

Farmacologia clinica del levosimendan

Elena Grossini, Philippe Primo Caimmi

Laboratorio di Fisiologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università del Piemonte Orientale "A. Avogadro", Novara

Key words:
Heart failure;
K_{ATP} channels;
Levosimendan;
Nitric oxide.

Acute heart failure represents an important public health problem because of its increasing incidence, poor prognosis, and frequent need for rehospitalization. Although β -adrenergic agonists and phosphodiesterase inhibitors have been shown to improve symptoms in the short term, they increase morbidity and mortality through the increase in myocardial oxygen consumption and induced arrhythmogenesis. In this context levosimendan, a new Ca²⁺ sensitizer with inotropic and vasodilatory actions, provides a new approach to the management of decompensated heart failure. Levosimendan improves myocardial contractility through the increase in Ca²⁺ sensitivity of troponin C in the absence of changes in intracellular Ca²⁺ concentration. For this reason levosimendan administration is almost devoid of detrimental effects on myocardial oxygen consumption and ventricular relaxation. In addition, levosimendan acts as a vasodilator through the opening of ATP-sensitive potassium (K_{ATP}) channels of smooth muscle cells and through the release of endothelial nitric oxide as well. Finally, levosimendan has been shown to elicit cardiac preconditioning and to counteract apoptosis, through the opening of cardiac K_{ATP} channels. Thus, the use of levosimendan in the treatment of heart failure could represent a goal in cardioprotection and could exert clinically meaningful benefits on progression of the underlying myocardial disease.

(G Ital Cardiol 2008; 9 (Suppl 1-9): 3S-9S)

© 2008 AIM Publishing Srl

Introduzione

Lo scompenso cardiaco è un problema medico ampiamente diffuso nella popolazione associato ad un elevato tasso di morbilità e mortalità. Una delle principali cause di scompenso cardiaco è l'ischemia miocardica ed in un terzo circa dei pazienti l'esordio clinico è dato dallo shock cardiogeno¹. Sebbene nella maggior parte dei soggetti scompensati la funzione cardiaca risulti preservata, una buona percentuale di pazienti mostra, infatti, una funzionalità cardiaca severamente danneggiata con ridotta pressione sistolica e sintomi e segni di ipoperfusione periferica. Questi pazienti hanno un maggior rischio di incorrere in eventi cardiaci avversi rispetto ai soggetti con una pressione sistolica normale e necessitano di un intervento d'urgenza per migliorare la funzionalità cardiaca². Perciò in questi pazienti è obbligatorio ripristinare la pressione sistolica, migliorare l'ossigenazione dei tessuti, proteggere gli organi vitali, alleviare i sintomi e prevenire nuove manifestazioni. Considerando, inoltre, che durante un episodio di scompenso cardiaco di origine ischemica può avvenire una perdita dei miociti per fenomeni di necrosi o di apoptosi, il miglior trattamento di pazienti con scompenso cardiaco dovrà includere

agenti o strategie terapeutiche dirette non solo al ripristino della pressione arteriosa sistolica e al miglioramento della perfusione tissutale, ma anche al rallentamento della morte delle cellule miocardiche.

Agenti inotropi

Nella patogenesi dello scompenso cardiaco un ruolo fondamentale viene giocato dall'alterazione dell'omeostasi del Ca²⁺ all'interno dei miociti³. Anche gli agenti cardiotonici comunemente utilizzati in clinica come la digitale, le catecolamine e gli inibitori della fosfodiesterasi III del resto esplicano i loro effetti farmacologici interferendo con i movimenti di Ca²⁺ intracellulari attraverso un aumento della mobilizzazione di Ca²⁺ citoplasmatico (meccanismo a monte), attraverso un aumento nell'affinità di legame della troponina C per il Ca²⁺ (meccanismo centrale), o ancora attraverso la facilitazione degli eventi intracellulari successivi al legame del Ca²⁺ alla troponina C (meccanismo a valle). Considerando che molti dei farmaci suddetti agiscono principalmente attraverso il meccanismo a monte^{4,5} (Figura 1), il loro utilizzo clinico non è esente dal potenziale rischio di sovraccarico di Ca²⁺ intracellulare che porta ad arit-

Per la corrispondenza:

Dr.ssa Elena Grossini

Laboratorio di Fisiologia
Dipartimento di Medicina
Clinica e Sperimentale
Facoltà di Medicina
e Chirurgia
Università del Piemonte
Orientale "A. Avogadro"
Via Solaroli, 17
28100 Novara
E-mail:
grossini@med.unipmn.it

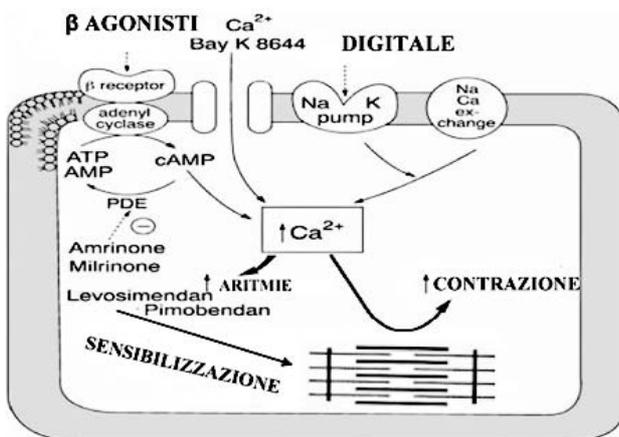


Figura 1. Meccanismo d'azione dei comuni agenti inotropi. PDE = fosfodiesterasi.

