

I nuovi agenti inotropi positivi nel trattamento dell'insufficienza cardiaca

Leonardo De Luca (M.D.), Ilaria Passaseo (M.D.), Francesco Fedele (M.D.)
Dipartimento di Scienze Cardiovascolari e Respiratorie - Università La Sapienza - Roma

L'insufficienza cardiaca (IC) è stata considerata per molti anni come un difetto di contrattilità cardiaca, per cui si riteneva più che ragionevole l'utilizzo di inotropi positivi nella terapia di questa sindrome. Benché gli agenti inotropi possano essere responsabili di un miglioramento sintomatologico e dei parametri emodinamici a breve termine, non sembra che questi farmaci siano in grado di giovare particolarmente a pazienti affetti da IC, anzi è stato recentemente osservato che possono essere responsabili di un aumentato rilascio dei markers di necrosi miocardica e di mortalità.

Fino ad oggi sono state valutate tre categorie di agenti inotropi positivi nel trattamento dello scompenso cardiaco:

1) agenti che incrementano la concentrazione intracellulare di AMP ciclico mediante la stimolazione dei recettori beta-adrenergici o l'inibizione delle fosfodiesterasi;

2) farmaci che incrementano la concentrazione intracellulare di calcio¹;

3) i nuovi agenti calcio-sensibilizzanti.

Questa review ha lo scopo di descrivere le ultime novità farmacologiche nell'ambito di ciascuna classe: per tale motivo, si prenderanno in esame il Milrinone, il Vesnarinone ed il Levosimendan.

Milrinone

Il Milrinone è un inibitore delle fosfodiesterasi che può essere considerato come un agente inotropo ed allo stesso tempo un vasodilatatore, capace di inibire la degradazione intracellulare di AMP ciclico.

È in grado di incrementare la contrattilità miocardica senza comportare un aumento del consumo miocardico di ossigeno^{2,3} ed i suoi effetti emodinamici consistono nell'incremento dell'indice cardiaco e nella riduzione della pressione in arteria polmonare e della wedge pressure⁴.

Insufficienza cardiaca scompensata

Gli agenti orali in grado di incrementare la concentrazione intracellulare di AMP ciclico non sono dotati di una sperimentata efficacia^{5,6} e molti studi suggeriscono che la loro somministrazione prolungata sia associata ad un aumento della mortalità nei pazienti con insufficienza cardiaca^{7,8}.

Al contrario, la loro efficacia nel trattamento a breve termine dell'episodio di insufficienza cardiaca riacutizzata è

ben dimostrata e questo ha portato ad un radicale cambiamento nell'intervento terapeutico in questi casi^{9,10}.

L'Outcomes of a Prospective Trial of Intravenous Milrinone for Exacerbations of Chronic Heart Failure (OPTIME-CHF) è stato il primo studio condotto con lo scopo di valutare l'efficacia del trattamento a breve termine con Milrinone in pazienti con insufficienza cardiaca riacutizzata¹¹.

Lo studio ha randomizzato 949 pazienti con disfunzione ventricolare sinistra ed insufficienza cardiaca riacutizzata al trattamento con 48 o 72 ore di infusione endovenosa continua di Milrinone o di placebo¹¹. L'end-point primario (giorni di ricovero per cause cardiovascolari) è stato di 13.0 giorni per pazienti con cardiopatia ischemica e di 11.7 giornate per pazienti non ischemici (p=0.2).

I pazienti ischemici trattati con Milrinone hanno dimostrato avere un outcome peggiore di quelli trattati con placebo, sia in termini di end-point primario (p=0.05) che in termini di end-point composito (morte e riospedalizzazione) (p=0.01).

Al contrario, in soggetti non ischemici, i pazienti trattati con Milrinone sono andati progressivamente incontro ad un miglioramento dell'outcome primario e composito rispetto al gruppo trattato con placebo. In base ai risultati di questo trial si può affermare che il Milrinone può essere dannoso se utilizzato in soggetti con insufficienza cardiaca su base ischemica, ma può essere invece utilizzato con possibile beneficio nella cardiomiopatia non ischemica¹¹.

