MINISTÉRIO DA SAÚDE
GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO
GERÊNCIA DE ENSINO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS PARA O SUS
MESTRADO PROFISSIONAL EM AVALIAÇÃO E PRODUÇÃO DE TECNOLOGIAS PARA O SUS

KATHIZE BETTI LIRA

COMPARAÇÃO ENTRE AS SOLUÇÕES CARDIOPLÉGICAS DE LONGA DURAÇÃO NA PROTEÇÃO MIOCÁRDICA: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO CEGO

PORTO ALEGRE
2023

MINISTÉRIO DA SAÚDE
GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO
GERÊNCIA DE ENSINO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS PARA O SUS
MESTRADO PROFISSIONAL EM AVALIAÇÃO E PRODUÇÃO DE TECNOLOGIAS PARA O SUS

KATHIZE BETTI LIRA

COMPARAÇÃO ENTRE AS SOLUÇÕES CARDIOPLÉGICAS DE LONGA DURAÇÃO NA PROTEÇÃO MIOCÁRDICA: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO CEGO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Avaliação de Tecnologias para o SUS, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre do curso de Mestrado Profissional em Avaliação e Produção de Tecnologias para o SUS.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana S. de Almeida
Coorientadores: Profa. Dra. Luciane Kopittke e Prof. Dr. Fernando Anschau

PORTO ALEGRE
2023

PPG ATSUS-GHC

ATA DE DEFESA PÚBLICA DE MESTRADO PROFISSIONAL

No dia vinte e um do mês de outubro do ano dois mil e vinte e três, às 09 horas na sala 23 da Escola GHC, situada na rua Francisco Trein, 326, realizou-se a sessão pública de defesa de trabalho de conclusão de curso, intitulado: "Comparação entre as Soluções Cardioplégicas de Longa Duração na Proteção Miocárdica: Ensaio Clínico Randomizado Duplo Cego", de autoria da candidata KATHIZE BETTI LIRA, aluna do Programa de Pós-Graduação em Avaliação de Tecnologias para o SUS do GHC (PPGATSUS), em nível de Mestrado Profissional. A Comissão Examinadora esteve constituída pelos(as) Doutores(as): Drª. Estefania Inez Wittke, Dr. André Prato Schimidt, Drª Andréia Martins Specht e Drª Adriana Silveira de Almeida, na qualidade de orientadora. Concluídos os trabalhos de apresentação e arguição, os membros da banca consideraram o trabalho de conclusão de curso:

☒ aprovado
☐ reprovado

Banca Examinadora:

Estefania I. Wittke

Drª Estefania Inez Wittke

Andréia Specht

Drª. Andréia Martins Specht

Documento assinado digitalmente
gov.br ANDRE PRATO SCHMIDT
Data: 23/10/2023 11:10:45-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Dr. André Prato Schimidt

AGRADECIMENTOS

Minha gratidão a todos aqueles que, de alguma forma, fizeram parte dessa jornada. Primeiramente, aos pacientes que participaram dessa pesquisa e a tornaram factível, sem eles isso não seria possível. A todos os profissionais envolvidos na execução, como equipes de enfermagem, laboratório, patologia, cardiologia e, também, ao Hospital Nossa Senhora da Conceição, que possibilitaram e fomentaram a pesquisa na Instituição. A todos os envolvidos no PPG em Avaliação de Tecnologias para o SUS – GHC, que tornam esse programa cada vez melhor, meu muito obrigada.

Agradecimento e todo respeito à minha orientadora, Profa. Dra. Adriana S. de Almeida, que me incentivou a participar do mestrado e a realizar esta pesquisa. Aos meus coorientadores, Profa. Dra. Luciane Kopittke e Prof. Dr. Fernando Anschau, que me deram todo o apoio, com a *expertise* no assunto.

Por fim, agradeço a Deus e à minha família pelo suporte e compreensão nos momentos de ausência, sempre me amparando e me fazendo lembrar dos meus ideais, permitindo seguir em frente e não desistir.

RESUMO

COMPARAÇÃO ENTRE AS SOLUÇÕES CARDIOPLÉGICAS DE LONGA DURAÇÃO NA PROTEÇÃO MIOCÁRDICA: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO CEGO

Introdução: A proteção miocárdica é essencial para o sucesso da cirurgia cardíaca e a busca por uma solução cardioplégica ideal continua desde o seu início. Neste contexto, Custodiol® (HTK), del Nido (DN) e del Nido modificado (DNM) são soluções cardioplégicas de dose única com bons perfis de segurança e grande relevância na prática cirúrgica moderna. Embora todas essas soluções tenham sido avaliadas por seu impacto nos resultados dos pacientes de forma independente, existem pesquisas limitadas comparando-as diretamente. **Objetivo:** Avaliar os efeitos das três soluções cardioplégicas de longa ação na proteção miocárdica, considerando avaliação clínica, laboratorial e histológica em pacientes adultos submetidos à cirurgia cardiovascular eletiva. **Métodos:** Ensaio clínico randomizado duplo cego comparando desfechos entre três grupos de pacientes com base na solução cardioplégica utilizada. Foram randomizados 99 pacientes para receber HTK, DN ou DNM. Exames laboratoriais foram coletados na linha de base e 2, 12 e 24 horas após o término da circulação extracorpórea (CEC). As biópsias do miocárdio foram coletadas antes da CEC e após 15 minutos de reperfusão. Os desfechos clínicos foram avaliados no transoperatório e durante a internação hospitalar. **Resultados:** Os pacientes que receberam a solução DN apresentaram valores mais baixos de troponina T ultrassensível (TnTc-us) 2h após o término da CEC ($p=0,028$). HTK e DN apresentaram comportamentos semelhantes em 12 e 24h após a CEC, sendo que o grupo DNM teve a maior queda dos valores em 24h. Àqueles que receberam HTK ou DN foram submetidos a mais transfusões de hemoderivados durante a cirurgia ($p=0,008$). O grupo que recebeu HTK apresentou valores significativamente mais baixos de sódio e de potássio em 2h ($p=0,049$ e $p=0,002$, respectivamente), sendo que o potássio persistiu com esse comportamento até 24h após a CEC ($p<0,05$). As variações da função ventricular foram semelhantes entre os grupos. Não houve correlação entre a TnTc-us e as alterações teciduais. Os demais aspectos foram semelhantes entre os grupos, incluindo mortalidade. **Conclusões:** As três soluções cardioplégicas utilizadas no estudo demonstraram proteção miocárdica semelhante pelos parâmetros estudados, não havendo diferença significativa na maioria dos achados intra e pós-operatório. Não foi encontrado relação dos valores da TnTc-us com a análise estrutural histológica miocárdica.

Palavras-chave: Solução cardioplégica; proteção miocárdica; solução de Bretschneider; solução del Nido, del Nido modificado.