mie cardiache, a danno cellulare e a un risultante peggioramento della prognosi dei pazienti trattati per lunghi periodi con questi farmaci^{6,7}. Per questi motivi l'utilizzo dei nuovi agenti cardiotonici appartenenti alla classe dei Ca²⁺-sensitizzanti, virtualmente privi dei suddetti effetti collaterali, può risultare vantaggioso nel trattamento dei pazienti con scompenso cardiaco.

Levosimendan

Farmacologia clinica

La farmacocinetica del levosimendan, che ha un andamento lineare, non si discosta molto tra soggetto normale e affetto da scompenso cardiaco. La concentrazione plasmatica del farmaco e l'area sotto la curva aumentano proporzionalmente con la dose somministrata come evidenziato sia per infusione in bolo di levosimendan (0.1 e 5 mg) che per infusioni continue (0.05-0.2 µg/kg/min) per 24 h⁸. La concentrazione plasmatica allo stato stazionario del levosimendan somministrato a dosi di 0.2 µg/kg/min per 24 e 6 h è, rispettivamente, di circa 63 e 44 ng/ml. Il volume di distribuzione del levosimendan risulta piuttosto limitato ed ammonta a circa 15-22 litri per somministrazione in bolo e 0.4-0.5 l/kg dopo infusione continua a 0.2 µg/kg/min. Il 95-98% di levosimendan si lega a proteine plasmatiche e la sua emivita è compresa tra 0.6 e 1.4 h a seconda della modalità di somministrazione⁹. Il levosimendan viene metabolizzato a livello epatico per coniugazione con cisteina ed eliminato con le urine e con le feci. A livello intestinale circa il 20% del levosimendan viene trasformato dai batteri della flora intestinale nel metabolita inattivo OR-1855, ulteriormente trasformato per acetilazione in OR-1896 dotato di attività funzionale⁹. Circa il 4-7% di levosimendan è trasformato in OR-1896⁸. Dopo infusione di 24 h di levosimendan (0.05-0.1 µg/kg/min) la concentrazione plasmatica massima (C_{max}) di OR-1896 è di circa 10 ± 5 e 17 ± 10 ng/ml, mentre per OR-1855 la C_{max} è di 8 ± 5 e 18 ± 11

ng/ml. I due metaboliti cominciano ad essere presenti in circolo circa 12 h dopo l'inizio dell'infusione continua e la C_{max} viene raggiunta in 48-78 h. A differenza del levosimendan l'OR-1896 si lega alle proteine plasmatiche solo per il 40%, mentre la sua emivita è di circa 3 giorni¹⁰. Le caratteristiche farmacocinetiche di OR-1896, dotato delle stesse attività funzionali del levosimendan, possono quindi spiegare gli effetti a lungo termine del levosimendan stesso.

Effetti sulla funzione cardiaca

L'utilizzo del levosimendan (enantiomero R di 4-1,4,5,6-tetraidro-4-metil-6-oso-3-piridazinile fenil idra-zono-propanedinitrile), capostipite dei farmaci Ca²⁺-sensitizzanti, si è dimostrato estremamente efficace nel trattamento del paziente scompensato^{11,12}. L'effetto inotropo positivo del levosimendan è il risultato dell'aumento della sensibilità al Ca²⁺ delle proteine contrattili e non all'aumento di afflusso di Ca²⁺ all'interno della cellula¹³⁻¹⁵ (Figura 1). In questo modo il levosimendan determina un aumento della forza di contrazione miocardica senza compromettere il rilassamento diastolico del ventricolo o aumentare il rischio di aritmie e di morte cellulare^{14,15}. A differenza di altri agenti Ca²⁺-sensitizzanti che si legano alla troponina C sia durante la sistole che la diastole¹⁶, il legame del levosimendan alla troponina C è dipendente dal Ca²⁺ citosolico, che è significativamente basso nella fase diastolica del ciclo cardiaco¹⁴. Questo è il motivo per cui il levosimendan, oltre ad indurre effetti inotropi positivi, è in grado di esercitare effetti lusitropi positivi nel modello animale di scompenso cardiaco¹⁷ e nel cuore di maiale con danno ischemico¹⁸. Anche nel miocardio umano la somministrazione di levosimendan induce un miglioramento della funzione diastolica, come evidenziato in pazienti con sindrome coronarica acuta¹⁹, determinando una riduzione delle pressioni di riempimento delle camere cardiache¹⁹⁻²¹.

È estremamente rilevante, inoltre, come gli effetti benefici della somministrazione di levosimendan sulla funzione sistolica non siano accompagnati da un aumento del consumo miocardico di ossigeno come evidenziato in volontari sani e in pazienti con malattia cardiovascolare^{22,23}.