Questo si verifica perché, nonostante la presentazione clinica simile, l'insufficienza cardiaca su base ischemica e quella non su base ischemica differiscono profondamente in termini di fisiopatologia, prognosi e risposta alla terapia^{12,13}.

Recentemente è stato ipotizzato un effetto positivo del trattamento combinato con Milrinone e beta-bloccanti nella gestione terapeutica di pazienti con insufficienza cardiaca congestizia¹⁴, con tassi di mortalità accettabili ed un sostanziale miglioramento della qualità della vita¹⁵. Questa combinazione sembra quindi offrire qualche speranza a pazienti in classe NYHA IV che non possiedono altre possibilità terapeutiche¹⁵. Chiaramente questi dati non sono stati ancora validati su larga scala e necessitano di trial clinici con un maggior numero di pazienti.

Vesnarinone

Il Vesnarinone, un derivato quinolonico, è un inotropo positivo somministrabile per via orale, in grado di incrementare la contrattilità miocardica con un minimo effetto sulla frequenza cardiaca e sul consumo miocardico di ossigeno¹⁶. Nonostante queste caratteristiche il suo impie-

go è comunque limitato a causa dell'elevata incidenza di agranulocitosi correlata alla sua somministrazione.

Meccanismo d'azione

L'attività inotropica del Vesnarinone sembra essere legata a tre meccanismi principali:

1) azione sulle correnti di uscita ed ingresso intracellulare di potassio¹⁷;

2) incremento della concentrazione intracellulare di sodio grazie ad una prolungata apertura dei canali ionici¹⁸;

3) incremento della corrente d'ingresso del calcio per inibizione della fosfodiesterasi¹⁹.

Nell'insufficienza cardiaca riacutizzata l'impiego di Vesnarinone nel trattamento a breve termine è associato con effetti emodinamici variabili^{20,21}. In uno studio multicentrico iniziato nel 1990, con un end-point primario combinato di mortalità e morbilità per eventi cardiovascolari maggiori, sono stati arruolati 577 pazienti con insufficienza cardiaca in classe NYHA III o IV randomizzati al trattamento giornaliero con 60 mg di Vesnarinone o con placebo per sei mesi²². Nel gruppo trattato con Vesnarinone si osservava una significativa riduzione del 50% dell'end-point combinato ed una riduzione del 62% della mortalità da tutte le cause. Sfortunatamente questo risultato è stato compromesso dalla comparsa di neutropenia, grave effetto collaterale del farmaco^{23,24}; per tale motivo, negli studi successivi, sono stati studiati solamente due dosaggi del farmaco, 60 mg e 120 mg/die, ed il regime con alte dosi è stato interrotto precocemente per l'elevata incidenza di effetti avversi e per l'effetto negativo sulla mortalità.

In uno studio a lungo termine, il Vesnarinone Trial, sono stati arruolati 3833 pazienti con insufficienza cardiaca, disfunzione sistolica (frazione di eiezione < 30%) e classe NYHA III o IV; questi pazienti sono stati randomizzati alla somministrazione di 30 o 60 mg di Vesnarinone/die o placebo, al fine di valutare gli effetti sulla mortalità e sulla morbilità²⁵.

I risultati hanno mostrato un minor numero di decessi (18.9%) ed una sopravvivenza maggiore (p=0.02) nel gruppo placebo rispetto al gruppo trattato con 60 mg di Vesnarinone; l'incremento della mortalità dose-dipendente con Vesnarinone è stata attribuita alla maggior incidenza di morte cardiaca improvvisa, presumibilmente dovuta ad aritmie.

Ad 8 e 16 settimane dalla randomizzazione si è osservato un significativo miglioramento della qualità della vita nel gruppo trattato con 60 mg di vesnarinone rispetto al gruppo placebo (rispettivamente p< 0.001 e p= 0.003): proprio questi effetti contrastanti sulla mortalità e sulla qualità della vita accrescono profondamente l'interesse nei confronti del Vesnarinone e del suo meccanismo d'azione nell'insufficienza cardiaca. A tal riguardo si deve sottolineare che il Vesnarinone è in grado di inibire la

produzione di citochine proinfiammatorie in una grande varietà di linee cellulari umane e nel sangue periferico dei soggetti affetti da insufficienza cardiaca^{26,27,28}.