ABSTRACT

COMPARISON BETWEEN LONG-TERM CARDIOPLEGIC SOLUTIONS IN MYOCARDIAL PROTECTION: A DOUBLE-BLIND RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

Introduction: Myocardial protection is essential for the success of cardiac surgery, and the search for an ideal cardioplegic solution has continued since its invention. In this context, Custodiol® (HTK), del Nido (DN), and modified del Nido (DNM) are single-dose cardioplegic solutions with good safety profiles and significant relevance in modern surgical practice. While all these solutions have been independently evaluated for their impact on patient outcomes, there is limited research comparing them directly. **Objective:** To assess the effects of three long-acting cardioplegic solutions on myocardial protection, considering clinical, laboratory, and histological evaluations in adult patients undergoing elective cardiovascular surgery. **Methods:** A double-blind randomized clinical trial comparing outcomes among three patient groups based on the cardioplegic solution used. A total of 99 patients were randomized to receive HTK, DN, or DNM. Laboratory tests were collected at baseline and at 2, 12, and 24 hours after the end of cardiopulmonary bypass (CPB). Myocardial biopsies were obtained before CPB and after 15 minutes of reperfusion. Clinical outcomes were assessed intraoperatively and during hospitalization. **Results:** Patients who received DN solution had significantly lower levels of high-sensitivity troponin T (hs-cTnT) 2 hours after the end of CPB ($p=0.028$). HTK and DN exhibited similar behaviors at 12 and 24 hours after CPB, with the DNM group experiencing the greatest drop in values at 24 hours. Those who received HTK or DN required more blood transfusions during surgery ($p= 0.008$). The group that received HTK had significantly lower serum sodium and potassium values at 2 hours ($p=0.049$ and $p=0.002$, respectively), with potassium maintaining this behavior up to 24 hours after CPB ($p<0.05$). Ventricular function variations were similar among the groups. There was no correlation between hs-cTnT levels and tissue changes. The remaining aspects were similar among the groups, including mortality. **Conclusions:** The three cardioplegic solutions used in the study demonstrated similar myocardial protection based on the parameters studied, with no significant differences in most intraoperative and postoperative findings. There was no correlation between hs-cTnT values and histological myocardial structural analysis.

Keywords: Cardioplegic solution; myocardial protection; Bretschneider solution; del Nido solution, modified del Nido.

LISTA DE ABREVIATURAS

HTK – Histidina-Triptofano-Cetoglutarato.

DN – del Nido.

DNM – del Nido modificado.

ATP – Adenosina trifosfato.

IAM – Infarto agudo do miocárdio.

CRM – Cirurgia de revascularização do miocárdio.

DM – Diabetes mellitus.

HAS – Hipertensão arterial sistêmica.

TnTc-us – Troponina T cardíaca ultrassensível.

TnT – Troponina T cardíaca.

CK – Creatinoquinase.

PCR – Proteína C Reativa.

NYHA – *New York Heart Association.*

SPIRIT – *Standard Protocol Items for Randomized Trials.*

CONSORT – *Consolidated Standards of Reporting Trials.*

IMC – Índice de massa corporal.

AVC – Acidente vascular cerebral.

DPOC – Doença pulmonar obstrutiva crônica.

FA – Fibrilação atrial.

MP – Marcapasso.

DVAs – Drogas vasoativas.

VM – Ventilação mecânica.

BIA – Dispositivo de assistência circulatória mecânica (Balão intra-aórtico).

STS score – *Society of Thoracic Surgeons score.*

EuroSCORE-2 – *European System for Cardiac Operative Risk Evaluation score – 2.*

SPSS – Statistical *Package for the Social Sciences.*

ISHLT – *The International Society for Heart and Lung Transplantation.*

ReBEC – Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos.

UTI – Unidade de terapia intensiva.

HR – *Hazard Ratio*.

BMJ – *British Medical Journal.*

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Fluxograma: CONSORT *statement*..... **23**
Figura 2. Lista de verificação de recomendações para protocolos de estudo de ensaios intervencionistas (SPIRIT)..... **27**
Figura 3. Classificação ISHLT 2005..... **30**
Figura 4. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável troponina T ultrassensível..... **35**
Figura 5. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável creatinoquinase..... **38**
Figura 6 Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável proteína C reativa..... **39**
Figura 7. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável glicemia..... **39**
Figura 8. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável lactato..... **40**
Figura 9. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável leucócitos..... **40**
Figura 10. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável pH..... **41**
Figura 11. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável bicarbonato..... **41**
Figura 12 Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável sódio..... **42**
Figura 13. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável potássio..... **42**
Figura 14. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável cálcio..... **43**
Figura 15. Fragmentos A e B do miocárdio à microscopia óptica..... **44**
Figura 16. Curva de Kaplan-Meier para avaliação da probabilidade de sobrevida..... **47**
Figura 17. Curva de Kaplan-Meier ajustada para avaliação da probabilidade de sobrevida..... **47**
Tabela 1. Composição da solução Custodiol®..... **18**

Tabela 2. Composição da solução del Nido..... **19**
Tabela 3. Composição da solução del Nido modificado..... **19**
Tabela 4. Descrição das características demográficas e condições clínicas dos pacientes por grupo do estudo..... **34**
Tabela 5. Comparação entre as soluções e os exames laboratoriais em 4 momentos diferentes..... **36**
Tabela 6. Avaliação do grau de lesão (ISHLT 2005) conforme os grupos das soluções..... **43**
Tabela 7. Comparação dos níveis de troponina de acordo com o grau de lesão miocárdica de acordo com a classificação do ISHLT 2005..... **44**
Tabela 8. Distribuição das variáveis no intraoperatório de acordo com as soluções cardioplégicas utilizadas..... **45**
Tabela 9. Distribuição das variáveis e características clínicas na UTI..... **45**
Tabela 10. Distribuição das variáveis e características clínicas no pós-operatório..... **46**

