



REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA (RENORBIO)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

FLÁVIO DE OLIVEIRA PIRES

**O EFEITO DO TRATAMENTO COM O LEVOSIMENDAN SOBRE UM MODELO DE
HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA EM RATAS IDOSAS ESPONTANEAMENTE
HIPERTENSAS**

São Luís - MA

2021

FLÁVIO DE OLIVEIRA PIRES

O EFEITO DO TRATAMENTO COM O LEVOSIMENDAN SOBRE UM MODELO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA EM RATAS IDOSAS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS

Tese apresentada como requisito final para obtenção de título de Doutor em Biotecnologia, junto ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) da Universidade Federal do Maranhão, Campus São Luís.

Orientador:

Prof. Dr. Cristiano Teixeira Mostarda

Coordenador:

Prof. Dr. Adeilton Pereira Maciel

Área de Concentração: Biotecnologia em Saúde

São Luís - MA

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Pires, Flávio de Oliveira.

O efeito do tratamento com o levosimendan sobre um modelo de hipertensão arterial sistêmica em ratas idosas espontaneamente hipertensas / Flávio de Oliveira Pires. - 2021.

94 p.

Orientador(a): Cristiano Teixeira Mostarda.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Renorbio/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís / MA, 2021.

1. Hipertensão Arterial Sistêmica. 2. Levosimendan.
3. Ratas Idosas. I. Mostarda, Cristiano Teixeira. II. Título.

O EFEITO DO TRATAMENTO COM O LEVOSIMENDAN SOBRE UM MODELO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA EM RATAS IDOSAS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS

Tese apresentada como requisito final para obtenção de título de Doutor em Biotecnologia, junto ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) da Universidade Federal do Maranhão, Campus São Luís.

Defesa da Tese em 30 de agosto de 2021, pela banca examinadora constituída dos seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

Profº Dr. Cristiano Teixeira Mostarda

Orientador – RENORBIO / Universidade Federal do Maranhão / MA

Profª Dra. Ana Lúcia Abreu Silva

Examinadora – RENORBIO / Universidade Estadual do Maranhão / MA

Profº Dr. Carlos José Moraes Dias

Examinador / Universidade Federal do Maranhão / MA

Profº Dr. Kelerson Mauro de Castro Pinto

Examinador / Universidade Federal de Ouro Preto / MG

Profº Dr. Marco Fabrício Dias Peixoto

Examinador / Universidade Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mucuri / MG

DEDICATÓRIA

Dedico esta Tese de Doutorado,
primeiramente a Deus por toda a sua força,
a meu sábio pai (*in memoriam*) por todas
as palavras e conselhos amigos,
a minha doce mãe por me colocar
em suas orações e fortalecer-me sempre,
a minha esposa, minha grande companheira nesta jornada,
as minhas saudosas filhas que foram
os combustíveis iniciais deste sonho
e ao filho que me adotou como pai.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me deu forças para concretizar este grande sonho do doutorado, onde o persegui com muito afinho, mesmo trabalhando dias e noites fazendo com que este objetivo às vezes saísse da rotina diária, mas nunca da rota através das madrugadas adentro. Agradeço a prima Yana, minha eterna conselheira e que me ajudou a concluir a graduação. Agradeço ao Professor Me. Ricardo Carneiro a quem devo a minha vida profissional e ao Professor Dr. Dietmar Samulski (*in memoriam*) a quem devo o início da minha vida acadêmica. Agradeço aos amigos e parceiros de trabalho, que a vida me proporcionou ao longo dos lugares que vivi e trabalhei, principalmente aos Professores Mario Sevilio e Navarro por incentivarem este sonho, a UFMA e ao LACORE, onde pude conhecer professores e parceiros que se eternizam nesta trajetória. Agradeço ao Instituto do Coração do Hospital das Clínicas de São Paulo (Incor), principalmente, a Professora Dra. Maria Cláudia Irigoyen que possibilitou a realização de parte minhas análises em seu Laboratório e ao grande amigo, Leandro Eziquiel de Souza, que me ajudou a conduzir grande parte desta pesquisa. Aos alunos Rafael Durans e Gabriel Pereira pelos esforços em conjunto. Ao Carlos, hoje, mais do que um amigo, mas, um irmão a quem devo muita amizade. Agradeço todos os dias ao meu orientador Professor Dr. Cristiano Teixeira Mostarda que teve muita paciência para controlar meus impulsos e anseios, pela confiança, por tornar este sonho uma realidade e principalmente pela amizade ao longo dos anos de convivência. Agradeço ao meu filho que sempre traz leveza aos meus dias, a minha esposa pela força e compreensão nos momentos em que abdiquei da diversão e do companheirismo nos momentos de estudo. Agradeço ao meu pai (*in memoriam*), um verdadeiro cavalheiro, o homem mais sábio, simples, humilde e educado que conheci. Agradeço a minha mãe, exemplo de amor, devoção, força, coragem e que criou filhos para as lutas diárias. Agradeço a minha esposa por me receber em seus braços de uma maneira tão generosa aqui em SL, pelas risadas durante todas as noites e por seu amor. Agradeço a minha primogênita que corria para meus nas madrugadas braços e gritava “Papai” quando acordava a noite e por ser a pessoa que ela buscava acolhimento. A criança que eu desfilava em minhas costas e me fazia sentir orgulho por ser seu pai e seu primeiro amor e que hoje se tornou uma jovem muito linda, forte e inteligente. Agradeço a minha mais novinha, também seu primeiro amor, uma verdadeira princesa, a alegria em pessoa, o olhar mais lindo e brilhante, a gargalhada mais gostosa, o abraço mais meigo. Enfim, não tenho palavras para descrever os momentos que vivi com elas. E novamente agradeço a Deus por todos os presentes que me deu ao longo da vida, principalmente, a saúde, a perseverança, a resiliência por levantar-me todas as vezes que caí.

*No que diz respeito a todos os atos de iniciativa e criação,
há uma verdade elementar.*

*Assim que a pessoa se engaja definitivamente,
a Providência também entra em ação.*

“Johann Wolfgang Von Goethe”

RESUMO

Introdução: Levosimendan (LEV) é um inodilatador capaz de aumentar a contratilidade do músculo cardíaco e relaxar os vasos coronários. **Objetivo:** Verificar se o tratamento durante 30 e 60 dias com LEV em ratas idosas espontaneamente hipertensas (SHR) causará redução da pressão arterial, melhora na função autonômica cardíaca e no balanço simpátovagal em animais tratados com este medicamento. **Métodos:** Trinta e seis ratas idosas com idade de 2 anos procedentes de 2 linhagens, sendo um grupo formado por wistar (n = 10), 26 ratas espontaneamente hipertensas (SHR), divididas em três grupos: SHR controle sem tratamento (n = 10), grupo tratado com LEV por 30 dias (LEV 30 D) (n: 8) e grupo tratado com LEV por 60 dias (LEV 60 D) (n: 8) com doses diárias de 0,05 µg / Kg administradas por gavagem oral. As doses de LEV foram calculadas de acordo com a massa corporal do animal na semana antes do tratamento. Foram avaliados a pletismografia (método indireto de avaliação da pressão arterial), medidas hemodinâmicas, variabilidade da pressão arterial e do intervalo de pulso, a análise simbólica, as massas corporais de animais e tecidos corporais totais e relativos, análise e contagem das células inflamatórias do fígado e coração e, avaliados a porcentagem de colágeno presente no coração após a intervenção com o LEV. **Resultados:** Quando comparado com o grupo SHR controle, o grupo LEV 60 D apresentou diminuição da massa corporal total do coração (p <0,05) e da massa corporal total do ventrículo esquerdo (p <0,05). Em relação a pletismografia, quando comparado com o grupo SHR controle, os grupos LEV 30 D e 60 D apresentaram diminuição da pressão arterial sistólica (p <0,05) no 30º dia de avaliação. Nos 45º e 60º dias de avaliação, houve diminuição da pressão arterial sistólica do grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle (p <0,05). Quanto a pressão arterial diastólica houve diminuição na pressão arterial diastólica do grupo LEV 30 D em relação ao grupo SHR controle no 15º dia (p <0,05) e de ambos os grupos LEV 30 D e LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle (p <0,05) no 30º dia de avaliação. Ainda avaliando a pressão arterial diastólica nos 45º e 60º dias, houve diminuição da pressão arterial sistólica do grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle (p <0,05). Na análise do comportamento da modulação autonômica cardíaca na frequência e domínio de tempo e análise simbólica do houve diminuição da pressão arterial sistólica do grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle (p <0,05), aumento do RMSSD do grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle (p <0,05) e aumento da modulação parassimpática em valores absolutos (p <0,05). Em valores percentuais quando comparado o grupo SHR com o grupo LEV 60 D, observou-se diminuição da modulação simpática (LF) (p <0,05) e do equilíbrio da taxa da modulação simpática e parassimpática definido pela razão (LF/HF) (p <0,05), assim como, aumento modulação parassimpática (HF) (p <0,05). Na análise da variabilidade da pressão arterial sistólica no domínio do tempo e da frequência, quando comparado o grupo SHR controle com o grupo LEV 60 D, observou-se aumento da modulação parassimpática (2UV) no grupo LEV 60 D (p <0,05). Houve também diminuição da pressão diastólica final do grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle (p <0,05). Em relação aos índices de respostas bradicárdicas, houve aumento nos grupos tratados com LEV em relação ao grupo SHR controle (p <0,05) e quanto aos índices de respostas taquicárdicas, houve também aumento nos grupos tratados com LEV em relação ao grupo SHR controle (p <0,05). Em relação a porcentagem de colágeno no coração apresentou diminuição nos grupos LEV em relação ao SHR controle (p <0,05). **Conclusão:** O tratamento com LEV durante 30 e 60 dias em ratas idosas SHR atua não apenas melhorando a contratilidade cardíaca, mas também modulação autonômica da frequência cardíaca e promoção da queda da pressão arterial em ratas idosas SHR.

Palavras-chave: Levosimendan; Ratas Idosas; Hipertensão Arterial Sistêmica.

ABSTRACT:

Introduction: Levosimendan (LEV) is an inodilator capable of increasing the contractility of the heart muscle and relaxing coronary vessels. **Objective:** To verify whether chronic treatment with LEV in a model of systemic arterial hypertension in spontaneously hypertensive elderly rats (SHR) will cause reduced blood pressure, improvement in autonomic function and simpatovagal balance in animals treated with this drug for 30 and 60 days. **Methods:** Thirty-six elderly rats aged 2 years from 2 strains, one group consisting of Wistar (n = 10), 26 spontaneously hypertensive rats (SHR), divided into three groups: SHR control without treatment (n = 10), group treated with LEV for 30 days (LEV 30 D) (n: 8) and the group treated with LEV for 60 days (LEV 60 D) (n: 8) with daily doses of 0.05 µg / kg administered by oral gavage. LEV doses were calculated according to the body weight of the animal in the week before dosage. Plethysmography (indirect method of blood pressure assessment), hemodynamic measurements, variability of blood pressure and pulse interval, symbolic analysis, weights of animals and total and relative body tissues, analysis and counting of inflammatory cells of the liver and heart were evaluated, and the percentage of collagen present in the heart after LEV intervention was evaluated. **Results:** When compared with the SHR control group, the LEV 60 D group presented a decrease in the total body mass of the heart (p < 0.05) and of the total body mass of the left ventricle (p < 0.05). Regarding plethysmography, when compared to the SHR control group, the LEV 30 D and 60 D groups presented a decrease in systolic blood pressure (p < 0.05) on the 30th day of evaluation. On the 45th and 60th days of evaluation, there was a decrease in systolic blood pressure in the LEV 60 D group compared to the SHR control group (p < 0.05). As for diastolic blood pressure, there was a decrease in diastolic blood pressure in the LEV 30 D group compared to the SHR control group on the 15th day (p < 0.05) and in both the LEV 30 D and LEV 60 D groups compared to the SHR group control (p < 0.05) on the 30th day of evaluation. Still evaluating the diastolic blood pressure on the 45th and 60th days, there was a decrease in systolic blood pressure in the LEV 60 D group compared to the SHR control group (p < 0.05). In the analysis of the behaviour of cardiac autonomic modulation in frequency and time domain and symbolic analysis, there was a decrease in systolic blood pressure in the LEV 60 D group compared to the control SHR group (p < 0.05), an increase in RMSSD in the LEV 60 group D compared to the SHR control group (p < 0.05) and increased parasympathetic modulation in absolute values (p < 0.05). In percentage values when comparing the SHR group with the LEV 60 D group, there was a decrease in sympathetic modulation (LF) (p < 0.05) and the balance of the rate of sympathetic and parasympathetic modulation defined by the ratio (LF/HF) (p<0.05), as well as, increased parasympathetic modulation (HF) (p<0.05). In the analysis of the variability of systolic blood pressure in the time and frequency domain, when comparing the SHR control group with the LEV 60 D group, an increase in parasympathetic modulation (2UV) was observed in the LEV 60 D group (p < 0.05). There was also a decrease in end-diastolic pressure in the LEV 60 D group compared to the SHR control group (p < 0.05). Regarding the bradycardic response rates, there was an increase in the groups treated with LEV compared to the SHR control group (p < 0.05) and regarding the tachycardic response rates, there was also an increase in the groups treated with LEV compared to the SHR control group (p<0.05). Regarding the percentage of collagen in the heart, there was a decrease in the LEV groups compared to the control SHR (p <0.05). **Conclusion:** Chronic treatment with LEV in a SHR elderly rats promoted acts not only improving cardiac contractility but also autonomic modulation of heart rate and promoting the drop in blood pressure in the old rats.

Keywords: Levosimendan; Elderly Female Rats; Systemic Arterial Hypertension.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Comportamento do mecanismo de barorreflexo na redução da pressão arterial.....	30
Figura 2 -	Comportamento do mecanismo de barorreflexo no aumento da pressão arterial.....	31
Figura 3 -	Fórmula estrutural do Levosimendan	41
Figura 4 -	Protocolos experimentais	47
Figura 5 -	Curva de acompanhamento da pressão arterial sistólica por meio da pletismografia dos grupos wistar, SHR controle e grupos tratados com levosimendan ao longo de 60 dias	55
Figura 6 -	Curva de acompanhamento da pressão arterial diastólica por meio da pletismografia dos grupos wistar, SHR controle e grupos tratados com levosimendan ao longo de 60 dias.....	57
Figura 7 -	Pressão diastólica final	60
Figura 8 -	Índices de respostas taquicárdicas e bradicárdicas	61
Figura 9 -	Porcentagem de colágeno presente no coração	63
Figura 10 -	Fotomicrografias de colágeno presente no coração:.....	64
Figura 11 -	Análise e contagem dos neutrófilos presentes no coração	65
Figura 12 -	Análise e contagem dos linfócitos presentes no coração	66
Figura 13 -	Análise e contagem dos macrófagos presentes no coração	67
Figura 14 -	Análise e contagem da inflamação total no coração	68
Figura 15 -	Análise e contagem dos neutrófilos presentes no fígado	69
Figura 16	Análise e contagem dos linfócitos presentes no fígado	70
Figura 17	Análise e contagem dos macrófagos presentes no fígado	71
Figura 18	Análise e contagem da inflamação total no fígado	72

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 -** Massas corporais totais dos animais e massas corporais totais e relativas dos tecidos..... 54
- Tabela 2 -** Comportamento da modulação autonômica cardíaca na frequência e domínio de tempo, análise simbólica do grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas e grupos de ratas tratadas com levosimendan 58
- Tabela 3 -** Comportamento do tônus autonômico dos grupos wistar, grupo controle das ratas espontaneamente hipertensas (SHR controle) e dos grupos de ratas espontaneamente hipertensas tratadas com levosimendan durante 30 e 60 dias 61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
DCV	Doenças Cardiovasculares
OMS	Organização Mundial da Saúde
HA	Hipertensão Arterial
SNS	Sistema Nervoso Simpático
SNP	Sistema Nervoso Parassimpático
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PAD	Pressão Arterial Diastólica
FC	Frequência Cardíaca
PA	Pressão Arterial
SHR	Ratas Espontaneamente Hipertensas
LEV	Levosimendan
DC	Débito Cardíaco
IC	Insuficiência Cardíaca
USA	Estados Unidos
NO	Óxido Nítrico
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca
VPA	Variabilidade da Pressão Arterial
ECA	Enzima Conversora da Angiotensina
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
NPs	Peptídeos Natriuréticos
ANP	Peptídeos Natriuréticos Atriais
BNP	Peptídeos Natriuréticos Cerebrais
CNP	Peptídeos natriuréticos do Endotélio Tipo C
AMPc	Adenosina Monofosfato Cíclico
ATP	Trifosfato de Adenosina
K_{ATP}	Canais Sensíveis ao Potássio (K _{ATP})
TnC	Complexo Cálcio-Troponina C
dV/ dt_{max}	Taxa de Pico do Fluxo Mitral
IVRT	Relaxamento Isovolumétrico

Tempo E-dec	Tempo de Desaceleração do Enchimento Diastólico Inicial
Onda E	Início da diástole
Onda A	Contração Atrial
Razão E /A	Pico do Fluxo de Velocidade no Final da Diástole causado pela Contração Atrial
IL	Interleucina
SHR controle	Grupo Controle de Ratas Espontaneamente Hipertensas
LEV 30 D	Grupo Tratado com Levosimendan por 30 dias
LEV 60 D	Grupo Tratado com Levosimendan por 60 dias

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO:	15
2.	OBJETIVOS:	18
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	19
3.	REVISÃO DA LITERATURA:	20
3.1	Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS):.....	20
3.2	Efeitos do Envelhecimento na Hipertensão Arterial Sistêmica:	23
3.3	Efeitos da Menopausa na Hipertensão Arterial Sistêmica:.....	26
3.4	Barorreflexo e Controle Autonômico do Sistema Cardíaco:.....	27
3.5	Utilização das Tradicionais Drogas Vasoativas:.....	32
3.6	Levosimendan (LEV):.....	39
4	MATERIAS E MÉTODOS:	46
4.1	Amostra:	46
4.2	Protocolos Experimentais:	48
4.2.1	Pletismografia (medida da pressão arterial indireta):	48
4.2.2	Medidas hemodinâmicas:	48
4.2.3	Variabilidade da pressão arterial e intervalo de pulso:	49
4.2.4	Massa dos animais e tecidos corporais:	51
4.2.5	Análise e contagem das células inflamatórias:	51
4.2.6	Análise e contagem da porcentagem de colágeno presente no coração:	51
4.3	Análise Estatística:	52
5.	RESULTADOS:	52
6.	DISCUSSÃO:	72
7.	CONCLUSÃO:	80
8.	REFERÊNCIAS:	81
9.	ANEXOS:	94
9.1	Comitê de Ética:	94

O EFEITO DO TRATAMENTO COM O LEVOSIMENDAN SOBRE UM MODELO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA EM RATAS IDOSAS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS

Flávio De Oliveira Pires

1 INTRODUÇÃO:

A hipertensão arterial sistêmica (HAS), tabagismo, diabetes e as dislipidemias são alterações que podem ser mudadas como fatores de risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV), sendo que esta patologia está associada como a evidência mais forte e maior prevalência de exposição (Fuchs e Whelton, 2020).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), atualmente quase 1,13 bilhões de adultos sofrem de HAS em todo o mundo (GHO, 2018) sendo esta, responsável por mais de 7,5 milhões de morte por ano (Oh e Cho, 2020).

Em um estudo realizado em centros urbanos nas 5 regiões brasileiras, totalizando: 2.810 indivíduos avaliados, verificou-se que de acordo com o perfil de risco para desenvolvimento da hipertensão arterial (HA), os resultados mostraram uma prevalência de 61,7% para indivíduos com altos riscos para desenvolvimento desta doença (valores maiores que 130/80 mmHg), o que corresponde a 41,8% da população avaliada (Issa *et al.*, 2020).

A HAS é uma doença multifatorial em sua etiologia e é uma das principais comorbidades relacionadas a morte por doença cardiovascular no mundo (G. B. D., 2015).

Em adultos, a HAS é diagnosticada a partir de valores acima de 140 mmHg de pressão arterial sistólica (PAS) e 90 mmHg de pressão arterial diastólica (PAD), segundo as recomendações da Sociedade Brasileira de Cardiologia e da Sociedade Brasileira de Hipertensão (Sbc, 2016).

Globalmente 3,5 bilhões de adultos têm níveis de pressão arterial sistólica considerados não ideais e 874 milhões de adultos apresentam a pressão arterial sistólica igual ou maior que 140 mmHg, e com isto, sendo classificados como hipertensos, logo, aproximadamente um em cada quatro adultos apresentam a HAS (Forouzanfar *et al.*, 2017).

Nos Estados Unidos (USA) existem uma prevalência de HAS de 78,2% em indivíduos com idades igual ou superior aos 65 anos, sendo que destes indivíduos, a hipertensão arterial não controlada é presente em 54% dos idosos e 73% das idosas (Statistics, 2019), sendo este aumento em idosas devido a menopausa quando diminui ou cessa a produção de hormônios ovarianos (Yalamudi, 2017).

Um dos principais agentes etiológicos da HAS é o desbalanço autonômico do sistema cardiovascular, que consiste no aumento crônico da atividade do sistema nervoso simpático (SNS) sobre os vasos e coração e diminuição atividade do sistema nervoso parassimpático (SNP) (Brook e Julius, 2000; Wulsin *et al.*, 2015).

Esse aumento crônico da atividade do sistema nervoso simpático causa o aumento da frequência cardíaca (FC) e diminuição do relaxamento dos vasos, levando ao aumento da pressão arterial; já a diminuição da atividade do sistema nervoso parassimpático (mais conhecida como retirada vagal) é indicador de menor controle barorreflexo sobre o coração, também indicando uma hiperatividade simpática (Brook e Julius, 2000; Wulsin *et al.*, 2015).

Esse desbalanço entre o sistema nervoso simpático e o sistema nervoso parassimpático no sistema cardiovascular tem sido extensamente investigado como forte fator não só etiológico da HAS, mas também, como fator de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (infarto do miocárdio, doença coronariana etc.) e como indicador de mortalidade (Brook e Julius, 2000; Pal *et al.*, 2013; Wulsin *et al.*, 2015).

Para realização de pesquisas ou análises de terapias farmacológicas e não farmacológicas sobre a HAS, utilizam-se vários modelos de animais hipertensos, entre eles, um modelo geneticamente programado de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) que já é bem estabelecido e amplamente utilizado nestas pesquisas, onde a cepa é totalmente consanguínea e a hipertensão se desenvolve com a maturidade, sem a necessidade de estímulos dietéticos ou ambientais (Trippodo e Frohlich, 1981).

O levosimendan (LEV) tornou-se disponível para prescrição a partir de 2001 (Cholley *et al.*, 2019), sendo inicialmente um medicamento licenciado para tratamento da insuficiência cardíaca (IC) descompensada (Orme *et al.*, 2014). Ele é um inodilatador, ou seja, um inotrópico e vasodilatador (Lehtonen, 2001; Cleland *et al.*, 2004) que por meio da ação sensibilizante da troponina C ao cálcio, tem a capacidade de melhorar a contratilidade cardíaca durante a sístole sem prejudicar o relaxamento

durante a diástole, e tem uma ação vasodilatadora que resulta em uma melhora significativa, dependente da dose, do débito cardíaco (DC) sem aumentar a demanda de oxigênio do miocárdio (Buzzini *et al.*, 2019).

Levosimendan age basicamente por dois mecanismos: sensibilização das proteínas de contração e ativação de canais de potássio (K^+). Levosimendan possui componentes em sua fórmula que permitem as suas propriedades inodilatadoras, como o sensibilizador de cálcio (Ca^{2+}) OR-1896 que estimula a afinidade da troponina ao Ca^{2+} , aumentando assim a capacidade de iniciação de pontes cruzadas, e por consequência, a capacidade de contração da célula cardíaca (Yildiz, 2007).

A capacidade de sensibilização do levosimendan no músculo cardíaco é oposta à sua atividade de dessensibilização na musculatura vascular, onde este fármaco reduz a concentração de Ca^{2+} (Bowman, P. *et al.*, 1999; Yildiz, 2007). Essa retirada de Ca^{2+} intracelular causa uma alteração iônica no endotélio, o que hiperativa os canais de K^+ regulados pelo adenosina trifosfato (ATP) (K_{ATP}) e também impede o retorno do Ca^{2+} para dentro da célula, causando o relaxamento do vaso (Bowman, P. *et al.*, 1999; Yildiz *et al.*, 2006; Yildiz, 2007).

Levosimendan é um medicamento que possui uma ótima atividade inotrópica por meio da sensibilização de Ca^{2+} e uma ótima capacidade vasodilatadora, ao ativar os K_{ATP} . Esta atividade vasodilatadora foi investigada em vasos coronários (Bowman, P. *et al.*, 1999) e outros vasos de mamíferos de forma isolada (Usta *et al.*, 2006; Yildiz *et al.*, 2006).

Em estudos clínicos, o levosimendan mostrou boa capacidade de regulação hemodinâmica em pacientes com insuficiência cardíaca, reduzindo a concentração de beta-agonistas e subsequentemente reduzindo a pressão arterial (Nieminen *et al.*, 2000; Parissis *et al.*, 2005; Hillestad *et al.*, 2013), contudo, essas potenciais capacidades vasodilatadoras deste medicamento nunca foram estudadas em pacientes ou modelos animais de HAS.

Além das propriedades hemodinâmicas do levosimendan, esta droga quando comparado com a dobutamina e outras terapias cardiovasculares (inibidores da enzima conversora da angiotensina ou beta-bloqueadores) para tratamento da insuficiência cardíaca crônica, apresenta menores custos de hospitalização (Cleland *et al.*, 2003).

Nosso estudo com animais idosos, inicialmente se justifica pelo aumento da expectativa de vida que é comumente associada com o aumento da HAS e no caso da escolha de ratas idosas, é devido a maior prevalência desta patologia em mulheres quando comparado com homens a partir dos 65 anos devido a diminuição dos hormônios ovarianos como, estrogênio.

O levosimendan que é a droga a ser testada sobre a HAS em ratas idosas SHR, se baseia inicialmente na busca de novos medicamentos promissores quando comparado com os medicamentos tradicionais usados para tratamento desta doença, e também, porque estes medicamentos atuam somente em uma das causas, ou agindo na frequência cardíaca ou na diminuição da resistência vascular periférica.

Já o levosimendan tem uma capacidade de agir nestas duas causas ao mesmo tempo e seus custos financeiros são menores do que outras drogas comumente usadas nas doenças cardiovasculares, logo, devido as propriedades inotrópicas deste medicamento, supõe-se que talvez ele possa ser usado com uma nova opção no tratamento da HAS.

Sendo assim, hipotetiza-se que o tratamento durante 30 e 60 dias com levosimendan em um modelo de HAS em ratas idosas espontaneamente hipertensas (SHR) causará redução da pressão arterial, melhora do balanço autonômico cardíaco, em direção da vagotonia, além da melhora dos reflexos autonômicos (barorreflexo).

2 OBJETIVOS:

2.1 OBJETIVO GERAL:

Verificar se o tratamento durante 30 e 60 dias com levosimendan em ratas idosas espontaneamente hipertensas (*SHR*) causará redução da pressão arterial, melhora na função autonômica cardíaca e no balanço simpátovagal em animais tratados com este medicamento durante 30 e 60 dias.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Analisar e comparar a resposta hemodinâmica em grupos SHR submetidos ao tratamento com levosimendan durante 30 e 60 dias, com grupo SHR sem tratamento e com o grupo Wistar sobre a resposta da pressão arterial.
- b) Analisar e comparar a resposta autonômica cardíaca por meio da variabilidade da frequência cardíaca em grupos SHR submetidos ao tratamento com levosimendan durante 30 e 60 dias, com grupo SHR sem tratamento e com o grupo Wistar.
- c) Analisar e comparar a resposta autonômica cardíaca por meio da variabilidade da pressão arterial em grupos SHR submetidos ao tratamento com levosimendan durante 30 e 60 dias, com grupo SHR sem tratamento e com o grupo Wistar.
- d) Analisar e comparar o efeito do tratamento com levosimendan sobre a função do ventrículo esquerdo em grupos SHR submetidos ao tratamento com levosimendan durante 30 e 60 dias, com grupo SHR sem tratamento e com o grupo Wistar.
- e) Analisar e comparar o efeito do tratamento com levosimendan sobre as massas corporais dos animais e tecidos dos grupos SHR submetidos ao tratamento com levosimendan durante 30 e 60 dias, com grupo SHR sem tratamento e com o grupo Wistar.
- f) Analisar e comparar o efeito do tratamento com levosimendan sobre a porcentagem de colágeno presente no coração em grupos SHR submetidos ao tratamento com LEV durante 30 e 60 dias, com grupo SHR sem tratamento e com o grupo Wistar.
- g) Analisar e comparar o efeito do tratamento com levosimendan sobre as células inflamatórias presentes no coração em grupos SHR submetidos ao tratamento com levosimendan durante 30 e 60 dias, com grupo SHR sem tratamento e com o grupo Wistar.

3 REVISÃO DA LITERATURA:

3.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA (HAS):

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é caracterizada por uma pressão arterial persistente alta nas artérias sistêmicas, sendo expressa como a razão da pressão arterial sistólica (ou seja, a pressão que o sangue exerce sobre as paredes arteriais quando o coração se contrai) e pressão arterial diastólica (ou seja, a pressão quando o coração relaxa) (Oparil *et al.*, 2018b).

A pressão arterial é classificada como ideal quando sua PAS < 120 mmHg e PAD < 80 mmHg, normal quando PAS está entre 120 – 129 mmHg e PAD entre 80 – 84 mmHg, alta-normal quando a PAS está entre 130-139 mmHg e PAD entre 85 – 89 mmHg e HAS quando PAS está >140 mmHg ou PAD > 90 mmHg (Kanegae *et al.*, 2017). Apenas um pequeno aumento de 10 mmHg na pressão arterial normal, já é capaz de aumentar o risco de desenvolvimento de maiores complicações cardiovasculares (Wang *et al.*, 2005).

Em 2003, o 7º Relatório do Comitê Nacional Conjunto de Prevenção, Detecção, Avaliação e Tratamento da HAS dos Estados Unidos estabeleceu que a PA normal e a PA alta-normal já foram denominadas de estados de pré-hipertensão que reconhece uma relação entre estes valores de pressão arterial e o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, assim como, a necessidade de educação dos profissionais da saúde e da população com a finalidade de diminuir os níveis de pressão arterial e prevenir o desenvolvimento da HAS (Chobanian *et al.*, 2003).

Outra classificação relativa à HAS é a hipertensão primária e secundária, onde 90% a 95% dos pacientes possuem uma hipertensão arterial primária que é altamente heterogênea e com etiologia multifatorial do ambiente gênico estimada entre 35% e 50%. Já se a hipertensão arterial é causada por outras condições, como, aldosteronismo primário, feocromocitoma (tumor neuroendócrino das glândulas suprarrenais e tecidos neuroendócrinos) ou estenose da artéria renal, passa a ser chamada de hipertensão secundária (Oparil *et al.*, 2018b).

As diretrizes para hipertensão do *American College of Cardiology (ACC) / American Heart Association (AHA)* em 2017, recomendam que a pressão arterial deve ser reduzida para valores menores que 130 /80 mmHg em pessoas com: doença cardíaca isquêmica, insuficiência cardíaca com uma fração de ejeção do ventrículo esquerdo reduzida, doença renal crônica, após o transplante renal, acidente vascular encefálico lacunar, doença arterial periférica, diabetes mellitus e além destas patologias, em indivíduos acima dos 65 anos como prevenção secundária do acidente vascular encefálico (Aronow, 2020).