Basandosi su queste osservazioni, è stato postulato che alcuni degli effetti positivi della somministrazione di Vesnarinone possono essere correlati a questo effetto anti-citochinico^{27,29}.

Uno studio clinico³⁰ ha, però, contrastato questa ipotesi, misurando la concentrazione circolante di TNF, del recettore solubile di tipo 1 e di tipo 2 del TNF, dell'IL-6 e del suo recettore solubile dimostrando che il Vesnarinone non ha alcuna attività anti-citochinica in vivo nei pazienti con insufficienza cardiaca moderata-severa.

Levosimendan

Il levosimendan è un derivato del piridazinone dinitrile, un calcio-sensibilizzante che incrementa la contrattilità miocardica³¹.

In concentrazioni terapeutiche il Levosimendan induce un aumento della capacità contrattile dei miofilamenti delle fibrocellule miocardiche principalmente attraverso la sua capacità di aumentare la sensibilità agli ioni calcio, legando la troponina C in maniera calcio-dipendente^{32,33}. Questo non determina un incremento della concentrazione di calcio libero intracellulare e di AMP ciclico, riducendo il potenziale aritmogenico del farmaco e differenziando il Levosimendan dagli altri calcio-sensibilizzanti fino ad ora studiati (ad es. pimobendan, EMD 53998)^{34,35}.

Effetti Emodinamici

L'incremento della contrattilità miocardica dose-dipendente documentata in vitro ed in vivo, è stata confermata da diversi trial clinici nei quali una singola dose di Levosimendan (da 0.25 a 5 mg) veniva somministrata a pazienti in buon compenso emodinamico³⁶, a pazienti con disfunzione ventricolare sinistra³⁷ e a pazienti per i quali era stato programmato un intervento di rivascularizzazione miocardica mediante by-pass aorto-coronarico³⁸.

Inoltre sembra che il Levosimendan non sia in grado di modificare il consumo miocardico di ossigeno o l'utilizzazione di acidi grassi liberi, lattato, piruvato e glucosio: allo stesso tempo è in grado di ridurre le resistenze vascolari coronariche e la pressione di perfusione³⁸.

Effetti sulla funzione diastolica

Uno degli effetti del Levosimendan sembra essere legato alla possibilità di ritardare il distacco degli ioni calcio dalle molecole imputate nel processo di contrazione cellulare, con un conseguente allungamento del tempo di rilasciamento cardiaco.

D'altro canto, il Levosimendan sembra non avere effetti o perfino peggiorare il rilasciamento muscolare in studi coinvolgenti cani³⁵, altre specie animali⁴⁰ o in studi in

vitro su miocardio umano compromesso³⁹. Indipendentemente da tali considerazioni, il Levosimendan, quando comparato con placebo, non ha dimostrato possedere un effetto significativo sulla diastole ventricolare di 16 soggetti sottoposti con successo ad intervento di angioplastica coronarica transluminale percutanea⁴¹.

Il motivo di tale fenomeno non è ancora ben conosciuto, ma sembra sia legato al fatto che il farmaco potenzi fortemente il legame del calcio alla troponina C in presenza di elevate concentrazioni di calcio intracellulare (durante la sistole ventricolare); quando la concentrazione di calcio intracellulare tende a decrescere (nella fase diastolica) il Levosimendan lega meno avidamente la troponina C, con un conseguente minor effetto inotropo positivo⁴². Infine, il Levosimendan è in grado di determinare vasodilatazione coronarica legata all'attivazione dei canali ATPasici del potassio⁴³.

Levosimendan nell'insufficienza cardiaca

Il Levosimendan è stato valutato in pazienti con IC in molti trial multicentrici, randomizzati, condotti in doppio cieco, e comparato col trattamento a base di dobutamina o placebo. Nel Levosimendan Infusion versus Dobutamine Trial (LIDO) 203 pazienti con scompenso cardiaco severo ed IC a bassa portata sono stati randomizzati al trattamento con Levosimendan o Dobutamina⁴⁴.