SUMÁRIO

1 OBJETIVOS.....14
1.0 OBJETIVO PRINCIPAL 14
1.1 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS 14
2 INTRODUÇÃO 15
2.0 CARDIOPLEGIA 15
2.0.1 SOLUÇÃO CARDIOPLÉGICA CRISTALOIDE 15
2.0.2 CARDIOPLEGIA SANGUÍNEA 16
2.1 SOLUÇÃO DE BRETSCHNEIDER 16
2.2 SOLUÇÃO DEL NIDO E DEL NIDO MODIFICADO 17
3 REVISÃO DA LITERATURA 20
4 METODOLOGIA 23
4.0 DELINEAMENTO DO ESTUDO 23
4.1 AMOSTRA 23
4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO 24
4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO 24
4.4 VARIÁVEIS EM ESTUDO 24
4.5 COLETA DE DADOS 25
4.6 INDUÇÃO ANESTÉSICA 26
4.7 RECRUTAMENTO, INTERVENÇÕES E AVALIAÇÕES 26
4.8 PROTEÇÃO MIOCÁRDICA: PREPARO E MANUSEIO DAS SOLUÇÕES 27
4.9 BIÓPSIA DE MIOCÁRDIO 28
4.9.1 CLASSIFICAÇÃO ISHLT 2005.....29
4.10 CEGAMENTO E ADJUDICAÇÃO DE EVENTOS INDEPENDENTES 30
4.11 IMPLEMENTAÇÃO DO ESTUDO 31
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA 31
4.13 MONITORAMENTO DE SEGURANÇA E DADOS 32
4.14 ASPECTOS ÉTICOS 33
5 RESULTADOS.....34
6 DISCUSSÃO 48
7 LIMITAÇÕES 53
8 CONCLUSÃO 54
REFERÊNCIAS.....55
9 PRODUTO TÉCNICO (FLUXOGRAMA ASSISTENCIAL) 61
10 ARTIGO CIENTÍFICO.....62
ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DA ÉTICA E PESQUISA 84
ANEXO B – FICHA DE COLETA DE DADOS.....92
ANEXO C –TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E SCLARECIDO.....100
ANEXO D – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BMJ.....103
ANEXO E – APROVAÇÃO NO REBEC 110
ANEXO E – PUBLICAÇÃO DO PROTOCOLO DA PESQUISA 1 111
ANEXO E – PUBLICAÇÃO DO PROTOCOLO DA PESQUISA 2 119

APRESENTAÇÃO

Devido aos recentes avanços das técnicas cirúrgicas, além das comorbidades inerentes ao aumento da idade da população, em alguns casos pode ser difícil determinar a melhor estratégia de proteção miocárdica para pacientes com indicação de cirurgia cardiovascular.

Modernamente e com o advento das cirurgias cardíacas minimamente invasivas, tem aumentado o uso das soluções cardioplégicas de dose única na proteção do miocárdio durante a parada cardíaca induzida na cirurgia, principalmente Custodiol® (HTK), del Nido (DN) e del Nido modificado (DNM).

O HTK tem sido utilizado na preservação de órgãos para transplantes e como primeira escolha em alguns centros de cirurgia cardíaca, sendo limitado em muitos locais pelo alto custo. A solução cardioplégica de DN tem sido muito usada em cirurgia cardíaca de congênitos por mais de 20 anos e, mais recentemente, em adultos em decorrência dos seus bons resultados. Devido à falta de disponibilidade do Plasma Lyte, em alguns centros, alguns serviços utilizam uma solução modificada, substituindo o Plasma Lyte por Ringer Lactato como solução base, de forma a viabilizar o uso de uma cardioplegia de dose única em locais onde a primeira não é disponibilizada, com claros benefícios aos pacientes e institucionais.

Até o momento, não há evidências conclusivas sobre vantagens ou desvantagens de uma das soluções cardioplégicas de dose única sobre as outras. A padronização do método ou tipo ideal de solução ainda é controverso devido à escassez de estudos com delineamento claro comparando desfechos com a utilização dessas três soluções.

Também, os gastos em saúde vêm crescendo de forma significativa, constituindo-se em uma preocupação da Organização Mundial da Saúde. Conforme dados do Ministério da Saúde, a evolução dos gastos com a saúde tem preocupado os governos, uma vez que, em muitos casos, esse aumento é superior à inflação e ao crescimento do Produto Interno Bruto – PIB, o que torna de fundamental importância justificar a utilização e incorporação das tecnologias em saúde. Os componentes de efetividade e de custos precisam ser uma estimativa local, que pode ser bastante diversa daquela observada em diferentes países e por isso merecem uma atenção especial.

Desta forma, os autores desenharam este ensaio clínico randomizado, cuidadosamente desenvolvido no Hospital Nossa Senhora da Conceição, para comparar desfechos laboratoriais e clínicos entre as três soluções cardioplégicas de dose única relacionados à proteção miocárdica. Esta pesquisa faz parte de uma série de estudos que serão realizados no Hospital para o desenvolvimento dos protocolos assistenciais do Serviço de Cirurgia Cardiovascular da Instituição.

1 OBJETIVOS

1.0 Objetivo Principal

Avaliar os efeitos de três soluções cardioplégicas de longa duração na proteção miocárdica através dos níveis séricos de troponina T ultrassensível.

1.1 Objetivos secundários

1. Avaliar indicadores clínicos indiretos na proteção miocárdica nos períodos intra e pós-operatório: arritmias, alterações da função ventricular, cardiodesfibrilação, uso de drogas vasoativas e necessidade de suporte hemodinâmico com balão intra-aórtico (BIA).
2. Apresentar outros desfechos clínicos intra e pós-operatório: avaliação laboratorial global, tempo de ventilação mecânica e de permanência na unidade de tratamento intensivo (UTI) e hospitalar, incidência de fibrilação (FA) ou *flutter* atrial, infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular cerebral (AVC), transfusões de hemoderivados e mortalidade.
3. Analisar os efeitos dessas soluções cardioplégicas nas alterações histológicas e comparar esses achados com os níveis de troponina sérica.

2 INTRODUÇÃO

2.0 Cardioplegia

Os procedimentos de cirurgia cardíaca geralmente envolvem o uso de circulação extracorpórea (CEC) e parada cardíaca. Em consequência, a proteção miocárdica é essencial. A proteção inadequada pode causar atordoamento do miocárdio, apoptose celular e infarto[1].

A cardioplegia é um componente fundamental da maioria dos procedimentos cirúrgicos cardíacos, fornecendo proteção ao coração, limitando a atividade metabólica e aumentando a capacidade do miocárdio de resistir a isquemia por períodos prolongados, sendo essencial para um bom resultado cirúrgico. Portanto, uma solução cardioplégica confiável deve alcançar uma proteção miocárdica bem-sucedida[1].

A busca por uma solução cardioplégica ideal continua desde o início da cirurgia cardíaca. Muitas soluções estão disponíveis comercialmente, mas, no entanto, não existem diretrizes referentes ao uso de uma solução específica e a literatura não confirma claramente a superioridade de uma sobre a outra[1]. Isso pode ser devido à falta de estudos comparativos de eficácia, levando a falta de padronização, o que deve ser motivo de preocupação na era da medicina embasada em evidências.

O Dr. Sealy e colegas, de Durham, usaram pela primeira vez o termo “cardioplegia” na década de 1950[2]. Desde sua descoberta, a cardioplegia entrou e saiu em desuso, seus componentes foram manipulados e muitas técnicas foram utilizadas. A cardioplegia cristaloide, como solução de Bretschneider ou Custodiol®, e a cardioplegia sanguínea, incluindo a solução de DN e microplegia, são todas comumente usadas e oferecem proteção miocárdica adequada.

