. Por último, os autores também identificaram menor expressão de PTEN e maior ativação de Akt com o levosimendan, reforçando hipóteses sobre o papel desta via no seu mecanismo cardioprotetor.

ENSAIOS EX VIVO EM CORAÇÕES ISOLADOS DE MURINOS COM PERFUSÃO DE LANGENDORFF

Yamashita *et al.* (2018) ainda buscou comparar as respostas inotrópicas e cardioprotetoras para levosimendan (1 μ M) e milrinona (5 μ M) em infusão contínua em corações isolados sépticos. Diferentemente do levosimendan, milrinona acentuou os valores de pressão de enchimento do VE (LVDP), e de +dP/dt e -dP/dt máximos. Esse achado reforça a ideia de uma menor sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio na sepse, descrito na literatura e apontado pelos autores.

Outra investigação relevante foi realizada por Bunte *et al.* (2018), que avaliou o pré-condicionamento farmacológico dose-dependente do levosimendan. Foram divididos 5 grupos de corações, todos submetidos a isquemia e seguidos de reperfusão: o grupo controle, que não recebeu intervenções adicionais, e mais 4 grupos que receberam levosimendan (0,03, 0,1, 0,3 e 1 μ M) previamente à isquemia. Houve redução da área do infarto em torno de 50% com levosimendan 0,3 μ M (27 \pm 4% levosimendan vs. 64 \pm 5% controle), com aumento do fluxo coronário anteriormente à isquemia. Uma segunda parte do experimento verificou que administração do inibidor de canais mitocondriais de potássio sensíveis ao cálcio (mBK_{Ca}) paxilina (1 μ M) anulou a cardioproteção pelo levosimendan e manteve a área do infarto em 62 \pm 7%, sugerindo participação desses canais nos seus efeitos de cardioproteção e pré-condicionamento farmacológico.

Leivaditis *et al.* investigou o efeito da administração de Levosimendan e Exenatide, usado no controle glicêmico, em diferentes concentrações. 108 ratos foram divididos em 12 grupos: um grupo sem isquemia; um grupo com isquemia-reperfusão sem tratamento (controle); um grupo com isquemia-reperfusão + digoxina (controle-negativo); 5 grupos com isquemia-reperfusão + levosimendan (0,01, 0,03, 0,1, 0,3 e 1 μ g/mL); 3 grupos com isquemia-reperfusão + exenatide (0,001, 0,01 e 0,1 μ g/mL); e, por fim, um grupo com isquemia-reperfusão + levosimendan + exenatide nas doses que apresentaram máximo efeito, sendo as doses de 0,1 μ g/mL para levosimendan e 0,01 μ g/mL para exenatide. A administração de levosimendan e exenatide isolados ofereceu uma resposta dose-dependente significativa, sendo a melhor resposta para o levosimendan na concentração 0,1 μ g/mL, com melhora significativa nos parâmetros LVDP, RPP, +dP/dT, -dP/dT, Tnl, CK-MB, LDH e tamanho do infarto. Exenatide pareceu ter menor efeito comparando ao levosimendan, principalmente na redução da área de infarto e prevenção de arritmias. Por sua vez, levosimendan + exenatide combinados mostrou melhora significativa em todos os parâmetros comparado aos demais grupos. Apesar de tudo, a coadministração não pode ser definida como aditiva ou sinérgica, visto que o mecanismo subjacente não está elucidado.