A HAS é o fator de risco evitável mais comum para doenças cardiovasculares, incluindo doença cardíaca coronária, insuficiência cardíaca, acidente vascular encefálico, infarto do miocárdio, fibrilação atrial e doença arterial periférica, doença renal crônica e comprometimento cognitivo, sendo a principal causa de mortes e incapacidade no mundo (Forouzanfar *et al.*, 2016).

Como a HAS costuma ser assintomática, muitas pessoas não sabem que possuem esta patologia e, mesmo que tenham sido diagnosticadas e informadas de que suas pressões arteriais estejam elevadas, muitas param de tomar os medicamentos e faltam às consultas de acompanhamento. Isso dá origem à chamada 'regra da metade' que metade das pessoas com hipertensão desconhece e, entre as diagnosticadas, apenas a metade faz tratamento e, entre as tratadas, apenas a metade tem bom controle da PA (Cheung *et al.*, 2020).

Existem muitas razões para a taxa de controle insuficiente da HAS, sendo uma delas a não verificação da pressão arterial em pessoas aparentemente saudáveis uma das mais importantes, logo, todo adulto deve ter sua pressão arterial verificada periodicamente e se ela se apresentar elevada, deve-se verificar novamente a pressão arterial de forma regular e intervalada para verificar a permanência dos valores aumentados da pressão arterial e com isto, chegar ao diagnóstico conclusivo de HAS (Cheung *et al.*, 2020).

Outra razão para o mal controle da pressão arterial é a ineficácia dos medicamentos anti-hipertensivos atuais, onde a maioria dos pacientes requer mais de uma classe de medicamentos para atingir a meta de acordo com patofisiologia (Kotseva *et al.*, 2016) e isto, pode refletir as múltiplas vias envolvidas no controle da pressão arterial, onde junto com a ineficácia, está a presença de efeitos colaterais, que podem afetar a adesão aos tratamentos para a HAS (Cheung *et al.*, 2020).

A idade associada ao tempo de exposição a fatores como consumo excessivo de sódio, ingestão suficiente de potássio na dieta, dietas não saudáveis, sobrepeso e obesidade, ingestão de álcool, inatividade física junto predisposição genética ou ambiente intrauterino adverso (hipertensão gestacional ou pré-eclâmpsia) (Mills *et al.*, 2020), tabagismo, poluição do ar, estresse psicológico, distúrbios do sono, exposição ao ruído (Dzhambov e Dimitrova, 2018), assim como, mudanças mecânicas hemodinâmicas, rigidez arterial, desregulação neuro-humorais e autonômicas cardíacas, e doenças renais que contribuem para o aumento da HAS (Dzhambov e Dimitrova, 2018).

A HAS com ou sem condições fisiopatológicas concomitantes associadas, é caracterizada por uma alteração contínua na estrutura cardíaca (começando com uma hipertrofia ventricular e um aumento no volume atrial e ventricular) (De Simone *et al.*, 2008) com uma progressão para uma disfunção cardíaca (progressiva redução da função de ejeção do ventrículo esquerdo, alteração da

função diastólica) (Nadruz *et al.*, 2017). Todas essas alterações estão associadas a um comprometimento dos mecanismos reflexos de controle da homeostase cardiovascular e à ativação de diversos mecanismos neuro-humorais contribuindo para a evolução negativa (Nadruz *et al.*, 2017).

As principais condições fisiopatológicas relacionadas a esse comprometimento incluem aumento dos valores da pressão arterial (hipertensão essencial ou secundária e hipertensão resistente) sem ou com alterações metabólicas (obesidade e síndrome metabólica), bem como insuficiência cardíaca idiopática ou isquêmica (Seravalle *et al.*, 2019).

Embora as terapias medicamentosas adicionais fossem eficazes para maioria dos pacientes com HAS, nas últimas décadas, com a evidência de que o número de indivíduos com hipertensão não controlada se mantinha estável ou até mesmo aumentada (Seravalle *et al.*, 2019) foi introduzido o conceito de que um estado de hipertensão resistente poderia estar presente indiferente da incompleta adesão ou não adesão ao tratamento hipertensivo, ou ainda, mesmo que exista uma adesão ao tratamento, existe também, a tolerância medicamentosa reduzida presente nestes pacientes (Mancia *et al.*, 2014).

Logo, em condições fisiológicas por meio do sistema nervoso autônomo, o aumento da pressão arterial é acompanhado por uma acentuada ativação dos barorreceptores aórticos e carotídeos. O resultado é uma modulação negativa da descarga do sistema nervoso simpático eferente e um aumento do fluxo parassimpático. Isso induz uma redução da frequência cardíaca, uma melhora na geometria ventricular esquerda, uma vasodilatação e um aumento na capacitância venosa. Por outro lado, durante a redução da pressão arterial, há uma menor ativação dos barorreceptores aórticos e carotídeos induzindo um aumento na frequência cardíaca e um aumento da vasoconstrição simpática e como resultado, um aumento na pressão arterial, débito cardíaco e resistência vascular periférica (Mancia e Grassi, 2014).

Porém, em pacientes hipertensos, obesos e pacientes com doenças renais ou cardíacas, os barorreceptores carotídeos e aórticos disparam com pressão mais elevada quando comparado com indivíduos saudáveis e a resposta barorreflexa dos mecanismos compensatórios para tentar minimizar as variações pressóricas não são tão potentes quanto em indivíduos saudáveis (Mancia e Grassi, 2014).

O sistema nervoso autônomo também está envolvido na mediação do comportamento da função endotelial. As células endoteliais não recebem inervação direta do sistema nervoso simpático devido às longas distâncias, no entanto, os neurotransmissores liberados de varicosidades no plexo perivascular por meio de junções neuro efetoras autonômicas cardíacas podem atingir os receptores endoteliais e regular a função endotelial. No desenvolvimento de doenças vasculares, a coexistência

de anormalidade do sistema nervoso autônomo e a disfunção endotelial sugere as complexas interações entre elas (Sheng e Zhu, 2018).

3.2 EFEITOS DO ENVELHECIMENTO NA HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA:

De acordo com a *American Heart Association*, o risco da HAS eleva com o aumento da idade, sendo sua prevalência de 26% em pessoas entre 20 e 44 anos, em comparação com 78% entre aqueles com mais de 65 anos de idade (Benjamin *et al.*, 2019).

Nos Estados Unidos, a prevalência de HAS é de 59,2% em indivíduos na faixa etária de 45 a 64 anos e 78,2% em indivíduos com idades igual ou superior aos 65 anos (Virani *et al.*, 2020). Ainda neste país, ao comparar a prevalência de HAS entre idosos e idosas, verificou-se que os idosos apresentam uma prevalência de 65% sendo que destes, 47% relataram HAS não controlada, enquanto, a prevalência desta patologia nas idosas foi de 73% e com relatos de 54% de HAS não controlada (Statistics, 2019).

De acordo com dados da Pesquisa Nacional de Saúde realizada no Brasil (Andrade *et al.*, 2015), a prevalência de HAS autorrelatada em pessoas com idades compreendidas entre 60-64 anos foi de 44,4% (Andrade *et al.*, 2015), nas faixas etárias mais avançadas de 65-74 anos foi de 52,7% e nas idades iguais ou superiores a 75 anos, a prevalência de autorrelatos de HAS foi de 55%, tendo uma tendência maior associada às idosas (Santimaria *et al.*, 2019), devido a menopausa quando diminui ou cessa a produção de hormônios ovarianos (Yalamudi, 2017).

O envelhecimento vascular e sua relação com a HAS englobam a remodelação patológica progressiva do sistema vascular, resultando na diminuição da elasticidade da parede vascular, aumento da fibrose, inflamação perivascular e calcificação vascular (Petrie *et al.*, 2018). A integridade funcional das células endoteliais é um fator vital na homeostase vascular sendo que disfunção do endotélio é um elemento fundamental na progressão da aterosclerose onde fatores de risco como HAS, insuficiência cardíaca e diabetes mellitus prejudicam a função endotelial (Sheng e Zhu, 2018).

Estas células endoteliais vasculares, que são também importantes para a regulação do tônus vascular, são conhecidas por mudar à medida que ocorre o envelhecimento quando essas células param de se dividir e sofrem alterações fenotípicas significativas, incluindo alterações na estrutura do citoesqueleto, aumento da apoptose celular, diminuição do óxido nítrico (NO) liberação e aumento da inflamação elevada (Uryga e Bennett, 2016).

Logo, a integridade funcional das células endoteliais é um fator vital na homeostase vascular sendo que disfunção do endotélio é um elemento fundamental na progressão da aterosclerose onde fatores de risco como HAS, insuficiência cardíaca e diabetes mellitus prejudicam a função endotelial (Sheng e Zhu, 2018).

As mudanças estruturais e funcionais que ocorrem com o envelhecimento vascular levam ao aumento da rigidez arterial e à perda da capacidade das células endoteliais vasculares de induzir o vasorelaxamento e, subsequentemente, um risco aumentado de HAS, particularmente hipertensão sistólica e doença cardiovascular (Mitchell *et al.*, 2010).

A combinação de inflamação crônica das células endoteliais vasculares, com aumentos crônicos no estresse oxidativo e a HAS contribuem juntos para criar uma cascata de disfunção endotelial contínua que promovem os aumentos de citocinas inflamatórias e danos reativos de oxigênio e hipertensão crônica (Wadley *et al.*, 2013).

O envelhecimento é conhecido por alterar os mecanismos neuro-hormonais que controlam o sistema cardiovascular onde ocorre o declínio da atividade parassimpática no nódulo sino atrial e um aumento da atividade simpática no coração e no sistema cardiovascular (Wichi *et al.*, 2009).

O comprometimento dos neurônios vagais-cardíacos parece ser o principal determinante das alterações no controle da frequência cardíaca que ocorrem com o envelhecimento, uma vez que o envelhecimento reduz a taquicardia que pode ser induzida pela atropina em humanos e animais (Ferrari *et al.*, 1991).

Ao comparar ratos jovens com ratos idosos, após a injeção de metilatropina e propranolol para avaliar o efeito vagal nestes grupos, foi possível observar que o efeito vagal foi maior em ratos jovens do que em ratos idosos que apresentaram após bloqueio destas drogas, menor função vagal e redução da frequência cardíaca intrínseca quando comparado com ratos jovens (Werner *et al.*, 1995; Irigoyen *et al.*, 2000).

Os efeitos cardiovasculares do bloqueio parassimpático também foram estudados em humanos e demonstrou-se pequenos aumentos na frequência cardíaca, índice cardíaco, pressão arterial sistólica e taxa de enchimento diastólico precoce em idosos em comparação com pessoas mais jovens (Stratton *et al.*, 2003).

A depressão da arritmia sinusal respiratória com a idade, também sugere uma diminuição no sistema nervoso simpático que influencia na função do nó sinusal (Kuo *et al.*, 1999).

A disfunção na atividade da porção neural (aferente, central ou eferente) do sistema vagal e do receptor muscarínico cardíaco pode estar envolvida nas reduções das alterações parassimpáticas

associadas ao envelhecimento e subsequentemente, o aumento da atividade simpática indicada pela taxa de secreção de noradrenalina e pelos registros de atividade simpática nervosa associada ao coração (Wichi *et al.*, 2009).

A atividade do nervo simpático é quase duas vezes maior em pessoas de 65 anos do que pessoas com 25 anos (Negrao *et al.*, 1992; Dinunno *et al.*, 1999), provavelmente devido à redução da captação neuronal de noradrenalina e ao aumento da taxa de descarga do nervo simpático (Esler *et al.*, 1995).

O envelhecimento por si só já é capaz de induzir mudanças no controle barorreflexo da frequência cardíaca (Wichi *et al.*, 2009), onde existe o declínio da sensibilidade do barorreflexo conforme estudos realizados em animais experimentais e humanos idosos, visto que por meio da estimulação dos barorreceptores pela fenilefrina e pelo nitroprussiato de sódio apresentaram menores aumentos dos reflexos cardíacos em idosos em comparação aos jovens (Ferrari *et al.*, 1991).

Experimentos (Werner *et al.*, 1995; Irigoyen *et al.*, 2000) demonstraram que ratos idosos quando comparados com ratos jovens exibiram menor sensibilidade do controle barorreflexo da frequência cardíaca, apresentando um menor aumento da resposta barorreflexa bradicárdica induzida pelo aumento da pressão arterial após a injeção de fenilefrina, assim como, um menor aumento da resposta barorreflexa taquicárdica induzido pela diminuição da pressão arterial após a injeção de nitroprussiato de sódio.

O comprometimento desta diminuição da sensibilidade barorreflexa relacionado à idade tem sido associado a alterações na complacência arterial, mudanças na integração autonômica central, redução do fluxo vagal e diminuição da densidade do receptor do nódulo sinoatrial muscarínico (Brodde *et al.*, 1998).

A diminuição da modulação autonômica cardíaca associada ao avanço da idade também se reflete em diminuições na variabilidade da frequência cardíaca (VFC), variabilidade da pressão arterial (VPA) e seus componentes de frequência. As alterações reduzidas na variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial são consideradas prejudiciais à saúde cardiovascular (Wichi *et al.*, 2009).

Normalmente, o envelhecimento aumenta as concentrações plasmáticas de catecolaminas e a atividade do nervo simpático (Sheng e Zhu, 2018), induzindo ao aumento do tônus simpático nos vasos sanguíneos (Shantsila *et al.*, 2015). Esta elevação da atividade do fluxo simpático em um indivíduo idoso pode resultar em mau funcionamento endotelial, rigidez arterial, comprometimento da sensibilidade do receptor α -adrenérgico e responsividade vascular (Sheng e Zhu, 2018).

Logo, o processo de envelhecimento está associado a uma redução da variabilidade da frequência cardíaca, ligada a um declínio na regulação parassimpática e uma maior modulação simpática (Colosimo *et al.*, 1997), sendo que esta modulação autonômica cardíaca é estimada pelo uso de componentes da variabilidade da frequência cardíaca que se alteram com decorrer da idade (Wichi *et al.*, 2009).

3.3 EFEITOS DA MENOPAUSA NA HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA:

Somado aos processos de envelhecimento em ambos os sexos, nas mulheres, o risco de doenças cardiovasculares aumenta muito após a menopausa mostrando que mulheres têm uma maior prevalência da HAS, independentemente de sua etnia quando comparado com homens no mesmo período de vida (Cutler *et al.*, 2008).

Alguns estudos (Hogarth *et al.*, 2011; Maranon *et al.*, 2014) sugeriram que mulheres na menopausa aumentaram o tônus simpático, que por sua vez pode aumentar a pressão arterial, tendo a inflamação crônica, assim como, o estresse oxidativo e suas contribuições para a patogênese da HAS por meio do sistema imunológico liberando citocinas que causam oxidação. E por sua vez, o estresse oxidativo que induz a inflamação local e aumenta a permeabilidade endotelial que sustenta a inflamação crônica (Shimojo *et al.*, 2018).

O estrogênio pode modular a função vascular ao direcionar os seus receptores nas células endoteliais e nas células do músculo liso vascular (Mahajan *et al.*, 2019) e também, pode levar a liberação do óxido nítrico (NO) e prostaciclina, que são vasodilatadores e levam à redução da produção de endotelina e angiotensina II, que são vasoconstritores (Mahajan *et al.*, 2019). O estrogênio não age apenas reduzindo a inflamação, mas também, pode diminuir a secreção de citocinas pró-aterogênicas, como o fator de necrose tumoral- α , assim como, aumentar a prostaglandina I₂, o que reduz o estresse oxidativo e a ativação plaquetária (Mahajan *et al.*, 2019).

Um dos trabalhos (Machi *et al.*, 2016) analisou os efeitos da privação do hormônio ovariano sobre os efeitos deletérios no envelhecimento por meio ovariectomia em ratas jovens e idosas, onde se observou que a retirada de ovários em ratas jovens e idosas levaram a interrupção na produção dos hormônios ovarianos e provou-se que este procedimento cirúrgico agravou ainda mais os efeitos danosos e funcionais cardíacos nas ratas submetidas a este cirurgia.

Estes efeitos no coração foram mais acentuados nas ratas idosas ovariectomizadas quando comparado com as ratas jovens também ovariectomizadas e também quando comparado como ratas

idosas e jovens não ovariectomizadas, muito provavelmente, devido à disfunção autonômica cardíaca exacerbada, ao aumento da inflamação e do estresse oxidativo (Machi *et al.*, 2016).

Em tais procedimentos de ovariectomia em ratas (Irigoyen *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2007; De O Brito-Monzani *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2020) foi ainda possível observar a redução da sensibilidade barorreflexa cardiovagal e a eliminação de suas variações diurnas e com o passar dos dias (Goldman *et al.*, 2009) indicando que os esteroides gonadais agem na função barorreflexa (Brooks *et al.*, 2012).

Ao avaliar ratas SHR ovariectomizadas observou-se que este procedimento cirúrgico aumentou ainda mais pressão arterial média (9 mmHg), a modulação simpática (40%) e o estresse oxidativo em ratas sedentários (Da Palma *et al.*, 2016).

Soma-se a estes processos citados nos parágrafos anteriores, os aumentos das atividades da NADPH oxidase renal, da lipoperoxidação (TBARS) cardíaca e renal, das carbonilas e aumentos da pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica (Shimojo *et al.*, 2018).

Logo, a pressão arterial é determinada por vários fatores do sistema cardiovascular, incluindo o volume intravascular, débito cardíaco, assim como o tônus arterial que é afetado tanto pelo volume sanguíneo, assim como, o sistema neuro-humoral, sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), o papel dos peptídeos natriuréticos, o endotélio, sistema nervoso simpático e sistema imunológico (Oparil *et al.*, 2018b), além do próprio envelhecimento (Petrie *et al.*, 2018) e também, a menopausa nas idosas (Machi *et al.*, 2016). Sendo assim, mal funcionamento ou a interrupção destes fatores envolvidos no controle da pressão arterial podem de forma direta ou indireta aumentar a sua média, a variabilidade da pressão arterial ou de ambos fatores ao longo dos anos, resultando em lesões em órgãos alvos (por exemplo, hipertrofia ventricular esquerda, doença renal crônica e doenças cardiovasculares (Hall e Hall, 2017).

3.4 BARORREFLEXO E CONTROLE AUTONÔMICO DO SISTEMA CARDÍACO:

Barorreceptores são um tipo de mecanorreceptores que permitem retransmitir informações originadas da pressão arterial dentro do sistema nervoso autônomo, onde as informações são transmitidas em sequência rápida para alterar a resistência periférica total e o DC, mantendo a pressão arterial dentro de uma faixa normalizada predefinida (Armstrong e Moore, 2020).

Existem dois tipos de barorreceptores: os barorreceptores arteriais de alta pressão e os receptores de volume de baixa pressão, ambos estimulados pelo estiramento da parede do vaso sanguíneo com o aumento da pressão arterial. Os barorreceptores arteriais de alta pressão estão

localizados nos seios carotídeos e no arco aórtico, enquanto, os barorreceptores de baixa pressão, também chamados de cardiopulmonares, estão localizados nos átrios, ventrículos e vasos pulmonares (Al-Khazraji e Shoemaker, 2018).

Os barorreceptores arteriais são aferentes e informam ao sistema nervoso autônomo sobre mudanças relativas da pressão arterial provocando mudanças relativas no batimento cardíaco. Logo, reduções rápidas na pressão arterial, como na hipotensão ortostática, acarretados por uma diminuição do estiramento da parede da artéria e na diminuição da frequência do potencial de ação, levam um aumento do débito cardíaco e da vasoconstrição e como consequência, um aumento da pressão arterial (Armstrong e Moore, 2020). Porém, quando os barorreceptores, principalmente os localizados no seio carotídeo (área dilatada na base da artéria carótida interna superior a bifurcação da artéria carótida comum) detectam aumentos de pressão no sistema circulatório com o aumento da pressão arterial, existe o estiramento da artéria carótida comum. Com isto, os feixes de nervos que se projetam dos barorreceptores no seio carotídeo, enviam mensagens ao cérebro para reduzir o fluxo simpático dos impulsos nervosos ou do tráfego venoso e consequentemente reduzir a pressão arterial (De Leeuw *et al.*, 2017).

Já os receptores cardiopulmonares (receptores de baixa pressão) são igualmente mecanorreceptores que funcionam para informar o sistema nervoso autônomo sobre o volume de sangue dentro do sistema cardiovascular, no entanto, quando em estados de baixo volume sanguíneo faz com que as alterações circulatórias e renais resultem em um aumento da reabsorção de sal e água nos rins, aumento da ingestão oral de sal e água e alterações de pressão média mais lentas e de longo prazo (Ishii *et al.*, 2015).

O sistema nervoso autônomo inclui todas as regiões implicadas no controle das funções "autônomas", inconscientes e involuntárias na homeostase corporal total. Em geral, toda a gama de funções fisiológicas é, em última análise, necessária para a sobrevivência humana que permite uma interação com o ambiente externo em uma ampla gama de condições. Juntamente com os efeitos de ação lenta e de longa duração do sistema endócrino, o SNA exerce seus efeitos de ação rápida e de curta duração em várias funções, entre elas, a perfusão sanguínea de todo o corpo por meio da regulação da frequência cardíaca e da pressão arterial, papel homeotérmico por meio da sudorese e calafrios, processamento de nutrientes por meio do controle e coordenação de diferentes partes do intestino e glândulas, motilidade urinária, movimento, focalização e lacrimejamento da pupila (Sánchez-Manso *et al.*, 2017).

O sistema nervoso autônomo usa suas vias simpática e parassimpática para modular a frequência cardíaca por meio da despolarização do nódulo sinoatrial. Sabe-se da importância neuromoduladora que acontece no corpo humano, graças a esse sistema tanto as alterações agudas e crônicas como também a nível fisiológico e patológico, tendo influências tônica e reflexa do sistema cardiovascular (Coote, 2005). O coração recebe as fibras aferentes e eferentes simpáticas e parassimpáticas, sendo que as terminações simpáticas cobrem todo miocárdio e no nódulo sinusal, enquanto as parassimpáticas cobrem o nódulo atrioventricular e o miocárdio atrial, onde o controle neural depende intimamente da frequência cardíaca e da atividade reflexa barorreceptora (Coote, 2005; Lu *et al.*, 2009).

De acordo com a figura 1, na redução da pressão arterial, o núcleo do trato solitário é menos estimulado e diminui a ação do núcleo ambíguo que faz com que a atividade do nervo vago diminua também, juntamente com a inibição do bulbo ventrolateral caudal que possui neurônios inibitórios, que não permite a inibição sobre os neurônios excitatórios do bulbo ventrolateral rostral. Não ocorrendo esta inibição, os neurônios excitatórios do bulbo ventrolateral rostral aumentam a atividade simpática que subsequentemente, levam o aumento da frequência cardíaca junto com o aumento do volume sistólico, porém, diminui a condutância vascular e aumenta a resistência vascular periférica, permitindo desta forma, o reajuste da pressão arterial para níveis maiores (Lu *et al.*, 2009).

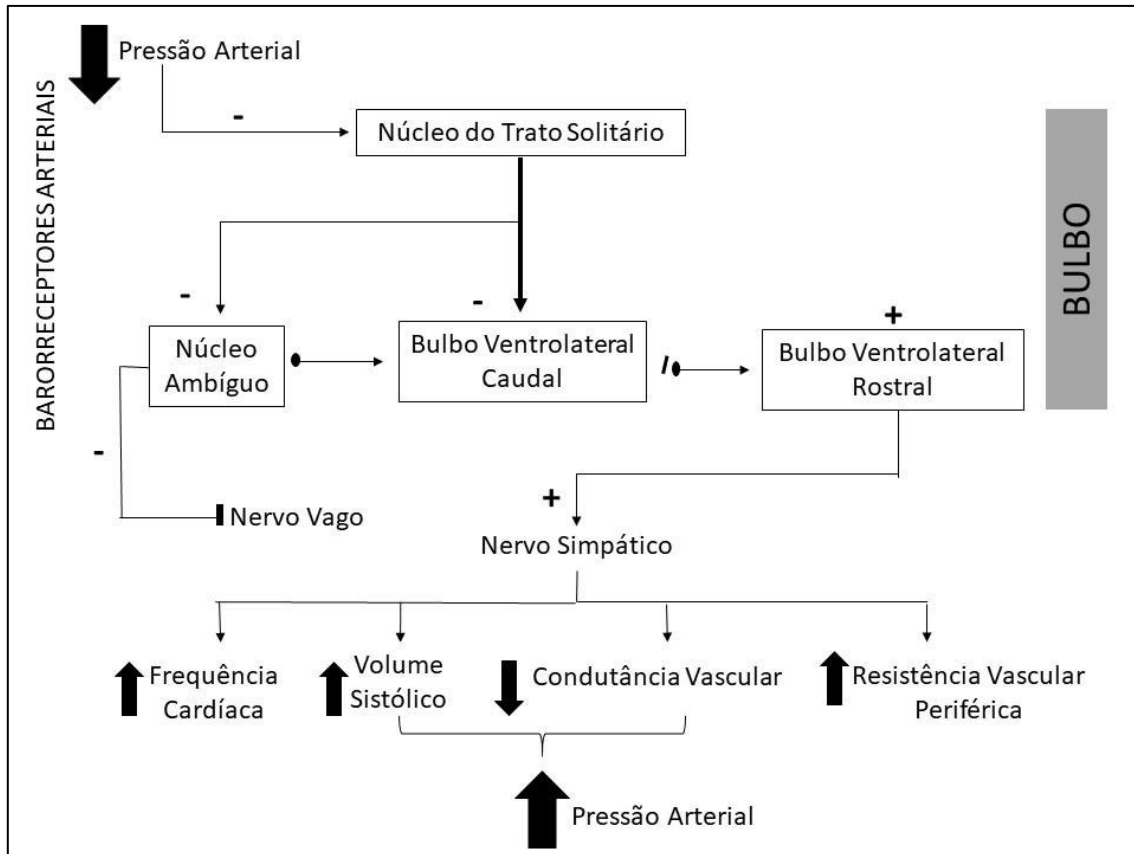


Figura 1: Comportamento do mecanismo de barorreflexo na redução da pressão arterial. Adaptado de Krieger, Eduardo Moacyr et al, 2013.

Entretanto, conforme figura 2, o aumento da pressão arterial, estimula o núcleo do trato solitário que aumenta ação do núcleo ambíguo fazendo com que a atividade do nervo vago aumente. Juntamente com estas ações, haverá ainda a ação do bulbo ventrolateral caudal que por meio dos seus neurônios inibitórios, diminuirão a ação sobre os neurônios excitatórios do bulbo ventrolateral rostral. Esta inibição sobre os neurônios excitatórios do bulbo ventrolateral rostral, diminuirá a atividade simpática que subsequentemente levará a diminuição da frequência cardíaca, a diminuição do volume sistólico, juntamente com o aumento da condutância vascular e diminuição da resistência vascular periférica, restabelecendo assim a pressão arterial para níveis pressóricos menores (Krieger, 2013).

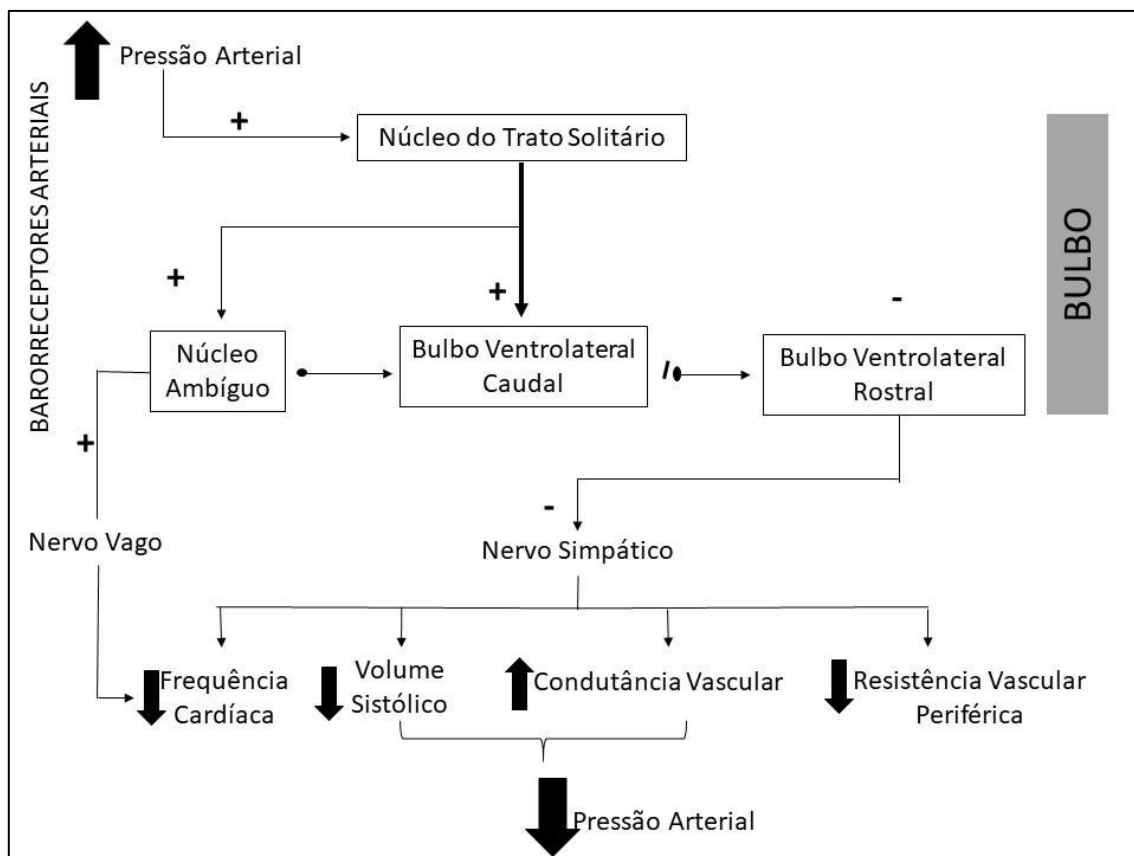


Figura 2: Comportamento do mecanismo de barorreflexo no aumento da pressão arterial. Adaptado de Krieger, Eduardo Moacyr et al, 2013.

No coração, o resultado da ativação parassimpática é a liberação de acetilcolina na fenda sináptica, que irá atuar em receptores muscarínicos colinérgicos. Após a ligação ao receptor, as subunidades de proteína G atuam diretamente nos canais de cálcio tipo T, reduzindo o influxo de Ca^{++} , e nos canais de potássio, permitindo o efluxo de íon K^{+} . Como consequência, ocorre uma hiperpolarização da membrana, que leva ao aumento dos intervalos entre os potenciais de ação, diminuindo a frequência cardíaca (Irigoyen *et al.*, 2001).

Em contrapartida, a eferência simpática atua por meio do neurotransmissor norepinefrina, que se liga aos receptores β_1 no coração, iniciando uma cascata de eventos a partir da ativação da proteína G. Após a ligação ao respectivo receptor, uma subunidade da proteína G ativa uma enzima adenilato ciclase que converte o ATP em adenosina monofosfato cíclico (AMPc), o qual por sua vez ativa uma proteína cinase que atua nos canais de sódio tipo “funny” e de cálcio tipo T, abrindo-os e permitindo o influxo de íons Ca^{++} e de Na^{+} . Isto diminui o potencial de membrana, causando a despolarização e consequente diminuição dos intervalos entre os potenciais de ação, consequentemente causando um aumento da frequência cardíaca (Stanfield, 2014).

Em situações de elevação da pressão arterial há um aumento na deformação da membrana das terminações nervosas dos barorreceptores, permitindo a abertura de canais iônicos mecanossensíveis que, dependendo da magnitude da deformação, leva à despolarização dos terminais. Evidências sugerem que canais de cálcio e sódio, chamados de subunidades DEG e ENaC, são os canais componentes das terminações. Caso haja despolarização suficiente para a abertura dos canais de sódio voltagem dependentes, há o surgimento de um potencial de ação que é transmitido por toda a fibra com frequência de impulsos relacionada à magnitude da despolarização (Lima, 2017).