Em geral, são descritos dois tipos de cardioplegia: cristaloide e sanguínea[1,2].

2.0.1 Solução cardioplégica cristaloide

As soluções cardioplégicas cristaloides contêm concentração de potássio na faixa entre 10 e 40 mmol/L (mEq/L) e, geralmente, apresentam alta capacidade de tamponamento (bicarbonato). Existem vários tipos de soluções, comerciais e de fabricação própria. Podem ser divididas em intracelulares, tipicamente caracterizadas

pela ausência ou baixas concentrações de sódio e cálcio, ou extracelulares, caracterizadas por maiores concentrações de sódio, cálcio e magnésio.

2.0.2 Cardioplegia sanguínea

A cardioplegia sanguínea fria é, provavelmente, a solução mais utilizada no mundo. Existem várias formulações. O sangue autólogo do circuito cardiopulmonar é misturado com solução cristaloide. Uma alta concentração de potássio (> 30 mEq/L) é usada para parar o coração. Os aditivos incluem, por exemplo, citrato-fosfato-dextrose (CPD), tri-hidroximetila-aminometano (THAM) ou bicarbonato. As proporções mais comuns de sangue:cristalóide são de 4:1 ou 8:1. A temperatura de entrega é de 4 a 12 ° C.

A cardioplegia sanguínea aquecida, geralmente administrada adicionalmente a outro método cardioprotetor como um "tiro quente", com administração única logo após o clampeamento aórtico, a qual visa melhorar a recuperação do miocárdio após sua retirada.

A cardioplegia sanguínea morna, com temperatura, originalmente, de 29°C, revelou, em alguns estudos, excelentes recursos na redução da liberação anaeróbica do lactato[3]. Seu papel ainda não foi confirmado em grandes estudos multicêntricos.

Apesar de uma infinidade de soluções cardioplégicas disponíveis comercialmente, não foi alcançado um consenso claro sobre a composição ou técnica ideal para usá-las[4]. O uso de soluções baseadas em sangue tem sido associado a reduções significativas nas enzimas cardíacas perioperatórias e mediadores de reperfusão. No entanto, esses estudos falharam em demonstrar diferenças nos resultados clínicos. Heterogeneidade na temperatura de entrega, frequência de dosagem e a composição do substrato dificultam a avaliação das soluções.

2.1 Solução de Bretschneider

A solução de Bretschneider, comumente conhecida como solução de HTK (histidina-triptofano-cetoglutarato) ou Custodiol®, foi concebida como uma alternativa às soluções cardioplégicas hipercalêmicas cristaloides[5,6] usada por alguns centros para proteção miocárdica em cirurgia cardíaca complexa e para preservação de

órgãos em cirurgias de transplante, sendo utilizada como primeira escolha em muitos países europeus. Administrado em dose única, afirma-se que oferece proteção miocárdica por um período de até três horas, permitindo a realização de procedimentos sem interrupção[7,8].

Essa solução foi descrita por Bretschneider na década de 1970 e classificada como cardioplegia cristaloide intracelular devido ao seu baixo teor de potássio, sódio e cálcio. A depleção de sódio do espaço extracelular provoca uma hiperpolarização da membrana plasmática dos miócitos, induzindo parada cardíaca segura na diástole. Esse é um mecanismo de ação diferente das soluções cardioplégicas "extracelulares" convencionais, que apresentam alto teor de potássio na sua formulação e causam parada por despolarização da membrana. De acordo com Chambers *et al*[9], a parada polarizada ou hiperpolarizada pode ser considerada mais fisiológica, pois mantém o potencial de membrana próximo ao de repouso, resultando na redução da demanda metabólica do músculo cardíaco durante a isquemia. Ainda, esse tipo de solução reduz os danos resultantes das hipercontraturas que são associadas a hipercalemia.

Os componentes do HTK estão listados na Tabela 1[5]. Um alto teor de histidina ameniza a acidose causada pelo acúmulo de metabólitos anaeróbicos durante o longo período isquêmico; o cetoglutarato melhora a produção de ATP durante o processo de reperfusão; o triptofano estabiliza a membrana da célula e o manitol reduz o edema celular e atua eliminando radicais livres.

2.2 Solução del Nido e del Nido modificado

A cardioplegia DN foi desenvolvida por Pedro del Nido e sua equipe na Universidade de Pittsburgh nos anos 1990[1,4,10,11]. Usada para cirurgia cardíaca pediátrica no Hospital Infantil de Boston desde 1994 e, desde 2003, tem sido usada com sucesso, também, em adultos[1,12–17].

Comumente chamada de "solução del Nido", é uma solução extracelular mista de sangue e cristaloide (1:4) que permite uma maior duração da parada isquêmica miocárdica segura, reduzindo o consumo de energia, bloqueando o fluxo de cálcio no ambiente intracelular, eliminando íons hidrogênio, preservando fosfatos de alta energia e promovendo a glicólise anaeróbica[1,4,18,19]. Uma dose de 20 mL/Kg é calculada para obter a proteção ideal do miocárdio por 90 min. A pressão de

administração é de 100 a 200 mmHg e o fluxo de administração é de 200 a 300 mL/min. Sua concentração de potássio é superior a 25 mEq/L(1).

A base cristaloide da solução inclui Plasma Lyte (Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL, EUA) ou Plasmafundin (Laboratórios B. Braun S.A., São Gonçalo, RJ, Brasil) ou PlasmaIstar (Halex Istar Indústria Farmacêutica S/A, Goiânia, GO, Brasil), que possuem composição eletrolítica semelhante ao fluido extracelular e livre de cálcio, adicionado a manitol, sulfato de magnésio, bicarbonato, potássio e lidocaína, como pode ser visto na Tabela 2[1,4], sendo que cada componente tem uma função importante na estratégia de cardioproteção. O sulfato de magnésio e a lidocaína contribuem para um período prolongado de parada em diástole seguro, através do bloqueio dos canais de cálcio e sódio, respectivamente[4,19,20]. Essas propriedades são responsáveis por manter níveis de pH intracelulares e fornecer mais de 90 minutos de isquemia miocárdica segura[4]. O manitol tem capacidade de eliminar os radicais livres e reduzir o edema devido às suas capacidades hiperosmóticas[21]. O bicarbonato de sódio elimina íons hidrogênio e mantém o pH intracelular e o cloreto de potássio proporciona uma rápida parada despolarizada em diástole[1].

Infelizmente, em muitos países, a indisponibilidade do Plasma Lyte impede a utilização da cardioplegia DN com sua solução básica normal em muitos centros de cirurgia cardiovascular. Desta forma, para acessar os benefícios dessa solução, poder-se-ia utilizar a solução de ringer com lactato como solução básica, conhecida por solução de del Nido modificada, conforme Tabela 3[22].

Tabela 1. Componentes do Custodiol®.