ENSAIOS IN VITRO COM CARDIOMIÓCITOS ISOLADOS DE MURINOS

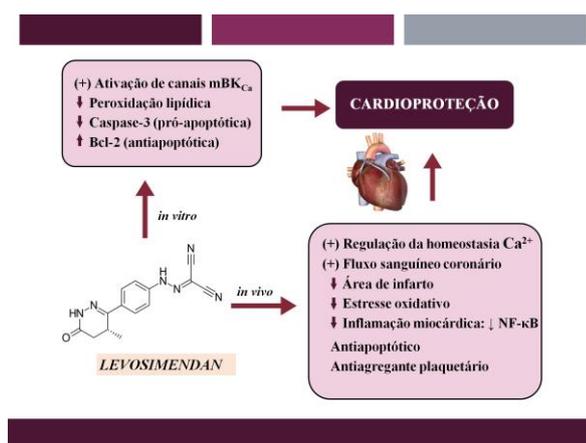
Para modelos *in vitro*, Yamashita *et al.* (2018) isolou miócitos ventriculares de camundongos CLP e falso-operados e comparou os efeitos do tratamento com levosimendan e milrinona. Levosimendan (0,3 e 3 μ M) mostrou um aumento da corrente de cálcio tipo L na membrana celular (I_{Ca}) superior à milrinona (3 e 10 μ M), porém sem diferença entre sépticos e saudáveis. A infusão prévia de H-89 (20 μ M), um inibidor da PKA, nos cardiomiócitos tratou inibiu completamente a I_{Ca} induzida pela milrinona e parcialmente a I_{Ca} induzida por levosimendan. Essa observação indica o papel do AMPc na I_{Ca}, mas sugere a existência de mecanismos adicionais à inibição PDE3 para o levosimendan e pode ajudar a explicar seus mecanismos arritmogênicos.

Aminzadeh *et al.* (2018), também avaliaram o efeito do pré-tratamento com levosimendan na miotoxicidade induzida por homocisteína (Hcy). As células foram incubadas com levosimendan (1, 10, 30 e 50 μ M) 30 minutos antes de serem expostas à homocisteína (0,5, 1, 2 e 3 mM). Levosimendan atenuou a lesão induzida por Hcy de forma dose-dependente, com efeito máximo nas concentrações de 30 e 50 μ M. Houve ainda inibição do aumento do nível de MDA induzido pela Hcy, assim como redução dos marcadores de estresse oxidativo. Levosimendan também controlou os marcadores apoptóticos alterados pela Hcy, com menores níveis de BAX para Bcl-2 e maiores níveis de caspase-3. Os autores destacam o papel do levosimendan na melhora do estresse oxidativo e da peroxidação lipídica, com eliminação de radicais livres e redução da apoptose.

Além disso, o experimento de Efentakis *et al.* (2020) mostrou anulação dos efeitos citotóxicos da doxorubicina (1 μM) pelo levosimendan (10 μM), com menor número de cardiomiócitos mortos, maior formação de formazan e menor liberação de LDH. Uma segunda parte deste experimento envolveu a adição de inibidor NOS L-NAME (100 μM), inibidor de PKG DT2 (20 μM) e inibidor de PKA H89 (10 μM). A atividade citoprotetora do levosimendan foi abolida apenas pelo inibidor de PKA, indicando maior dependência da via AMPc-PKA em comparação à via NO-GMPc-PKG. Comparou-se ainda os efeitos citoprotetores de levosimendan aos da milrinona (30 μM) e da dobutamina (20nM), com levosimendan se mostrando superior aos demais inotrópicos. Doxorubicina ainda levou a uma sobrecarga de cálcio intracelular, assim como milrinona e dobutamina. Levosimendan, por outro lado, reduziu tal sobrecarga. Assim, os autores destacaram as propriedades farmacocinéticas exclusivas do levosimendan, que possui efeito máximo limitado a menores concentrações.

Por fim, Li *et al.* (2020) também analisou cardiomiócitos isolados tratados com levosimendan (10 $\mu\text{mol/mL}$ por 2h) + doxorubicina (1 $\mu\text{mol/L}$ por 24h), ou tratados apenas com doxorubicina isolada (controle). Os resultados mostraram resultados semelhantes aos encontrados no ensaio *in vivo*, com redução do ANP, BNP, marcadores de apoptose e inibição da via PTEN/Akt pelo levosimendan em comparação com o grupo controle. O uso de inibidor de Akt (1 $\mu\text{mol/L}$) por 30 min anulou os efeitos protetores contra lesão miocárdica e apoptose, reforçando o papel do levosimendan na ativação da Akt e cardioproteção.