Considerando infine che la maggior parte dei pazienti affetti da scompenso cardiaco è sottoposta ad un regime polifarmacologico, è di estrema rilevanza clinica la pressoché totale assenza di interferenza tra il levosimendan e le altre classi di farmaci, tale da dover ridurre o sospendere uno dei trattamenti farmacologici in atto. Come recentemente appurato da studi condotti nel modello animale, la somministrazione di levosimendan è, infatti, in grado di esplicare i suoi effetti cardiovascolari in assenza e in presenza di bloccanti del sistema nervoso autonomo²⁴. Tale osservazione assume connotati fondamentali nell'ottica del trattamento di pazienti con scompenso cardiaco nei quali, come recentemente evidenziato dal trial clinico COMET, la sospensione

del trattamento con betabloccanti aumenta il rischio di mortalità²⁵.

Gli effetti positivi del levosimendan sulla funzionalità cardiaca sono stati bene evidenziati utilizzando la via di somministrazione intracoronarica. Dai risultati ottenuti in pazienti affetti da scompenso cardiaco postpericardiotomico o di altra origine la somministrazione intracoronarica di un bolo di levosimendan corrispondente al dosaggio comunemente infuso sistemicamente ha determinato, infatti, un aumento delle funzioni sia sistoliche che diastoliche in assenza di variazioni significative della pressione arteriosa^{26,27}. La pressoché totale assenza di effetti sistemici del levosimendan, quando somministrato nel letto vascolare coronarico, può quindi estendere le possibilità di un suo utilizzo anche al trattamento della disfunzione contrattile secondaria ad una stenosi coronarica. In tale condizione, infatti, fallendo il meccanismo di autoregolazione, la perfusione all'interno dei vasi coronarici risulta esclusivamente pressione-dipendente. Il declino della pressione intracoronarica, secondaria all'ipotensione periferica determinata dall'infusione di levosimendan, può ridurre drasticamente il flusso coronarico facendo precipitare la funzione contrattile delle zone ischemiche, ulteriormente danneggiate dal meccanismo del "furto di sangue"^{28,29}.

Effetti vasodilatatori

Ruolo dei canali del potassio ATP-dipendenti del sarcolemma

Oltre ad aumentare la performance cardiaca il levosimendan è anche in grado di indurre vasodilatazione arteriosa e venosa attraverso l'apertura dei canali del potassio ATP-dipendenti (K_{ATP}) nelle cellule muscolari lisce vascolari^{11,30}. I canali K_{ATP} , presenti anche sulla superficie di membrana e nei mitocondri dei cardiomiociti³¹⁻³³, sono coinvolti nella vasodilatazione in risposta all'iperemia reattiva, all'ipossia, ai farmaci iperpolarizzanti e alle prostaglandine. L'apertura dei canali K_{ATP} da parte del levosimendan, in aggiunta all'attivazione di canali del K^+ Ca^{2+} -dipendenti e voltaggio-dipenden-

ti³⁴, determina l'iperpolarizzazione della membrana, l'inibizione dell'ingresso degli ioni Ca^{2+} attraverso i canali di tipo L e l'attivazione dello scambiatore Na^+-Ca^{2+} ³⁵, con conseguente riduzione dei livelli intracellulari di Ca^{2+} e vasodilatazione³⁶ (Figura 2).

L'effetto vasodilatatore del levosimendan è stato dimostrato sia nella circolazione venosa degli arti che nel distretto polmonare, portale e coronarico^{19,24,26,27,34,37-39}. In aggiunta agli effetti diretti del levosimendan sulla forza di contrazione miocardica, anche la riduzione del postcarico può quindi contribuire al miglioramento della performance cardiaca. L'assenza di effetti deleteri del levosimendan sul consumo miocardico di ossigeno⁴⁰ unita all'azione di vasodilatazione coronarica può anche rendere ragione degli effetti antischemici osservati nel modello animale di ischemia-riperfusion. A questo proposito vale la pena sottolineare come in tale preparato il pretrattamento con gliburide, bloccante dei canali K^+ , sia in grado di abolire l'effetto protettivo indotto dal levosimendan, evidenziando in tal modo così il ruolo dei canali K_{ATP} nella cardioprotezione esercitata dal levosimendan⁴¹.

Altri fattori

Nel maiale anestetizzato la somministrazione di levosimendan nella coronaria discendente anteriore a dosi simili a quelle utilizzate in clinica come bolo (12 e 24 $\mu g/kg$), ma adatte al valore di flusso ematico coronarico misurato, ha indotto un aumento del flusso coronarico di circa il 26% e il 41% attraverso l'aumentato rilascio di ossido nitrico (NO)²⁴. Gli effetti coronarici della somministrazione locale di levosimendan sono risultati, infatti, aboliti dal pretrattamento con L-NAME, un inibitore della NO-sintetasi²⁴. Anche l'effetto di inibizione della fosfodiesterasi III, osservato ad alte dosi di levosimendan (1 mM), è risultato del resto in grado di indurre vasodilatazione⁴². Il contributo clinico di quest'ultimo meccanismo al complessivo effetto vasodilatatore del farmaco in questione deve tuttavia ancora essere chiarito.