Formulação	Valores
Na+	15 mmol/L
K+	9 mmol/l
Mg2+	4 mmol/L
Ca2+	0,015 mmol/L
Histidina	198 mmol/L
Triptofano	2 mmol/L
Cetoglutarato	1 mmol/L
Manitol	30 mmol/L
pH	7,02-1,20

Fonte: GROENEWOUD, 1990.

Tabela 2. Solução de del Nido.

Formulação	Volume (mL)	Função
Plasma Lyte Plasmafundin PlasmaIstar	1.000	Solução base (sódio 140 mEq/L; potássio 5 mEq/L; magnésio 3 mEq/L; cloreto 98 mEq/L; acetato 27 mEq/L; gluconato 23 mEq/L; pH 7,4)
Manitol 20%	16,3	Pressão osmótica Antirradicais livres
$MgSO_4$ 50%	4	Bloqueador dos canais de cálcio / Recuperação miocárdica
$NaHCO_3$ 8,4%	13	Solução tampão
KCl 2 mEq/ml	13	Despolarização miocárdica rápida
Lidocaína 1%	13	Bloqueador do canal de sódio / Agente hiperpolarizante

Fonte: SANETRA, 2018.

Tabela 3. Solução de del Nido modificado.

Formulação	Volume (mL)	Função
Solução de Ringer Lactato	1000	Solução base
Manitol 20%	16,3	Pressão osmótica / Antirradicais livres
$MgSO_4$ 50%	4	Bloqueador dos canais de cálcio / Recuperação miocárdica
$NaHCO_3$ 8,4%	13	Solução tampão
KCl 2 mEq/ml	13	Despolarização miocárdica rápida
Lidocaína 1%	13	Bloqueador do canal de sódio Agente hiperpolarizante

Fonte: KANTATHUT, 2019.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Embora a natureza das soluções cardioplégicas DN e HTK seja distinta em relação aos seus veículos, sanguíneo e cristaloide respectivamente, ou de suas composições eletrolíticas, extracelular e intracelular respectivamente, ambas estão associadas com a administração segura em dose única e são capazes de preservar o miocárdio por um longo período na isquemia durante a CEC[7,10,23]. Contudo, os mecanismos envolvidos neste processo ainda não são completamente conhecidos.

Talwar *et al*[24] randomizaram 100 pacientes pediátricos, submetidos à correção cirúrgica eletiva de tetralogia de Fallot entre 2017 e 2018, para receber solução cardioplégica de DN ou HTK. A primeira foi associada à melhor preservação do índice cardíaco, menor tempo de ventilação mecânica, menor tempo de permanência na UTI e hospitalar, melhor débito cardíaco, escores inotrópicos mais baixos e menor liberação de troponina I. A microscopia eletrônica evidenciou menos edema do miocárdio e melhor preservação da arquitetura miofibrilar e armazenamento de glicogênio no grupo que recebeu DN. Os mesmos autores, ainda, realizaram um estudo semelhante comparando DN e DNM, não observando diferença estatisticamente significativa nas variáveis avaliadas, como troponina I, arritmias ventriculares, microscopia miocárdica e tempo de internação hospitalar[25]. Em outro ensaio clínico, também comparando HTK e DN, Mehrabanian *et al*[26] randomizaram 40 pacientes para receber uma dessas soluções cardioplégicas, concluindo que ambas também oferecem uma proteção miocárdica efetiva e comparável durante a CEC em adultos, sendo que as reoperações estão associadas a tempos mais longos de camp aórtico e de CEC.

Sorabella *et al*[27] investigaram o uso da cardioplegia DN na cirurgia valvar aórtica em adultos. Isso incluiu 113 pacientes divididos em grupos DN e cardioplegia sanguínea convencional. Não houve diferenças no tempo de pinçamento aórtico e de CEC, na taxa de complicações pós-operatórias ou nos resultados cirúrgicos entre os grupos.

A proteção miocárdica adequada da cardioplegia DN, independentemente da massa ventricular e do tempo isquêmico do miocárdio em pacientes adultos, foi avaliada por Kim *et al*[28]. Neste estudo com desenho retrospectivo, a desfibrilação espontânea foi alcançada com mais frequência no grupo DN quando comparado ao grupo de cardioplegia sanguínea convencional. O nível do pico e das alterações

seriadas de troponina-I não foram significativamente diferentes entre os dois grupos (p>0,05).

Um ensaio clínico norte americano[29] foi desenhado para comparar desfechos entre 41 e 48 pacientes adultos randomizados para receber as soluções cardioplégicas sanguínea total e DN, respectivamente, durante a CEC em uma primeira cirurgia valvar e de revascularização miocárdica (CRM). As características pré-operatórias foram semelhantes entre os grupos, incluindo idade, escore de risco e tipo de cirurgia. Não houve diferença significativa em relação ao tempo de CEC ou ao tempo de clampeamento aórtico (p>0,050). O grupo que recebeu DN apresentou maior tendência a retorno ao ritmo normal espontaneamente após a abertura do *clamp* aórtico (p=0,023), menos necessidade de suporte inotrópico transoperatório (p=0,050) e níveis inferiores de troponina (p=0,040), sugerindo uma melhor proteção miocárdica com esta solução.

A CRM também foi comprovadamente segura com o uso da solução cardioplégica DN, pois os pacientes tiveram resultados semelhantes, mas com menos desfibrilação e transfusão de sangue quando comparados àqueles que receberam cardioplegia sanguínea[13]. Outro estudo relatou níveis mais baixos de glicose durante a CEC[30].

Ziazadeh *et al*[31] analisaram 178 pacientes adultos submetidos a cirurgia valvar aórtica minimamente invasiva. Os pacientes com cardioplegia sanguínea receberam cardioplegia anterógrada e retrógrada em doses múltiplas, enquanto dose única DN foi administrada quase inteiramente anterógrada. O uso da cardioplegia DN foi associado à diminuição do tempo de CEC e do tempo de clampeamento aórtico. O nível máximo de glicose durante a CEC foi menor no grupo DN, enquanto o nível de troponina-T e a fração de ejeção não diferiram entre os grupos. Outro estudo[32] relata uma taxa mais baixa de fibrilação ventricular após abertura do *clamp* aórtico, além de valores inferiores de creatinina quinase-MB (CK-MB) e menos uso de insulina intravenosa no pós-operatório.