O sistema nervoso autônomo pode modular a inflamação e, conseqüentemente, o estresse oxidativo (Pavlov e Tracey, 2012) e que os prejuízos na sensibilidade barorreflexa, que é um índice de disfunção autonômica cardíaca, precedeu mudanças nos marcadores de inflamação e estresse oxidativo em ratos hipertensos (Bernardes *et al.*, 2018).

O sistema nervoso simpático é geralmente o mais ativado em pessoas com HAS que indivíduos normotensos (Mancia e Grassi, 2014).

E nas mulheres, a sensibilidade barorreflexa da atividade do sistema nervoso simpático e os níveis plasmáticos de norepinefrina aumentam durante a fase lútea média do ciclo menstrual, quando os hormônios gonadais (estrogênio e progesterona) estão elevados, em comparação, com a fase folicular inicial quando estes os hormônios são relativamente baixos (Brooks *et al.*, 2012).

Aumentos na sensibilidade barorreflexa cardiovagal também foram observados em mulheres durante ou próximo à ovulação quando o pico de estrogênio está alto sendo e com isto, o controle barorreflexo da atividade do nervo simpático renal fica aumentado durante as fases estrogênicas em comparação com a fase progesterônicas (Brooks *et al.*, 2012). A progesterona provavelmente não contribui para o aumento da função barorreflexa durante o ciclo reprodutivo e por outro lado, evidências mostram que estrogênio aumenta a sensibilidade barorreflexa cardiovagal por meio de uma ação no tronco cerebral (Brooks *et al.*, 2012).

3.5 UTILIZAÇÃO DAS TRADICIONAIS DROGAS VASOATIVAS:

A farmacoterapia anti-hipertensiva evoluiu ao longo de várias décadas impulsionada pelo desenvolvimento de várias classes de medicamentos anti-hipertensivos e estudos de resultados em larga escala que comprovam seus benefícios na morbimortalidade por doenças cardiovasculares (Ettehad *et al.*, 2016) e para que se possa fazer uma análise comparativa dos efeitos do levosimendan

se faz necessário uma análise das principais drogas que agem no sistema cardíaco nos parágrafos seguintes para comparar com a droga estudada.

Os medicamentos anti-hipertensivos de primeira linha incluem inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA), bloqueadores do receptor da angiotensina II, bloqueadores dos canais de cálcio dihidropiridina e diuréticos tiazídicos (James *et al.*, 2014).

Os betabloqueadores também são indicados em pacientes com insuficiência cardíaca e fração de ejeção ventricular esquerda reduzida ou pós-infarto do miocárdio, e algumas diretrizes recomendam os betabloqueadores como medicamentos anti-hipertensivos de primeira linha (Rafiq *et al.*, 2013).

A escolha deve ser baseada na eficácia e tolerabilidade individuais (Oparil *et al.*, 2018a), sendo que um dos fatores pode ser a etnia, onde foi sugerido que os bloqueadores dos canais de cálcio e diuréticos podem ser a primeira escolha em negros (James *et al.*, 2014).

Além disso, em situações clínicas específicas, como a HAS em mulheres grávidas, outros medicamentos como alfa-metildopa (um agonista de alfa adrenoceptores no sistema nervoso central que inibe o sistema nervoso simpático) ou labetalol (um bloqueador beta-adrenoceptor) são preferíveis, ao passo que alguns anti-hipertensivos de primeira linha, por exemplo, inibidores da ECA e bloqueadores do receptor da angiotensina II, são contraindicados devido ao risco aumentado de teratogenicidade renal (Oparil *et al.*, 2018a).

Em muitos dos pacientes a pressão arterial não pode ser controlada com monoterapia particularmente aqueles com hipertensão grave e ao combinar medicamentos anti-hipertensivos, é importante considerar se os medicamentos têm efeitos aditivos sobre a pressão arterial ou efeitos adversos, e se o paciente tem comorbidades que exigem escolhas específicas de medicamentos (Mancia *et al.*, 2013).

Os inibidores da ECA ou bloqueadores do receptor da angiotensina II, diuréticos tiazídicos e bloqueadores dos canais de cálcio dihidropiridina são aditivos na redução da PA e podem ser combinados como terapias de combinação dupla ou tripla (Oparil *et al.*, 2018a).

Em contraste, a combinação de inibidores da ECA e bloqueadores do receptor da angiotensina II adiciona pouca redução da pressão arterial, enquanto aumenta o risco de disfunção renal e hipercalemia (níveis elevados de potássio no sangue, que podem levar a arritmias cardíacas). Da mesma forma, a combinação de inibidores do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) com bloqueadores beta-adrenoceptores adiciona pouca redução da pressão arterial, mas, essa combinação é indicada em pacientes após infarto agudo do miocárdio ou insuficiência cardíaca

com fração de ejeção do ventrículo esquerdo reduzida por outras causas além da redução da pressão arterial (Oparil *et al.*, 2018a).

Entre os medicamentos que inibem os componentes do SRAA, os inibidores da ECA e os bloqueadores do receptor da angiotensina II são considerados anti-hipertensivos de primeira linha, enquanto, outros medicamentos anti-hipertensivos direcionados ao SRAA, incluindo inibidores diretos da renina e antagonistas do receptor mineralocorticoide, são geralmente considerados medicamentos de reserva porque há menos evidências de ensaios clínicos apoiando seu uso como terapia anti-hipertensiva de primeira linha (Oparil *et al.*, 2018a).

Os inibidores da ECA e os bloqueadores do receptor da angiotensina II foram amplamente testados em ensaios de hipertensão em larga escala (Collaboration, 2003). Em pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção ventricular esquerda reduzida ou com nefropatia diabética, ambas as classes de drogas melhoraram os resultados e parecem ser comparáveis na redução do risco de doenças cardiovasculares (Mann *et al.*, 2008), e também, tendem a melhorar o metabolismo da glicose e, portanto, podem ser preferíveis em pacientes mais jovens e em pacientes com condições que predisõem ao diabetes mellitus tipo 2, incluindo obesidade e síndrome metabólica (Investigators, 2006). Tem como desvantagens possíveis reduções na função renal, hipercalcemia, tosse e - menos comumente - angioedema (inchaço causado pelo acúmulo de líquido) (Oparil *et al.*, 2018a).

Os bloqueadores dos canais de cálcio de dihidropiridina induzem vasodilatação ao bloquear os canais de cálcio do tipo L do músculo liso vascular e tem como vantagem prática dessa classe de medicamentos a de poder ser combinada com todos os outros anti-hipertensivos de primeira linha. O edema periférico, que é explicado pela vasodilatação arterial periférica em vez do agravamento da insuficiência cardíaca ou disfunção renal, é um efeito colateral comum, particularmente em indivíduos com obesidade (Oparil *et al.*, 2018a).

Os bloqueadores dos canais de cálcio não dihidropiridínicos, especialmente o verapamil, também inibem os canais de cálcio cardíacos, o que pode reduzir a frequência cardíaca e a contratilidade cardíaca (Guazzi *et al.*, 1984).

Os diuréticos possuem dois tipos, sendo: o tiazídico (hidroclorotiazida) que têm um anel de benzotiadiazina, enquanto, os diuréticos do tipo não tiazídico (clortalidona, metolazona e indapamida) não têm a estrutura de benzotiadiazina. Ambas as subclasses de diuréticos tiazídicos inibem os co-transportadores de Na^+ e Cl^- nos túbulos renais, promovendo assim a natriurese, tendo como desvantagens o risco aumentado de aparecimento de diabetes mellitus (Barzilay *et al.*, 2012).

A hidroclorotiazida, o diurético do tipo tiazida mais comumente prescrito em todo o mundo, pode ser menos eficaz na redução do risco de doenças cardiovasculares em comparação com a clortalidona ou indapamida (Al-Khazraji e Shoemaker, 2018), porém, pode levar distúrbios eletrolíticos relacionados ao medicamento, incluindo hipocalcemia e hiponatremia (níveis baixos de potássio e sódio no sangue, respectivamente), arritmias cardíacas, fraqueza muscular, confusão, convulsões e coma. O risco de hipocalcemia é reduzido quando diuréticos tiazídicos e semelhantes aos não tiazídicos são combinados com suplementos de potássio ou agentes poupadores de potássio, como inibidores da ECA, bloqueadores do receptor de angiotensina ou diuréticos poupadores de potássio. A hiponatremia é um efeito adverso potencialmente fatal, particularmente em pessoas idosas (Oparil *et al.*, 2018a).

Os bloqueadores dos receptores beta-adrenérgicos (dopamina e dobutamina) reduzem a pressão arterial, reduzindo o débito cardíaco, frequência cardíaca, a liberação de renina e os efeitos do sistema nervoso no controle adrenérgico (Cokkinos, 1997). Eles melhoram os resultados após infarto agudo do miocárdio e em pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção ventricular esquerda reduzida, mas, na ausência dessas comorbidades, os bloqueadores beta-adrenorreceptores são inferiores a outros anti-hipertensivos de primeira linha na redução da morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares (Wiysonge *et al.*, 2017).

Muitos pacientes que apresentam insuficiência cardíaca descompensada, mas clinicamente sem evidências de baixo débito cardíaco, podem estar sofrendo de má perfusão sistêmica, mesmo que oculta e sendo mais comum em pacientes crônicos do que em agudos, levando a um estado de adaptação crônica ao baixo débito cardíaco, com ativação de mecanismos compensadores, entre eles, o aumento da pressão arterial e trazendo como consequências piora da função hepática (por lesão isquêmica), piora da função renal (necrose tubular) e maior ativação pró-inflamatória devido à má perfusão intestinal e periférica (Vilas-Boas, 2004). Nestes casos de insuficiência cardíaca descompensada, as estratégias para diminuição da resistência vascular sistêmica são por meio das drogas vasodilatadoras, ou por meio do aumento da contratilidade miocárdica com agentes inotrópicos, ou de ambos recursos (Vilas-Boas, 2004).

Uma das drogas vasodilatadoras é o nitroprussiato de sódio que é um medicamento usado no tratamento da hipertensão aguda. Ela é uma droga vasodilatadora potente e é administrada como uma infusão IV com a necessidade de um monitoramento intensivo no local e tem sido usado clinicamente para crises hipertensivas, insuficiência cardíaca, cardíaca / vascular cirurgia, cirurgia pediátrica e uma variedade de outras aplicações agudas. Embora os potenciais efeitos adversos e

toxicidade do nitroprussiato de sódio tenham levado à sua substituição por agentes mais novos em algumas práticas, continua a ser uma ferramenta útil em certas situações clínicas complicadas (Holme e Sharman, 2020).

Outra droga vasodilatadora bastante utilizada é a nitroglicerina que quando administrada de forma aguda, têm potentes efeitos vasodilatadores, melhorando os sintomas em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva aguda e crônica, doença arterial coronariana estável, síndromes coronárias agudas ou hipertensão arterial por meio do relaxamento do músculo liso vascular ao diminuir as concentrações de cálcio intracelular (Daiber e Münzel, 2015).

Os efeitos hemodinâmicos e anti-isquêmicos desta droga são rapidamente perdidos com a administração de longo prazo (baixa dose) devido ao rápido desenvolvimento de tolerância e disfunção endotelial, que está na maioria dos casos ligada ao aumento do estresse oxidativo intracelular (Daiber e Münzel, 2015).

Tanto a nitroglicerina quanto o nitroprussiato de sódio são limitados pela pressão arterial inicial e não pode ser utilizado em pacientes em choque, razão pela qual, muitas vezes, requerem internação em ambiente de terapia intensiva (Vilas-Boas, 2004).

Os peptídeos natriuréticos (NPs) são uma família de hormônios cardiovasculares secretados principalmente pelo coração (peptídeos natriuréticos atriais (ANP) e cerebrais (BNP) e pelo endotélio (peptídeo natriurético tipo C (CNP)) que desempenham importantes funções protetoras no sistema cardiovascular, além de suas implicações relevantes na fisiopatologia, diagnóstico, prognóstico e terapêutica de doenças cardiovasculares (Gallo *et al.*, 2020).

Entre os peptídeos natriuréticos está a nesiritide que é a forma recombinante de peptídeo natriurético tipo B humano (cérebro) que age quando as paredes dos ventrículos cardíacos são distendidos e tem efeitos vasodilatadores, natriuréticos, diuréticos e neuro-hormonais benéficos, sendo administrado por via intravenosa para o tratamento de pacientes com IC congestiva descompensada (Keating e Goa, 2003).

Trata-se de uma droga sintética (Chen *et al.*, 2013) que obteve a aprovação do *Food and Drug Administration* (FDA) em 2001 para pacientes com episódios agudos de insuficiência cardíaca e devido ao fato de pacientes ser tornarem propensos a desenvolver a hipotensão, atualmente, a nesiritide não é mais recomendada (Sandefur e Jialal, 2020).

Os agentes que aumentam o cálcio intracelular são os agonistas beta-adrenérgicos (dobutamina e dopamina) que estimulam os beta-receptores do coração a aumentarem os níveis do 2º mensageiro AMP cíclico, gerando assim o sinal para elevação do cálcio intracelular e produzindo o

efeito inotrópico positivo. Outros agentes que também podem aumentar cálcio intracelular, são os inibidores de fosfodiesterase III (milrinona) que opera em nível pós-receptor ao inibir a enzima responsável pela degradação do AMPc, e assim permitindo maior influxo de cálcio no miócito (Vilas-Boas, 2004).

A dopamina é um precursor natural da noradrenalina e da adrenalina (Hollenberg, 2011), ou seja, é uma catecolamina endógena que funciona como neurotransmissor no sistema nervoso central, mas também funciona como um fator autócrino e parácrino nos sistemas não neuronais e devido ao seu efeito inotrópico no miocárdio e efeito natriurético, ela tem sido amplamente utilizada como uma das drogas terapêuticas para os pacientes com insuficiência cardíaca aguda (Yamaguchi *et al.*, 2020).

Em doses baixas (1-2 ug/kg/min) a dopamina tem efeitos vasodilatadores ao se ligar aos receptores dopaminérgicos. Em doses mais elevadas (5-10 ug/kg/min) tem efeitos agonista β 1 adrenérgico e conseqüentemente efeito inotrópico, tendo em doses ainda mais elevadas (superiores a 10 ug/kg/min) um efeito agonista α adrenérgico, causando vasoconstrição e subseqüente aumento da pressão arterial (Hollenberg, 2011).

A dobutamina pode ser usada como suporte inotrópico intravenoso temporário até a resolução dos fatores indutores agudos ou o paciente receber tratamento mais definitivo, como revascularização coronariana, suporte circulatório mecânico ou transplante cardíaco. Ela é um suporte inotrópico intravenoso de curto prazo deve ser dado a pacientes em choque cardiogênico para preservar o fluxo sanguíneo sistêmico e proteger contra danos aos órgãos-alvo (Ashkar e Makaryus, 2017).

Ela é utilizada como agente farmacológico devido aos seus efeitos inotrópicos no miocárdio por meio da ligação e ativação dos receptores beta-1, sendo clinicamente indicada para insuficiência cardíaca congestiva descompensada devido aos efeitos simpatomiméticos. A dobutamina aumenta a contratilidade, o volume sistólico leva a um aumento no débito cardíaco do coração. As alterações no débito cardíaco permitem que a resposta mediada pelos barorreceptores diminua a resistência vascular sistêmica e cause pouca ou nenhuma alteração na pressão arterial. Além da conhecida atividade beta-1, a dobutamina demonstrou ter alguma atividade beta-2, o que contribui para a redução da resistência vascular sistêmica e atividade alfa-1 (Alhayek e Preuss, 2020).

A milrinona é um inibidor seletivo da inibidores de fosfodiesterase III com efeitos farmacológicos, incluindo relaxamento do músculo liso vascular, aumento da contratilidade miocárdica (inotropia) e melhora do relaxamento do miocárdio (lusitropia) (Afif *et al.*, 2018), e ainda induz a vasodilatação na artéria pulmonar e nas artérias sistêmicas (Giaccone *et al.*, 2017).

Pelo fato do mecanismo de ação da milrinona independender do sistema adrenérgico, pode ser uma opção para pacientes em uso de betabloqueador (visando à sua manutenção). Dentre seus efeitos colaterais, destaca-se seu potencial arritmogênico (atrial e/ou ventricular) e devido ao risco de hipotensão, a dose de ataque não é preconizada. Nos pacientes com insuficiência renal, sua dose deve ser ajustada (Mangini *et al.*, 2013).

Estes agentes que aumentam o fluxo intracelular do cálcio (dobutamina, dopamina e milrinona) são comumente associadas a efeitos adversos, como, maior consumo miocárdico de oxigênio, maior incidência de arritmias no curto prazo e maior mortalidade no emprego em longo prazo (Vilas-Boas, 2004).

Partindo deste princípio de maior consumo miocárdico de oxigênio, surgiu os sensibilizadores de cálcio (pimobendan e levosimendan) que são agentes que exercem sua ação inotrópica, aumentando a sensibilidade da troponina - C ao cálcio já disponível no citoplasma, ao invés de sobrecarregar a célula com cálcio adicional e dessa forma, não estão envolvidos no aumento do consumo de oxigênio e os substratos energéticos têm maior probabilidade de serem preservados com o efeito resultante de aumento na força contrátil para uma mesma concentração de cálcio (Giaccone *et al.*, 2017).

O pimobendan é um derivado da benzimidazol-piridazinona que produz efeitos inotrópicos positivos ao alterar os níveis de cálcio intracelular e sensibilizar as contrações miocárdicas, o que causa vasodilatação pela inibição da atividade da fosfodiesterase III, apresentando como vantagem a de aumentar o DC sem aumentar a demanda de oxigênio do miocárdio (Miyagawa *et al.*, 2016), sendo bastante usado para o tratamento de IC congestiva (Häggström *et al.*, 2008).

Embora as terapias medicamentosas adicionais fossem eficazes para grande parte dos pacientes com HAS, nas últimas décadas, com a evidência de que o número de indivíduos com hipertensão não controlada se mantinha estável ou até mesmo aumentada (Seravalle *et al.*, 2019), foi introduzido o conceito de que um estado de hipertensão resistente poderia estar presente indiferente da incompleta adesão ou não adesão ao tratamento hipertensivo, ou ainda a um estado adesão de ao tratamento, e também, a tolerância medicamentosa reduzida (Mancia *et al.*, 2014).

3.6 LEVOSIMENDAN (LEV):

Antes da década de 1980, as terapias tradicionais para aumentar a contratilidade cardíaca na insuficiência cardíaca aguda utilizavam bastante os glicosídeos digitálicos orais (digoxina), suplementados por agonistas beta-adrenérgicos (dopamina ou dobutamina). Anos mais tarde, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* dos USA para tratamento da IC refratária, outras modalidades terapêuticas, como, os agentes inotrópicos positivos (amrinona, a milrinona e a enoximona) que não eram simpaticomiméticos, porém, eram inibidores da fosfodiesterase III (Papp *et al.*, 2020).

No entanto, as catecolaminas (epinefrina e fenilefrina) e estes agentes inotrópicos positivos mesmo assim são medicamentos mobilizadores de cálcio e com isto, apresentam efeitos adversos intrínsecos como qualquer droga que aumente o cálcio intracelular nos cardiomiócitos, pois, levam estas células a uma exposição de concentrações potencialmente tóxicas de íons cálcio intra celular e conseqüentemente um aumento da demanda do consumo de oxigênio por elas (Altenberger *et al.*, 2018) que acarretam a arritmogênese e morte celular (Scoote e Williams, 2004).

Devido a este efeito adverso nos cardiomiócitos e embora levosimendan seja uma inotrópico positivo, ele age diferente, pois, ao invés de ser um mobilizador de íons cálcio, ele é um sensibilizador de cálcio que também combina a atividade inibidora da fosfodiesterase III, sendo ainda descrito como um composto inotrópico e ao mesmo tempo vasodilatador positivo com propriedades antiarrítmicas (Papp *et al.*, 2020).

O levosimendan foi desenvolvido no início da década de 1990 na Finlândia e tornou-se disponível para prescrição a partir de 2001 (Cholley *et al.*, 2019), sendo inicialmente um medicamento licenciado para tratamento da insuficiência cardíaca descompensada (Orme *et al.*, 2014), porém, só foi aprovado pela primeira vez para uso clínico em 2000, quando a autorização foi concedida pelas autoridades regulatórias suecas que o utilizaram para a estabilização hemodinâmica em pacientes com IC descompensada (Orme *et al.*, 2014). Posteriormente, ele foi aprovado para utilização em mais de 60 países, incluindo a maioria dos países da União Europeia e da América Latina (Papp *et al.*, 2020). No Brasil, o levosimendan está disponível comercialmente desde 2002 (Buzzini *et al.*, 2019).

As áreas de aplicação clínica do levosimendan se expandiram consideravelmente e incluem choque cardiogênico, cardiomiopatia de Takotsubo, insuficiência cardíaca avançada,

insuficiência ventricular direita e hipertensão pulmonar, e também, usado em cirurgias cardíacas, cuidados intensivos e em urgências médicas (Papp *et al.*, 2020) e tratamento da sepse (Yang *et al.*, 2019; Scheeren *et al.*, 2021).

O levosimendan tem basicamente 3 mecanismos principais de ação: (a) aumenta a sensibilidade ao cálcio das células do músculo cardíaco por meio do mecanismo de acoplagem da troponina que age sobre o cardiomiócito e melhora a sua contratilidade, (b) ativa o ATP por meio dos canais sensíveis ao potássio (K_{ATP}) com seu efeito vasodilatador na musculatura vascular lisa e conseqüentemente levando o aumento da perfusão sanguínea, bem como, (c) ativa os canais K_{ATP} nas células do músculo cardíaco gerando o efeito cardioprotetor (Tycińska *et al.*, 2020).

Esta vasodilatação diminui a carga ventricular e também aumenta a perfusão coronária para otimizar ainda mais a função contrátil cardíaca (Faisal *et al.*, 2019). Em casos de sepse o levosimendan induz a vasodilatação periférica, reduz a pré-carga e a pós-carga do coração ao ativar os canais de potássio sensíveis ao ATP. Ao dilatar as artérias pulmonares, promove a diminuição da pressão da artéria pulmonar, conseqüentemente reduzindo assim a pós-carga do ventrículo direito, dilatando as artérias coronárias e reduzindo a resistência do sangue periférico. E no caso da diminuição da pré-carga se deve a redução da resistência periférica (Yang *et al.*, 2019).

O levosimendan é um o enantiômero ativo do simendan (Pierrakos *et al.*, 2014) derivado da piridazinona-dinitrila (Asif, 2018) com sua fórmula química: [(R)-[[4-(1,4,5,6-tetra-hidro-4-metil-6-oxo-3-piridazinil)fenil]hidrazono] propanodinitrilo] pertencente a uma classe de drogas que são os sensibilizadores de cálcio, sendo um medicamento moderadamente lipofílico, com um peso molecular de 280,3 gramas/mol e um ácido fraco com pKa: 6,3; cuja a solubilidade do levosimendan em água destilada e tampão fosfato (pH 8) é fraca (0,04 mg / ml e 0,9 mg / ml, respectivamente). Sua solubilidade em etanol é de 7,8 mg / ml e, por conseguinte, o LEV na sua composição farmacêutica (Simdax 2,5 mg / ml de concentrado de infusão) é diluído em etanol (Weintraub *et al.*, 2002). Sua fórmula estrutura é representada pela Figura 3 (Lehtonen, 2001).

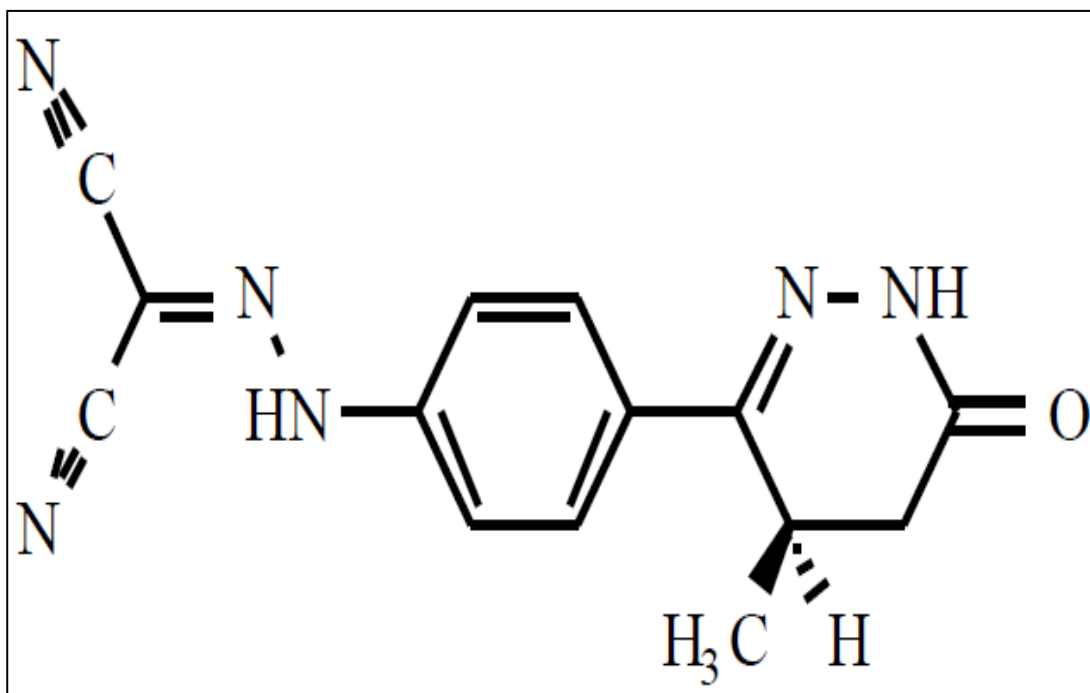


Figura 3: Fórmula estrutural do Levosimendan (Lehtonen, 2001).

Na sua farmacocinética, o levosimendan é eliminado principalmente pelo metabolismo, cuja a via principal é a conjugação com glutathiona que inativa metabolitos e a via secundária (apenas aproximadamente 5% da dose total deste medicamento) sofre a redução no intestino para o metabolito aminofenilpiridazinona OR-1855. O metabolito da amina (OR-1855) é posteriormente metabolizado por acetilação no conjugado N-acetilado (OR-1896) (Antila *et al.*, 1999). Outra via de metabolização secundária é também um produto de hidratação inativo que é o OR-1420, formado por meio da adição de água a um dos grupos nitrilo. O levosimendan é excretado via urina e fezes como conjugados e apenas vestígios dele inalterados em animais experimentais e no homem (Sandell *et al.*, 1995).

O levosimendan se liga a 97-98% das proteínas plasmáticas, principalmente a albumina (Sandell *et al.*, 1995) e seu metabolito ativo (OR-1896) se liga apenas a 40% destas proteínas, com isto, a fração livre deste metabolito ativo no sangue é até 20-30 vezes maior do que a do medicamento original, que potencializa seus efeitos benéficos e podem se manter por mais tempo no organismo (Antila *et al.*, 2004).

Conforme os resultados apresentados do estudo (Kivikko *et al.*, 2003), foi possível observar que a meia-vida de eliminação do levosimendan foi de 1,3 horas, e dos seus metabolitos de 75 a 78 horas, sendo que seus efeitos hemodinâmicos foram diminuindo de forma lenta durante

1 semana após a interrupção desta infusão e depois, não sendo mais observados diferenças estatisticamente significativas após estes períodos em comparação ao momento basal.

As concentrações plasmáticas associadas à eficácia deste fármaco também foram avaliadas em um estudo com pacientes com diagnóstico de IC com uma infusão contínua de 24 horas desta droga e produziu picos de concentração plasmática de 62,6 ng / ml, nestes pacientes com concentrações máximas de OR-1896 e OR-1855, que são os dois metabólitos primários circulantes primários do levosimendan e estes metabólitos atingiram respectivamente picos plasmáticos de 5,5 e 6,8 ng / ml (Kivikko e Lehtonen, 2005), onde ocorre a redução do levosimendan para OR-1855 e subsequente acetilação para OR-1896 (Antila *et al.*, 2007). Quando se compara em cães com IC congestiva, os efeitos hemodinâmicos do levosimendan (droga original), com seus metabólitos OR-1896 e OR-1855, demonstrou-se que este fármaco é predominantemente mediado pelo metabólito OR-1896, com pouca ou nenhuma contribuição do OR -1855 (Banfor *et al.*, 2008).

Sendo assim, o metabólito OR-1896 demonstrou ter propriedades hemodinâmicas semelhantes às do medicamento original, porém com efeitos mais duradouros (Takahashi *et al.*, 2000), pois, em animais experimentais, a semi-vida de eliminação do levosimendan foi de 0,25 a 1,3 horas, enquanto que, a do metabólito OR-1896 foi de 4,7 a 6,5 horas (Antila *et al.*, 1999). Já a semi-vida de eliminação terminal ($t_{1/2el}$) deste medicamento é de cerca de 1 hora em voluntários saudáveis e em doentes com insuficiência cardíaca (Sundberg *et al.*, 1998).

Por exemplo, no tratamento a curto prazo da insuficiência cardíaca, a diminuição da concentração plasmática máxima do levosimendan ocorre após 1–3 dias depois de sua interrupção, mas, seus efeitos são mantidos por 1 semana ou mais devido ao OR-1896 que é um metabólito de longa vida e duração (Cameli *et al.*, 2019). Como consequência, observa-se resultados positivos no tratamento da insuficiência cardíaca e confirma-se seus benefícios por meio da recuperação do volume sistólico (Nieminen *et al.*, 2000; Hillestad *et al.*, 2013), diminuição da pressão nos vasos coronários (Parissis *et al.*, 2005), melhora da função renal (Fedele *et al.*, 2014) e até reversão de hipertensão pulmonar (Ammirati *et al.*, 2013).

Em sua farmacodinâmica, o levosimendan provoca o aumento do débito cardíaco, do volume sistólico e da frequência cardíaca, e ao mesmo tempo provoca a diminuição da pressão da artéria pulmonar, da pressão média no átrio direita e da resistência periférica total. Estes efeitos são dependentes de dose, demoram poucos minutos a manifestar-se, podem prolongar-se durante vários dias graças à formação do metabólito ativo OR-1896, e não se produzem nem à custa do

desenvolvimento de tolerância nem do aumento do consumo energético por parte do coração, o que foi demonstrado por meio de estudos com utilização de tomografia com emissão de pósitrons (Lilleberg *et al.*, 2007).

Além dos seus benefícios conhecidos no tratamento da insuficiência cardíaca, o levosimendan também tem mostrado outros potenciais benefícios em populações com ausência de problemas cardiovasculares, como, o tratamento da sepse (Yang *et al.*, 2019; Scheeren *et al.*, 2021).

Foi possível observar mesmo em casos extremos de sepse, a recuperação do volume de ejeção na hipotensão aguda causada por essa inflamação (Wang *et al.*, 2015), além de ser usado para o tratamento e prevenção das lesões em órgãos alvos em modelos de sepse animal, aumentando com isto, a sobrevida e a capacidade de recuperação destes animais (Tsao *et al.*, 2014; Wagner *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015).

Depois de provar a sua associação com uma menor taxa de mortalidade hospitalar em comparação com outros agentes inotrópicos em um dos trabalhos para tratamento da insuficiência cardíaca (Mebazaa *et al.*, 2011) e de acordo com as orientações *European Society of Cardiology* incluiu-se levosimendan no grupo de medicamentos disponíveis para o tratamento da IC (Cameli *et al.*, 2019).