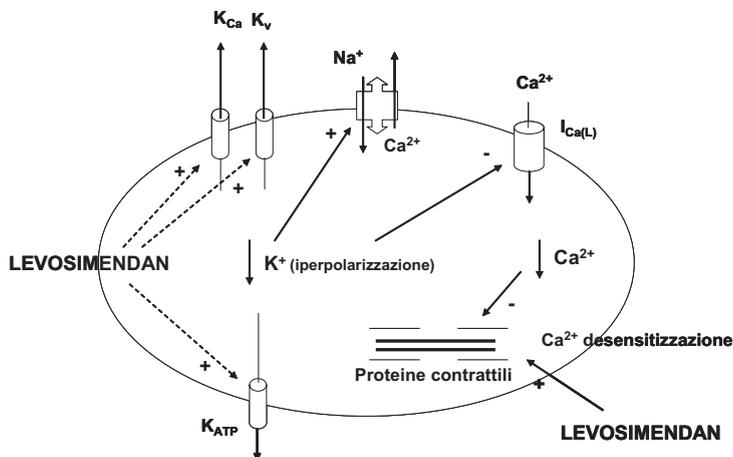


Figura 2. Meccanismi d'azione della vasodilatazione indotta dal levosimendan nella cellula muscolare liscia.

Effetti sul preconditionamento

Ruolo dei canali del potassio ATP-dipendenti mitocondriali

Il preconditionamento è un fenomeno che contrasta il danno miocardico da ischemia-riperfusion attraverso il coinvolgimento di svariati meccanismi intracellulari che avvengono prima dell'inizio dell'ischemia e che modificano una o più componenti cellulari. Sono tre le modalità attraverso cui può avvenire il preconditionamento. Nella prima la protezione del miocardio consegue ad un breve periodo di ischemia⁴³; nella seconda un aumento transiente di Ca^{2+} citoplasmatico è in grado di proteggere il cuore contro un successivo insulto ischemico⁴⁴. Nella terza, infine, il preconditionamento avviene grazie all'apertura dei canali K_{ATP} ⁴⁵⁻⁴⁷. Tutte le suddette modalità di cardioprotezione migliorano le capacità di recupero del miocardio a seguito della riperfusion e riducono la necrosi e l'apoptosi.

Per quanto riguarda i canali K_{ATP} , sia quelli di tipo sarcoplasmatico che quelli mitocondriali sono stati associati al preconditionamento. Mentre l'apertura dei canali K_{ATP} mitocondriali è in grado di modificare lo stato di ossido-riduzione dei cardiomiociti, prevenire il sovraccarico mitocondriale di Ca^{2+} , modulare il volume della matrice mitocondriale e ridurre la distruzione del citoscheletro, l'apertura dei canali K_{ATP} del sarcolemma è in grado di modulare l'attività della pompa Na^+-K^+ ATPasi, ed accorciare la durata del potenziale d'azione^{48,49} (Figura 3). La modulazione dell'attività funzionale dei mitocondri parrebbe tuttavia essere più coinvolta negli effetti cardioprotettivi in quanto in grado di proteggere la cellula dallo stress metabolico. Soprattutto l'apertura dei canali K_{ATP} mitocondriali infatti, migliorerebbe la produzione di ATP, riducendone il con-

sumo e prevenendo la deplezione di glicogeno e l'accumulo di lattato^{48,50-52} (Figura 3).

Il ruolo del levosimendan nel preconditionamento ischemico è stato ampiamente dimostrato in letteratura. Il levosimendan è in grado di attivare non solo i canali K_{ATP} di superficie della cellula muscolare liscia e dei cardiomiociti, ma anche quelli localizzati sulla membrana interna mitocondriale delle cellule miocardiche. A questo livello, infatti, la dose di 1 μ M di levosimendan si è dimostrata molto più efficace nell'indurre l'apertura dei canali K_{ATP} rispetto ad agonisti classici quali il diazossido e il pinacidil⁵³.

Gli effetti cardioprotettivi del levosimendan contro i danni da ischemia-riperfusion sono stati evidenziati nel modello animale. Nel cuore isolato di ratto in arresto cardioplegico seguito da 60 min di ischemia globale, infatti, la somministrazione di levosimendan ha ridotto significativamente l'estensione del danno ischemico e il rischio di comparsa di aritmie⁵⁴. Risultati analoghi sono stati ottenuti in preparati alla Langendorff di cuore di cane e di porcellino d'India sottoposti a ischemia-riperfusion, dove gli effetti cardioprotettivi del levosimendan sono stati prevenuti dal blocco dei canali K_{ATP} ^{41,55}. Nel coniglio anestetizzato la somministrazione di levosimendan 30 min prima dell'occlusione dell'arteria coronaria ha preservato i livelli di ATP e ha indotto effetti antiaritmici durante la fase di riperfusion. Questi effetti, del tutto sovrapponibili a quelli indotti da un ciclo di preconditionamento ischemico, sono stati del tutto aboliti dal pretrattamento con il 5-idrossidecanoato, un bloccante selettivo dei canali K_{ATP} mitocondriali, evidenziando quindi il ruolo fondamentale del sottotipo mitocondriale dei suddetti canali nella genesi degli effetti protettivi del levosimendan⁵⁶. È infine interessante evidenziare come nel coniglio anestetizzato sia anche stata slatentizzata l'importanza dell'NO nella cardioprotezione esercitata dal levosimendan.