Si è osservato un significativo miglioramento dell'indice cardiaco (>del 30%) ed un decremento della wedge pressure (più del 25%) rispetto alle condizioni basali nei soggetti in trattamento con Levosimendan. Dopo un trattamento di circa 30 giorni si osservava una riduzione del rischio di peggioramento della sintomatologia o di morte nei soggetti trattati con Levosimendan rispetto a quelli trattati con dobutamina⁴⁴.

In un altro trial, con un campione di 151 pazienti con IC congestizia, 5 differenti dosaggi di levosimendan sono stati comparati con somministrazione di dobutamina e di placebo: il 50% dei pazienti trattati con levosimendan (indipendentemente dalla dose utilizzata) hanno presentato una soddisfacente risposta emodinamica, in termini di gittata sistolica, diminuzione della wedge pressure ed incremento della portata cardiaca⁴⁵.

Infarto del miocardio

Gli inotropi positivi, ed in particolare gli inibitori delle fosfodiesterasi e gli agonisti adrenergici come la Dobutamina, possono essere responsabili di un incremento della richiesta miocardica di ossigeno in grado di provocare ischemia del miocardio e comparsa di aritmie⁴⁶⁻⁴⁹. Il Levosimendan, grazie al suo effetto trascurabile sulla richiesta miocardica di ossigeno, è maggiormente tollerato nei soggetti con cardiopatia ischemica, come dimostrato da studi controllati che prevedevano la somministrazione controllata di Levosimendan in soggetti con infarto miocardico acuto⁵⁰. Il RUSSLAN Trial⁵¹ ha randomizzato 504 pazienti con IMA complicato da severa disfunzione ventricolare al trattamento con Levosimendan

in varie dosi e con placebo. I pazienti trattati con Levosimendan hanno dimostrato avere una minor incidenza di morte o di peggioramento della disfunzione ventricolare rispetto a quelli trattati con placebo (2.0% vs 5.9%, p=0.033 dopo sei ore di infusione continua; 4.0% vs 8.8%, p=0.044 dopo 24 ore di infusione continua). Inoltre, a 14 giorni dall'evento ischemico, la mortalità risultava essere minore nel gruppo trattato con Levosimendan rispetto a quello trattato con placebo (11.7% vs 19.6%, p=0.031) e tale condizione si osservava anche a 180 giorni dall'evento (22.6% vs 31.4%, p=0.053)⁵¹.

Questi risultati erano chiaramente in accordo con i dati sperimentali. In uno studio sui cani, il Levosimendan si è dimostrato utile nella riduzione dell'estensione dell'area ischemica, ipotizzando così anche un suo effetto cardioprotettore⁵².

In un recente lavoro è stato dimostrato un miglioramento della sopravvivenza in cavie con infarto miocardico acuto sottoposte a trattamento con simendan⁵³.

In un nuovo studio abbiamo valutato gli effetti emodinamici del Levosimendan sul flusso coronarico in 27 pazienti con disfunzione ventricolare sinistra severa sottoposti a procedura coronarica percutanea (PCI) per infarto miocardico acuto.

Questi pazienti sono stati randomizzati all'infusione endovenosa di Levosimendan (10 minuti di bolo con 12/mcg/Kg, seguiti dall'infusione continua di 0.1 mcg/Kg/min per 24 ore) o di placebo, 10 minuti prima di essere sottoposti a PCI. La valutazione dei parametri emodinamici e del flusso coronarico è stata condotta in condizioni di base e dopo il bolo. In condizioni basali i risultati ottenuti dai due gruppi erano sovrapponibili. Dopo il bolo, i pazienti trattati con Levosimendan (n=12) mostravano una significativa riduzione della wedge pressure (da 24 a 19 mmHg) ed un incremento dell'indice cardiaco (da 1.8 a 2.4 L/m²/min) risultanti in un importante decremento delle resistenze vascolari periferiche (da 1366 a 1075 dyn sec/cm²). Concludendo, la riserva coronarica sul vaso responsabile dell'infarto miocardico e su vasi di riferimento, aumenta significativamente nei pazienti trattati con Levosimendan (da 1.6 a 2.0 e da 2.1 a 2.4, rispettivamente)⁵⁴.

Prospettive future

Le potenzialità di questo nuovo farmaco stimolano continuamente l'attività dei ricercatori nella valutazione dei possibili effetti positivi non ancora documentati.