Ainda, Kantathut *et al*[22] publicaram em 2019 um estudo observacional comparando a preservação miocárdica e desfechos clínicos usando cardioplegia sanguínea com solução tradicional DNM, ou seja, ringer lactato como solução base. O grupo que recebeu DNM permaneceu menos tempo na UTI (p<0,0001), além de tempo de internação hospitalar mais curto (p=0,0002), menos uso de DVAs (p=0,0001) e menor incidência de FA ou *flutter* atrial no pós-operatório (p=0,033). Os

mesmos autores[33] elucidaram esta questão através de um ensaio clínico randomizado com 89 pacientes adultos submetidos a cirurgia cardíaca comparando ringer lactato, como solução base para cardioplegia DN, e sanguínea convencional na proteção miocárdica e desfechos clínicos, evidenciando que a solução de Ringer com lactato forneceu resultados semelhantes ou proteção miocárdica superior à cardioplegia sanguínea convencional. No pós-operatório houve menor liberação de troponina T no grupo DN (p=0,009), diminuição da incidência de fibrilação ventricular após a retirada do clamp aórtico (p=0,01), menor tempo em UTI (p<0,0001) e hospitalar (p=0,002), menos tempo de uso de vasopressores e inotrópicos (p=0,0001) e menor incidência de FA ou flutter atrial no pós-operatório (p=0,033). Tais achados levam a consideração de que o Ringer lactato como solução base pareça uma excelente opção para centros que não possam ter acesso ao Plasma Lyte.

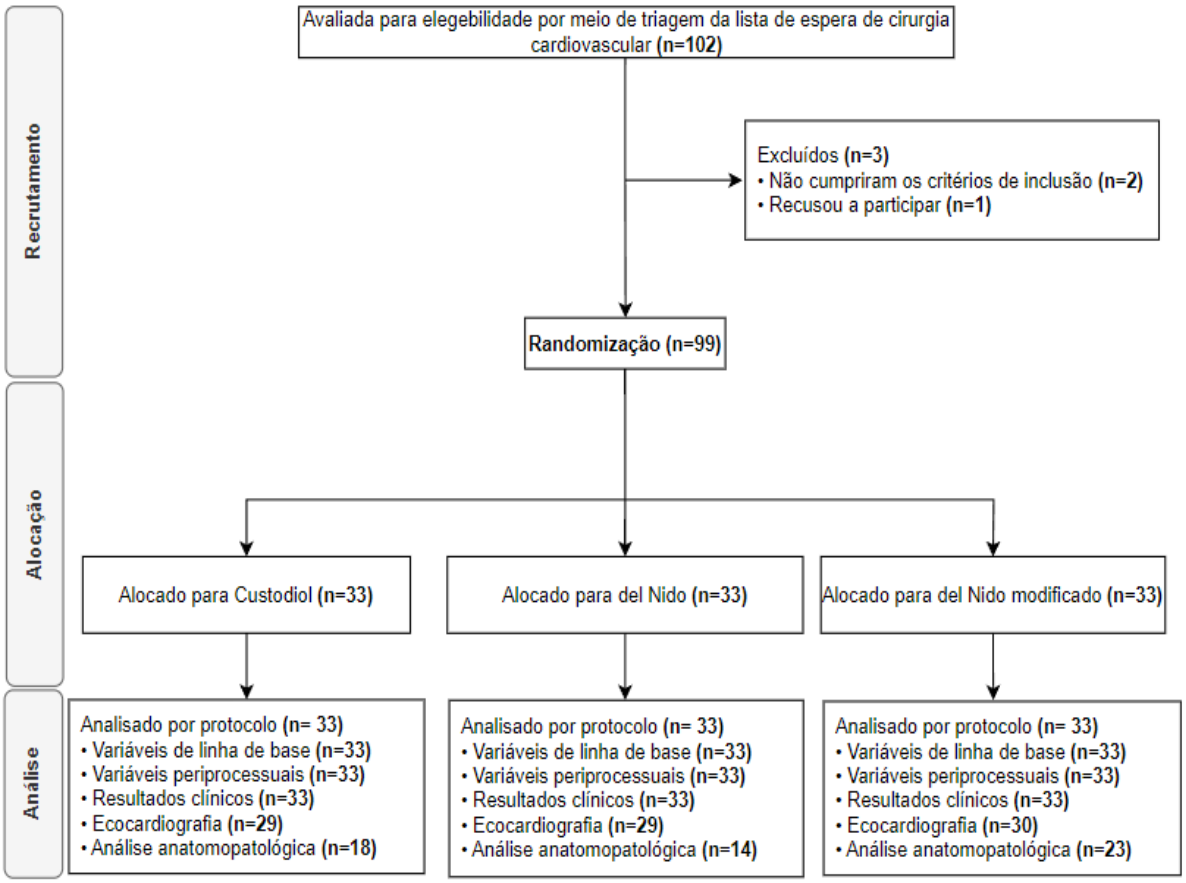
Desta forma, a solução de cardioplegia DN e DNM parecem ser altamente eficientes, tanto na proteção miocárdica quanto nos aspectos econômicos. No entanto, existem poucos estudos randomizados em pacientes pediátricos e, menos ainda, em pacientes adultos, sendo a maioria retrospectiva, o que torna seu valor limitado[1,13,33]. É necessário, portanto, realizar mais estudos prospectivos e randomizados para provar a hipótese de viabilidade ou até de superioridade dessas cardioplegias sobre as outras em termos de proteção miocárdica.

4 METODOLOGIA

4.0 Delineamento do Estudo

Ensaio clínico randomizado duplo cego. O estudo foi realizado no Hospital Nossa Senhora da Conceição, hospital terciário de referência em Cirurgia Cardiovascular no sul do Brasil, para comparar os efeitos das soluções de cardioplegia de longa ação HTK, DN e DNM na proteção miocárdica e resultados perioperatórios. As análises foram conduzidas por protocolo. O fluxograma do estudo, de acordo com as diretrizes do CONSORT[33], pode ser visualizado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma: CONSORT *statement*.



Fonte: elaborado pela autora.

4.1 Amostra

Pacientes adultos submetidos a cirurgia cardiovascular eletiva em um hospital terciário de referência na região sul do Brasil randomizados para receber solução de

HTK, DN e DNM durante a CEC. Foram acompanhados para avaliação da efetividade do tratamento inicialmente proposto.

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado no programa G-Power versão 3.1.9.4, considerando um efeito f=0,466 nos níveis de troponina, baseado no estudo de Talwar *et al*[24]. Para manter um nível de significância α=0,05 e poder de 95%, seria necessário investigar 75 pacientes. Considerando possíveis perdas de até 20% e manutenção do poder estatístico na análise multivariada, necessário selecionar um mínimo de 90 indivíduos para o estudo com, pelo menos, 30 randomizados para cada grupo.

4.2 Critérios de inclusão

Todos os pacientes submetidos à cirurgia de substituição valvar ou revascularização miocárdica com CEC no Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, com idade igual ou superior a 18 anos, em concordância com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo C), conforme Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde[34,35].

4.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo casos de cirurgia cardíaca prévia, insuficiência renal crônica (creatinina sérica superior a 2,0 mg/dl), doença psiquiátrica grave, urgência ou emergência e cirurgias múltiplas.