Figura 3: Representação dos mecanismos principais descritos na literatura científica para o levosimendan na cardioproteção.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

O levosimendan mostrou-se cardioprotetor tanto em administração isolada quanto em coadministração, conferindo melhora nos parâmetros hemodinâmicos, bioquímicos e histológicos. Vale questionar a influência do modelo experimental e do esquema de administração

empregados sobre o comportamento farmacológico do levosimendan, considerando o seu efeito dose-dependente. Diante da alta prevalência das DIC's, é relevante que mais estudos sejam realizados, a fim de corroborar os achados atuais, realizando ensaios clínicos que incluam variáveis concretas capazes de interferir na efetividade do medicamento.

REFERÊNCIAS

- AMINZADEH, A.; MEHRZADI, S.. Cardioprotective effect of levosimendan against homocysteine-induced mitochondrial stress and apoptotic cell death in H9C2. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, v. 507, n. 1-4, p. 395-399, dez. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.11.049>. Acesso em: 20 jan. 2023.
- ANTILA, S.; SUNDBERG, S.; LEHTONEN, L. A.. Clinical Pharmacology of Levosimendan. *Clinical Pharmacokinetics*, v. 46, n. 7, p. 535-552, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2165/00003088-200746070-00001>. Acesso em: 26 jan. 2023
- BUNTE, S. *et al.* Preconditioning by Levosimendan is Mediated by Activation of Mitochondrial Ca²⁺-Sensitive Potassium (mBKCa) Channels. *Cardiovascular Drugs And Therapy*, v. 32, n. 5, p. 427-434, 17 ago. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10557-018-6819-5>. Acesso em: 19 jan. 2023.
- EFENTAKIS, P. *et al.* Levosimendan prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity in time- and dose-dependent manner: implications for inotropy. *Cardiovascular Research*, v. 116, n. 3, p. 576-591, 22 jun. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvz163>. Acesso em: 20 jan. 2023.
- FIGGITT, D. P.; GILLIES, P. S.; GOA, K. L.. Levosimendan. *Drugs*, v. 61, n. 5, p. 613-627, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2165/00003495-200161050-00006>. Acesso em: 25 jan. 2023.
- JENSEN, R. V.; HJORTBAK, M. V.; BØTKER, H. E. Ischemic Heart Disease: an update. *Seminars In Nuclear Medicine*, v. 50, n. 3, p. 195-207, maio 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2020.02.007>. Acesso em: 19 jan. 2023.
- KARMALI, K. N. *et al.* Drugs for Primary Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Jama Cardiology*, v. 1, n. 3, p. 341, 1 jun. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1001/jamacardio.2016.0218>. Acesso em: 20 jan. 2023.
- KARTH, G. D. *et al.* Hemodynamic effects of a continuous infusion of levosimendan in critically ill patients with cardiogenic shock requiring catecholamines. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, v. 47, n. 10, p. 1251-1256, nov. 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1399-6576.2003.00252.x>. Acesso em: 27 jan. 2023.
- KASIKCIOGLU, H. A.; CAM, N.. A review of levosimendan in the treatment of heart failure. *Vascular Health And Risk Management*, v. 2, n. 4, p. 389-400, dez. 2006. Disponível