Atualmente, as substâncias inotrópicas positivas disponíveis para tratamento da IC, como a dobutamina, devido ao seu efeito inotrópico positivo, podem contribuir para o desenvolvimento de taquiarritmias ventriculares malignas por meio da ativação do sistema nervoso simpático, aumentando assim, o risco de morte súbita cardíaca (O'connor *et al.*, 1999).

O fato do levosimendan ser um sensibilizador do cálcio e ao mesmo tempo um vasodilatador que estabiliza o complexo cálcio-troponina C (TnC), aumenta a afinidade de ligação do TnC com o cálcio e inibe os efeitos da troponina I (TnI), prolongando a contração do músculo cardíaco (Cameli *et al.*, 2019). Ele acelera a taxa de formação de ponte cruzada de actina-miosina e desacelera a taxa de dissociação, sendo que suas ações dependem dos níveis intracelulares de Ca^{++} e, à medida que os níveis de Ca^{++} diminuem durante a diástole, o levosimendan não prejudica o relaxamento ventricular (Meyer *et al.*, 2008).

Além do mecanismo de ligação da troponina C dependente do cálcio, o efeito lusitrópico positivo do levosimendan também pode ser mediado em parte pela ativação do AMPc ou do canal de potássio sensível ao ATP (Brixius *et al.*, 2002).

Com isto, o efeito inotrópico do levosimendan não é obtido com o aumento da concentração de cálcio intracelular, e sim por meio da sensibilização de Ca^{++} que consequentemente não aumenta a demanda miocárdica de oxigênio, pois, ao abrir os canais de potássio do sarcolema sensível ao ATP das células musculares lisas e dos cardiomiócitos, esta droga hiperpolariza estas células ativando a troca sódio-cálcio e impedindo a entrada de cálcio nas células cardíacas e subsequentemente, resultando o efeito de vasodilatação e diminuição da pós-carga cardíaca (Cameli *et al.*, 2019).

O levosimendan também melhora a função diastólica do ventrículo esquerdo, aumentando a taxa de relaxamento e, portanto, reduzindo o tempo de relaxamento e melhorando o enchimento diastólico (Farmakis *et al.*, 2016), pois, além da inotropia, ele apresenta o efeito lusitrópico positivo nas tiras de miócitos de corações humanos com IC, reduzindo o tempo de relaxamento miocárdico (Hasenfuss *et al.*, 1998). E ainda foi possível demonstrar que esta droga não apresentou efeitos deletérios no relaxamento miocárdico em cães normais e cães com insuficiência cardíaca melhorando a função diastólica em cães com insuficiência cardíaca reduzindo a constante de tempo do relaxamento isovolumétrico (a queda exponencial da pressão do ventrículo esquerdo durante o relaxamento isovolumétrico) e aumentando a taxa de pico do fluxo mitral (dV / dt_{max}) (Pagel *et al.*, 1997). Esses efeitos persistiram no exercício, durante o qual a droga preveniu o aumento da pressão atrial esquerda média e da pressão diastólica final (Tachibana *et al.*, 2005).

Em um estudo randomizado em pacientes com insuficiência cardíaca avançada, o levosimendan melhorou os padrões de fluxo trans mitral e as velocidades diastólicas da valva mitral, além de reduzir a ativação neuro-hormonal e as citocinas pró-inflamatórias (Brixius *et al.*, 2002).

O levosimendan demonstrou ter um efeito positivo na função diastólica em outros contextos, incluindo cirurgia cardíaca (Malik *et al.*, 2015) e atordoamento pós-isquêmico (Sonntag *et al.*, 2004).

No entanto, os efeitos do levosimendan na função diastólica podem ser difíceis de interpretar, já que a função diastólica também pode ser melhorada pela redução na pós-carga e pré-carga do ventrículo esquerdo resultante de seu efeito vasodilatador, enquanto mudanças na pressão atrial esquerda e o efeito cronotrópico positivo do levosimendan pode afetar ainda mais os índices diastólicos do ventrículo esquerdo (Farmakis *et al.*, 2016).

Em pacientes com insuficiência cardíaca descompensada devido à disfunção sistólica do ventrículo esquerdo, foi verificado que após o tratamento com levosimendan observou-se um aumento de 28% no volume sistólico, 39% no índice cardíaco e um discreto aumento de 8% na frequência cardíaca. Além destes resultados apresentados, observou-se diminuições nas pressões de enchimento dos lados esquerdo e direito do coração, na pressão arterial sistêmica e na resistência vascular periférica. Ainda de acordo com este trabalho, os autores deste estudo supõem-se que a dilatação arterial observadas por meio das diminuições das pressão arterial sistêmica e da resistência vascular periférica, leve uma diminuição da pós-carga cardíaca e subsequentemente, leve o aumento do volume sistólico com melhoras na dispneia e fadiga (Slawsky *et al.*, 2000).

Ao avaliar pacientes com hipertrofia do ventrículo esquerdo submetidos a troca da válvula em condições controle e manutenção de pré-carga, pós-carga e frequência cardíaca controladas, chegou-se à conclusão de que o levosimendan apresentou efeito benéfico no desempenho sistólico acompanhado por uma melhora no relaxamento do ventrículo esquerdo mostrado por meio do aumento do tempo de relaxamento isovolumétrico (IVRT), do tempo de desaceleração do enchimento diastólico inicial (tempo E-dec), além, da diminuição da relação entre o pico de fluxo sanguíneo da velocidade do relaxamento do ventrículo esquerdo no início da diástole (a onda E) e o pico do fluxo de velocidade no final da diástole causado pela contração atrial (a onda A) (razão E / A) (Jorgensen *et al.*, 2008).

Em cães anestesiados, o levosimendan melhorou o acoplamento ventrículo arterial esquerdo expresso pela relação entre a contratilidade do ventrículo esquerdo e sua pós-carga (Pagel *et al.*, 1996). Este mesmo efeito também foi observado em porcos por meio de um modelo de disfunção ventricular direita aguda, onde o levosimendan restaurou o acoplamento ventrículo arterial direito aos níveis normais, pois aumentou a contratilidade junto com a redução da pós carga do ventrículo direito (Missant *et al.*, 2007).

Além dos efeitos cardiovasculares citados em parágrafos anteriores, o levosimendan pode atenuar a remodelação cardíaca, conforme demonstrado por meio de um modelo de hipertrofia cardíaca induzida pela HAS em ratos Dahl / Rapp sensíveis ao sal em uma dieta rica em sal, onde seu metabólito ativo da droga (OR-1896) foi capaz de prevenir a hipertrofia miocárdica quando administrado por via oral por 7 semanas, sem afetar a pressão arterial além de melhorar a função cardíaca atenuando o aumento de peptídeos natriuréticos e reduziu a mortalidade animal (Louhelainen *et al.*, 2009).

Os efeitos benéficos citados no parágrafo anterior foram associados à redução da apoptose de cardiomiócitos e atenuação de distúrbios de proteínas de manipulação de cálcio do miocárdio e redução na senescência miocárdica, conforme determinado pela expressão de mRNA de p16 cardíaco (Vahtola *et al.*, 2011).

Ao mesmo tempo que o levosimendan melhorou a função cardíaca, ao reduzir a insuficiência cardíaca, ele atenuou a apoptose de cardiomiócitos, reduziu os níveis de IL-6 miocárdica, a proteína-1 quimioatrativa de monócitos e o fator de crescimento do tecido conjuntivo e preveniu distúrbios no manuseio de cálcio miocárdico expressão de proteínas. Além disso, também modulou (regulou para cima ou para baixo) a expressão de vários genes, incluindo aqueles envolvidos no sistema renina-angiotensina-aldosterona e no metabolismo glicerol-lipídeo (Vahtola *et al.*, 2011).

Uma modulação favorável do metabolismo da matriz extracelular pelo levosimendan pode ser parcialmente explicada pela prevenção da remodelação cardíaca (Farmakis *et al.*, 2016), sendo que ao ser verificado *in vitro* a migração de fibroblastos cardíacos em ratos adultos induzidos por IL-1 β (um processo chave na remodelação cardíaca), houve a inibição da secreção de metaloproteinase de matriz (MMP) - 9 (Okada *et al.*, 2013). Além disso, no tratamento clínico o levosimendan foi capaz de reduzir os níveis circulantes de MMP-2 em pacientes com IC agudamente descompensada (Tziakas *et al.*, 2005).

5. MATERIAIS E MÉTODOS:

O presente trabalho consistiu em uma pesquisa experimental em animais, com caráter comparativo, pois teve como características registrar e analisar as variáveis.

5.1 AMOSTRA:

Trinta e seis ratas idosas (2 anos), formado por dois tipos de linhagens de animais, sendo 26 ratas espontaneamente hipertensas (SHR) com massa corporal média de 220 gramas e 10 ratas wistar com a massa corporal de 312 gramas que foram fornecidas pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Para realização desta pesquisa, todos os procedimentos foram apresentados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animais da Universidade Federal do Maranhão sob a decisão de número: 23115.033898/2019-29 e realizados de acordo com as Diretrizes para o Cuidado e Uso de

Animais de Laboratório, publicado pelo *National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revisto em 1996)*.

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas contendo, no máximo quatro animais em cada uma, em ambiente com temperatura controlada de 22° - 24°, sob ciclo claro/escuro de 12 horas e, tiveram livre acesso à água e alimento (Moreira *et al.*, 2013). Como critérios de exclusão, os animais não puderam ser procedentes de outra linhagem, serem machos, ou terem apresentadas qualquer patologia diferente da SHR.

Após o novo período de adaptação nestas novas condições das gaiolas coletivas, tantos para os animais wistar e SHR, os animais SHR foram inicialmente e aleatoriamente divididos em 3 grupos: grupo controle SHR (n: 10), grupo tratado com levosimendan por 30 dias (LEV 30 D) (n: 8) e grupo tratado com levosimendan por 60 dias (LEV 60 D) (n: 8). Os animais tratados com levosimendan utilizaram uma dose diária de 0,05 µg/kg/min em 1 ml de soro fisiológico administrada por gavagem (Hillestad *et al.*, 2013).

5.2 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS:

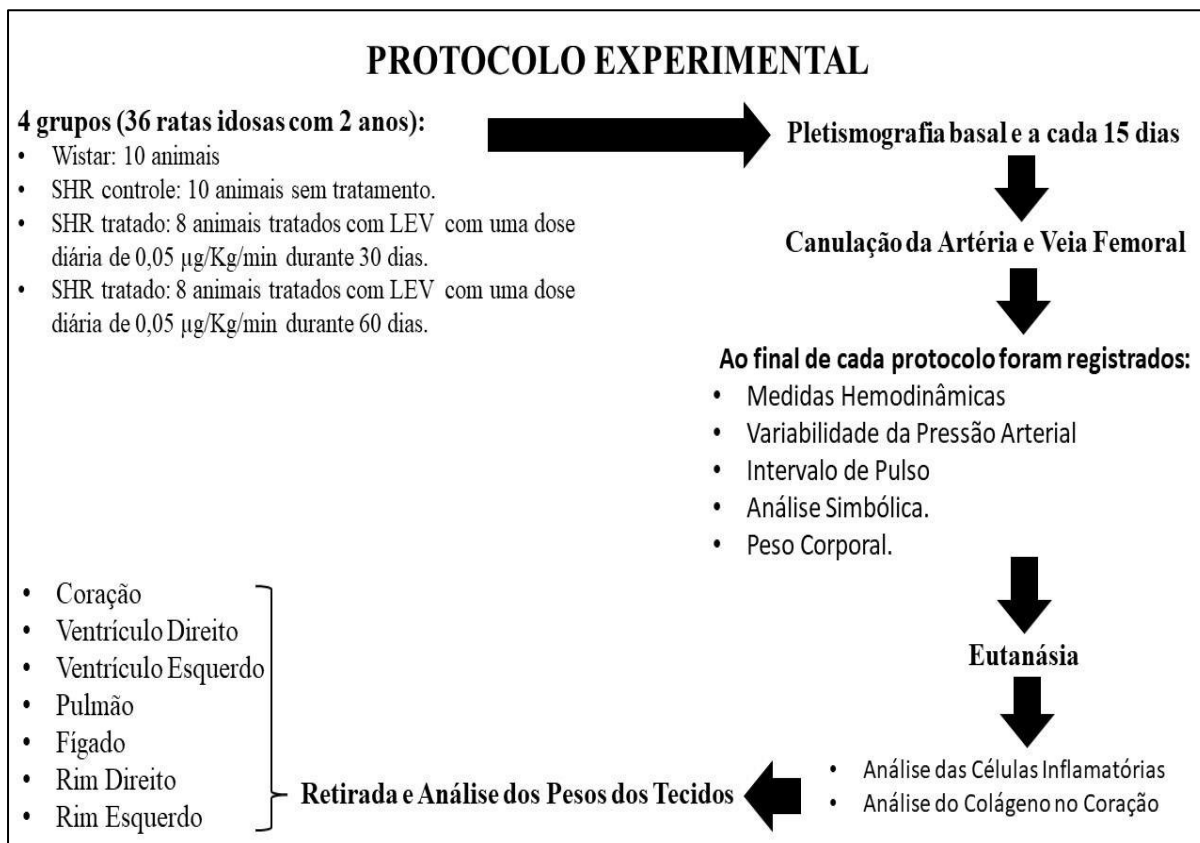


Figura 4: Protocolos experimentais

5.2.1 Pletismografia (medida da pressão arterial indireta):

Com o objetivo de avaliar o comportamento da pressão arterial das ratas espontaneamente hipertensas e wistar ao longo de 60 dias estas medidas foram realizadas pelo método utilizado da pletismografia da artéria caudal (registro indireto da pressão arterial).

Os animais foram mantidos sob restrição de movimentos em caixa de acrílico e submetidos a aquecimento moderado, para promover vasodilatação da artéria caudal. O registro da pressão arterial caudal foi realizado por meio da colocação de um manguito de borracha na região proximal da cauda e ligado ao esfigmomanômetro para insuflar e desinsuflar gradualmente o manguito de 0 a 250/300 mmHg.

Numa porção mais distal da cauda foi acoplado um transdutor pneumático para detecção dos sinais de passagem da onda de pulso de pressão arterial na artéria caudal e registrado no sistema AT/CODAS (DataQ Instruments, Inc., Ohio, USA), com frequência de amostragem de 1000 Hz (Carmo *et al.*, 2011).

Os animais foram inicialmente retirados do biotério e colocados em um laboratório de experimentação (sala com isolamento acústico e diminuição de quaisquer fontes de ruído que pudessem interferir na avaliação), sendo mantidos por 30 minutos neste local e de forma que pudessem se adaptar a este laboratório durante 3 dias consecutivos nos quais foram realizados com eles 5 medidas com intervalo de 30 segundo entre cada medida dentro de um compartimento retangular adequado ao tamanho do animal, onde permaneceram por 5 minutos para adaptação sobre uma plataforma aquecida a 36° C e com a cauda conectada ao “cuff” do aparelho (Carmo *et al.*, 2011).

Após este período de adaptação, foram realizados os registros de pressão arterial no momento basal, 15°, 30°, 45° e 60° dia entre 08:00 e 12:00. Seguindo o mesmo protocolo do período de adaptação conforme parágrafo anterior, foram realizadas 5 medidas, com intervalo de 30 segundos entre as medidas e partir destas 5 medidas, realizou-se uma média entre estas medidas para se ter a medida final de cada um dos animais no períodos determinados para registro das medidas.

5.2.2 Medidas Hemodinâmicas:

Um dia após o final do tratamento, 2 cateteres preenchidos com 0,06mL de solução salina foram implantados na artéria e veia femoral (PE-10) de ratas anestesiados (50 mg / kg de cetamina e 10 mg / kg de xilazina) para medições diretas de PA e administração de medicamentos, respectivamente. Os ratos que receberam comida e água ad libitum foram estudados 1 dia após a

colocação do cateter; os ratos estavam conscientes e podiam se mover livremente na gaiola durante os experimentos. A cânula arterial foi conectada a um transdutor de medidor de tensão 6 (P23Db, Gould-Statham), e os sinais de pressão sanguínea foram registrados durante um período de 20 minutos por um microcomputador equipado com uma placa conversora analógica para digital (usando um Dataq Instruments DI -720, resolução de medição de 16 bits).

O software de registro de forma de onda WINDAQ / PRO foi usado para a aquisição a 2.000 Hz por canal. Os dados registrados foram analisados batimento a batimento para quantificar as mudanças na pressão arterial média (PAM), sistólica (PAS), diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC).

Doses crescentes de fenilefrina (0,25 a 32 μ g / kg) e nitroprussiato de sódio (0,05 a 1,6 μ g / kg) foram administradas como injeções em bolus sequenciais (0,1mL) para produzir respostas de pressão arterial variando de 5 a 40mmHg. Foi necessário um intervalo de 3 a 5 minutos entre as doses para que a pressão arterial voltasse ao valor basal.

Aumentos ou diminuições de pico na PAM após a injeção de fenilefrina ou nitroprussiato de sódio e as alterações de reflexo de pico correspondentes na FC foram registrados para cada dose da droga. A sensibilidade barorreflexa (BRS) foi avaliada por um índice médio por meio de uma relação entre as alterações na FC e na PAM, permitindo a análise separada do índice de reflexos de bradicardia (BRI) e de taquicardia (TRI). O índice médio foi expresso em batimentos por minuto por milímetro de mercúrio (Farah *et al.*, 1999).

O controle autonômico da frequência cardíaca foi avaliado após o bloqueio farmacológico do sistema nervoso parassimpático e simpático com drogas anticolinérgicas e betabloqueadoras. O bloqueio farmacológico do sistema nervoso parassimpático foi realizado com administração endovenosa de um anticolinérgico (Metilatropina, 4mg/Kg, Sigma-EUA), verificando-se a pressão arterial e a frequência cardíaca após 5 minutos. O bloqueio farmacológico do sistema nervoso simpático foi realizado com administração endovenosa de um betabloqueador (Propranolol, 4mg/Kg Sigma-EUA), verificando-se a pressão arterial e frequência cardíaca após 5 minutos.

A frequência cardíaca basal de cada rata foi considerada como sendo a média das frequências controle nos dois dias de experimento. Para o valor de frequência cardíaca atingido por cada droga foi considerado a resposta máxima de variação da frequência cardíaca após a administração de cada droga. A frequência cardíaca intrínseca (FCI) foi considerada como sendo a média das frequências cardíacas finais obtidas após o duplo bloqueio farmacológico nos dois dias de experimento. O tônus

vagal foi considerado como sendo a diferença entre a frequência cardíaca intrínseca e frequência cardíaca mínima atingida após o bloqueio com Atenolol. O tônus simpático foi considerado como sendo a diferença entre a frequência cardíaca máxima obtida após o bloqueio com Metilatropina e a frequência cardíaca intrínseca.

5.2.3 Variabilidade da Pressão Arterial e do Intervalo de Pulso:

A análise no domínio do tempo consistiu no cálculo da Média Intervalo de Pulso (PI) e da PAS, bem como sua variabilidade como o desvio padrão de suas respectivas séries temporais (VAR IP) e o RMSSD: raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes. Na análise no domínio da frequência, o método Fast Fourier Transforming (FFT) foi usado para avaliar variabilidade da FC e da PA.

As bandas espectrais foram: banda de muito baixa a frequência (VLF): 0,0–0,2 Hz; baixa frequência (LF): 0,2–0,75 Hz (modulação simpática cardíaca); alta frequência (HF; modulação parassimpática cardíaca): 0,75–3 Hz foram definidas de acordo com a literatura (Camm *et al.*, 1996).

A potência espectral para as bandas LF e HF foi calculada por meio da integração da densidade do espectro de potência dentro de cada largura da banda de frequência. A densidade de potência de cada componente espectral foi calculada tanto em valores absolutos quanto em unidades normalizadas. A potência em LF e em HF para os intervalos de pulso foi normalizada pelo cálculo da variância menos a potência em frequência muito baixa (VLF) e foi expressa em unidades normalizadas (%). O equilíbrio da taxa da modulação simpática e parassimpática foi definido pela razão LF/HF. Para avaliação da variabilidade da pressão arterial sistólica foi avaliado o índice VPAS (variância da pressão arterial sistólica).

No domínio da frequência, foi avaliado o índice LFPAS (componentes de baixa frequência da pressão arterial sistólica). O componente LFPAS foi considerado marcador da modulação cardíaca simpática eferente e da modulação vascular (Moraes-Silva *et al.*, 2013).

5.3.3 Análise Simbólica:

Uma análise simbólica foi realizada utilizando um procedimento previamente descrito e validado (Goldstraw *et al.*, 2007). Para isso, foram usados os mesmos 5 minutos da gravação selecionada por iRR. Em seguida, uma abordagem de granulação grossa baseada em um

procedimento de quantização uniforme foi utilizada para transformar a série iRR em uma sequência de símbolos. O mesmo comprimento foi usado para todas as avaliações.

A variação completa de sequências foi distribuída uniformemente em seis níveis (de 0 a 5) e, em seguida, os padrões de comprimento foram construídos. Portanto, cada animal e cada condição experimental tinha sua própria variação de intervalos iRR.

A entropia de Shannon foi calculada para fornecer uma quantificação da complexidade da distribuição do padrão. Todos os padrões possíveis (ou seja, 216) foram separados em três famílias denominadas padrões sem variação. Essas sequências foram separadas em seis níveis, e todos os padrões possíveis foram divididos em quatro grupos, consistindo em padrões com (a) nenhuma variação (0V, três símbolos iguais, associados com modulação simpática); (b) uma variação (1V, dois símbolos iguais e um diferente associado à modulação simpática e parassimpática); (c) duas variações prováveis / semelhantes (2LV e associadas à modulação parassimpática); e (d) duas variações improváveis / dissimilares (2UV e associadas à modulação parassimpática).

5.3.4 Massas corporais de animais e tecidos:

Após o registro das medidas hemodinâmicas, os animais foram eutanasiados por decapitação sem anestesia. Em seguida, foram coletados os seguintes tecidos para pesagem em balança de alta precisão (Mettler Toledo, modelo AB104 - Fabricado na Suíça): massa corporal do animal, e dos seguintes tecidos: coração, ventrículo direito, ventrículo esquerdo, pulmão, fígado, rim direito e rim esquerdo.

5.3.5 Análise e contagem das células inflamatórias:

A análise e contagem das células inflamatórias (neutrófilos, linfócitos, macrófagos e células totais inflamatórias) do coração e fígado foram realizadas após a retirada dos tecidos corporais do coração e fígado onde as lâminas foram examinadas com o microscópio óptico (Axiolab, Carl Zeiss Inc, Germany) e fotografados em dez campos consecutivos e realizou-se a contagem manual das células com auxílio do programa Image J 1.45 (NHI, Bethesda, MD), utilizando o plug-in “cell counter”. Todas as análises foram efetuadas de forma cega sob aumento de 400 x de microscopia e sendo expressas pela unidade de medida de micrômetro cúbico (μm^3).

5.3.6 Análise e contagem da porcentagem de colágeno presente no coração:

O coração emblocado em parafina foi submetido a cortes transversais em secções de 4 µm de maneira a analisar os ventrículos direito e esquerdo separadamente. Os cortes foram colocados em lâminas silanizadas, para evitar deslocamento dos mesmos durante os procedimentos histológicos. Foram corados por picrosiriusred e, posteriormente, realizada a análise morfométrica para a quantificação da fração do volume de colágeno intersticial (FVCI). Para tanto, foi utilizado o programa Qwin Image Processing and Analysis Software (Leica Microsystems Cambridge Ltd.) acoplado à microscopia ótica. A quantificação da fração da área de colágeno intersticial foi determinada calculando-se a porcentagem da área de colágeno sobre a área total do miocárdio, analisando-se todos os campos de um corte, utilizando-se a objetiva de 5x 61.

5.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA:

As análises estatísticas foram realizadas com o software GraphPad (Versão 9.0 for Windows; Inc., La Jolla, CA, EUA). O teste de normalidade usado foi o Shapiro Wilk. Após o teste de normalidade os resultados foram apresentados pela média ± desvio padrão. Para comparação entre os grupos, foi usado o Anova One-way seguida do Teste Pos Hoc de Tukey. E para comparação entre os grupos ao longo de cada período, foi usado o Anova Two-way, seguida do Teste de Pos Hoc de Tukey. Para todos os testes utilizados, o nível de significância estatística estabelecido foi de: $p < 0,05$.

5. RESULTADOS:

De acordo com a tabela 1 a seguir, ao comparar a massa corporal total do grupo wistar com os demais grupos, foi possível observar que o grupo wistar foi o que apresentou maior massa corporal quando comparado com os grupos SHR controle e SHR tratados (uso de levosimendan durante 30 dias e 60 dias).

Ao comparar a massa corporal total do coração, observou-se que o grupo tratado com levosimendan por 60 dias apresentou menor massa corporal e com diferença estatística significativa em relação ao grupo SHR controle, mas, não houve diferença entre os demais grupos (wistar, SHR controle e levosimendan tratado por 30 dias). Porém, ao comparar a massa corporal relativa do coração não houve diferença estatística significativa entre os grupos.

Em relação a massa corporal dos pulmões, foi possível observar que os animais SHR controle e tratados com levosimendan (30 e 60 dias) apresentaram menor massa corporal dos pulmões ao comparar com o grupo wistar evidenciando diferença estatisticamente significativa entre os grupos wistar com SHR controle e tratados. No entanto, ao verificar a massa corporal relativa dos pulmões, não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos.

Em relação às massas corporais totais e relativas dos tecidos do ventrículo direito, rim direito e rim esquerdo dos grupos wistar, SHR controle com os grupos tratados com levosimendan por 30 e 60 dias foi possível observar que não houve diferenças entre os grupos.

Porém, ao comparar as massas corporais dos ventrículos esquerdos nos grupos tratados com levosimendan (30 e 60 dias) foi possível observar diminuições estatisticamente significativa nestes grupos em relação ao grupo SHR. Ainda em relação à massa corporal do ventrículo esquerdo, observou-se que o grupo SHR controle apresenta maior massa total quando comparado com o grupo wistar. No entanto, ao comparar as massas corporais relativas dos ventrículos esquerdos entre os grupos SHR não tratados, tratados com levosimendan e wistar, não houve diferença estatisticamente significativa entre estes grupos indicando que talvez este medicamento talvez não exerça efeitos colaterais no ventrículo esquerdo dos animais estudados. Sobre o fígado, foi possível observar diferença estatisticamente significativa entre o massa corporal total deste órgão com menor massa corporal do grupo tratado com este fármaco por 60 dias quando comparado com o wistar, porém, ao comparar a massa corporal relativa deste órgão, não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos.

Tabela 1: Massas corporais totais dos animais e massas corporais totais e relativas dos tecidos

	Wistar (n: 10)	SHR controle (n:10)	LEV 30 D (n: 8)	LEV 60 D (n: 8)
Massa corporal total (g) e massa corporal relativa dos tecidos em gramas (g/100g)				
Massa corporal total	312 ± 3,9	220 ± 2 [†]	214 ± 9 [†]	231 ± 4 [†]
Massa corporal total do coração	1,06 ± 0,1	1,3 ± 0,07	1,1 ± 0,05	0,97 ± 0,05*
Massa corporal relativa do coração	0,52 ± 0,1	0,58 ± 0,1	0,60 ± 0,04	0,42 ± 0,03
Massa corporal total do ventrículo direito	0,2 ± 0,4	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,06	0,14 ± 0,02
Massa corporal total relativa do ventrículo direito	0,07 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,12 ± 0,08	0,06 ± 0,01
Massa corporal total do ventrículo esquerdo	0,6 ± 0,1	0,83 ± 0,03 [†]	0,7 ± 0,01 [#]	0,7 ± 0,05*
Massa corporal relativa do ventrículo esquerdo	0,28 ± 0,07	0,38 ± 0,06	0,34 ± 0,01	0,27 ± 0,06
Massa corporal total do pulmão	2,6 ± 0,6	1,9 ± 0,04 [†]	1,6 ± 0,3 [†]	1,7 ± 0,1 [†]
Massa corporal total relativa do pulmão	1,19 ± 0,3	0,84 ± 0,06	0,79 ± 0,14	0,75 ± 0,1
Massa corporal total do fígado	8,7 ± 1,6	7,2 ± 0,4	8,01 ± 0,5	7,01 ± 0,01 [†]
Massa corporal total relativa do fígado	3,4 ± 0,7	3,25 ± 0,1	4,03 ± 0,84	3,04 ± 0,03
Massa corporal total do rim direito	0,98 ± 0,5	1,0 ± 0,05	1,0 ± 0,02	0,9 ± 0,08
Massa corporal total relativa do rim direito	0,44 ± 0,05	0,42 ± 0,07	0,51 ± 0,01	0,36 ± 0,07
Massa corporal total do rim esquerdo	0,91 ± 0,8	0,9 ± 0,09	1,0 ± 0,02	0,8 ± 0,07
Massa corporal total relativa do rim esquerdo	0,41 ± 0,08	0,44 ± 0,02	0,50 ± 0,01	0,35 ± 0,06

*SHR controle: grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; LEV 30 D: Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; LEV 60 D: Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, * p <0,05 60 D vs grupo controle SHR; # p <0,05 30 D vs grupo de controle SHR, †p <0,05 vs Wistar.*

A Figura 5 a seguir mostra o acompanhamento da pressão arterial sistólica por meio da pletismografia ao longo de 60 dias dos grupos wistar, grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas (SHR – Control), grupo de ratas espontaneamente hipertensas tratadas com levosimendan por 30 dias (LEV 30 D) e grupo de ratas espontaneamente hipertensas tratadas com levosimendan por 60 dias (LEV 60 D). Os resultados mostram que ao longo de todo o protocolo experimental, o grupo wistar apresentou diferença estatisticamente significativa ([†]p <0,05 vs Wistar) e se manteve com menores valores de pressão arterial sistólica quando comparado com os outros grupos. Se observa também que ao longo de 60 dias os grupos SHR controle e wistar permaneceram com valores praticamente inalterados e as pressões arteriais sistólicas dos grupos tratados com levosimendan foram diminuindo com o passar dos dias, mas, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados e grupo

SHR controle até a medida realizada no 15º dia. Porém, na análise realizada no 30º dia, a pressão sistólica diminuiu nos grupos (LEV 30 D e LEV 60 D) apresentando diferença estatisticamente significativa (* p <0,05 LEV 60 D vs Grupo SHR-controle; #p <0,05 LEV 30 D vs grupo SHR-controle; †p <0,05 vs Wistar) nos grupos tratados com LEV sobre o grupo controle SHR. Nas análises realizadas no 45º e 60º dia, a pressão sistólica continuou a diminuir no grupo LEV 60 D e ao comparar com o grupo SHR controle onde houve diferença estatisticamente significativa (* p <0,05 LEV 60 D vs Grupo SHR-controle; †p <0,05 vs Wistar). Nas análises dos dias 45º e 60º dia, não foram apresentados os resultados do grupo LEV 30 D, pois, o protocolo experimental deste grupo foi encerrado no 30º dia.