Abbiamo già accennato in precedenza al fatto che il Levosimendan sia in grado di migliorare la funzione diastolica, oltre a potenziare la capacità inotropica del miocardio insufficiente. In pazienti sottoposti a PCI preventivamente trattati con infusione continua endovenosa di Levosimendan si è infatti assistito ad un miglioramento della funzione diastolica ventricolare, con una riduzione della pressione telediastolica ventricolare sinistra e lo spostamento a sinistra e/o in alto della curva pressione-volume diastolica ventricolare.

Tutti gli studi fino ad ora condotti hanno utilizzato misurazioni invasive che non si sono, inoltre, rivelate sufficientemente accurate nella valutazione delle differenti fasi della diastole. Per tale motivo, un recente studio si propone di valutare gli effetti del Levosimendan sulla funzione diastolica mediante l'impiego del Doppler transmitralico tradizionale e del Tissue Doppler Imaging (TDI) in pazienti con infarto miocardico acuto anteriore sottoposti a PCI. I risultati ottenuti hanno dimostrato, per la prima volta in letteratura, che in seguito ad una infusione di 24 ore di Levosimendan in questi pazienti si è ottenuto un miglioramento dei parametri Doppler convenzionali e TDI valutanti la funzione diastolica.

Un'ulteriore applicazione del Levosimendan sembra riguardare i meccanismi di perfusione renale.

Attualmente si parla di "sindrome cardiorenale" quando si verifica la presenza di disfunzione renale in soggetti con insufficienza cardiaca: molto frequentemente essa risulta essere il motivo di un improvviso peggioramento sintomatologico di questi pazienti, responsabile delle frequenti re-ospedalizzazioni.

L'ipoperfusione renale, di origine funzionale, che si realizza in soggetti con IC può condurre a ritenzione idrica e sodica con conseguente attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone e dei meccanismi neuro-ormonali risultanti in un effetto deleterio sul miocardio. Per questo motivo ci siamo proposti di valutare gli effetti dell'infusione continua di Levosimendan in pazienti con IC riacutizzata e disfunzione renale: tale studio, ancora nella fase iniziale di arruolamento, fornirà presto risultati a riguardo.

Bibliografia

- Colucci WS, Wright RF, Braunwald E. New positive inotropic agents in the treatment of congestive heart failure: mechanisms of action and recent clinical developments. *N Engl J Med* 1986;314:349-358.
- Jaski BE, Fifer MA, Wright RF, et al. Positive inotropic and vasodilator actions of milrinone in patients with severe congestive heart failure. Dose-response relationships and comparison to nitroprusside. *J Clin Invest* 1985;75:643-9.
- Monrad ES, Baim DS, Smith HS, et al. Effects of milrinone on coronary hemodynamics and myocardial energetics in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1985;71:972-9.
- Benotti JR, Lesko LJ, McCue JE, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of milrinone in chronic congestive heart failure. *Am J Cardiol* 1985;56:685-9.
- Uretsky BF, Jessup M, Konstam MA, et al. Multicenter trial of oral enoximone in patients with moderate to moderately severe congestive heart failure: lack of benefit compared with placebo. *Circulation* 1990;82:774-780.
- DiBianco R, Shabetai R, Kostuk W et al. A comparison of oral milrinone, digoxin, and their combination in the treatment of patients with chronic heart failure. *N Engl J Med* 1989;320:677-683.
- The Xamoterol in Severe Heart Failure Study Group. Xamoterol in severe heart failure. *Lancet* 1990;336:517-8.
- Packer M, Carver JR, Rodeheffer RJ, et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research *N Engl J Med* 1991;325:1468-1475.
- Gheorghide M, Gattis WA, Klein L. OPTIME in CHF trial: rethinking the use of inotropes in the management of worsening chronic

heart failure resulting in hospitalization. *Eur J Heart Fail* 2003;5(1):9-12.