- em: <http://dx.doi.org/10.2147/vhrm.2006.2.4.389>. Acesso em: 27 jan. 2023
- KHAN, M. A. *et al.* Global Epidemiology of Ischemic Heart Disease: results from the global burden of disease study. *Cureus*, v. 12, n. 7, n. p., 23 jul. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.9349>. Acesso em: 21 jan. 2023.
- KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. *Berne E Levy - Fisiologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. 880 p.
- KUMAR, V. *et al.* Robbins: patologia básica. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 928p.
- KUNADIAN, V. *et al.* An EAPCI Expert Consensus Document on Ischaemia with Non-Obstructive Coronary Arteries in Collaboration with European Society of Cardiology Working Group on Coronary Pathophysiology & Microcirculation Endorsed by Coronary Vasomotor Disorders International Study Group. *European Heart Journal*, v. 41, n. 37, p. 3504-3520, 6 jul. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa503>. Acesso em: 26 jan. 2023.
- LEIVADITIS, V. *et al.* The Coadministration of Levosimendan and Exenatide Offers a Significant Cardioprotective Effect to Isolated Rat Hearts against Ischemia/Reperfusion Injury. *Journal Of Cardiovascular Development And Disease*, v. 9, n. 8, p. 263, 12 ago. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/jcdd9080263>. Acesso em: 21 jan. 2023.
- LI, L. L. *et al.* Levosimendan Protects against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity by Regulating the PTEN/Akt Pathway. *Biomed Research International*, v. 2020, p. 1-11, 8 jun. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2020/8593617>. Acesso em: 21 jan. 2023.
- LIBBY, P. *et al.* Atherosclerosis. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 5, n. 1, 16 ago. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41572-019-0106-z>. Acesso em: 23 jan. 2023.
- LIM, S. Y.. Role of Statins in Coronary Artery Disease. *Chonnam Medical Journal*, v. 49, n. 1, p. 1, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4068/cmj.2013.49.1.1>. Acesso em: 21 jan. 2023.
- MEJÍA-RENTERÍA, H. *et al.* Targeting the dominant mechanism of coronary microvascular dysfunction with intracoronary physiology tests. *The International Journal Of Cardiovascular Imaging*, v. 33, n. 7, p. 1041-1059, 13 maio 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10554-017-1136-9>. Acesso em: 25 jan. 2023.
- NICOLAU, J. C. *et al.* Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Angina Instável e Infarto Agudo do Miocárdio sem Supradesnível do Segmento ST – 2021. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 117, n. 1, p. 181-264, jul. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.36660/abc.20210180>. Acesso em: 20 jan. 2023.
- PAPP, Z. *et al.* Levosimendan Efficacy and Safety: 20 years of simdax in clinical use. *Cardiac Failure Review*, v. 6, p. 19, 7 ago. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.15420/cfr.2020.03>. Acesso em: 27 jan. 2023.
- RAMACHANDRA, C. J. *et al.* Mitochondria in acute myocardial infarction and cardioprotection. *Ebiomedicine*, v. 57, p. 102884, jul. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102884>. Acesso em: 27 jan. 2023.
- SEVERINO, P. *et al.* Ischemic Heart Disease Pathophysiology Paradigms Overview: from plaque activation to microvascular dysfunction. *International Journal Of Molecular Sciences*, v. 21, n. 21, p. 8118, 30 out. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21218118>. Acesso em: 24 jan. 2023.
- TAWFIK, M. K. *et al.* Cardioprotective and Anti-Aggregatory Effects of Levosimendan on Isoproterenol-Induced Myocardial Injury in High-Fat-Fed Rats Involves Modulation of PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway and Inhibition of Apoptosis. *Journal Of Cardiovascular Pharmacology And Therapeutics*, v. 23, n. 5, p. 456-471, 23 abr. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/1074248418763957>. Acesso em: 19 jan. 2023.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Health estimates: Leading causes of death [Internet]. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>. Acesso em: 23 jan. 2023
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability [Internet]. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>. Acesso em: 23 jan. 2023
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. The top 10 causes of death [Internet]. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Acesso em: 23 jan. 2023
- YAMASHITA, S. *et al.* Cardioprotective and functional effects of levosimendan and milrinone in mice with cecal ligation and puncture-induced sepsis. *Naunyn-Schmiedeberg'S Archives Of Pharmacology*, v. 391, n. 9, p. 1021-1032, 20 jun. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00210-018-1527-z>. Acesso em: 19 jan. 2023.

Submissão: XX/XX/202X

Aprovado para publicação: XX/XX/XXXX