Effetti sul rimodellamento cardiaco

Oltre ad esplicare i suoi effetti cardioprotettivi nei confronti dei danni da ischemia-riperfusion, il levosimendan è anche in grado di intervenire nei processi implicati nel rimodellamento cardiaco, risposta patologica ad un insulto miocardico caratterizzata, oltre che dall'ipertrofia e dalle alterazioni dell'ambiente interstiziale, anche da fenomeni di apoptosi, necrosi e di autofagia. A questo proposito gli esperimenti condotti *in vitro* su miociti isolati hanno ad esempio evidenziato come il levosimendan sia in grado di prevenire il danno apoptotico attraverso l'apertura dei canali K_{ATP} mitocondriali⁵⁷. È del resto ben descritto in letteratura il coinvolgimento dei mitocondri nell'insorgenza dell'apoptosi oltre che delle disfunzioni bioenergetiche implicate nella progressione dello scompenso cardiaco⁵⁸. Nel modello di ratto con ipertensione sodio-dipendente il trattamento con levosimendan ha ridotto significativamente i fenomeni di apoptosi⁵⁹. Anche in pazienti affetti da scom-

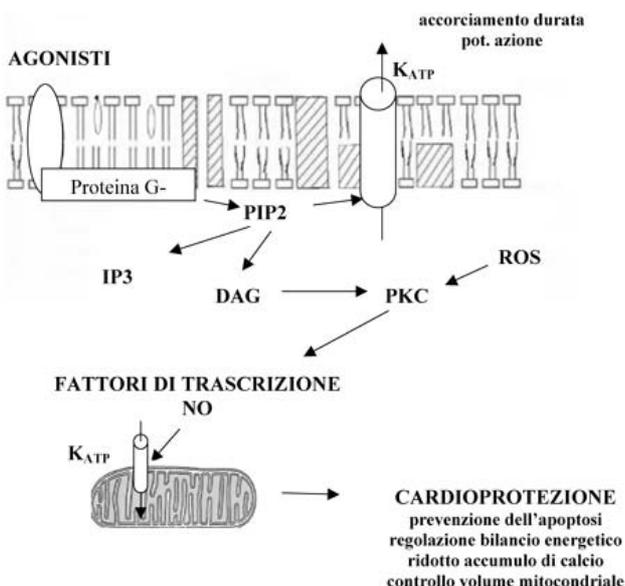


Figura 3. Cardioprotezione esercitata dal levosimendan: ruolo dei canali del potassio ATP-dipendenti (K_{ATP}). DAG = diacilglicerolo; IP3 = inositoltrifosfato; NO = ossido nitrico; PIP2 = fosfatidilinositolodifosfato; PKC = proteinchinasi C; ROS = specie reattive dell'ossigeno.

penso cardiaco la somministrazione di levosimendan si è del resto dimostrata efficace nel contrastare la morte cellulare apoptotica^{60,61}. In tali soggetti, infatti, il trattamento con il farmaco in questione ha indotto sia una significativa riduzione di citochine come l'interleuchina-6 e il fattore di necrosi tumorale, che sono bene in grado di deprimere la capacità funzionale cardiaca e promuove l'apoptosi, sia di ostacolare l'espressione del sistema Fas/Fas ligando⁶⁰⁻⁶².

Va inoltre ricordato come gli effetti benefici del levosimendan sul rimodellamento cardiaco possano anche derivare dalla sua azione sull'autofagia, processo di degradazione cellulare attivo anche a livello cardiaco⁶³ attraverso cui organuli intracellulari e proteine citoplasmatiche non necessari o mal funzionanti vengono sequestrati in vescicole chiamate autofagosomi e successivamente idrolizzati dagli enzimi lisosomiali. Per quanto riguarda gli effetti del levosimendan sull'autofagia è da notare come da risultati preliminari ottenuti nel maiale anestetizzato in presenza di ischemia miocardica regionale, la somministrazione intracoronarica di levosimendan, a dosi paragonabili a quelle utilizzate in clinica, abbia indotto una marcata riduzione dell'espressione di geni pro-apoptotici e un aumento dell'espressione di quelli pro-autofagici. Questi risultati, accompagnati peraltro da effetti positivi del levosimendan anche sulla forza di contrazione e sulla gittata cardiaca, hanno quindi evidenziato come il farmaco in questione possa esercitare una cardioprotezione contro i danni di un'ischemia miocardica regionale, non solo attraverso il miglioramento dei parametri emodinamici, ma anche attraverso la modulazione del rimodellamento cardiaco, che se non controllato può precipitare una condizione di insufficienza ventricolare.