- Jain P, Massie BM, Gattis WA. Current medical treatment for the exacerbation of chronic heart failure resulting in hospitalization. *Am Heart J* 2003;145(2 Suppl):S3-17.
- Felker GM, Benza RL, Chandler AB, et al. Heart failure etiology and response to milrinone in decompensated heart failure: Results from the OPTIME-CHF study *J Am Coll Cardiol* 2003;41(6): 997-1003.
- Adams KF, Dunlap SH, Sueta CA, et al. Relation between gender, etiology and survival in patients with symptomatic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:1781-1788.
- Likoff MJ, Chandler SL, Kay HR. Clinical determinants of mortality in chronic congestive heart failure secondary to idiopathic dilated or to ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1987;59:634-638.
- Bohm M, Deutsch HJ, Hartmann D, et al. Improvement of postreceptor events by metoprolol treatment in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:992-6.
- Zewail AM, Nawar M, Vrtovec B, et al. Intravenous milrinone in treatment of advanced congestive heart failure. *Tex Heart Inst J* 2003;30(2):109-113.
- Hori M, Inoue M, Tamai J, et al. Beneficial effect of OPC-8212 (3,4-dihydro-6-[4-(3,4-dimethoxybenzoyl)-1-piperazinyl]-2(1H)-quinolinone) on myocardial oxygen consumption in dogs with ischemic heart failure. *Jpn Circ J* 1986;50:659-666.
- Iijima T, Taira N. Membrane current changes responsible for the positive inotropic effect of OPC-8212, a new positive inotropic agent, in single ventricular cells of guinea pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1987;240:657-662.
- Cavusoglu E, Frishman WH, Klapholz M. Vesnarinone: a new inotropic agent for treating congestive heart failure. *J Card Fail* 1995;1:249-257.
- Yatani A, Imoto Y, Schwartz A, Brown AM. New positive inotropic agent OPC-8212 modulates single Ca²⁺ channels in ventricular myocytes of guinea pig. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;13:812-819.
- Sasayama S, Inoue M, Asanoi H, et al. Acute hemodynamic effects of a new inotropic agent, OPC-8212, on severe congestive heart failure. *Heart Vessels* 1986;2:23-28.
- Asanoi H, Sasayama S, Iuchi K, Kameyama T. Acute hemodynamic effects of a new inotropic agent (OPC-8212) in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1987;9:865-871.
- Feldman AM, Bristow MR, Parmley WW, et al. Effects of vesnarinone on morbidity and mortality in patients with heart failure. *N Engl J Med* 1993;329:149-155.
- Kubo SH, Rector TS, Strobeck JE, Cohn JN. OPC-8212 in the treatment of congestive heart failure: results of a pilot study. *Cardiovasc Drugs Ther* 1988;2:653-660.
- Asanoi H, Sasayama S, Kameyama T et al. Sustained inotropic effects of a new cardiotonic agent: OPC-8212 in patients with chronic heart failure. *Clin Cardiol* 1989;12:133-138.
- Cohn JN, Goldstein SO, Greenberg BH, et al. A dose-dependent increase in mortality with Vesnarinone among patients with severe heart failure. *N Engl J Med* 2000;28:158-64.
- Shioi T, Matsumori A, Matsui S, et al. Inhibition of cytokine production by a new inotropic agent, vesnarinone, in human lymphocytes, t cell line, and monocytic cell line. *Life Sci* 1993;54,PL11-PL16.
- Matsumori A, Ono K, Sato Y, et al. Differential modulation of cytokine production by drugs: implications for therapy in heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28,2491-2499.
- Matsumori A, Shioi T, Yamada T, et al. Vesnarinone, a new inotropic agent, inhibits cytokine production by stimulated human blood from patients with heart failure. *Circulation* 1994;89,955-958.
- Packer M. The search for the ideal positive inotropic agent. *N Engl J Med* 1993;329,201-202.
- Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, et al. Effects of Vesnarinone on peripheral circulating levels of cytokines and cytokine receptors in patients with heart failure. *Chest* 2001;120:453-459.
- Figgitt DP, Gillies PS, Goa KL. Levosimendan. *Drugs* 2001;61(5):613-27.