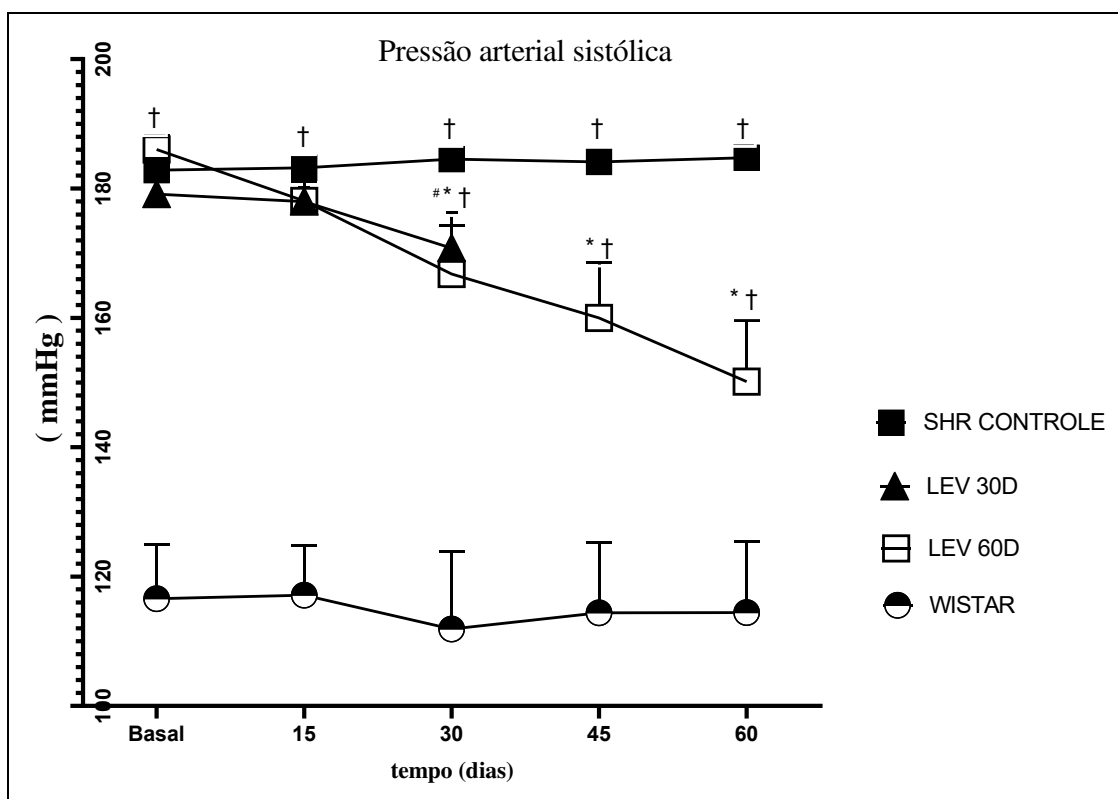


Figura 5: Curva de acompanhamento da pressão arterial sistólica por meio da pletismografia dos grupos wistar, SHR controle e grupos tratados com levosimendan ao longo de 60 dias.

A Figura 6 a seguir mostra o acompanhamento da pressão arterial diastólica por meio da pletismografia ao longo de 60 dias dos grupos wistar, grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas (SHR – Control), grupo de ratas espontaneamente hipertensas tratadas com levosimendan por 30 dias (LEV 30 D) e grupo de ratas espontaneamente hipertensas tratadas com levosimendan por 60 dias (LEV 60 D). Os resultados mostram que até o 45º dia o grupo wistar apresentou diferença estatisticamente significativa (†p <0,05 vs Wistar) e se manteve com

menores valores de pressão arterial diastólica quando comparado com os outros grupos. Mas, no 60º dia não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo wistar e o grupo LEV 60 D. Se observa também que ao longo de 60 dias os valores da pressão arterial diastólica foram aumentando no grupo SHR controle e permanecendo praticamente inalterada no grupo wistar. Em relação aos grupos SHR tratados com levosimendan (LEV 30 D e LEV 60 D) observou-se diminuições da pressões arteriais diastólicas ao longo dos dias, sendo possível observar diferença estatisticamente significativa na pressão diastólica diminuída no grupo LEV 30 D na análise realizada no 15º dia em relação ao grupo SHR controle. Na análise do 30º dia, a pressão diastólica diminuiu nos grupos (LEV 30 D e LEV 60 D) apresentando diferença estatisticamente significativa (* p <0,05 LEV 60 D vs Grupo SHR-controle; #p <0,05 LEV 30 D vs grupo SHR-controle; †p <0,05 vs Wistar) nos grupos tratados com LEV em relação ao grupo controle SHR. Nas análises realizadas no 45º e 60º dia, a pressão diastólica continuou a diminuir no grupo LEV 60 D e ao comparar com o grupo SHR controle houve diferença estatisticamente significativa (* p <0,05 LEV 60 D vs Grupo SHR-controle; †p <0,05 vs Wistar). Nas análises dos dias 45º e 60º dia, não foram apresentados os resultados do grupo LEV 30 D, pois, o protocolo experimental deste grupo foi encerrado no 30º dia.

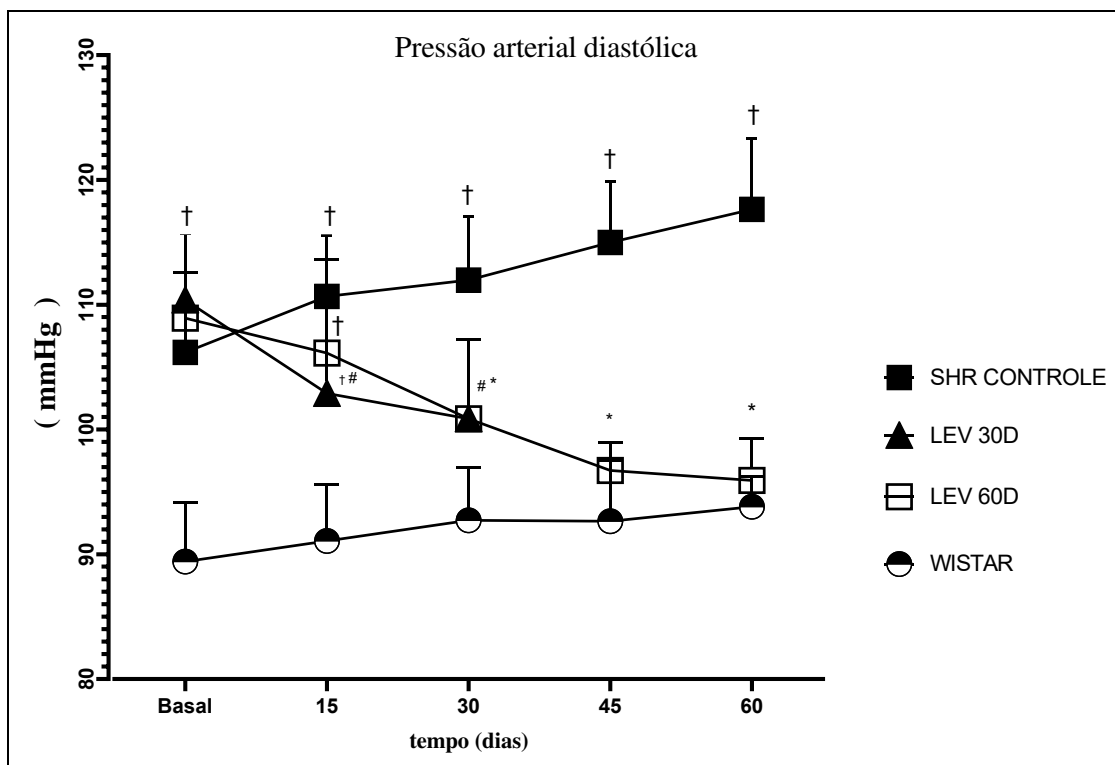


Figura 6: Curva de acompanhamento da pressão arterial diastólica por meio da pletismografia dos grupos wistar, SHR controle e grupos tratados com levosimendan ao longo de 60 dias.

Conforme tabela 2 a seguir, foi possível observar que nas variáveis hemodinâmicas houve diferença estatisticamente significativa com diminuição da pressão sistólica sanguínea no grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle, indicando uma melhora na pressão sistólica quando comparado com este grupo. Ainda em relação a pressão sistólica, o grupo wistar foi o que apresentou menor pressão apresentando diferença estatisticamente significativa em relação os grupos SHR não tratados e tratados por 30 e 60 dias.

Em relação a variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência, quanto ao índice da raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes em um intervalo de tempo, observou-se que houve diferença estatisticamente significativa com menores valores no grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle indicando com isto, uma melhor atividade parassimpática neste grupo tratado com levosimendan por 60 dias em relação ao grupo SHR controle. Ainda na variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência em relação ao índice de alta frequência (HF-%) o grupo LEV 60 D apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo SHR controle com este grupo apresentando melhor atividade parassimpática. Quanto ao índice (LF-%), houve também diferença estatisticamente significativa com diminuição da atividade simpática do grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle. No índice do equilíbrio da razão da modulação simpática e vagal (LF / HF), também foi observada a diferença estatisticamente significativa com diminuição em ambos os grupos tratados com levosimendan quando comparados com o grupo SHR controle, evidenciando melhora no balanço simpátovagal principalmente sendo mais evidente no grupo LEV 60 D em comparação ao grupo SHR controle.

Na análise simbólica em relação ao índice duas variações improváveis / diferentes e associadas à modulação parassimpática (2UV) houve diferença estatisticamente significativa com um aumento no grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle e com isto, evidenciando uma melhor modulação parassimpática do grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle.

Tabela 2: Comportamento da modulação autonômica cardíaca na frequência e domínio de tempo, análise simbólica do grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas e grupos de ratas tratadas com levosimendan.

	Wistar (n: 10)	SHR controle (n: 10)	LEV 30 D (n: 8)	LEV 60 D (n: 8)
Variáveis Hemodinâmicas				
PAS (mmHg)	114 ± 3	184 ± 7 [†]	169 ± 7 [†]	152 ± 5 ^{*†}
PAD (mmHg)	85 ± 2	101 ± 10	87 ± 5	95 ± 6
IP (ms)	183 ± 2,9	153 ± 7,7 [†]	150 ± 2,7 [†]	156 ± 4,3 [†]
Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC) no Domínio do Tempo e da Frequência				
VAR IP (ms ²)	110 ± 18,4	41,3 ± 10 [†]	48,6 ± 9,9 [†]	70,5 ± 17,6
RMSSD (ms)	7,6 ± 0,8	3,7 ± 0,4 [†]	3,3 ± 0,3 [†]	6,3 ± 0,7 [*]
LF (ms ²)	2,8 ± 1,8	4,6 ± 3 [†]	2,4 ± 0,5 [†]	2,8 ± 0,9
HF (ms ²)	14,0 ± 1,6	6,3 ± 0,8 [†]	3,9 ± 0,7 [†]	10 ± 1,6 ^{*†}
LF (%)	16 ± 20	41 ± 10 [†]	33 ± 4 [†]	19 ± 1 [*]
HF (%)	84 ± 8 [†]	63 ± 9 [†]	67 ± 4 [†]	81 ± 1 [*]
LF/HF	0,2 ± 0,1	1,3 ± 0,4 [†]	0,5 ± 0,1 [#]	0,2 ± 0,3 [*]
Variabilidade da Pressão Arterial Sistólica no Domínio do Tempo e da Frequência				
VPAS (mmHg ²)	24 ± 10	125 ± 30 [†]	68 ± 11	62 ± 8
LFPAS (mmHg ²)	2,26 ± 1,1	18,5 ± 7 [†]	17 ± 3 [†]	19,5 ± 3 [†]
Análise Simbólica				
0V (%)	16,7 ± 7,5	52,6 ± 2,4 [†]	50 ± 5,5 [†]	56 ± 3,7 [†]
1LV (%)	39,70 ± 6,3	37,5 ± 1,6	37,5 ± 3	32 ± 2,8
2LV (%)	6,5 ± 2,4	2,2 ± 0,5	2,2 ± 0,5	2,7 ± 0,7
2UV (%)	37,03 ± 4,7	6,6 ± 0,7 [†]	7,3 ± 0,9 [†]	9,8 ± 0,7 ^{*†}

SHR controle: grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; LEV 30 D: Grupo rata tratada com LEV por 30 dias; LEV 60 D: Grupo rata tratada com LEV por 60 dias; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; IP: Intervalo de pulso expressos em milissegundos; VFC: Variabilidade da frequência cardíaca; VAR IP: variância do intervalo de pulso; RMSSD: raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes em um intervalo de tempo expressos em milissegundos; LF: Baixa frequência; HF: alta frequência; LF / HF: O equilíbrio da razão da modulação simpática e vagal; VPAS: variância da pressão arterial sistólica; LFPAS: Componente de baixa frequência da variância da pressão arterial sistólica; 0V (%): sem variações, três símbolos iguais e são associados à modulação simpática; 1V (%): uma variação, dois símbolos iguais e um diferente associado à modulação simpática e parassimpática); 2LV (%): duas variações prováveis / semelhantes e associadas à modulação parassimpática; 2UV (%): duas variações improváveis / diferentes e associadas à modulação parassimpática. Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, * p <0,05 LEV 60 D vs grupo de controle SHR, #p <0,05 LEV 30 D vs grupo de controle de SHR, †p <0,05 vs Wistar.

A Figura 7 a seguir, mostra os efeitos do tratamento com levosimendan por 30 e 60 dias sobre a pressão diastólica final onde foi possível verificar que houve diferença estatisticamente significativa (* $p < 0,05$ LEV 60 D vs Grupo SHR † $p < 0,05$ vs Wistar) onde se observa menor pressão diastólica final no grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle e do grupo wistar em relação a todos outros grupos.

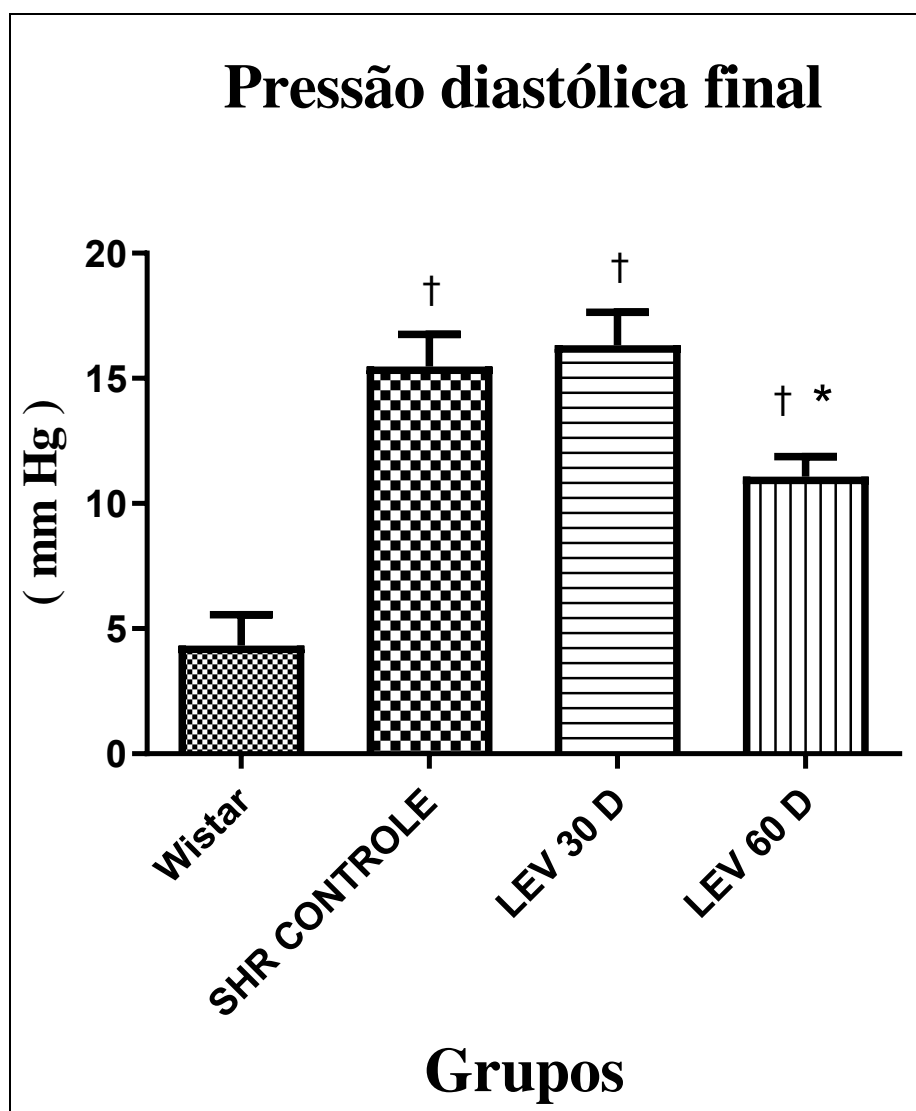


Figura 7: Pressão diastólica final

A Figura 8 a seguir mostra os efeitos do tratamento com levosimendan por 30 e 60 dias no Índices de Respostas Taquicárdicas (TRI) e Índices de Resposta Bradicárdicas (BRI) onde foi possível verificar que houve diferença estatisticamente significativa (* $p < 0,05$ LEV 60 D vs Grupo SHR-controle; # $p < 0,05$ LEV 30 D vs grupo SHR-controle; † $p < 0,05$ vs Wistar) e se verifica índices de respostas bradicárdicas e taquicárdicas mais evidentes entre os grupos tratados com levosimendan sobre o grupo controle SHR e do grupo wistar em relação a todos outros grupos.

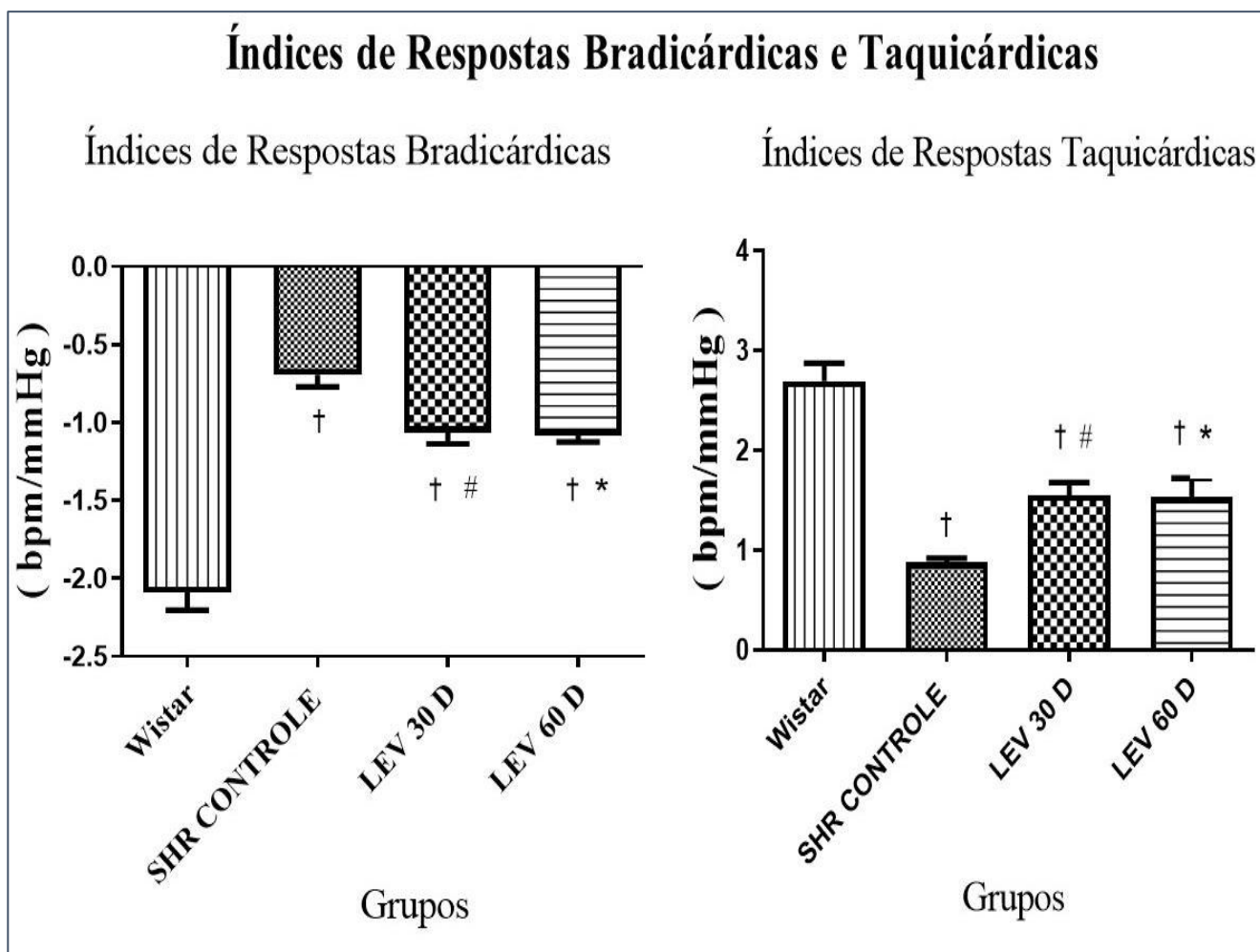


Figura 8: Índice de respostas bradicárdicas e taquicárdicas. SHR controle: grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; LEV 30 D: Grupo rata tratada com LEV por 30 dias; LEV 60 D: Grupo rata tratada com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, * $p < 0,05$ LEV 60 D vs grupo de controle SHR, # $p < 0,05$ LEV 30 D vs grupo de controle de SHR, † $p < 0,05$ vs Wistar.

A tabela 3 a seguir, apresenta o comportamento do tônus autonômico dos grupos wistar, grupo controle das ratas espontaneamente hipertensas (SHR controle) e dos grupos tratado com levosimendan (LEV 30 D e LEV 60 D). Os resultados desta tabela evidenciaram que em relação ao tônus vagal (TV), houve diferença estatística significativa do grupo LEV 60 D em relação ao grupo SHR controle (* $p < 0,05$ LEV 60 D vs Grupo SHR-controle) mostrando aumento do tônus vagal do grupo LEV 60 D em relação ao grupo controle.

Tabela 3: Comportamento do tônus autonômico dos grupos wistar, grupo controle das ratas espontaneamente hipertensas (SHR controle) e dos grupos de ratas espontaneamente hipertensas tratadas com levosimendan durante 30 e 60 dias

	Wistar (n: 10)	SHR controle (n: 10)	LEV 30 D (n: 8)	LEV 60 D (n: 8)
TÔNUS AUTONÔMICO				
FCI (bpm)	424,2 ± 13,2	342,7 ± 11,8 [†]	367,2 ± 11,2 [†]	343,6 ± 7,2 [†]
TV (bpm)	42,8 ± 6,2	12,34 ± 2,8 [†]	11,04 ± 2,3 [†]	25,29 ± 2,3 ^{*†}
TS (bpm)	41,97 ± 8,6	78,91 ± 7,3 [†]	86,5 ± 12,3 [†]	58,43 ± 4,7 [†]

*SHR controle: grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; LEV 30 D: Grupo rata tratada com LEV por 30 dias; LEV 60 D: Grupo rata tratada com LEV por 60 dias; FCI: Frequência cardíaca intrínseca; TV: Tônus vagal; TS: Tônus simpático; bpm: batimentos por minuto. Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, * $p < 0,05$ LEV 60 D vs grupo de controle SHR, # $p < 0,05$ LEV 30 D vs grupo de controle de SHR, [†] $p < 0,05$ vs Wistar.*

A Figura 9 mostra a porcentagem de colágeno presente no coração entre os grupos wistar, grupos SHR controle e grupos tratados, onde é possível verificar diferença estatisticamente significativa (* $p < 0,05$ LEV 60 D vs Grupo SHR - controle; # $p < 0,05$ LEV 30 D vs grupo SHR- controle; † $p < 0,05$ vs Wistar) com os grupos tratados apresentando menores porcentagens de colágeno em relação ao grupo SHR controle.

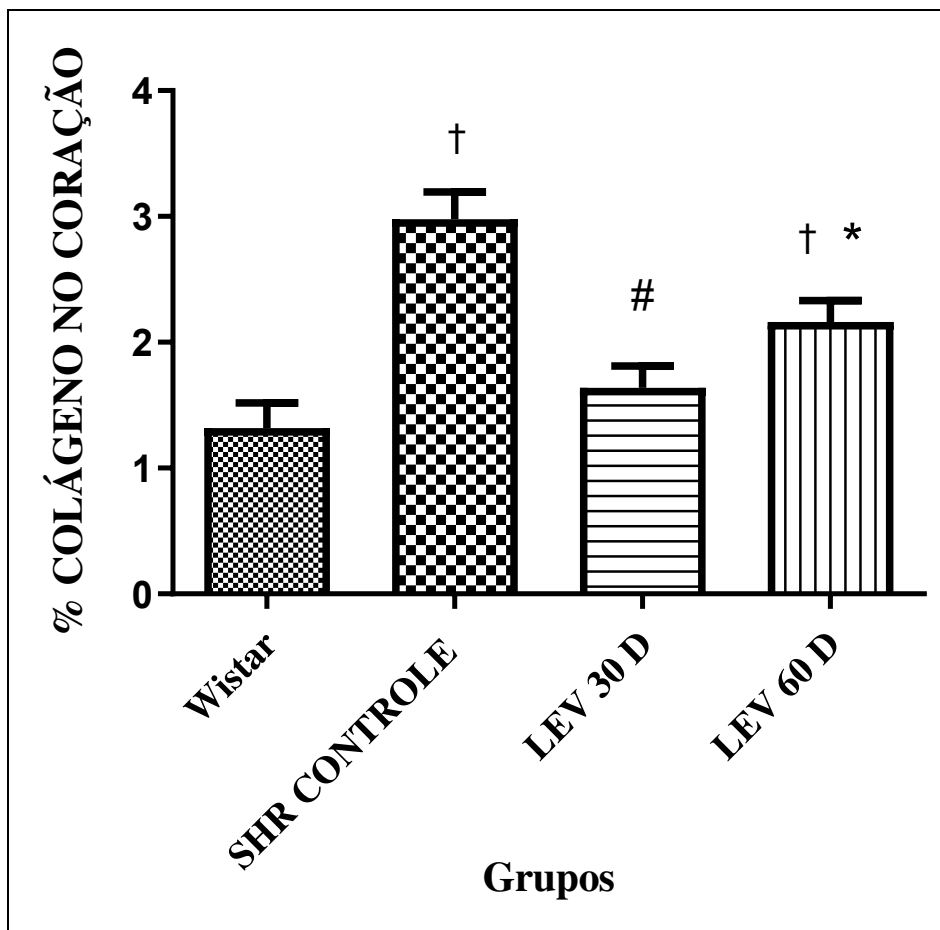


Figura 9: Porcentagem de colágeno presente no coração. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo rata tratada com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo rata tratada com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, (* $p < 0,05$ LEV 60 D vs grupo

de controle SHR, # $p < 0,05$ LEV 30 D vs grupo de controle de SHR, † $p < 0,05$ vs Wistar).

A figura 10, apresenta fotomicrografias de colágeno presente no coração. Ela é subdividida em 4 partes, sendo a 10a representada pelo grupo wistar, 10b pelo grupo SHR – controle, a 10c pelo grupo SHR tratado com levosimendan por 30 dias e a 10d pelo grupo SHR tratado com levosimendan por 60 dias.

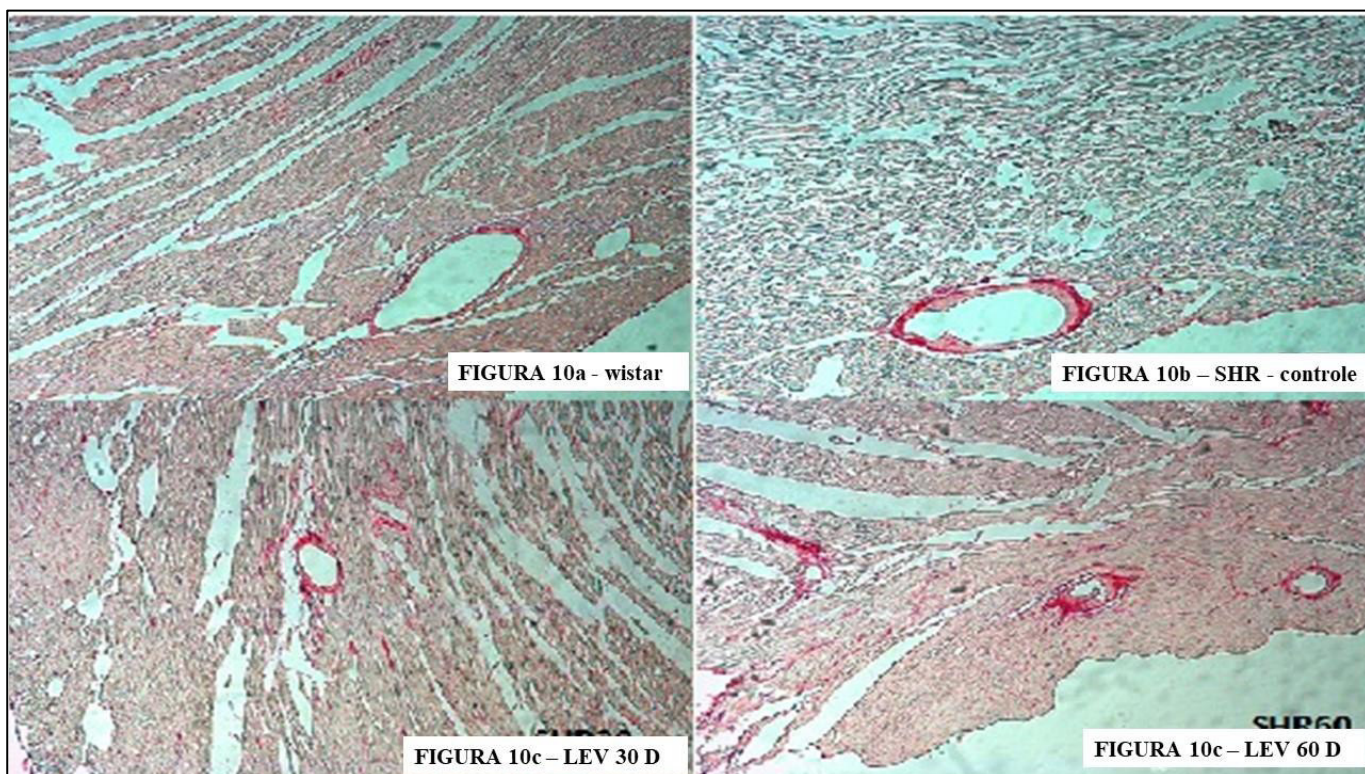


Figura10: Fotomicrografias de colágeno presente no coração

A Figura 11 apresenta a análise e contagem dos neutrófilos presentes no coração evidenciando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

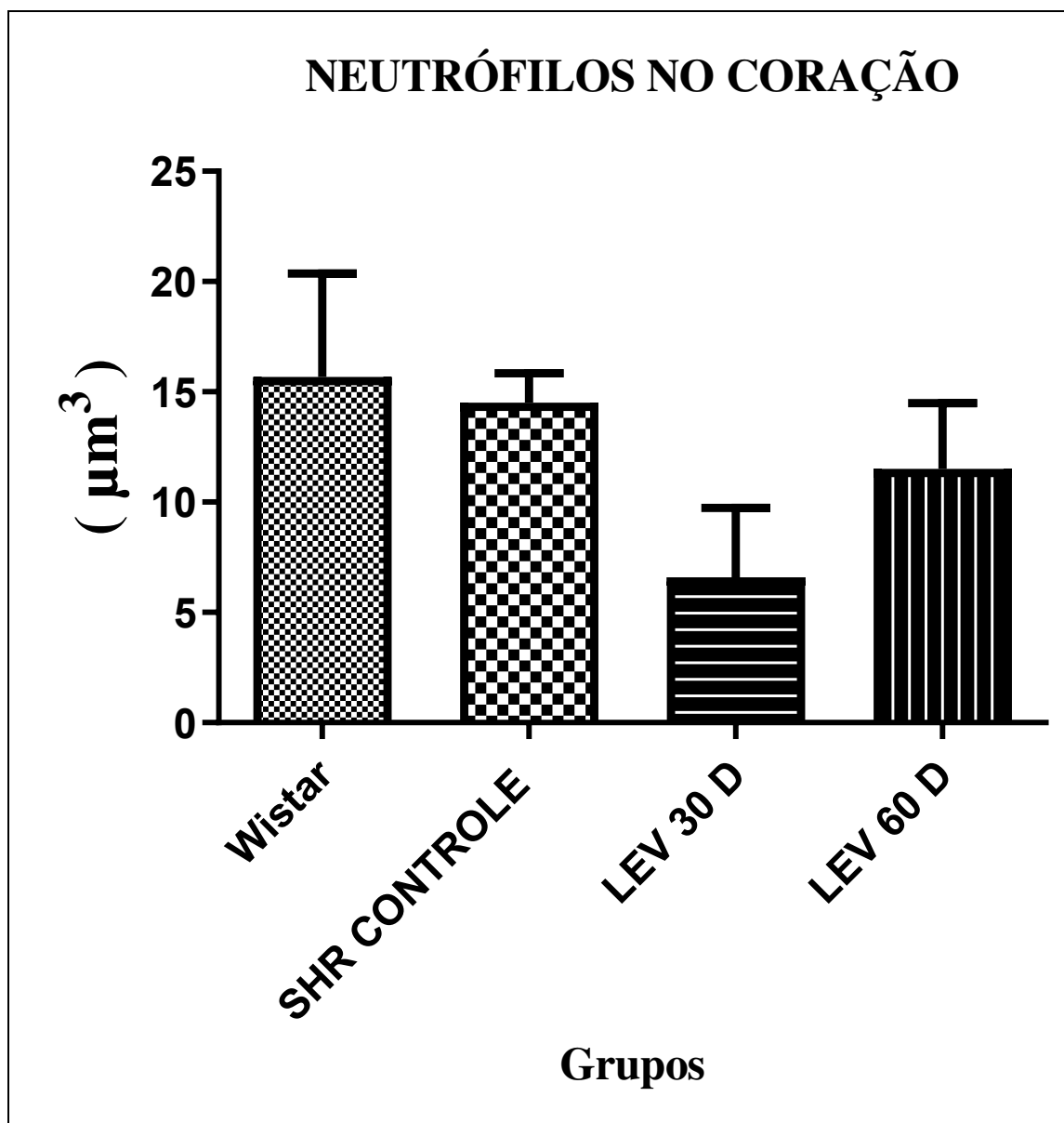


Figura 11: Análise e contagem dos neutrófilos presentes no coração. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, $p \leq 0,05$.