Conclusioni

Nel vasto panorama di farmaci cardioattivi utilizzati nel trattamento dello scompenso cardiaco spicca sicuramente il levosimendan. Questo agente Ca^{2+} -sensitizzante è, infatti, in grado di migliorare l'efficacia contrattile miocardica, esercitando anche un'azione di cardioprotezione e di inibizione dell'apoptosi attraverso l'apertura dei canali K_{ATP} mitocondriali. Le azioni del levosimendan sul rimodellamento cardiaco forniscono, inoltre, una plausibile spiegazione su come un intervento a breve termine nei pazienti con scompenso cardiaco possa esplicare i suoi effetti anche nel lungo termine. Sebbene l'attenuazione dei sintomi possa rimanere un'importante fine della terapia in alcuni pazienti, ora sembra possibile che un approccio terapeutico che includa una strategia cardioprotettiva possa esercitare un beneficio clinicamente significativo sulla progressione della patologia miocardica. Questa speculazione, se risultasse vera, potrebbe imporre uno spostamento di un fondamentale paradigma nella gestione dello scompenso cardiaco.

Riassunto

Lo scompenso cardiaco acuto rappresenta un problema rilevante nell'ambito della salute pubblica in considerazione dell'incidenza, della prognosi sfavorevole e della frequente necessità di riospedalizzazione. Sebbene i farmaci β -agonisti e gli inibitori della fosfodiesterasi siano in grado di migliorare i sintomi dello scompenso cardiaco nel breve termine, il loro utilizzo è spesso gravato da un aumento della morbilità e della mortalità, secondario all'incremento del consumo miocardico di ossigeno e del rischio di aritmie. Appare quindi particolarmente promettente per il trattamento dello scompenso cardiaco l'utilizzo del levosimendan, nuovo farmaco Ca^{2+} -sensitizzante dotato di effetti inotropi positivi e vasodilatatori. Il levosimendan migliora la contrattilità miocardica attraverso l'aumento della sensibilità della troponina C al Ca^{2+} , senza indurre variazioni dei livelli citoplasmatici del Ca^{2+} stesso. Per questo motivo la somministrazione di levosimendan è pressoché priva di effetti sul consumo miocardico di ossigeno e sull'entità del rilasciamento ventricolare. Inoltre il levosimendan determina vasodilatazione mediante l'apertura dei canali del potassio ATP-dipendenti (K_{ATP}) della cellula muscolare liscia e attraverso il rilascio endoteliale di ossido nitrico. La somministrazione di levosimendan è inoltre in grado di esercitare un certo grado di preconditionamento e di contrastare l'apoptosi attraverso l'apertura dei canali K_{ATP} cardiaci. Pertanto l'utilizzo clinico del levosimendan nel trattamento dello scompenso cardiaco può effettivamente rappresentare un valido supporto per la cardioprotezione, apportando vantaggi dal punto di vista clinico secondari al rallentamento della progressione della malattia cardiaca sottostante.

Parole chiave: Canali K_{ATP} ; Levosimendan; Ossido nitrico; Scompenso cardiaco.

Bibliografia

1. Grimm W. What is evidence-based, what is new in medical therapy of acute heart failure? *Herz* 2006; 31: 771-9.
2. Parissis JT, Farmakis D, Nieminen M. Classical inotropes and new cardiac enhancers. *Heart Fail Rev* 2007; 12: 149-56.
3. del Monte F, Hajjar RJ. Targeting calcium cycling proteins in heart failure through gene transfer. *J Physiol* 2003; 546 (Pt 1): 49-61.
4. Blinks JR, Endoh M. Modification of myofibrillar responsiveness to Ca^{++} as an inotropic mechanism. *Circulation* 1986; 73 (3 Pt 2): III85-III98.
5. Endoh M. Changes in intracellular Ca^{2+} mobilization and Ca^{2+} sensitization as mechanisms of action of physiological interventions and inotropic agents in intact myocardial cells. *Jpn Heart J* 1998; 39: 1-44.
6. Thackray S, Easthaugh J, Freemantle N, Cleland JG. The effectiveness and relative effectiveness of intravenous inotropic drugs acting through the adrenergic pathway in patients with heart failure - a meta-regression analysis. *Eur J Heart Fail* 2002; 4: 515-29.
7. Packer M. The search for the ideal positive inotropic agent. *N Engl J Med* 1993; 329: 201-2.
8. Antila S, Sundberg S, Lehtonen LA. Clinical pharmacology of levosimendan. *Clin Pharmacokinet* 2007; 46: 535-52.
9. Innes CA, Wagstaff AJ. Levosimendan: a review of its use in the management of acute decompensated heart failure. *Drugs* 2003; 63: 2651-71.
10. Kivikko M, Antila S, Eha J, Lehtonen L, Pentikäinen PJ. Pharmacodynamics and safety of a new calcium sensitizer, levosimendan, and its metabolites during an extended infu-