4.4 Variáveis em Estudo

Foram registrados dados demográficos dos pacientes conforme Anexo B.

Desfechos após tratamento cirúrgico, incluindo mortalidade, IAM, arritmia e sangramento foram comparados entre pacientes submetidos a tratamento cirúrgico com os 3 tipos de soluções cardioplégicas.

O IAM foi diagnosticado por aumento de biomarcadores, na presença de sintomas, e anormalidades no ECG sugestivas de isquemia[36].

Os óbitos foram classificados de acordo com o *Academic Research Consortium (ARC)-2*[37].

Foram coletadas amostras de sangue para curvas de enzimas cardíacas (CK e TnTc-us) e dosagens séricas de PCR, gasometria (pH e bicarbonato), eletrólitos (sódio, potássio e cálcio), glicemia e lactato.

Realizada biópsia de miocárdio para análise histológica na microscopia óptica antes da CEC e após 15 minutos de reperfusão para avaliação de inflamação, dano muscular, edema e hemorragia, classificados de acordo com o ISHLT 2005[38].

4.5 Coleta de dados

Os procedimentos do estudo dividiram-se em etapas:

1. Os casos incluídos foram convidados a participar do estudo e aplicado o TCLE.
2. Registrada as informações demográficas dos pacientes, incluindo idade, gênero, peso, altura e superfície corporal, bem como os exames laboratoriais e de imagem pré-operatórios.
3. O risco estimado foi calculado pelo *EuroSCORE-2*, *STS score* e *Ambler*, disponíveis online: http://www.euroscore.org; https://acsdriskcalc.research.sts.org/; https://www.thecalculator.co/health/Heart-Valve-Surgery-Risk-Calculator-1107.html.
4. Randomização em bloco dos pacientes para receberem as soluções de HTK, del Nido e DNM durante a CEC, com sequência gerada pelo site *randomizer.org* e os números colocados em envelopes opacos e lacrados individualmente.
5. Coleta de amostra de sangue em 4 momentos: antes da indução anestésica, 2, 12 e 24 horas após o término da CEC[28].
6. Coleta da biópsia de miocárdio do ventrículo direito, medindo aproximadamente 1 mm no seu maior diâmetro, em 2 momentos: antes do início da CEC e 15 minutos após abertura do clampeamento da aorta. A técnica utilizada está descrita no item 4.9.
7. Acompanhamento de desfechos clínicos ou cirúrgicos dos pacientes no período perioperatório.
8. A avaliação laboratorial foi realizada pelo laboratório de diagnóstico clínico do Hospital como parte de uma prática rotineira de diagnóstico *in vitro* no centro. A equipe do laboratório não teve acesso aos grupos aos quais cada paciente foi alocado.

9. A análise da biópsia do miocárdio foi realizada no Laboratório de Patologia do hospital por dois patologistas especialistas, cegados para todas e quaisquer intervenções realizadas.

4.6 Indução anestésica

Realizada indução anestésica de acordo com as rotinas do Serviço de Anestesia em Cirurgia Cardiovascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição, com procedimentos e fármacos similares para todos os pacientes. Os pacientes foram ventilados com aparelho de anestesia com volume de fluxo respiratório de 6 a 8 mL/Kg de peso corporal predito ajustado à frequência respiratória e manutenção da pressão de CO_2 ($PaCO_2$) entre 30 e 35 mmHg.

4.7 Recrutamento, intervenções e avaliações

O diagrama para recrutamento, intervenções e avaliações está descrito na Figura 2.

Figura 2. Itens de protocolo padrão: lista de verificação de recomendações para protocolos de estudo de ensaios intervencionistas (SPIRIT)[39]. Recrutamento, intervenções e avaliações.

	Período do estudo					
	Recrutamento	**Alocação**	**Pós-alocação**			**Encerramento**
Ponto no tempo	Entrevistas	Após a confirmação de elegibilidade para o dia da cirurgia	Dia da cirurgia	0-24h pós-operatório	Pós-operatório em diante até a alta	Alta hospitalar
Recrutamento						
Critérios de elegibilidade	X					
Consentimento informado	X					
Dados demográficos	X					
Dados antropométricos	X					
Dados clínicos	X					
Alocação (randomização)		X				
Intervenções						
Custodiol®			X			
del Nido			X			
del Nido modificado			X			
Avaliações						
Variáveis basais		X	X			
Variáveis periprocedimento			X	X	X	
Desfechos clínicos			X	X	X	X
Ecocardiograma	X					X
Anatomopatológico			X			

Fonte: elaborado pela autora.

4.8 Proteção miocárdica: preparo e manuseio das soluções

As soluções foram administradas de maneira anterógrada, na raiz da aorta ou óstios coronarianos, conforme indicação específica e preparadas pelo perfusionista,

profissional responsável pela condução da CEC, de acordo com as técnicas assépticas padronizadas e rotinizadas no Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição, sem qualquer diferença do habitualmente utilizado antes do início do estudo, uma vez que essas soluções já são padronizadas e correntemente utilizadas na Instituição, exceto o Plasma Lyte.

A cardioplegia HTK é uma solução estéril, pré-embalada, pronta para infusão, não necessitando de preparo. A composição desta solução pode ser visualizada na Tabela 1. Administrada em dose única de 25 mL/Kg, durante um tempo de 6 a 8 minutos, a uma temperatura de 4 a 8°C, com uma pressão de perfusão de 150 a 200 mmHg, com possibilidade de dose adicional após 3 horas da inicial[7].

As soluções de DN e DNM foram manipuladas no Serviço, momentos antes da sua administração, podendo usar o Plasma Lyte ou Ringer com lactato (DNM) como base cristaloide. A composição protocolada na Instituição pode ser visualizada na Tabela 2. Administradas numa dose única de 20 mL/Kg (máximo de 1.000 mL para pacientes com peso superior a 50 Kg), geralmente com uma temperatura de entrega de 4 °C, com pressão do sistema de 100 a 200 mmHg e fluxo de administração de 200 a 300 ml/min. Se necessário, podem ser infundidas doses adicionais após 90 minutos da inicial[1].

4.9 Biópsia de miocárdio

As técnicas de biópsia endomiocárdicas foram aprimoradas nos últimos 50 anos e, atualmente, são consideradas seguras para o diagnóstico de miocardiopatias e detecção de rejeição de corações transplantados[40]. Porém, a investigação estrutural do miocárdio, através de biópsias intraoperatórias, é um dos poucos métodos aplicáveis a pacientes humanos, sendo capaz de fornecer informações sobre os efeitos diretos da cardioplegia e da isquemia na morfologia celular, com bom perfil de segurança para os pacientes.