A Figura 12 apresenta a análise e contagem dos linfócitos presentes no coração evidenciando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

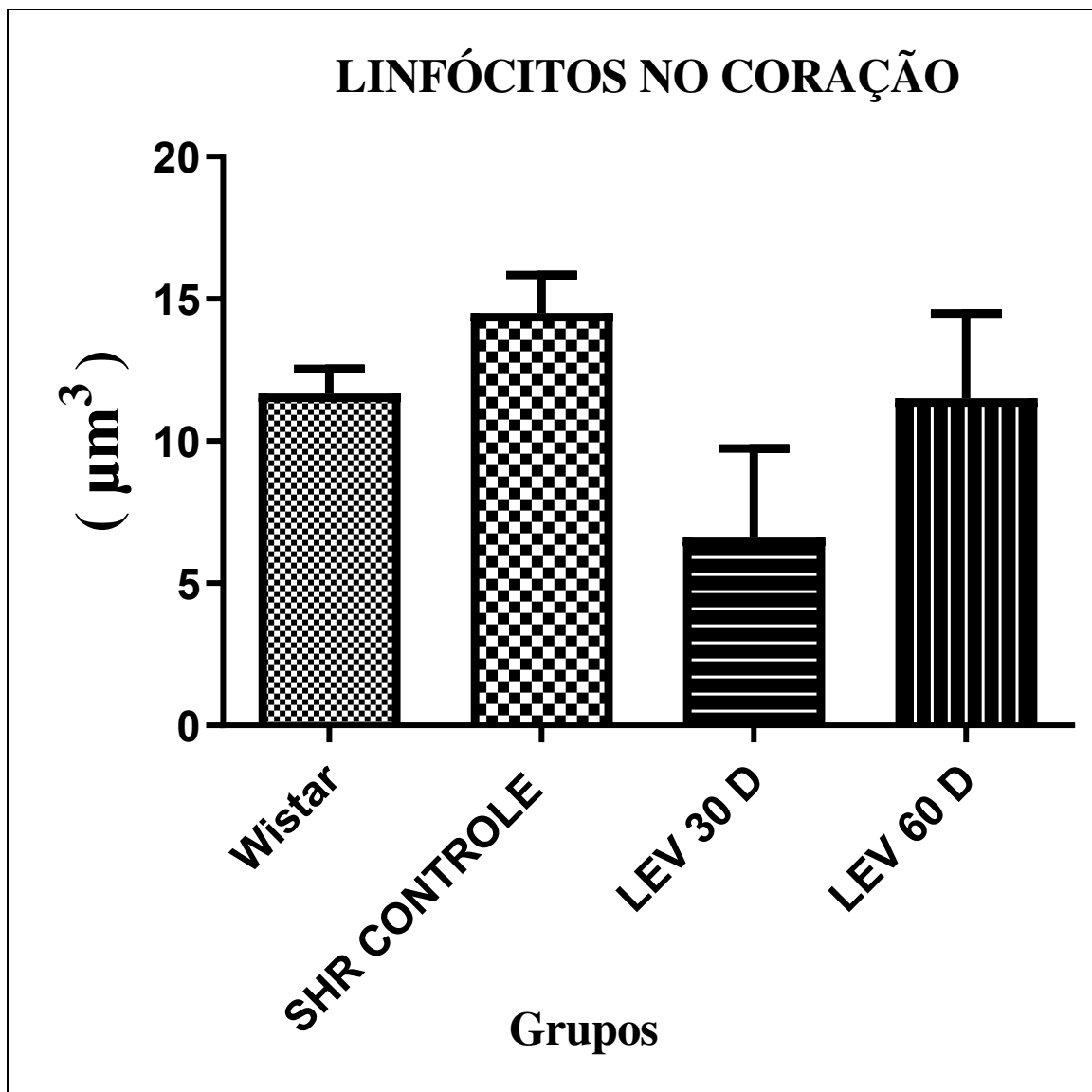


Figura 12: Análise e contagem dos linfócitos presentes no coração. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, $p \leq 0,05$.

A Figura 13 apresenta a análise e contagem dos macrófagos presentes no coração evidenciando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

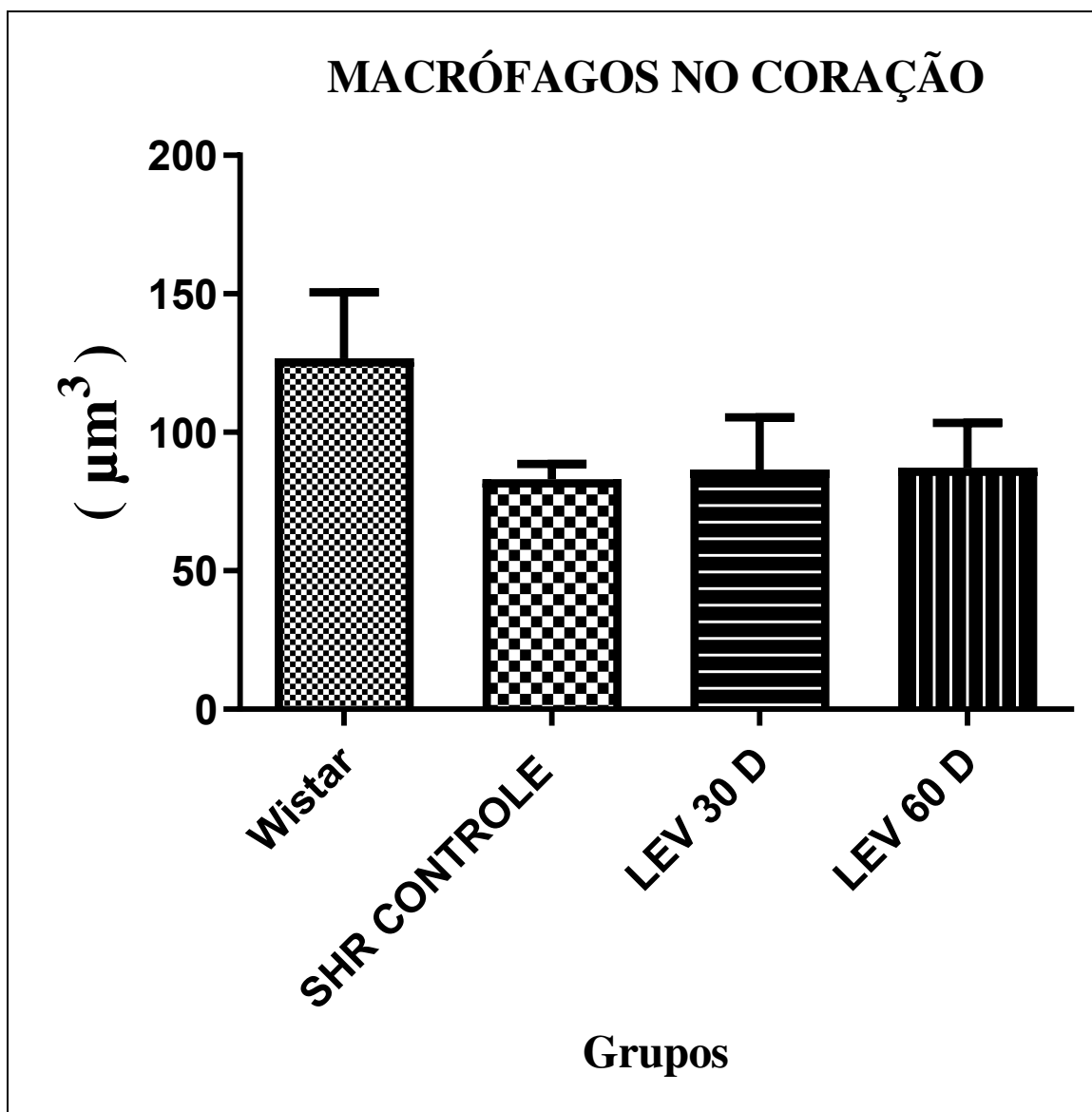


Figura 13: Análise e contagem dos macrófagos presentes no coração. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, $p \leq 0,05$.

A Figura 14 apresenta a análise e contagem da inflamação total presente no coração evidenciando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

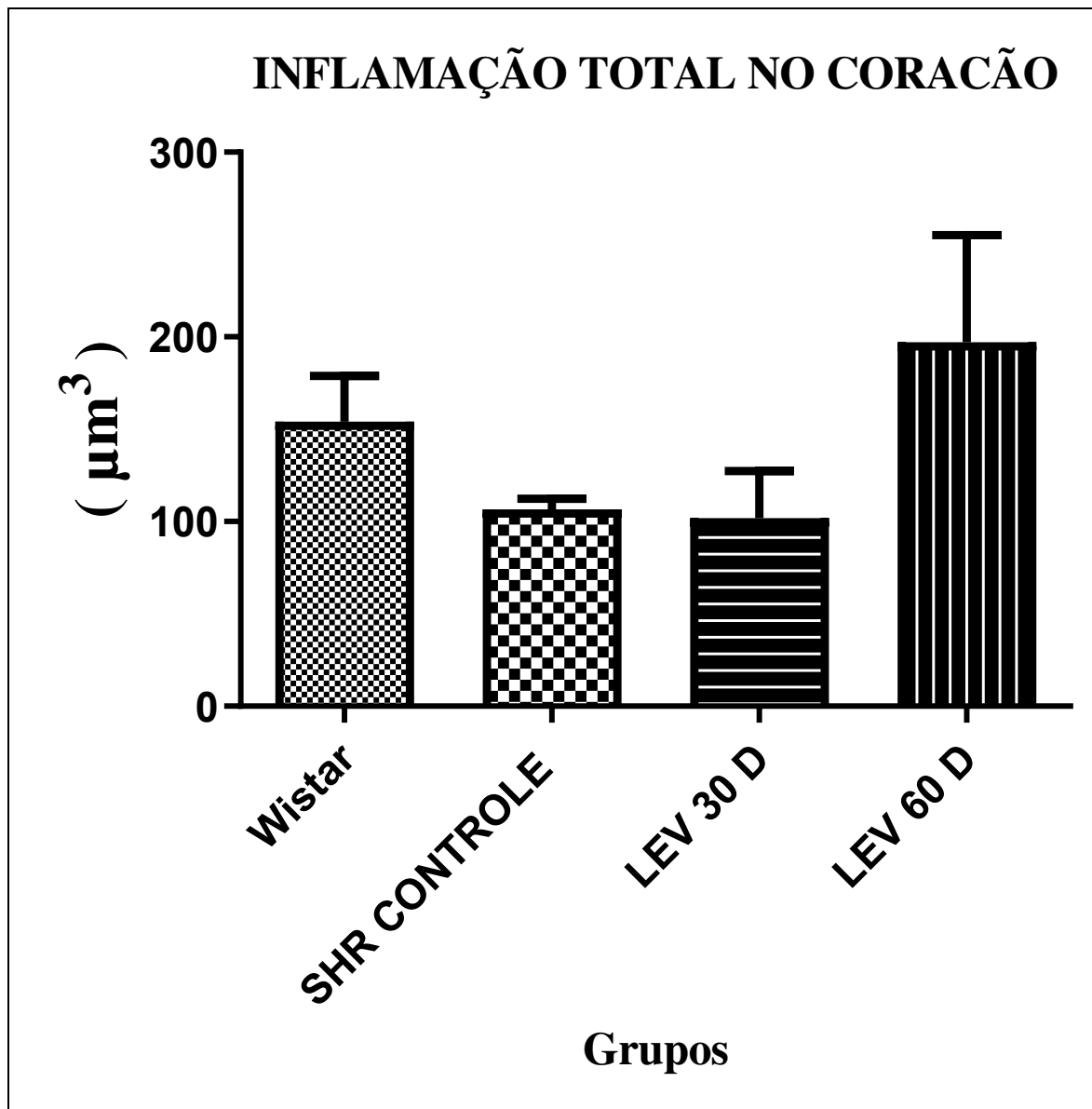


Figura 14: Análise e contagem da inflamação total no coração. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, $p \leq 0,05$.

A Figura 15 apresenta a análise e contagem de neutrófilos presentes no fígado evidenciando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

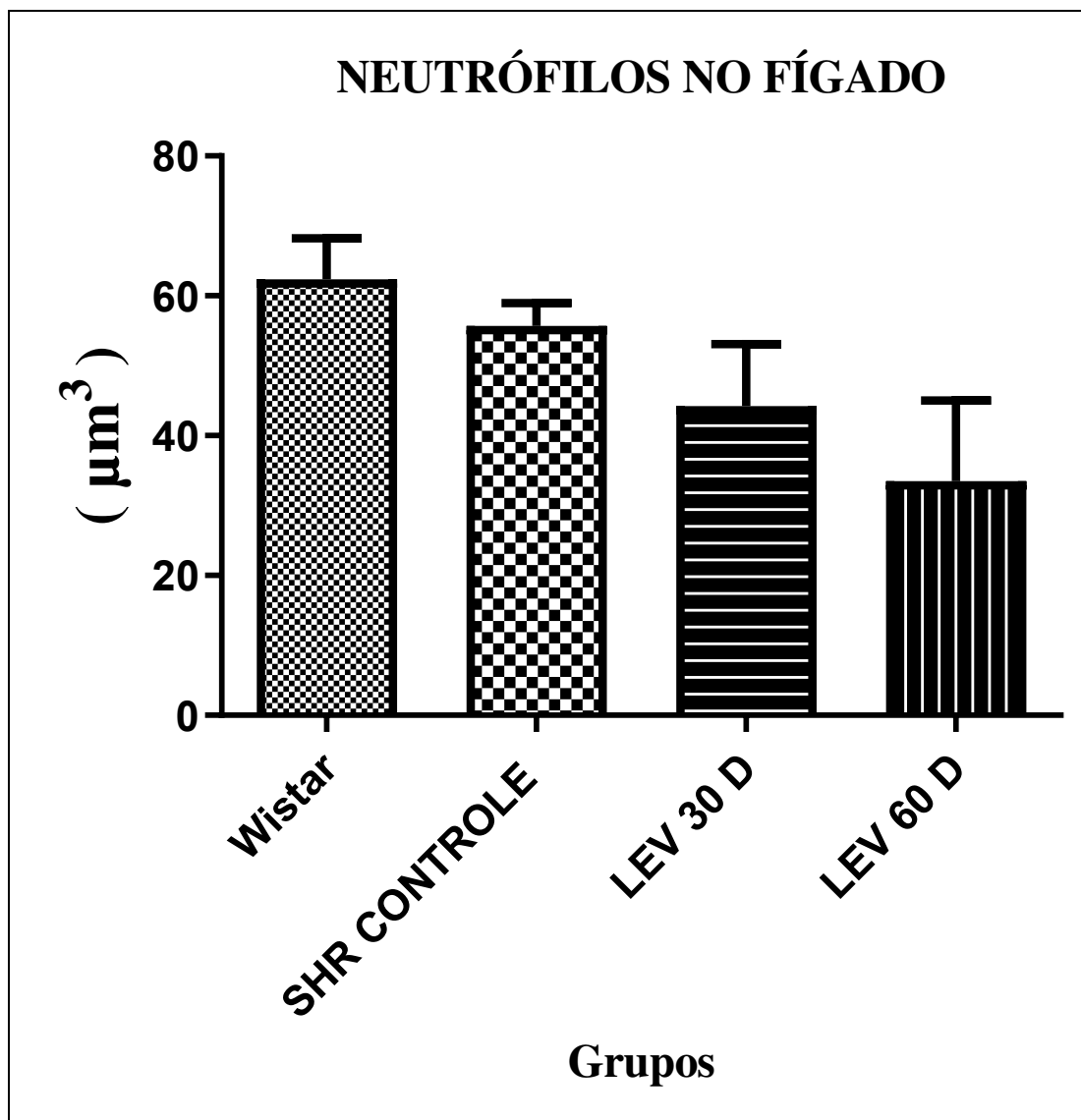


Figura 15: Análise e contagem dos neutrófilos presentes no fígado. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, $p \leq 0,05$.

A Figura 16 apresenta a análise e contagem de linfócitos presentes no fígado evidenciando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

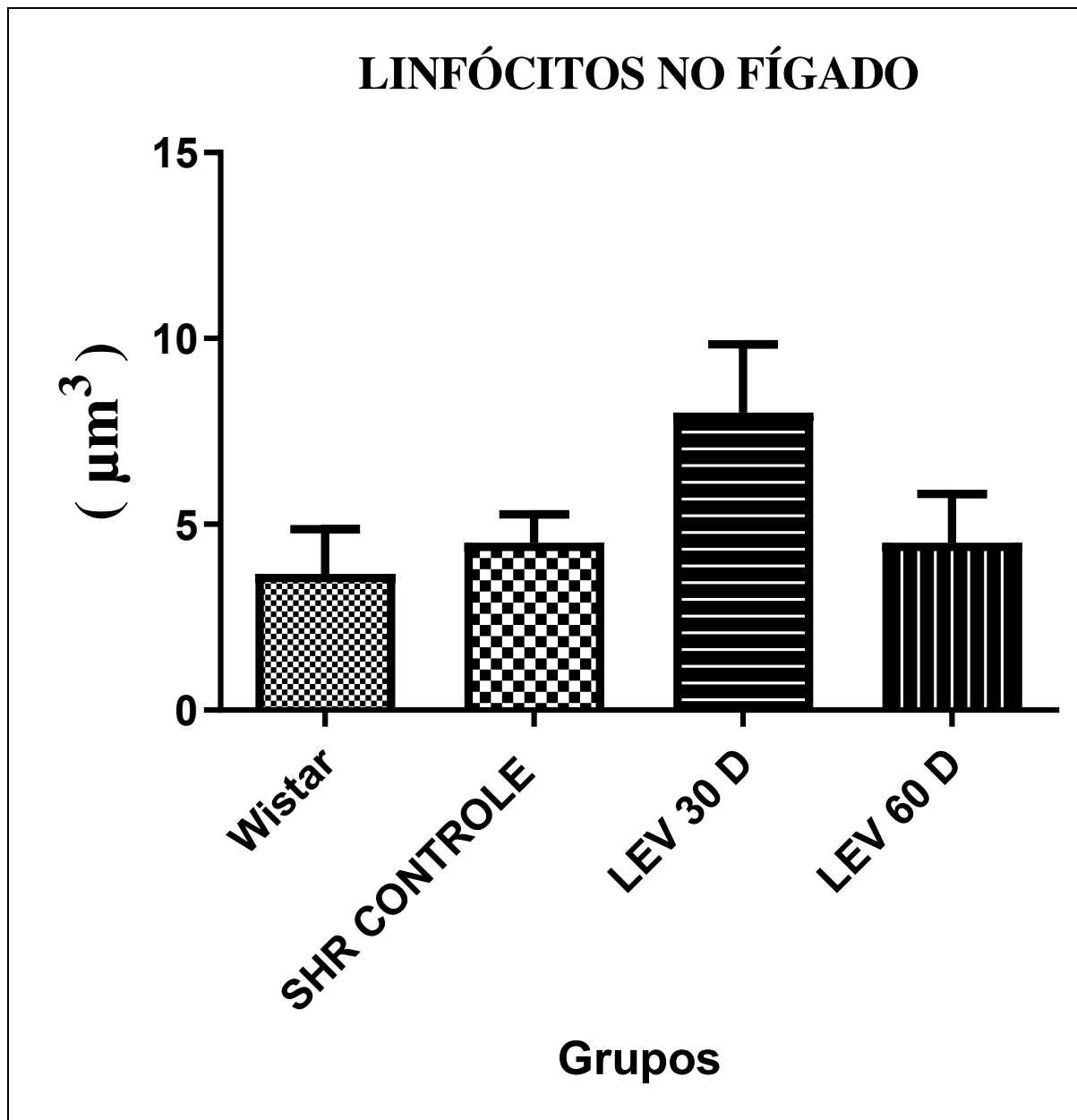


Figura 16: Análise e contagem dos linfócitos presentes no fígado. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, $p \leq 0,05$.

A Figura 17 apresenta a análise e contagem de macrófagos presentes no fígado evidenciando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

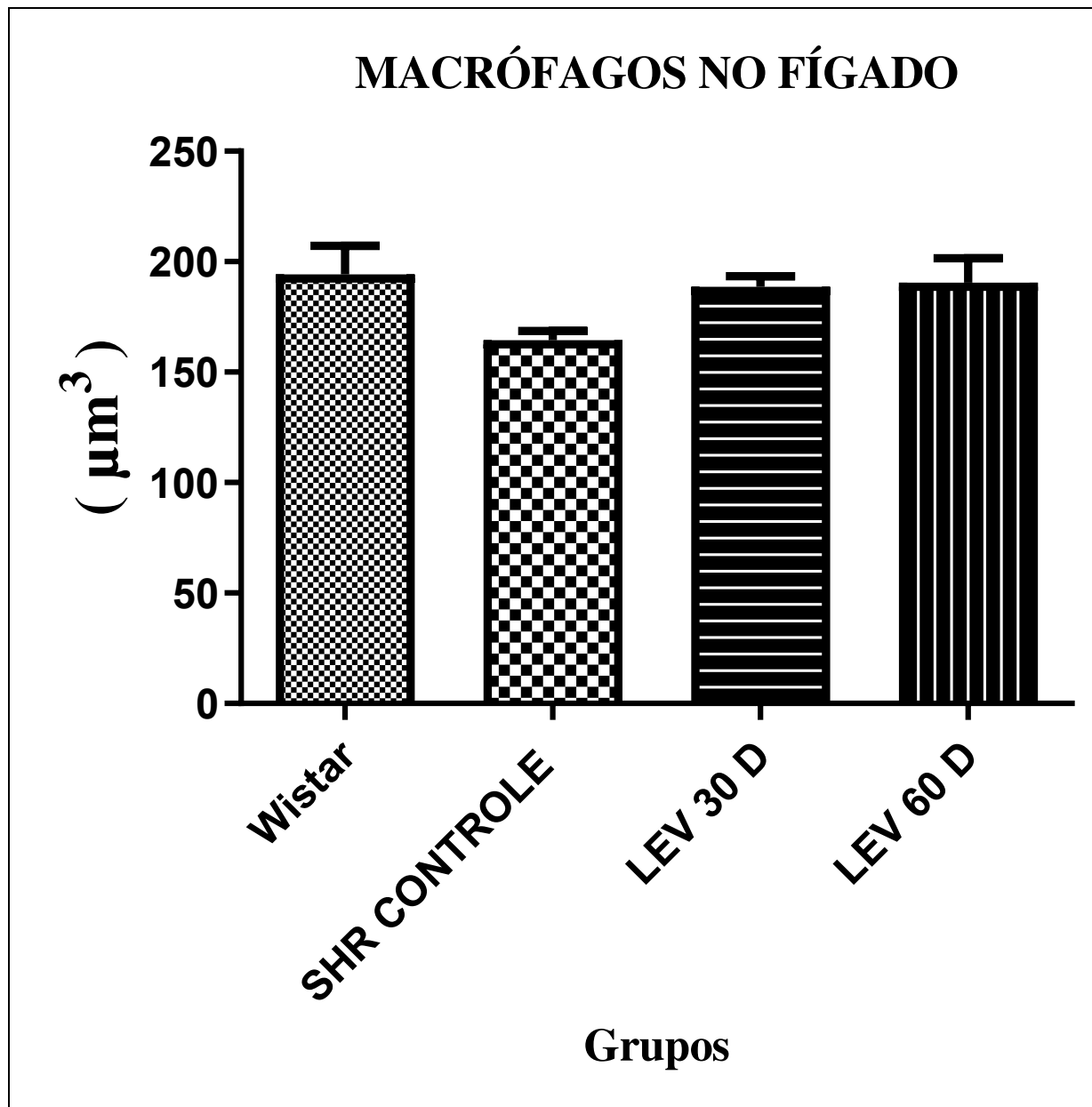


Figura 17: Análise e contagem dos macrófagos presentes no fígado. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, $p \leq 0,05$.

A Figura 18 apresenta a análise e contagem da inflamação total presente no fígado evidenciando que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

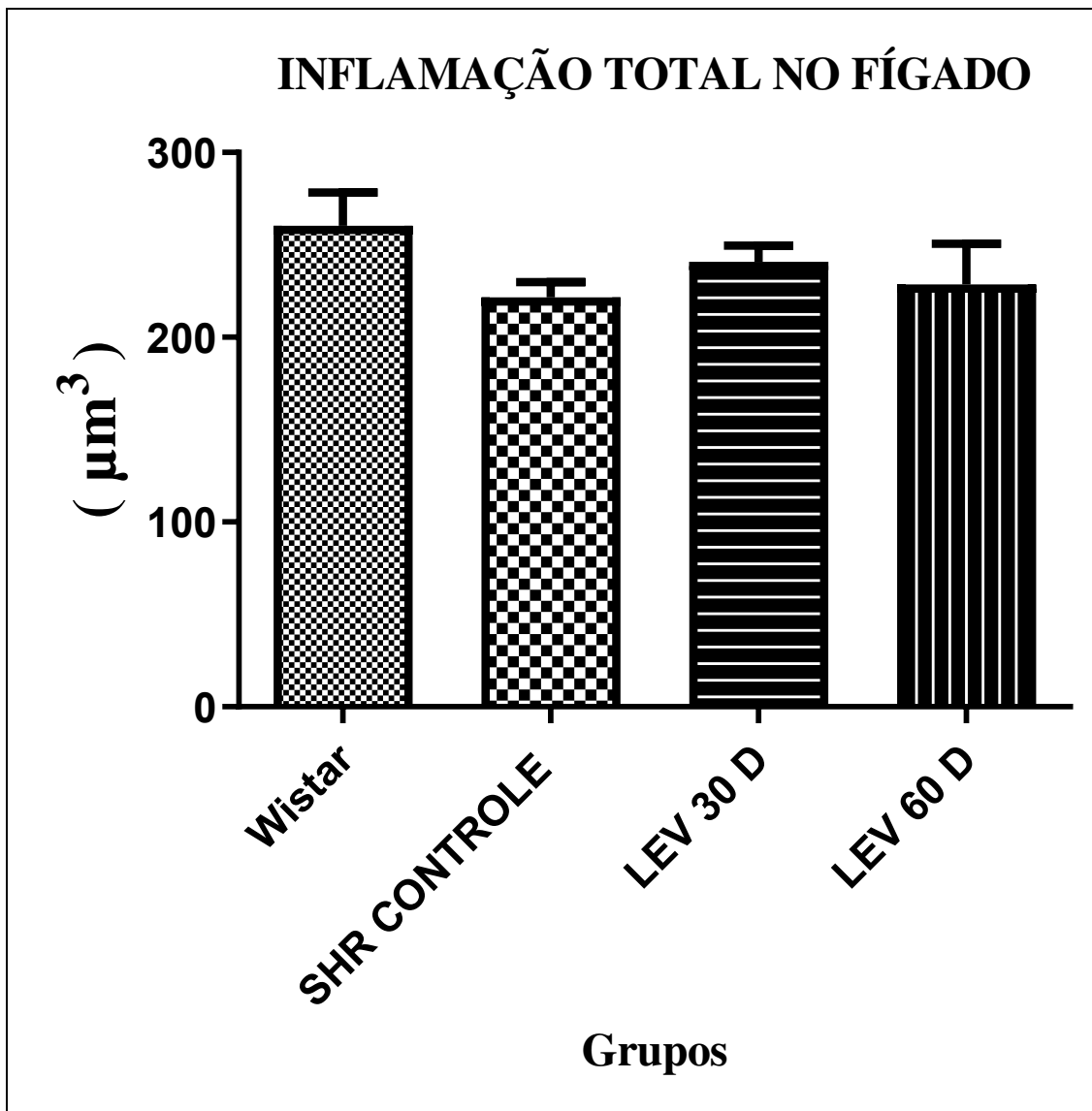


Figura 18: Análise e contagem da inflamação total no fígado. *SHR controle:* grupo controle de ratas espontaneamente hipertensas; *LEV 30 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 30 dias; *LEV 60 D:* Grupo ratas tratadas com LEV por 60 dias; Teste estatístico, ANOVA de uma via, post hoc de Tukey, $p \leq 0,05$.

6. DISCUSSÃO:

Os objetivos deste estudo foram de verificar se o tratamento durante 30 e 60 dias com levosimendan em um modelo de hipertensão arterial sistêmica em ratas idosas espontaneamente hipertensas (SHR) causará redução da pressão arterial, melhora na função autonômica cardíaca e no balanço simpátovagal em animais tratados com este medicamento durante 30 e 60 dias, pois, nas mulheres, o envelhecimento coincide com a menopausa, durante a qual ocorre uma redução significativa na produção de hormônios ovarianos e aumento da predisposição à disfunção endotelial, HAS e desequilíbrio autonômico.

Embora já existam pesquisas que já tenha utilizado o levosimendan em ratas espontaneamente hipertensas para verificar seus efeitos hemodinâmicos de forma aguda (Follath *et al.*, 2002; Kivikko *et al.*, 2003; Tachibana *et al.*, 2005; Hönisch *et al.*, 2010; Nan *et al.*, 2017), seja por via oral por meio da gavagem (Kivikko *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2020), via infusão (Follath *et al.*, 2002; Kivikko *et al.*, 2003; Abril-Molina *et al.*, 2020) ou inalatória (Kundra *et al.*, 2018; Tavares-Silva *et al.*, 2020), diferentemente de outros trabalhos científicos, nosso estudo procurou avaliar os efeitos durante 30 e 60 dias desta droga administrada via oral por meio da gavagem com doses diárias de 0,05 µg / Kg de forma crônica durante 60 dias em ratas idosas espontaneamente hipertensas sobre as variáveis hemodinâmicas. E também, de acordo com o nosso levantamento bibliográfico, não foram encontrados estudos que focassem sobre os efeitos do levosimendan no tratamento da HAS.