- sion in patients with severe heart failure. *J Clin Pharmacol* 2002; 42: 43-51.
11. Papp Z, Csapo K, Pollesello P, Haikala H, Edes I. Pharmacological mechanisms contributing to the clinical efficacy of levosimendan. *Cardiovasc Drug Rev* 2005; 23: 71-98.
 12. Mebazaa A, Barraud D, Welschbillig S. Randomized clinical trials with levosimendan. *Am J Cardiol* 2005; 96: 74G-79G.
 13. Szilagyi S, Pollesello P, Levijoki J, et al. The effects of levosimendan and OR-1896 on isolated hearts, myocyte-sized preparations and phosphodiesterase enzymes of the guinea pig. *Eur J Pharmacol* 2004; 486: 67-74.
 14. Haikala H, Kaivola J, Nissinen E, Wall P, Levijoki J, Linden IB. Cardiac troponin C as a target protein for a novel calcium sensitizing drug, levosimendan. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 1859-66.
 15. Hasenfuss G, Pieske B, Castell M, Kretschmann B, Maier LS, Just H. Influence of the novel inotropic agent levosimendan on isometric tension and calcium cycling in failing human myocardium. *Circulation* 1998; 98: 2141-7.
 16. Hajjar RJ, Schmidt U, Helm P, Gwathmey JK. Ca⁺⁺ sensitizers impair cardiac relaxation in failing human myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280: 247-54.
 17. Pagel PS, McGough MF, Hettrick DA, et al. Levosimendan enhances left ventricular systolic and diastolic function in conscious dogs with pacing-induced cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997; 29: 563-73.
 18. Kristof E, Szigeti G, Papp Z, et al. The effects of levosimendan on the left ventricular function and protein phosphorylation in post-ischemic guinea pig hearts. *Basic Res Cardiol* 1999; 94: 223-30.
 19. De Luca L, Proietti P, Celotto A, et al. Levosimendan improves hemodynamics and coronary flow reserve after percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction. *Am Heart J* 2005; 150: 563-8.
 20. Parissis JT, Filippatos G, Farmakis D, Adamopoulos S, Paraskevaidis I, Kremastinos D. Levosimendan for the treatment of acute heart failure syndromes. *Exp Opin Pharmacother* 2005; 6: 2741-51.
 21. De Luca L, Sardella G, Proietti P, et al. Effects of levosimendan on left ventricular diastolic function after primary angioplasty for acute anterior myocardial infarction: a Doppler echocardiographic study. *J Am Soc Echocardiogr* 2006; 19: 172-7.
 22. Ukkonen H, Saraste M, Akkila J, et al. Myocardial efficiency during calcium sensitization with levosimendan: a non-invasive study with positron emission tomography and echocardiography in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 1997; 61: 596-607.
 23. Michaels AD, McKeown B, Kostal M, et al. Effects of intravenous levosimendan on human coronary vasomotor regulation, left ventricular wall stress, and myocardial oxygen uptake. *Circulation* 2005; 111: 1504-9.
 24. Grossini E, Caimmi PP, Molinari C, Teodori G, Vacca G. Hemodynamic effect of intracoronary administration of levosimendan in the anesthetized pig. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46: 333-42.
 25. Metra M, Torp-Pedersen C, Cleland JG, et al, for the COMET Investigators. Should beta-blocker therapy be reduced or withdrawn after an episode of decompensated heart failure? Results from COMET. *Eur J Heart Fail* 2007; 9: 901-9.
 26. Caimmi PP, Grossini E, Molinari C, Vacca G, Teodori G. Intracoronary infusion of levosimendan to treat postpericardiotomy heart failure. *Ann Thorac Surg* 2006; 82: e33-e34.
 27. Givertz MM, Andreou C, Conrad CH, Colucci WS. Direct myocardial effects of levosimendan in humans with left ventricular dysfunction: alteration of force-frequency and relaxation-frequency relationships. *Circulation* 2007; 115: 1218-24.
 28. Lilleberg J, Nieminen MS, Akkila J, et al. Effects of a new calcium sensitizer, levosimendan, on haemodynamics, coronary blood flow and myocardial substrate utilization early after coronary artery bypass grafting. *Eur Heart J* 1998; 19: 660-8.
 29. Brown BG, Bolson EL, Dodge HT. Dynamic mechanisms in human coronary stenosis. *Circulation* 1984; 70: 917-22.
 30. Yokoshiki H, Katsube Y, Sunagawa M, Sperelakis N. The novel calcium sensitizer levosimendan activates the ATP-sensitive K⁺ channel in rat ventricular cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 283: 375-83.
 31. Terzic A, Dzeja PP, Holmuhamedov EL. Mitochondrial K_{ATP} channels: probing molecular identity and pharmacology. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 1911-5.
 32. Garlid KD, Dos Santos P, Xie ZJ, Costa AD, Paucek P. Mitochondrial potassium transport: the role of the mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel in cardiac function and cardioprotection. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1606: 1-21.
 33. Szewczyk A, Wojtczak L. Mitochondria as a pharmacological target. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 101-27.
 34. Pataricza J, Krassoi I, Hohn J, Kun A, Papp JG. Functional role of potassium channels in the vasodilating mechanism of levosimendan in porcine isolated coronary artery. *Cardiovasc Drugs Ther* 2003; 17: 115-21.
 35. Toller WG, C. Stranz C. Levosimendan, a new inotropic and vasodilator agent. *Anesthesiology* 2006; 104: 556-69.
 36. Kaheinen P, Pollesello P, Levijoki J, Haikala H. Levosimendan increases diastolic coronary flow in isolated guinea-pig heart by opening ATP-sensitive potassium channels. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 37: 367-74.
 37. Hohn J, Pataricza J, Petri A, et al. Levosimendan interacts with potassium channel blockers in human saphenous veins. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004; 94: 271-3.
 38. De Witt BJ, Ibrahim IN, Bayer E, et al. An analysis of responses to levosimendan in the pulmonary vascular bed of the cat. *Anesth Analg* 2002; 94: 1427-33.
 39. Pataricza J, Hohn J, Petri A, Balogh A, Papp JG. Comparison of the vasorelaxing effect of cromakalim and the new inodilator, levosimendan, in human isolated portal vein. *J Pharm Pharmacol* 2000; 52: 213-7.
 40. Oldenburg O, Cohen MV, Yellon DM, Downey JM. Mitochondrial K_{ATP} channels: role in cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 429-37.
 41. Kersten JR, Montgomery MW, Pagel PS, Warltier DC. Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of K_{ATP} channels. *Anesth Analg* 2000; 90: 5-11.
 42. Haikala H, Linden IB. Mechanisms of action of calcium sensitizing drugs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 26 (Suppl 1): S10-S19.
 43. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-36.
 44. Meldrum DR, Cleveland JC Jr, Mitchell MB, et al. Protein kinase C mediates Ca²⁺-induced cardioadaptation to ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1996; 271 (3 Pt 2): R718-R726.
 45. Grover GJ, Garlid KD. ATP-sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 677-95.
 46. Ozcan C, Bienengraeber M, Dzeja PP, Terzic A. Potassium channel openers protect cardiac mitochondria by attenuating oxidant stress at reoxygenation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H531-H539.
 47. Lim KH, Javadov SA, Das M, Clarke SJ, Suleiman MS,