32. Haikala H, Kaivola J, Nissinen E, et al. Cardiac troponin C as a target protein for a novel calcium sensitizing drug: levosimendan. *J Mol Cell Cardiol* 1993;27:1859-66.
33. Levijoki J, Pollesello P, Kaivola J, et al. Further evidence for the cardiac troponin C mediated calcium sensitization by levosimendan: structure-response and binding analysis with analogs of levosimendan. *J Mol Cell Cardiol* 2000;32:479-91.
34. Hasenfuss G, Pieske B, Kreitschmann B, et al. Effects of calcium sensitizer on intracellular calcium handling and myocardial energetics. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26 (Suppl.1):45-51.
35. Pagel PS, Harkin CP, Hettrick DA. Levosimendan (OR-1259), a myofilament calcium sensitizer, enhances myocardial contractility but does not alter isovolumetric relaxation in conscious and anesthetized dogs. *Anesthesiology* 1994;81:974-87.
36. Sundberg S, Lilleberg J, Nieminen MS, et al. Hemodynamic and neurohumoral effects of levosimendan, a new calcium sensitizer, at rest and during exercise in healthy men. *Am J Cardiol* 1995;75:1061-6.
37. Lilleberg J, Sundberg S, Nieminen MS, et al. Dose-range study of a new calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26(Suppl1):63-9.
38. 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.
39. Hasenfuss G, Pieske B, Castell M, et al. Influence of the novel inotropic agent levosimendan on isometric tension and calcium cycling in failing human myocardium. *Circulation* 1998;98:2141-7.
40. Edes I, Kiss E, Kitada Y, et al. Effects of levosimendan, a cardiotoxic agent targeted to troponin C, on cardiac function and on phosphorylation and Ca sensitivity of cardiac myofibrils and sarcoplasmic reticulum in guinea pig heart. *Circ Res* 1995;77:107-13.
41. Sonntag S, Opitz C, Wellnhofer E, et al. Effects on the calcium sensitizer levosimendan on stunned myocardium after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Eur Heart J* 2000 (abstr); 21 (Suppl 21):40.
42. Haikala H, Nissinen E, Etemadzadeh E. Troponin C-mediated calcium sensitization induced by levosimendan does not impair relaxation. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;25:794-801.
43. Lehtonen L. Levosimendan: a promising agent for the treatment of hospitalized patients with decompensated heart failure. *Curr Cardiol Rep* 2000;2:233-43.
44. Follath F, Cleland JGF, Just H, et al. Efficacy and safety of intravenous levosimendan compared with dobutamine in severe low-output heart failure (the LIDO study): a randomised double-blind trial. *Lancet* 2002;360:196-202.
45. Nieminen MS, Akkila J, Hasenfuss G, et al. Hemodynamic and neurohumoral effects of continuous infusion of levosimendan in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1903-12.
46. Caldicott LD, Hawley K, Heppel R, et al. Intravenous enoximone or dobutamine for severe heart failure after acute myocardial infarction: a randomized double-blind trial. *Eur Heart J* 1993;14:696-700.
47. Karlsberg RP, DeWood MA, DeMaria AN, et al. The milrinone-dobutamine Study Group. Comparative efficacy of short-term intravenous infusions of milrinone and dobutamine in acute congestive heart failure following acute myocardial infarction. *Clin Cardiol* 1996;19:21-30.
48. Gillespie TA, Ambos HD, Sobel BE, et al. Effects of dobutamine in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1977;39:588-94.
49. O'Connor CM, Gattis WA, Uretsky BF, et al. Continuous intravenous dobutamine is associated with an increased risk of death in patients with advanced heart failure: insights from the Flolan International Randomized Survival Trial (FIRST). *Am Heart J* 2000;38:78-86.
50. Luotalahti M, Lammintausta O, Ukkonen, et al. Levosimendan, a calcium sensitizer and potassium channel opener, is safe and improves left ventricular function in acute myocardial infarction. *Circulation* 1998 (abstr); 98 (Suppl 1):105-106.
51. Moiseyev VS, Poder P, Adrejevs N, et al. Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2002;23:1422-32.
52. Kersten JR, Montgomery MW, Pagel PS, et al. Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of K(ATP) channels. *Anesth Analg* 2000;90:5-11.
53. Levijoki J, Pollesello P, Kaheiner P, et al. Improved survival with simendan after experimental myocardial infarction in rats. *Eur J Pharmacol* 2001;419:243-8.
54. 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*, in press.