Os principais achados da nossa pesquisa foram que o levosimendan promoveu uma diminuição da pressão arterial, principalmente da pressão arterial sistólica, melhorou a variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo e da frequência em relação aos índices: (1) raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre intervalos RR normais adjacentes em um intervalo de tempo (RMSSD) que corresponde ao tônus vagal mostrou aumento deste tônus no grupo tratado por 60 dias em relação ao grupo SHR controle, (2) aumento alta frequência (HF - %) que corresponde à modulação respiratória, sendo um indicador da atuação da atividade parassimpática sobre o coração, (3) diminuição da baixa frequência (LF - %) que é decorrente da ação conjunta dos componentes vagal e simpático sobre o coração, com predominância da atividade simpática e (4) diminuição do equilíbrio da razão da modulação simpática e vagal (LF / HF), evidenciando melhora no balanço simpátovagal.

Outro achado importante desta pesquisa foi apresentado na análise simbólica em relação ao índice de duas variações improváveis / diferentes e associadas à modulação parassimpática (2UV), sendo indicativo de melhor modulação parassimpática.

E ainda com resultados importantes relativos aos efeitos do levosimendan, observou-se em relação aos índices de respostas bradicárdicas e taquicárdicas, uma melhora da sensibilidade barorreflexa promovida pelo levosimendan e a diminuição da pressão diastólica final.

Nas medidas hemodinâmicas analisadas de maneira direta por meio de catéteres canulados na artéria e veia femoral, quando se compara a porcentagem de redução da pressão arterial sistólica do grupo levosimendan tratado por 60 dias em relação ao grupo SHR controle, observou-se uma redução desta pressão de 17,4%, e do grupo levosimendan tratado por 30 dias em relação ao grupo SHR controle observou-se uma redução de 8,15%. No entanto na pressão arterial diastólica, houve um aumento de 1,9% do grupo tratado com levosimendan por 60 dias em relação ao grupo SHR controle e uma diminuição de 1,9% do grupo tratado com levosimendan por 30 dias. Vale ressaltar que nestas medidas da pressão sistólica, apenas houve diferença estatística entre o grupo tratado com levosimendan por 60 dias em relação ao grupo SHR controle e que não houve diferença estatística na pressão diastólica entre os grupos SHR tratados com levosimendan e não tratados.

Outro dado apresentado em nosso estudo na medida indireta por meio da pletismografia, observou-se que a pressão arterial foi diminuindo ao longo de 60 dias de protocolo experimental, sendo o início desta diminuição verificado a partir do 15º dia na pressão diastólica do grupo LEV 30 D comparado com o grupo controle. Em relação as pressões sistólicas e diastólicas, foi possível observar que no 30º dia houve diminuições destas pressões em ambos grupos tratados com levosimendan e diminuindo ainda mais até 60º dia.

Embora, tenha sido evidenciado estes resultados na pletismografia, no método direto, somente a pressão arterial sistólica apresentou diminuição com diferença estatisticamente significativa entre o grupo LEV 60 D e o grupo SHR controle.

Ao comparar a massa corporal total do grupo wistar com os demais grupos, foi possível observar que o grupo wistar foi o que apresentou maior massa corporal quando comparado com os grupos SHR controle e SHR tratados (uso de levosimendan durante 30 dias e 60 dias), indicando que talvez este menor massa corporal nos grupos SHR tratados e não tratados estejam relacionados com os processos patológicos envolvidos na HAS.

Quanto a massa corporal total do ventrículo esquerdo, observou-se que o levosimendan diminuiu a massa corporal total do ventrículo esquerdo nos grupos tratados, sugerindo que este farmaco atenuou o remodelamento cardíaco na HAS. No entanto, ao verificar a massa corporal deste tecido entre os grupos, não houve diferença.

Em relação a porcentagem de colágeno presente no coração, ambos grupos tratados com levosimendan apresentaram menor porcentagem de colágeno quando comparado com o grupo SHR controle, reforçando os achados quanto a massa corporal total do ventrículo esquerdo e quanto a atenuação da remodelação cardíaca devido a uma provável diminuição da sobrecarga cardíaca, principalmente na massa corporal do ventrículo esquerdo.

A diminuição da pressão diastólica final apresentada em nosso estudo é corroborada com outro estudo (Fukuta e Little, 2008) onde também se observa esta diminuição e que ela está relacionada com a diminuição da pré-carga que ocorre quando o coração está no final da diástole (Fukuta e Little, 2008) e que embora os efeitos do levosimendan em relação a pré-carga, pós-carga e frequência cardíaca já estejam bem evidenciados na literatura específica (Slawsky *et al.*, 2000), é difícil avaliar uma possível explicação direta do efeito do levosimendan no relaxamento precoce do ventrículo esquerdo, devido aos seus outros efeitos cronotrópicos e vasodilatadores que afetam as análises nos Índices Ecocardiográficos realizadas por meio do Doppler (Jorgensen *et al.*, 2008).

Para tentar contornar estes efeitos cronotrópicos e vasodilatadores das alterações hemodinâmicas que alteram a análise nos índices Ecocardiográficos do Doppler induzidos pelo levosimendan no relaxamento precoce do ventrículo esquerdo, foi realizado um estudo (Jorgensen *et al.*, 2008) com o objetivo de analisar os efeitos diretos deste fármaco no relaxamento precoce do ventrículo esquerdo, avaliados por meio de alterações no tempo de relaxamento isovolumétrico. Para isto, foram mantidas a pressão aórtica e a pressão atrial esquerda em um nível constante durante todo o procedimento experimental por meio de infusões de coloide e vasopressores.

Observou-se neste estudo (Jorgensen *et al.*, 2008) que a evolução da pressão arterial e da pressão atrial esquerda não foi significativamente diferente entre os grupos tratados com levosimendan e o grupo placebo, sugerindo que a redução de 23% no tempo de relaxamento isovolumétrico ocorreu na dose mais alta deste medicamento e que esta dose promoveu um relaxamento isovolumétrico mais precoce, com início rápido no tempo de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo e conseqüentemente, melhorando o enchimento ventricular. Logo, conclui-se que o levosimendan, além de seus efeitos inotrópicos, exerce um efeito lusitrópico positivo direto em pacientes com hipertrofia do ventrículo esquerdo e após a substituição da válvula aórtica por estenose aórtica (Jorgensen *et al.*, 2008).

De acordo com uma revisão bibliográfica (Farmakis *et al.*, 2016), os efeitos do levosimendan na função diastólica podem ser difíceis de interpretar, pois a função diastólica também pode ser melhorada pela redução da pós-carga e pré-carga do ventrículo esquerdo resultante de seu efeito

vasodilatador, enquanto, as mudanças na pressão atrial esquerda e o efeito cronotrópico positivo do levosimendan pode afetar ainda mais os índices diastólicos do ventrículo esquerdo. Porém, seus efeitos vasodiladores podem ser também explicados pela inibição da fosfodiesterase III (Haikala e Lindén, 1995) com a diminuição da resistência vascular periférica, conseqüentemente levando a diminuição das pressões nas cavidades cardíacas e dos vasos sanguíneos, e por fim, melhora da contratilidade cardíaca e das funções sistólicas ventriculares.

Outro fator é acoplamento ventrículo-atrial que avalia a relação entre a contratilidade miocárdica e a pós carga arterial que é determinado pela razão da elastância sistólica final com a elastância arterial efetiva (Pagel *et al.*, 1996). Neste estudo com cães anestesiados, verificou-se que após o uso de levosimendan houve aumentos consistentes da contratilidade do ventrículo esquerdo e uma redução na pós-carga neste mesmo ventrículo (Pagel *et al.*, 1996). E no ventrículo direito observou-se os mesmos efeitos do levosimendan em um modelo experimental de disfunção ventricular direita aguda em porcos induzidos por episódios repetitivos de isquemia e reperfusão (Missant *et al.*, 2007).

As drogas ionotrópicas positivas que são classificadas de acordo com 2 mecanismos de ações: as mediadas por receptores e as não mediadas por receptores. E ambos mecanismos existem um aumento da contratilidade miocárdica, secundária ao aumento das concentrações intracelulares de íons de cálcio, entretanto, esse processo também está associado a efeitos adversos (Tycińska *et al.*, 2020) que leva um aumento na demanda de oxigênio do miocárdio e com isto, arritmogênese e morte celular (Scoote e Williams, 2004).

Embora o levosimendan seja um inotrópico positivo, seu efeito não é obtido por meio do aumento da concentração de cálcio intracelular, mas sim ao abrir os canais de potássio do sarcolema sensíveis ao ATP dos miócitos e hiperpolarizando as células que ativam a troca sódio-cálcio. Com isto, impede a entrada de cálcio nas células e conseqüentemente, não aumenta a demanda miocárdica de oxigênio quando comparado com outros inotrópicos positivos (Cameli *et al.*, 2019) que possivelmente pode ter beneficiado as variáveis hemodinâmicas do nosso estudo.

Outro efeito do levosimendan é a vasodilatação que é atribuída à inibição da fosfodiesterase III (Haikala e Lindén, 1995), à dessensibilização de proteínas contráteis ao Ca^{2+} (Bowman, Peggy *et al.*, 1999) e à abertura de canais de K^+ sensíveis ao ATP (Yokoshiki *et al.*, 1997), que são expressos na superfície das membranas celulares nas células do músculo liso vascular e cardiomiócitos e na membrana mitocondrial interna cardíaca (Papp *et al.*, 2005).

Alguns estudos sobre os efeitos agudos do levosimendan nas variáveis hemodinâmicas foram avaliadas na insuficiência cardíaca em grupos tratados com esta droga e grupos placebos, evidenciando melhoras em algumas destas variáveis do grupo tratado com esta droga que corroboraram com nossos achados. Um destes estudos (Slawsky *et al.*, 2000) avaliou 146 pacientes e observou que o levosimendan diminuiu as pressões de enchimento nos lados direito e esquerdo do coração, a pressão capilar pulmonar e causou aumentos dos volumes sistólicos e índices cardíacos. Outro estudo de (Kivikko *et al.*, 2003) em 85 pacientes com insuficiência cardíaca apresentou aumentos da frequências cardíacas e diminuições da pressão arterial sistólica e pressão arterial diastólica durante o primeiro dia após a interrupção da infusão do levosimendan.

Estes dois estudos (Slawsky *et al.*, 2000; Kivikko *et al.*, 2003) corroboraram com nossos achados em relação à pressão arterial sistólica no grupo tratado com LEV por 60 dias que de certa forma relaciona-se com diminuições de das pressões de enchimento no coração, da pressão capilar pulmonar, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e aumento da frequência cardíaca.

Outro mecanismo vasodilatador que pode estar relacionado com os resultados do nosso estudo e dos estudos (Slawsky *et al.*, 2000; Kivikko *et al.*, 2003) é papel do óxido nítrico (NO) neste mecanismo, pois foi mostrado que NO não age apenas por meio da produção de cGMP e da ativação de PKG, mas também através da abertura dos canais de K⁺ (Jackson, 2005) sendo que no estudo (Das e Sarkar, 2007) foi possível verificar que os efeitos benéficos exercidos pelo levosimendan contra lesões de isquemia / reperfusão em coelhos anestesiados podem ser atenuados pela inibição da enzima óxido nítrico sintase (NOS).

Comparações dos efeitos hemodinâmicos do levosimendan com outras drogas, também foram estudadas, conforme o estudo (Follath *et al.*, 2002) que comparou os efeitos deste farmaco em relação a dobutamina, apresentando melhores resultados do levosimendan e que ao contrário da dobutamina, não há desenvolvimento de tolerância por parte deste medicamento (Kivikko *et al.*, 2002) e no estudo (Hönisch *et al.*, 2010) que verificou que a administração do levosimendan e enoximona causaram a diminuição da PA e subsequente aumento da FC, no entanto, estas variáveis foram estabilizadas após 2º minuto de uso destas drogas.

Além destas drogas, o levosimendan também mostrou sua melhor eficácia em pacientes que não respondem positivamente ao tratamento com diuréticos intravenosos ao ser comparado com outros medicamentos inotrópicos (dobutamina, milrinona, amrinona e enoximona) (Packer *et al.*, 2003) e em pacientes tradicionalmente tratados com vasodilatadores (nitroglicerina, nitroprussiato,

e a nesiritide) apresentou um efeito redutor da pré-carga de aproximadamente 30%, o que o torna muito semelhante a nitroglicerina e nesiritide (Investigators, 2002).

Embora o levosimendan se ligue a 97-98% das proteínas plasmáticas, principalmente a albumina (Sandell *et al.*, 1995) seu metabólito ativo se liga apenas a 40% destas proteínas, com isto, sua fração livre deste metabólito ativo no sangue é até 20-30 vezes maior do que a do medicamento original, com isto, seus efeitos benéficos podem se manter por mais tempo (Antila *et al.*, 2004), conforme os resultados apresentados do estudo (Kivikko *et al.*, 2003) que mostrou que a meia-vida de eliminação do levosimendan foi de 1,3 horas, e dos seus metabólitos de 75 a 78 horas, sendo que seus efeitos hemodinâmicos foram diminuindo de forma lenta durante 1 semana após a interrupção desta infusão e depois, não sendo mais observados diferenças estatisticamente significativas após estes períodos em comparação ao momento basal.

Os efeitos adversos relatados mais comuns em pacientes tratados com levosimendan após um infarto agudo do miocárdio são a cefaléia e hipotensão em estudos controlados por placebo, sendo sua incidência de 2 a 9% para cefaléia e 5% para hipotensão (Moiseyev *et al.*, 2002). Ao comparar 4 doses diferentes de levosimendan com o placebo em pacientes com insuficiência ventricular esquerda em relação a hipotensão, observou-se uma fraca tendência deste sintoma e que ocorrência deste sintoma foi atribuída a uma dose mais alta de levosimendan (0,4 µg / kg / min) (Moiseyev *et al.*, 2002). Porém, quando comparando o levosimendan com a dobutamina, a prevalência de cefaleia e hipotensão foram maiores no grupo tratado com levosimendan (Follath *et al.*, 2002).

Apesar destes efeitos adversos e embora a nossa pesquisa não tenha verificado a toxicidade e o estresse oxidativo do levosimendan, nosso estudo procurou analisar a massa corporal total e relativa os tecidos dos animais para verificar uma possível sobrecarga sobre estes tecidos animais. De acordo com nossos resultados, foi possível observar que a massa corporal total do coração do grupo LEV 60 D foi menor quando comparado com o grupo SHR controle, mas, não sendo mostrado diferença entre a massa corporal relativa deste órgão.

Ao verificar a massa corporal total e relativa dos ventrículos direitos, pulmões, fígado, rim direito e rim esquerdo, não houve diferença estatisticamente significativa entres grupos tratados com levosimendan e o SHR controle sugerindo uma possível ausência de sobrecarga nestes órgãos decorrentes do uso do levosimendan. Tais dados foram reforçados por meio da análise de células inflamatórias (neutrófilos, linfócitos, macrófagos e inflamação total) no coração e fígado não foram apresentadas diferenças estatisticamente significativa entre os grupos tratados com levosimendan e o grupo SHR controle.

Porém, ao comparar as massas corporais totais dos ventrículos esquerdos nos grupos tratados com levosimendan (30 e 60 dias) foi possível observar diminuições estatisticamente significativa nestes grupos em relação ao grupo SHR controle e talvez, hipotetizando retardos no aumento dos ventrículos esquerdos nos grupos tratados com levosimendan, logo, sugerindo um possível efeito benéfico deste fármaco na remodelação cardíaca. Ainda em relação a massa corporal total do ventrículo esquerdo, observou-se que o grupo SHR controle apresenta maior massa corporal total quando comparado com o grupo wistar. No entanto, ao comparar as massas corporais relativas dos ventrículos esquerdos entre os grupos SHR não tratados, tratados com levosimendan e wistar, não houve diferença estatisticamente significativa entre estes grupos indicando que talvez este medicamento talvez não exerça efeitos colaterais no ventrículo esquerdo dos animais estudados. Sobre o fígado, foi possível observar diferença estatisticamente significativa entre a massa corporal total deste órgão com menor massa corporal do grupo tratado com levosimendan por 60 dias quando comparado com o wistar, porém, ao comparar a massa corporal relativa deste órgão, não houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos.

Reforçando nossos achados, observou-se que em outros estudos (Hönisch *et al.*, 2010; Başel *et al.*, 2013) que esta droga não causa aumentos destes efeitos adversos, pois, no estudo (Hönisch *et al.*, 2010) que verificou em ratos induzidos ao infarto agudo do miocárdio, foi possível mostrar que a administração de levosimendan reduziu a área de infarto quando comparado com o grupo controle e demais grupos indicando que este medicamento pode ser usado no pós-condicionamento farmacológico quanto no pós-condicionamento isquêmico por meio do seu efeito cardioprotetor (Hönisch *et al.*, 2010). Este efeito cardioprotetor foi também possível observar que em pacientes com insuficiência cardíaca após um infarto agudo do miocárdio, nota-se que o levosimendan diminui a incidência de isquemia miocárdica (Moiseyev *et al.*, 2002).

Em relação ao estresse oxidativo, no experimento (Başel *et al.*, 2013) que teve como um dos seus objetivos investigar os efeitos do levosimendan sobre os distúrbios relacionados à peroxidação lipídica (LPO) que é uma das expressões mais importantes do estresse oxidativo induzido por espécies reativas ao oxigênio (ROS) no miocárdio de ratos, foi mostrado que administração desta droga pode diminuir o estresse oxidativo com a diminuição da produção de radicais livres no miocárdio (Başel *et al.*, 2013).

Conforme descrito anteriormente sobre a dosagem utilizada em nosso estudo de 0,05 µg / Kg via gavagem sobre a toxicidade não foi demonstrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos SHR tratados com levosimendan e não tratados nas massas corporais totais e relativas dos

órgãos extraídos (ventrículos direitos, pulmões, fígado, rim direito e rim esquerdo) com exceção das nas massas corporais totais do coração e do ventrículo esquerdo que apresentaram diminuições.

E em relação as células inflamatórias (neutrófilos, linfócitos, macrófagos e inflamação total) do coração e fígado, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos SHR tratados com levosimendan e não tratados.

Corroborando com nossos resultados sobre uma possível toxicidade do levosimendan, um estudo (Li *et al.*, 2020) utilizando a dosagem de 1 mg/kg administrada via gavagem em camundongos uma vez ao dia por 4 semanas, observou que esta fármaco foi capaz de reduzir a disfunção cardíaca, e atenuar a apoptose miocárdica induzida e com isto, sendo capaz de proteger contra a cardiotoxicidade (Li *et al.*, 2020).

Em relação ao fígado sobre nossos resultados sobre a ausência dos efeitos adversos no fígado nos grupos tratados com levosimendan quando comparado com grupo SHR controle mostrando que não houve diferença estatisticamente significativa entre estes grupos e corroborando com nossos resultados foi possível observar que o levosimendan protege os hepatócitos contra lesões oxidativas por meio da inibição autofágico-dependente da apoptose e da ativação da sinalização de sobrevivência (Grossini *et al.*, 2015). Ainda para reforçar as ações do levosimendan sobre o fígado, outro estudo (Brunner *et al.*, 2017) investigou os efeitos desta droga na apoptose nas células de fígados de humanos, onde os hepatócitos primários foram expostos à hipóxia ou cultivados em condições normóxicas. Após a fase de hipóxia, a reoxigenação foi implementada e as células foram tratadas com levosimendan. Com a administração de levosimendan durante a reperfusão, observou-se que após a lesão de isquemia-reperfusão, a apoptose é reduzida em hepatócitos tratados com levosimendan quando comparado com o hepatócitos não tratados, logo este medicamento sugere um efeito protetor do levosimendan e atenua a apoptose de hepatócitos humanos (Brunner *et al.*, 2017).

Outro estudo (Huang *et al.*, 2017) que corroborou com nossos resultados sobre lesões em vários órgãos em um modelo animal endotoxêmico induzido, avaliou os efeitos do levosimendan na coagulopatia consumptiva e disfunção orgânica em um modelo animal endotoxêmico e chegou aos resultados que o levosimendan atenuou significativamente a coagulopatia consumptiva exibida por tromboelastografia, promoveu diminuições na contagem de plaquetas e do nível de fibrinogênio plasmático, diminuiu as lesões no pulmão, fígado e rim, chegando à conclusão que o levosimendan reduz a lesão de órgãos e a coagulopatia e que esses efeitos protetores podem ser atribuídos as ações anti-inflamatórias dessa droga.

Além da ausência de efeitos da toxicidade do levosimendan sobre os tecidos dos animais apresentadas nos estudos (Moiseyev *et al.*, 2002; Hönisch *et al.*, 2010; Başel *et al.*, 2013), foi também verificado que ao comparar o levosimendan com dobutamina sobre a mortalidade e morbidade, observou-se uma menor taxa de mortalidade no grupo levosimendan (Moiseyev *et al.*, 2002) e menores taxas de morbidade (Follath *et al.*, 2002).

Portanto, tendo em vista sobre nossos achados a respeito do controle da pressão arterial com o uso durante 30 e 60 dias do levosimendan, sugere-se como perspectivas futuras analisar outros mecanismos que possam alterar a HAS, como o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, a reatividade vascular e a análise do estresse oxidativo.

7. CONCLUSÃO:

De acordo com os resultados do nosso estudo, foi possível verificar que o tratamento durante 30 e 60 dias com levosimendan em um modelo de hipertensão arterial sistêmica em ratas idosas espontaneamente hipertensas (SHR), promoveu diminuição da pressão arterial sistólica, da modulação simpática, do equilíbrio simpático-vagal, da pressão diastólica final, diminuição da porcentagem de colágeno no coração e aumento da modulação parassimpática e que este fármaco atua não apenas melhorando a contratilidade cardíaca, mas também modulação autonômica da frequência cardíaca e promoção da queda da pressão arterial em ratas idosas SHR.

Verificou-se também que tal medicamento não aumentou quantidade de células inflamatórias presentes no coração e fígado, por meio da análise destes órgãos, logo, pode-se hipotetizar que tal medicamento não induz toxicidade nestes tecidos por meio deste tipo de análise.

Portanto, talvez o levosimendan possa ser uma nova alternativa para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica e do desequilíbrio autonômico, uma vez que as informações do nosso estudo mostraram que o envelhecimento associado ao sexo feminino pode induzir maiores alterações autonômicas cardíacas, bioquímicas e funcionais que podem ser exacerbadas pela menopausa, subsidiando a busca por intervenções precoces durante esse processo fisiológico e com isto, amenizando os efeitos deletérios do envelhecimento na mulher.

8. REFERÊNCIAS:

- ABRIL-MOLINA, A. et al. Effect of Preoperative Infusion of Levosimendan on Biomarkers of Myocardial Injury and Haemodynamics After Paediatric Cardiac Surgery: A Randomised Controlled Trial. **Drugs in R&D**, p. 1-11, 2020. ISSN 1179-6901.
- AFIF, E.-K. et al. The use of milrinone in neonates with persistent pulmonary hypertension of the newborn- a randomised controlled trial pilot study (MINT 1): study protocol and review of literature. **Maternal health, neonatology and perinatology**, v. 4, n. 1, p. 1-12, 2018. ISSN 2054-958X.
- AL-KHAZRAJI, B. K.; SHOEMAKER, J. K. The human cortical autonomic network and volitional exercise in health and disease. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 43, n. 11, p. 1122-1130, 2018. ISSN 1715-5312.
- ALHAYEK, S.; PREUSS, C. V. Beta 1 receptors. **StatPearls [Internet]**, 2020.
- ALTENBERGER, J. et al. Levosimendan in acute and advanced heart failure: an appraisal of the clinical database and evaluation of its therapeutic applications. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 71, n. 3, p. 129, 2018.
- AMMIRATI, E. et al. Levosimendan reverted severe pulmonary hypertension in one patient on waiting list for heart transplantation. **International Journal of Cardiology**, v. 168, n. 4, p. 4518-4519, 2013. ISSN 0167-5273. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.06.106> >.
- ANDRADE, S. S. D. A. et al. Prevalência de hipertensão arterial autorreferida na população brasileira: análise da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, p. 297-304, 2015. ISSN 2237-9622.
- ANTILA, S. et al. Site dependent bioavailability and metabolism of levosimendan in dogs. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 9, n. 1, p. 85-91, 1999. ISSN 0928-0987.
- ANTILA, S. et al. Pharmacokinetics of levosimendan and its circulating metabolites in patients with heart failure after an extended continuous infusion of levosimendan. **British journal of clinical pharmacology**, v. 57, n. 4, p. 412-415, 2004. ISSN 0306-5251.
- ANTILA, S.; SUNDBERG, S.; LEHTONEN, L. A. Clinical pharmacology of levosimendan. **Clinical pharmacokinetics**, v. 46, n. 7, p. 535-552, 2007. ISSN 1179-1926.
- ARMSTRONG, M.; MOORE, R. A. Physiology, Baroreceptors. **StatPearls [Internet]**, 2020.
- ARONOW, W. S. Approaches for the Management of Resistant Hypertension in 2020. **Current Hypertension Reports**, v. 22, n. 1, p. 3, 2020. ISSN 1522-6417.
- ASHKAR, H.; MAKARYUS, A. N. Dobutamine. 2017.
- ASIF, M. A review on role of the calcium sensitive inotropic agent, levosimendan and its metabolites. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 18, n. 16, p. 1354-1362, 2018. ISSN 1389-5575.

BANFOR, P. N. et al. Comparative effects of levosimendan, OR-1896, OR-1855, dobutamine, and milrinone on vascular resistance, indexes of cardiac function, and O₂ consumption in dogs. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 294, n. 1, p. H238-H248, 2008. ISSN 0363-6135.

BARZILAY, J. I. et al. Long-term effects of incident diabetes mellitus on cardiovascular outcomes in people treated for hypertension: the ALLHAT Diabetes Extension Study. **Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes**, v. 5, n. 2, p. 153-162, 2012. ISSN 1941-7713.

BAŞEL, H. et al. Effect of levosimendan injection on oxidative stress of rat myocardium. **Toxicology and industrial health**, v. 29, n. 5, p. 435-440, 2013. ISSN 0748-2337.

BENJAMIN, E. J. et al. Heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 139, n. 10, p. e56-e528, 2019. ISSN 0009-7322.

BERNARDES, N. et al. Baroreflex impairment precedes cardiometabolic dysfunction in an experimental model of metabolic syndrome: role of inflammation and oxidative stress. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2018. ISSN 2045-2322.

BOWMAN, P.; HAIKALA, H.; PAUL, R. J. Levosimendan, a calcium sensitizer in cardiac muscle, induces relaxation in coronary smooth muscle through calcium desensitization. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 288, n. 1, p. 316-325, 1999. ISSN 0022-3565.

BOWMAN, P.; HAIKALA, H.; PAUL, R. J. Levosimendan, a calcium sensitizer in cardiac muscle, induces relaxation in coronary smooth muscle through calcium desensitization. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 288, n. 1, p. 316-325, 1999. ISSN 0022-3565. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9862786>>.

BRIXIUS, K.; REICKE, S.; SCHWINGER, R. H. Beneficial effects of the Ca²⁺ sensitizer levosimendan in human myocardium. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 282, n. 1, p. H131-H137, 2002. ISSN 1522-1539.

BRODDE, O.-E. et al. Cardiac muscarinic receptors decrease with age. In vitro and in vivo studies. **The Journal of clinical investigation**, v. 101, n. 2, p. 471-478, 1998. ISSN 0021-9738.

BROOK, R. D.; JULIUS, S. Autonomic imbalance, hypertension, and cardiovascular risk. **American journal of hypertension**, v. 13, n. 6 Pt 2, 2000. ISSN 0895-7061. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10921530>>.

BROOKS, V. L. et al. Baroreflex function in females: changes with the reproductive cycle and pregnancy. **Gender medicine**, v. 9, n. 2, p. 61-67, 2012. ISSN 1550-8579.

BRUNNER, S. N. et al. Levosimendan protects human hepatocytes from ischemia-reperfusion injury. **Plos one**, v. 12, n. 11, p. e0187839, 2017. ISSN 1932-6203.

BUZZINI, R. F. et al. Decompensated congestive heart failure-treatment with levosimendan. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 65, n. 4, p. 524-529, 2019. ISSN 0104-4230.

CAMELI, M. et al. Effects of levosimendan in heart failure: The role of echocardiography. **Echocardiography**, v. 36, n. 8, p. 1566-1572, 2019. ISSN 0742-2822.

CAMM, A. J. et al. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. 1996.

CARMO, E. C. D. et al. Association between anabolic steroids and aerobic physical training leads to cardiac morphological alterations and loss of ventricular function in rats. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 17, p. 137-141, 2011. ISSN 1517-8692.

CHEN, H. H. et al. Low-dose dopamine or low-dose nesiritide in acute heart failure with renal dysfunction: the ROSE acute heart failure randomized trial. **Jama**, v. 310, n. 23, p. 2533-2543, 2013. ISSN 0098-7484.

CHEUNG, B. M. et al. A 2020 vision of hypertension. **Korean circulation journal**, v. 50, n. 6, p. 469-475, 2020.

CHOBANIAN, A. V. et al. The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 7 report. **Jama**, v. 289, n. 19, p. 2560-2571, 2003. ISSN 0098-7484.

CHOLLEY, B. et al. Levosimendan in the light of the results of the recent randomized controlled trials: an expert opinion paper. **Critical Care**, v. 23, n. 1, p. 1-8, 2019. ISSN 1364-8535.

CLELAND, J. et al. Intravenous levosimendan treatment is cost-effective compared with dobutamine in severe low-output heart failure: an analysis based on the international LIDO trial. **European journal of heart failure**, v. 5, n. 1, p. 101-108, 2003. ISSN 1388-9842.

CLELAND, J. G. F.; NIKITIN, N.; MCGOWAN, J. Levosimendan: first in a new class of inodilator for acute and chronic severe heart failure. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 2, n. 1, p. 9-19, 2004. ISSN 1477-9072. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1586/14779072.2.1.9> >.

COKKINOS, D. V. Cardiovascular therapeutics: A companion to braunwald's heart disease edited by Thomas W. Smith WB Saunders Company, Philadelphia (1996) 721 pages, illustrated, \$95.00 ISBN: 7216-5660-09. **Clinical Cardiology**, v. 20, n. 11, p. 977, 1997.

COLLABORATION, B. P. L. T. T. Effects of different blood-pressure-lowering regimens on major cardiovascular events: results of prospectively-designed overviews of randomised trials. **The Lancet**, v. 362, n. 9395, p. 1527-1535, 2003. ISSN 0140-6736.

COLOSIMO, A. et al. Estimating a cardiac age by means of heart rate variability. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 273, n. 4, p. H1841-H1847, 1997. ISSN 1522-1539.

COOTE, J. A role for the paraventricular nucleus of the hypothalamus in the autonomic control of heart and kidney. **Experimental physiology**, v. 90, n. 2, p. 169-173, 2005. ISSN 1469-445X.

CUTLER, J. A. et al. Trends in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control rates in United States adults between 1988-1994 and 1999-2004. **Hypertension**, v. 52, n. 5, p. 818-827, 2008. ISSN 0194-911X.

DA PALMA, R. K. et al. Resistance or aerobic training decreases blood pressure and improves cardiovascular autonomic control and oxidative stress in hypertensive menopausal rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 121, n. 4, p. 1032-1038, 2016. ISSN 8750-7587.