- Halestrap AP. The effects of ischaemic preconditioning, diazoxide and 5-hydroxydecanoate on rat heart mitochondrial volume and respiration. *J Physiol* 2002; 545 (Pt 3): 961-74.
48. Holmuhamedov EL, Jovanovic S, Dzeja PP, Jovanovic A, Terzic A. Mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels modulate cardiac mitochondrial function. *Am J Physiol* 1998; 275 (5 Pt 2): H1567-H1576.
49. Gross GJ, Peart JN. K_{ATP} channels and myocardial preconditioning: an update. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H921-H930.
50. Dos Santos P, Kowaltowski AJ, Laclau MN, et al. Mechanisms by which opening the mitochondrial ATP-sensitive K^+ channel protects the ischemic heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H284-H295.
51. McPherson CD, Pierce GN, Cole WC. Ischemic cardioprotection by ATP-sensitive K^+ channels involves high-energy phosphate preservation. *Am J Physiol* 1993; 265 (5 Pt 2): H1809-H1818.
52. Kristiansen SB, Nielsen-Kudsk JE, Bøtker HE, Nielsen TT. Effects of K_{ATP} channel modulation on myocardial glycogen content, lactate, and amino acids in nonischemic and ischemic rat hearts. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 45: 456-61.
53. Kopustinskiene DM, Pollesello P, Saris NE. Potassium-specific effects of levosimendan on heart mitochondria. *Biochem Pharmacol* 2004; 68: 807-12.
54. Yapici D, Altunkan Z, Ozeren M, et al. Effects of levosimendan on myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Eur J Anaesthesiol* 2008; 25: 8-14.
55. Du Toit EF, Muller CA, McCarthy J, Opie LH. Levosimendan: effects of a calcium sensitizer on function and arrhythmias and cyclic nucleotide levels during ischemia/reperfusion in the Langendorff-perfused guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 290: 505-14.
56. Das B, Sarkar C. Pharmacological preconditioning by levosimendan is mediated by inducible nitric oxide synthase and mitochondrial K_{ATP} channel activation in the in vivo anesthetized rabbit heart model. *Vascul Pharmacol* 2007; 47: 248-56.
57. Pollesello P, Papp Z. The cardioprotective effects of levosimendan: preclinical and clinical evidence. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007; 50: 257-63.
58. Marín-García J, Goldenthal MJ. Mitochondrial centrality in heart failure. *Heart Fail Rev* 2008; 13: 137-50.
59. Louhelainen M, Vahtola E, Kaheinen P, et al. Effects of levosimendan on cardiac remodeling and cardiomyocyte apoptosis in hypertensive Dahl/Rapp rats. *Br J Pharmacol* 2007; 150: 851-61.
60. Okuyama M, Yamaguchi S, Nozaki N, Yamaoka M, Shirakabe M, Tomoike H. Serum levels of soluble form of Fas molecule in patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1997; 79: 1698-701.
61. Yamaguchi S, Yamaoka M, Okuyama M, et al. Elevated circulating levels and cardiac secretion of soluble Fas ligand in patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1999; 83: 1500-3.
62. Trikas A, Antoniadis C, Latsios G, et al. Long-term effects of levosimendan infusion on inflammatory processes and sFas in patients with severe heart failure. *Eur J Heart Fail* 2006; 8: 804-9.
63. Decker RS, Wildenthal K. Lysosomal alterations in hypoxic and reoxygenated hearts. I. Ultrastructural and cytochemical changes. *Am J Pathol* 1980; 98: 425-44.