- DAIBER, A.; MÜNZEL, T. Organic nitrate therapy, nitrate tolerance, and nitrate-induced endothelial dysfunction: emphasis on redox biology and oxidative stress. **Antioxidants & redox signaling**, v. 23, n. 11, p. 899-942, 2015. ISSN 1523-0864.
- DAS, B.; SARKAR, C. Pharmacological preconditioning by levosimendan is mediated by inducible nitric oxide synthase and mitochondrial KATP channel activation in the in vivo anesthetized rabbit heart model. **Vascular pharmacology**, v. 47, n. 4, p. 248-256, 2007. ISSN 1537-1891.
- DE LEEUW, P. W. et al. Sustained reduction of blood pressure with baroreceptor activation therapy: results of the 6-year open follow-up. **Hypertension**, v. 69, n. 5, p. 836-843, 2017. ISSN 0194-911X.
- DE O BRITO-MONZANI, J. et al. Hypertension induces additional cardiometabolic impairments and attenuates aerobic exercise training adaptations in fructose-fed ovariectomized rats. **Hypertension Research**, v. 41, n. 2, p. 88-95, 2018. ISSN 1348-4214.
- DE SIMONE, G. et al. Left ventricular mass predicts heart failure not related to previous myocardial infarction: the Cardiovascular Health Study. **European heart journal**, v. 29, n. 6, p. 741-747, 2008. ISSN 1522-9645.
- DINENNO, F. A. et al. Limb blood flow and vascular conductance are reduced with age in healthy humans: relation to elevations in sympathetic nerve activity and declines in oxygen demand. **Circulation**, v. 100, n. 2, p. 164-170, 1999. ISSN 0009-7322.
- DZHAMBOV, A. M.; DIMITROVA, D. D. Residential road traffic noise as a risk factor for hypertension in adults: Systematic review and meta-analysis of analytic studies published in the period 2011–2017. **Environmental Pollution**, v. 240, p. 306-318, 2018. ISSN 0269-7491.
- ESLER, M. D. et al. Aging effects on human sympathetic neuronal function. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 268, n. 1, p. R278-R285, 1995. ISSN 0363-6119.
- ETTEHAD, D. et al. Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet**, v. 387, n. 10022, p. 957-967, 2016. ISSN 0140-6736.
- FAISAL, S. A. et al. Levosimendan in cardiac surgery: evaluating the evidence. **Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia**, v. 33, n. 4, p. 1146-1158, 2019. ISSN 1053-0770.
- FARAH, V. et al. Comparison of three methods for the determination of baroreflex sensitivity in conscious rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 3, p. 361-369, 1999. ISSN 0100-879X.
- FARMAKIS, D. et al. Levosimendan beyond inotropy and acute heart failure: evidence of pleiotropic effects on the heart and other organs: an expert panel position paper. **International journal of cardiology**, v. 222, p. 303-312, 2016. ISSN 0167-5273.
- FEDELE, F. et al. Levosimendan improves renal function in acute decompensated heart failure: possible underlying mechanisms. **European journal of heart failure**, v. 16, n. 3, p. 281-288, 2014. ISSN 1388-9842.
- FERRARI, A. U. et al. Differential effects of aging on the heart rate and blood pressure influences of arterial baroreceptors in awake rats. **Journal of hypertension**, v. 9, n. 7, p. 615-621, 1991. ISSN 0263-6352.

FERREIRA, M. J. et al. Ovarian status modulates cardiovascular autonomic control and oxidative stress in target organs. **Biology of sex differences**, v. 11, p. 1-10, 2020.

FOLLATH, F. 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. **The Lancet**, v. 360, n. 9328, p. 196-202, 2002. ISSN 0140-6736.

FOROUZANFAR, M. H. et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **The Lancet**, v. 388, n. 10053, p. 1659-1724, 2016. ISSN 0140-6736.

FOROUZANFAR, M. H. et al. Global burden of hypertension and systolic blood pressure of at least 110 to 115 mm Hg, 1990-2015. **Jama**, v. 317, n. 2, p. 165-182, 2017. ISSN 0098-7484.

FUCHS, F. D.; WHELTON, P. K. High Blood Pressure and Cardiovascular Disease. **Hypertension**, p. HYPERTENSIONAHA. 119.14240, 2020. ISSN 0194-911X.

FUKUTA, H.; LITTLE, W. C. The cardiac cycle and the physiologic basis of left ventricular contraction, ejection, relaxation, and filling. **Heart failure clinics**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2008. ISSN 1551-7136.

G. B. D., G. B. O. D. G. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet (London, England)**, v. 385, n. 9963, p. 117-171, 2015. ISSN 0140-6736. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61682-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61682-2)>.

GALLO, G. et al. Natriuretic peptides, cognitive impairment and dementia: an intriguing pathogenic link with implications in hypertension. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 7, p. 2265, 2020.

GIACCONE, A. et al. Milrinone pharmacokinetics and pharmacodynamics in neonates with persistent pulmonary hypertension of the newborn. **American journal of perinatology**, v. 34, n. 8, p. 749, 2017.

GOLDMAN, R. K. et al. Baroreflex sensitivity varies during the rat estrous cycle: role of gonadal steroids. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 296, n. 5, p. R1419-R1426, 2009. ISSN 0363-6119.

GOLDSTRAW, P. et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. **Journal of thoracic oncology**, v. 2, n. 8, p. 706-714, 2007. ISSN 1556-0864.

GROSSINI, E. et al. Levosimendan inhibits peroxidation in hepatocytes by modulating apoptosis/autophagy interplay. **PLoS One**, v. 10, n. 4, p. e0124742, 2015. ISSN 1932-6203.

GUAZZI, M. D. et al. Disparate unloading efficacy of the calcium channel blockers, verapamil and nifedipine, on the failing hypertensive left ventricle. **American heart journal**, v. 108, n. 1, p. 116-123, 1984. ISSN 0002-8703.

HÄGGSTRÖM, J. et al. Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 5, p. 1124-1135, 2008. ISSN 0891-6640.

HAIKALA, H.; LINDÉN, I.-B. Mechanisms of action of calcium-sensitizing drugs. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 26, p. S10-9, 1995. ISSN 0160-2446.

HALL, M. E.; HALL, J. E. Pathogenesis of hypertension. **Hypertension: A Companion to Braunwald's Heart Disease E-Book**. Philadelphia: Elsevier, p. 33-51, 2017.

HASENFUSS, G. et al. Influence of the novel inotropic agent levosimendan on isometric tension and calcium cycling in failing human myocardium. **Circulation**, v. 98, n. 20, p. 2141-2147, 1998. ISSN 0009-7322.

HILLESTAD, V. et al. Long-term levosimendan treatment improves systolic function and myocardial relaxation in mice with cardiomyocyte-specific disruption of the Serca2 gene. **Journal of Applied Physiology**, v. 115, n. 10, p. 1572-1580, 2013. ISSN 8750-7587. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.01044.2012>>.

HOGARTH, A. J. et al. Sympathetic nerve hyperactivity and its effect in postmenopausal women. **Journal of hypertension**, v. 29, n. 11, p. 2167-2175, 2011. ISSN 0263-6352.

HOLLENBERG, S. M. Vasoactive drugs in circulatory shock. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 183, n. 7, p. 847-855, 2011. ISSN 1073-449X.

HOLME, M. R.; SHARMAN, T. Sodium nitroprusside. **StatPearls [Internet]**, 2020.

HÖNISCH, A. et al. Postconditioning with levosimendan reduces the infarct size involving the PI3K pathway and KATP-channel activation but is independent of PDE-III inhibition. **Basic research in cardiology**, v. 105, n. 2, p. 155-167, 2010. ISSN 0300-8428.

HUANG, H.-C. et al. Levosimendan mitigates coagulopathy and organ dysfunction in rats with endotoxemia. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 80, n. 7, p. 432-441, 2017. ISSN 1726-4901.

INVESTIGATORS, D. T. Effect of ramipril on the incidence of diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 15, p. 1551-1562, 2006. ISSN 0028-4793.

INVESTIGATORS, V. Intravenous nesiritide vs nitroglycerin for treatment of decompensated congestive heart failure: a randomized controlled trial. **Jama**, v. 287, n. 12, p. 1531-1540, 2002.

IRIGOYEN, M.-C. et al. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. **Hypertension**, v. 46, n. 4, p. 998-1003, 2005. ISSN 0194-911X.

IRIGOYEN, M. et al. Aging and baroreflex control of RSNA and heart rate in rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 279, n. 5, p. R1865-R1871, 2000. ISSN 1522-1490.

IRIGOYEN, M. C.; CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; KRIEGER, E. M. Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. **Rev Bras Hipertens**, v. 8, n. 1, p. 55-62, 2001.

ISHII, K.; MITSUHIRO, I.; MATSUKAWA, K. Differential contribution of aortic and carotid sinus baroreflexes to control of heart rate and renal sympathetic nerve activity. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 65, n. 5, p. 471-480, 2015. ISSN 1880-6562.

ISSA, F. C. et al. Brazilian Position Statement on Resistant Hypertension–2020. **Arq Bras Cardiol**, v. 114, n. 3, p. 576-596, 2020.

JACKSON, W. F. Potassium channels in the peripheral microcirculation. **Microcirculation**, v. 12, n. 1, p. 113-127, 2005. ISSN 1073-9688.

JAMES, P. A. et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). **Jama**, v. 311, n. 5, p. 507-520, 2014. ISSN 0098-7484.

JORGENSEN, K. et al. Effects of levosimendan on left ventricular relaxation and early filling at maintained preload and afterload conditions after aortic valve replacement for aortic stenosis. **Circulation**, v. 117, n. 8, p. 1075, 2008. ISSN 0009-7322.

KANEGAE, H.; OIKAWA, T.; KARIO, K. Should Pre-hypertension Be Treated? **Current hypertension reports**, v. 19, n. 11, p. 91, 2017. ISSN 1522-6417.

KEATING, G. M.; GOA, K. L. Nesiritide. **Drugs**, v. 63, n. 1, p. 47-70, 2003. ISSN 1179-1950.

KIVIKKO, M. et al. Pharmacokinetics of levosimendan and its metabolites during and after a 24-hour continuous infusion in patients with severe heart failure. **International journal of clinical pharmacology and therapeutics**, v. 40, n. 10, p. 465-471, 2002. ISSN 0946-1965.

KIVIKKO, M. et al. Oral levosimendan increases cerebral blood flow velocities in patients with a history of stroke or transient ischemic attack: a pilot safety study. **Current Therapeutic Research**, v. 77, p. 46-51, 2015. ISSN 0011-393X.

KIVIKKO, M.; LEHTONEN, L. Levosimendan: a new inodilatory drug for the treatment of decompensated heart failure. **Current pharmaceutical design**, v. 11, n. 4, p. 435-455, 2005. ISSN 1381-6128.

KIVIKKO, M.; LEHTONEN, L.; COLUCCI, W. S. Sustained hemodynamic effects of intravenous levosimendan. **Circulation**, v. 107, n. 1, p. 81-86, 2003. ISSN 0009-7322.

KOTSEVA, K. et al. EUROASPIRE IV: A European Society of Cardiology survey on the lifestyle, risk factor and therapeutic management of coronary patients from 24 European countries. **European journal of preventive cardiology**, v. 23, n. 6, p. 636-648, 2016. ISSN 2047-4873.

KRIEGER, E. M. 19. Neurogenic hypertension in. **Experimental and Genetic Models of Hypertension: Handbook of Hypertension**, p. 350, 2013. ISSN 1483162990.

KUNDRA, T. S. et al. Inhaled levosimendan versus intravenous levosimendan in patients with pulmonary hypertension undergoing mitral valve replacement. **Annals of cardiac anaesthesia**, v. 21, n. 3, p. 328, 2018.

KUO, T. B. et al. Effect of aging on gender differences in neural control of heart rate. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 277, n. 6, p. H2233-H2239, 1999. ISSN 1522-1539.

LEHTONEN, L. A. Levosimendan: a parenteral calcium-sensitising drug with additional vasodilatory properties. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 10, n. 5, p. 955-970, 2001. ISSN 1354-3784. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1517/13543784.10.5.955> >.

LI, L.-L. et al. Levosimendan Protects against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity by Regulating the PTEN/Akt Pathway. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020. ISSN 2314-6133.

LILLEBERG, J. et al. Duration of the haemodynamic action of a 24-h infusion of levosimendan in patients with congestive heart failure. **European journal of heart failure**, v. 9, n. 1, p. 75-82, 2007. ISSN 1388-9842.

LIMA, J. C. P. D. Revisão sistemática: controle neural da pressão arterial. 2017.

LOUHELAINEN, M. et al. Effects of calcium sensitizer OR-1986 on cardiovascular mortality and myocardial remodelling in hypertensive Dahl/Rapp rats. **Acta physiologica Polonica**, v. 12, n. 3, p. 41, 2009. ISSN 0044-6033.

LU, Y. et al. The ion channel ASIC2 is required for baroreceptor and autonomic control of the circulation. **Neuron**, v. 64, n. 6, p. 885-897, 2009. ISSN 0896-6273.

MACHI, J. F. et al. Impact of aging on cardiac function in a female rat model of menopause: role of autonomic control, inflammation, and oxidative stress. **Clinical Interventions in Aging**, v. 11, p. 341, 2016.

MAHAJAN, A.; PATNI, R.; GUPTA, V. Menopause and cardiovascular disease. **Journal of mid-life health**, v. 10, n. 2, p. 55, 2019. ISSN 0976-7800.

MALIK, V. et al. Effect of levosimendan on diastolic function in patients undergoing coronary artery bypass grafting: a comparative study. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 66, n. 2, p. 141-147, 2015. ISSN 0160-2446.

MANCIA, G. et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. **Arterial Hypertension**, v. 17, n. 2, p. 69-168, 2013. ISSN 2449-6162.

MANCIA, G.; GRASSI, G. The autonomic nervous system and hypertension. **Circulation research**, v. 114, n. 11, p. 1804-1814, 2014. ISSN 0009-7330.

MANCIA, G. et al. Factors involved in the discontinuation of antihypertensive drug therapy: an analysis from real life data. **Journal of hypertension**, v. 32, n. 8, p. 1708-1716, 2014. ISSN 0263-6352.

MANGINI, S. et al. Insuficiência cardíaca descompensada. **Einstein (São Paulo)**, v. 11, n. 3, p. 383-391, 2013. ISSN 1679-4508.

MANN, J. F. et al. Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. **The Lancet**, v. 372, n. 9638, p. 547-553, 2008. ISSN 0140-6736.

MARANON, R. O. et al. Postmenopausal hypertension: role of the sympathetic nervous system in an animal model. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 306, n. 4, p. R248-R256, 2014. ISSN 0363-6119.

- MEBAZAA, A. et al. Short-term survival by treatment among patients hospitalized with acute heart failure: the global ALARM-HF registry using propensity scoring methods. **Intensive care medicine**, v. 37, n. 2, p. 290-301, 2011. ISSN 1432-1238.
- MEYER, K. et al. Inotropic, vasodilating and preconditioning actions of levosimendan in the heart. **The Thoracic and cardiovascular surgeon**, v. 56, n. 07, p. 379-385, 2008. ISSN 0171-6425.
- MILLS, K. T.; STEFANESCU, A.; HE, J. The global epidemiology of hypertension. **Nature Reviews Nephrology**, v. 16, n. 4, p. 223-237, 2020. ISSN 1759-507X.
- MISSANT, C. et al. Levosimendan improves right ventriculovascular coupling in a porcine model of right ventricular dysfunction. **Critical care medicine**, v. 35, n. 3, p. 707-715, 2007. ISSN 0090-3493.
- MITCHELL, G. F. et al. Arterial stiffness and cardiovascular events: the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 121, n. 4, p. 505, 2010.
- MIYAGAWA, Y. et al. Comparison of the effects of long-term pimobendan and benazepril administration in normal cats. **Journal of Veterinary Medical Science**, p. 14-0673, 2016. ISSN 0916-7250.
- MOISEYEV, V. et al. Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction. A randomized, placebo-controlled, double-blind study (RUSSLAN). **European heart journal**, v. 23, n. 18, p. 1422-1432, 2002. ISSN 1522-9645.
- MORAES-SILVA, I. C. et al. Preventive role of exercise training in autonomic, hemodynamic, and metabolic parameters in rats under high risk of metabolic syndrome development. **Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 6, p. 786-791, 2013. ISSN 8750-7587.
- MOREIRA, E. D. et al. Effect of simvastatin in the autonomic system is dependent on the increased gain/sensitivity of the baroreceptors. **Physiol Rep**, v. 1, n. 3, p. e00045, Aug 2013. ISSN 2051-817X (Electronic)2051-817X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24303130> >.
- NADRUZ, W.; SHAH, A. M.; SOLOMON, S. D. Diastolic dysfunction and hypertension. **Medical Clinics**, v. 101, n. 1, p. 7-17, 2017. ISSN 0025-7125.
- NAN, F. et al. Levosimendan combined with epinephrine improves rescue outcomes in a rat model of lipid-based resuscitation from bupivacaine-induced cardiac arrest. **BMC anesthesiology**, v. 17, n. 1, p. 1-8, 2017. ISSN 1471-2253.
- NEGRAO, C. et al. Vagal function impairment after exercise training. **Journal of Applied Physiology**, v. 72, n. 5, p. 1749-1753, 1992. ISSN 8750-7587.
- NIEMINEN, M. S. et al. Hemodynamic and neurohumoral effects of continuous infusion of levosimendan in patients with congestive heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 36, n. 6, p. 1903-1912, 2000. ISSN 0735-1097. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(00\)00961-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(00)00961-X) >.
- O'CONNOR, C. M. 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). **American heart journal**, v. 138, n. 1, p. 78-86, 1999. ISSN 0002-8703.

OH, G. C.; CHO, H.-J. Blood pressure and heart failure. **Clinical Hypertension**, v. 26, n. 1, p. 1, 2020. ISSN 2056-5909.

OKADA, M. et al. Levosimendan inhibits interleukin-1 β -induced cell migration and MMP-9 secretion in rat cardiac fibroblasts. **European journal of pharmacology**, v. 718, n. 1-3, p. 332-339, 2013. ISSN 0014-2999.

OPARIL, S. et al. Hypertension. **Nat. Rev. Dis. Primers**, v. 4, 2018a. ISSN 2056-676X. _____. Hypertension. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, 2018b. ISSN 2056-676X.

ORGANIZATION, W. H. Global Health Observatory (GHO) data: raised blood pressure. 2018. **World Health Organization**, 2018.

ORME, R. M. L. E. et al. An efficacy and mechanism evaluation study of Levosimendan for the Prevention of Acute oRgan Dysfunction in Sepsis (LeoPARDS): protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2014. ISSN 1745-6215.

PACKER, M. et al. Development of a comprehensive new endpoint for the evaluation of new treatments for acute decompensated heart failure: results with levosimendan in the REVIVE 1 study. **Journal of Cardiac Failure**, v. 9, n. 5, p. S61, 2003. ISSN 1071-9164.

PAGEL, P.; HETTRICK, D.; WARLTIER, D. Comparison of the effects of levosimendan, pimobendan, and milrinone on canine left ventricular-arterial coupling and mechanical efficiency. **Basic research in cardiology**, v. 91, n. 4, p. 296-307, 1996. ISSN 1435-1803.

PAGEL, P. S. et al. Levosimendan enhances left ventricular systolic and diastolic function in conscious dogs with pacing-induced cardiomyopathy. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 29, n. 5, p. 563-573, 1997. ISSN 0160-2446.

PAL, G. K. et al. Cardiovascular dysfunctions and sympathovagal imbalance in hypertension and prehypertension: physiological perspectives. **Future cardiology**, v. 9, n. 1, p. 53-69, 2013. ISSN 1479-6678. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2217/fca.12.80> >.

PAPP, Z. et al. Levosimendan efficacy and safety: 20 years of SIMDAX in clinical use. **Cardiac failure review**, v. 6, 2020.

PAPP, Z. et al. Pharmacological mechanisms contributing to the clinical efficacy of levosimendan. **Cardiovascular drug reviews**, v. 23, n. 1, p. 71-98, 2005. ISSN 0897-5957.

PARISSIS, J. T. et al. Levosimendan for the treatment of acute heart failure syndromes. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 6, n. 15, p. 2741-2751, 2005. ISSN 1465-6566. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1517/14656566.6.15.2741> >.

PAVLOV, V. A.; TRACEY, K. J. The vagus nerve and the inflammatory reflex—linking immunity and metabolism. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 12, p. 743, 2012. ISSN 1759-5037.

PETRIE, J. R.; GUZIK, T. J.; TOUYZ, R. M. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: clinical insights and vascular mechanisms. **Canadian Journal of Cardiology**, v. 34, n. 5, p. 575-584, 2018. ISSN 0828-282X.

- PIERRAKOS, C. et al. Levosimendan in critical illness: a literature review. **Journal of clinical medicine research**, v. 6, n. 2, p. 75, 2014.
- RAFIQ, K. et al. Calcium Channel Blocker Enhances Beneficial Effects of an Angiotensin II AT 1 Receptor Blocker against Cerebrovascular-Renal Injury in type 2 Diabetic Mice. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e82082, 2013. ISSN 1932-6203.
- SÁNCHEZ-MANSO, J. C.; MUPPIDI, V.; VARACALLO, M. Autonomic Dysfunction. 2017.
- SANDEFUR, C. C.; JIALAL, I. Atrial Natriuretic Peptide. **StatPearls [Internet]**, 2020.
- SANDELL, E.-P. et al. Pharmacokinetics of levosimendan in healthy volunteers and patients with congestive heart failure. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 26, p. S57-62, 1995. ISSN 0160-2446.
- SANTIMARIA, M. R. et al. Arterial hypertension diagnostic and drug therapy failure among Brazilian elderly–FIBRA Study. **Ciencia & saude coletiva**, v. 24, p. 3733-3742, 2019. ISSN 1413-8123.
- SBC, S. B. D. C. 7a Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, p. 1-82, 2016.
- SCHEEREN, T. W. et al. Current use of inotropes in circulatory shock. **Annals of intensive care**, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2021. ISSN 2110-5820.
- SCOOTE, M.; WILLIAMS, A. J. Myocardial calcium signalling and arrhythmia pathogenesis. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 322, n. 4, p. 1286-1309, 2004. ISSN 0006-291X.
- SERAVALLE, G.; DELL'ORO, R.; GRASSI, G. Baroreflex activation therapy systems: current status and future prospects. **Expert review of medical devices**, v. 16, n. 12, p. 1025-1033, 2019. ISSN 1743-4440.
- SHANTSILA, A. et al. Influence of age on respiratory modulation of muscle sympathetic nerve activity, blood pressure and baroreflex function in humans. **Experimental physiology**, v. 100, n. 9, p. 1039-1051, 2015. ISSN 1469-445X.
- SHENG, Y.; ZHU, L. The crosstalk between autonomic nervous system and blood vessels. **International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology**, v. 10, n. 1, p. 17, 2018.
- SHIMOJO, G. L. et al. Combined aerobic and resistance exercise training improve hypertension associated with menopause. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 1471, 2018. ISSN 1664-042X.
- SLAWSKY, M. T. et al. Acute hemodynamic and clinical effects of levosimendan in patients with severe heart failure. **Circulation**, v. 102, n. 18, p. 2222-2227, 2000. ISSN 0009-7322.
- SONNTAG, S. et al. The calcium sensitizer levosimendan improves the function of stunned myocardium after percutaneous transluminal coronary angioplasty in acute myocardial ischemia. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 43, n. 12, p. 2177-2182, 2004. ISSN 0735-1097.
- SOUZA, S. B. et al. Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats. **Hypertension**, v. 50, n. 4, p. 786-791, 2007. ISSN 0194-911X.

STANFIELD, C. L. Fisiologia Humana. **São Paulo: Person Education do Brasil**, 2014.

STATISTICS, N. C. F. H. Health, United States, 2018. 2019.

STRATTON, J. R. et al. Effects of aging on cardiovascular responses to parasympathetic withdrawal. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 41, n. 11, p. 2077-2083, 2003. ISSN 0735-1097.

SUNDBERG, S. et al. Integrated pharmacokinetics and pharmacodynamics of the novel calcium sensitizer levosimendan as assessed by systolic time intervals. **International journal of clinical pharmacology and therapeutics**, v. 36, n. 12, p. 629-635, 1998. ISSN 0946-1965.

TACHIBANA, H. et al. Levosimendan improves LV systolic and diastolic performance at rest and during exercise after heart failure. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, n. 2, p. H914-H922, 2005. ISSN 0363-6135.

TAKAHASHI, R.; TALUKDER, M. H.; ENDOH, M. Effects of OR-1896, an active metabolite of levosimendan, on contractile force and aequorin light transients in intact rabbit ventricular myocardium. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 36, n. 1, p. 118-125, 2000. ISSN 0160-2446.

TAVARES-SILVA, M. et al. Comparison of levosimendan, NO, and inhaled iloprost for pulmonary hypertension reversibility assessment in heart transplant candidates. **ESC heart failure**, 2020. ISSN 2055-5822.

TRIPPODO, N.; FROHLICH, E. Similarities of genetic (spontaneous) hypertension. Man and rat. **Circulation research**, v. 48, n. 3, p. 309-319, 1981. ISSN 0009-7330.

TSAO, C.-M. et al. Levosimendan attenuates multiple organ injury and improves survival in peritonitis-induced septic shock: studies in a rat model. **Critical Care**, v. 18, n. 6, p. 1-12, 2014. ISSN 1364-8535. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-014-0652-4> >.

TYCIŃSKA, A. et al. Levosimendan in the treatment of patients with acute cardiac conditions: an expert opinion of the Association of Intensive Cardiac Care of the Polish Cardiac Society. **Kardiologia Polska**, v. 78, n. 7-8, p. 825-834, 2020. ISSN 0022-9032.

TZIAKAS, D. N. et al. Levosimendan use reduces matrix metalloproteinase-2 in patients with decompensated heart failure. **Cardiovascular drugs and therapy**, v. 19, n. 6, p. 399-402, 2005. ISSN 0920-3206.

URYGA, A. K.; BENNETT, M. R. Ageing induced vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. **The Journal of physiology**, v. 594, n. 8, p. 2115-2124, 2016. ISSN 0022-3751.

USTA, C. et al. The role of potassium channels in the vasodilatory effect of levosimendan in human internal thoracic arteries. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery**, v. 30, n. 2, p. 329-332, 2006. ISSN 1010-7940. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejcts.2006.05.019> >.

VAHTOLA, E. et al. Effects of levosimendan on cardiac gene expression profile and post-infarct cardiac remodelling in diabetic Goto-Kakizaki rats. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 109, n. 5, p. 387-397, 2011. ISSN 1742-7835.

VILAS-BOAS, F. Emprego de drogas vasoativas no manejo da insuficiência cardíaca descompensada. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio Grande do Sul [Internet]**, v. 8, n. 3, p. 1-7, 2004.

- VIRANI, S. S. et al. Heart disease and stroke statistics—2020 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 141, n. 9, p. e139-e596, 2020. ISSN 0009-7322.
- WADLEY, A. J.; VAN ZANTEN, J. J. V.; ALDRED, S. The interactions of oxidative stress and inflammation with vascular dysfunction in ageing: the vascular health triad. **Age**, v. 35, n. 3, p. 705-718, 2013. ISSN 1574-4647.
- WAGNER, S. et al. Septic cardiomyopathy in rat LPS-induced endotoxemia: relative contribution of cellular diastolic Ca²⁺ removal pathways, myofibrillar biomechanics properties and action of the cardiotonic drug levosimendan. **Basic Research in Cardiology**, v. 110, n. 5, 2015. ISSN 0300-8428. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00395-015-0507-4> >.
- WANG, J.-G. et al. Systolic and diastolic blood pressure lowering as determinants of cardiovascular outcome. **Hypertension**, v. 45, n. 5, p. 907-913, 2005. ISSN 0194-911X.
- WANG, Q. et al. Anti-Inflammatory Profile of Levosimendan in Cecal Ligation-Induced Septic Mice and in Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophages. **Critical care medicine**, v. 43, n. 11, p. 20, 2015. ISSN 0090-3493. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0000000000001269> >.
- WEINTRAUB, W. S.; COLE, J.; TOOLEY, J. F. Cost and cost-effectiveness studies in heart failure research. **American heart journal**, v. 143, n. 4, p. 565-576, 2002. ISSN 0002-8703.
- WERNER, A. et al. Changes in blood pressure control in aged rats. **Brazilian journal of medical and biological research= Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas**, v. 28, n. 5, p. 603-607, 1995. ISSN 0100-879X.
- WICHI, R. B. et al. A brief review of chronic exercise intervention to prevent autonomic nervous system changes during the aging process. **Clinics**, v. 64, n. 3, p. 253-258, 2009. ISSN 1807-5932.
- WIYSONGE, C. S. et al. Beta-blockers for hypertension. **Cochrane database of systematic reviews**, n. 1, 2017. ISSN 1465-1858.
- WULSIN, L. R. et al. Autonomic Imbalance as a Predictor of Metabolic Risks, Cardiovascular Disease, Diabetes, and Mortality. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 100, n. 6, p. 2443-2448, 2015. ISSN 0021-972X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2015-1748> >.
- YALAMUDI, K. Study of comparison between autonomic dysfunction and dyslipidemia in healthy postmenopausal women. **Journal of mid-life health**, v. 8, n. 3, p. 103, 2017.
- YAMAGUCHI, T. et al. Cardiac dopamine D1 receptor triggers ventricular arrhythmia in chronic heart failure. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2020. ISSN 2041-1723.
- YANG, F. et al. Levosimendan as a new force in the treatment of sepsis-induced cardiomyopathy: mechanism and clinical application. **Journal of International Medical Research**, v. 47, n. 5, p. 1817-1828, 2019. ISSN 0300-0605.
- YILDIZ, O. Vasodilating mechanisms of levosimendan: involvement of K⁺ channels. **Journal of pharmacological sciences**, v. 104, n. 1, p. 1-5, 2007. ISSN 1347-8613. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17452812> >.

YILDIZ, O. et al. Potassium Channel-Related Relaxation by Levosimendan in the Human Internal Mammary Artery. **The Annals of Thoracic Surgery**, v. 81, n. 5, p. 1715-1719, 2006. ISSN 0003-4975. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.athoracsur.2005.12.057> >.

YOKOSHIKI, H. et al. Levosimendan, a novel Ca²⁺ sensitizer, activates the glibenclamide-sensitive K⁺ channel in rat arterial myocytes. **European journal of pharmacology**, v. 333, n. 2-3, p. 249-259, 1997. ISSN 0014-2999.

9. ANEXOS:

9.1 COMITÊ DE ÉTICA:



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

CIAEP: 01.0341.2014



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada: "**EFEITO DO TRATAMENTO COM LEVOSIMENDAM SOBRE UM MODELO DE PRESSÃO ARTERIAL SISTÊMICA EM RATAS VELHAS SPONTANEOUSLY.**

HYPERTENSIVE RATS (SHR)", **Processo nº 23115.033898/2019-29**, sob a responsabilidade do **Prof.Dr. Cristiano Teixeira Mostarda**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 25/10/2019.

We certify that the proposal: "**EFFECT OF LEVOSIMENDAM ON A SYSTEMIC BLOOD PRESSURE MODEL IN OLD FEMALE RATS SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS (SHR)**", **Process n. 23115.033898/2019-29**, under the responsibility of **Prof. Dr. Cristiano Teixeira Mostarda**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of 10/25/2019.

Finalidade da Proposta: Pesquisa Área: Ciências da Saúde- Vigência da Proposta: 01/12/2019 a 02/06/2020.

Origem: Biotério Central da UFMA Amostra: 45 animais

Idade: 12 meses - Sexo: Fêmeas

Espécie: Ratos; Peso: 250-300 g; (Rattus norvegicus) Linhagem/Raça: Wistar SHR

Local do experimento: Biotério setorial da Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS/UFMA.

São Luís, 19 de novembro de 2019.

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho

Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/UFMA