Muitos estudos foram realizados utilizando biópsia de miocárdio durante o ato cirúrgico, sem qualquer complicação que mereça ser mencionada, uma vez que a segurança é determinada pela visualização direta do coração após a esternotomia[41,42]. Dussin *et al*[42], em um estudo realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, avaliaram alterações ultraestruturais em corações de dezoito pacientes consecutivos, submetidos a cirurgia eletiva para troca valvar aórtica, randomizados

para receber soluções cardioplégicas com e sem procaína durante a CEC. As biópsias miocárdicas foram realizadas em três momentos diferentes, sem evidências de qualquer complicação adicional pelo procedimento: 1) antes da parada isquêmica, 2) no final do período isquêmico (antes de retirada do clampeamento aórtico) e 3) 15 minutos após a reperfusão.

No presente estudo, durante o procedimento cirúrgico, foi realizada a biópsia de um fragmento de miocárdio da parede anterior do ventrículo direito, com punch dermatológico de 1 mm, em dois momentos distintos: 1) B1 (primeira biópsia): antes da entrada em CEC (momento 1); e 2) B2 (segunda biópsia): após 15 minutos da abertura do clampeamento aórtico (momento 2), ainda em CEC.

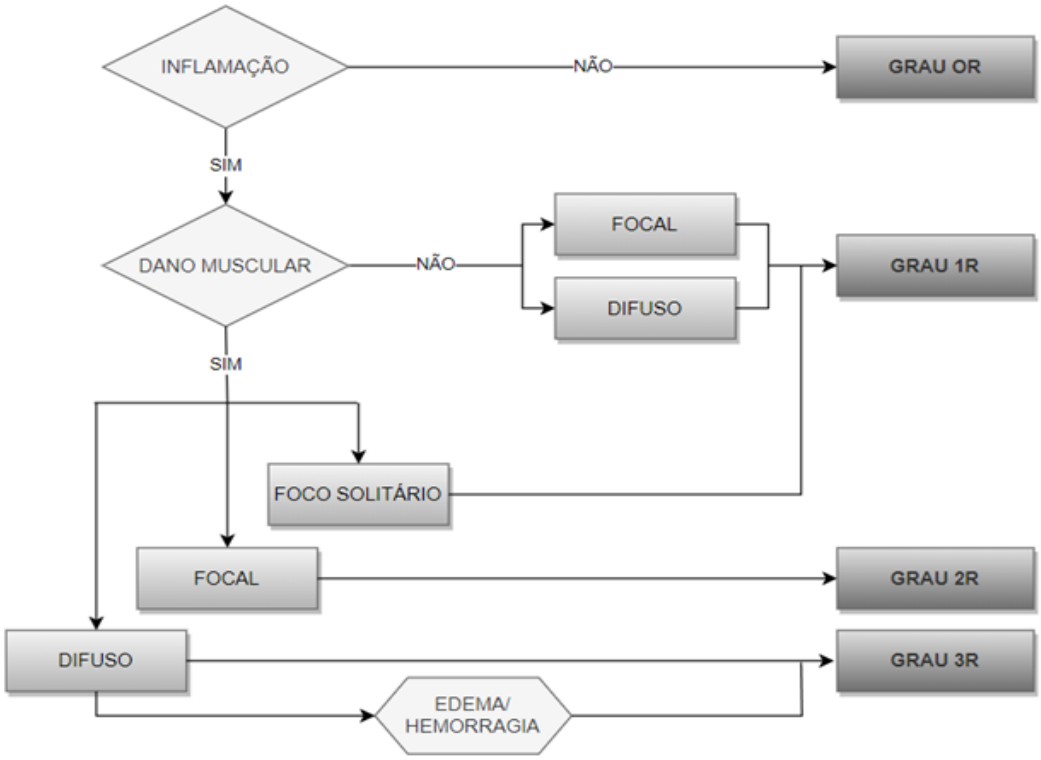
O material biopsiado foi colocado em um frasco contendo formol e encaminhado ao Serviço de Patologia do Hospital para análise em microscopia óptica, com aumento de 400x e corado com hematoxilina-eosina (HE).

4.9.1 Classificação ISHLT 2005

O sistema de classificação utilizado para análise microscópica de rejeição em transplantes cardíacos foi escolhido por ser uma ferramenta validada e possibilita avaliar alterações semelhantes às que seriam estudadas. A pontuação de 0 a 3 foram dadas para as alterações encontradas, sendo 0R isento de inflamação, 1R com inflamação focal, difusa sem dano muscular ou foco solitário com dano muscular, 2R apresentando inflamação e dano muscular com alteração focal e 3R com foco difuso podendo ou não apresentar edema e/ou hemorragia.

As amostras foram analisadas de forma independente e cegada por 2 patologistas experientes, sendo classificadas pelo ISHLT 2005 quanto a inflamação, dano muscular, edema e hemorragia[38], conforme Figura 3. As diferenças de opinião foram resolvidas por discussão e consenso.

Figura 3. Classificação ISHLT 2005[38].



Fonte: Cardiac Pathology,2013.

4.10 Cegamento e adjudicação de eventos independentes

No mesmo dia da cirurgia e antes da indução anestésica, os pacientes foram randomicamente selecionados pela equipe responsável pela pesquisa para receber a solução cardioplégica HTK, DN ou DNM. O perfusionista recebeu o envelope opaco e lacrado indicando a solução cardioplégica a ser preparada e administrada de acordo com suas particularidades.

Todos os participantes cegados para o tipo de intervenção como pacientes, anestesistas, patologistas, ecocardiografistas, equipes do laboratório de análises clínicas e equipe de enfermagem.

Uma vez que a infusão de HTK requer tempo diferente de administração e de intervalo entre as doses que a solução de DN, a equipe cirúrgica foi cegada somente para intervenção com DN ou DNM, além de não participar da análise dos resultados, a fim de evitar vieses de aferição. Não há possibilidade de padronização do volume das soluções e dos tempos de administração e de intervalos entre doses pelo potencial aumento de riscos para o paciente.

Todos os pacientes, após a cirurgia, seguiram para a UTI destinada à recuperação dos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca, e tratados por uma equipe com expertise em pós-operatório da especialidade, de acordo com os protocolos institucionais padronizados, cegos para o tipo da cardioplegia administrada durante a operação. Após a alta da UTI, esses pacientes foram transferidos para Unidade Cardiológica de pós-operatório e manejados até a alta hospitalar pela equipe responsável, de acordo com seus protocolos e cegados.

Ainda, o investigador principal, que identificou os desfechos e realizou as análises estatísticas, foi cegado para o tipo de intervenção utilizada em cada caso.

Analisados todos os óbitos ou complicações relatadas, cardiovasculares ou não, durante a condução do estudo. Todos os pesquisadores envolvidos no processo de adjudicação permaneceram cegos para alocação dos pacientes quanto ao tipo de intervenção. Utilizou-se os dados adjudicados para análise final de segurança e eficácia.

4.11 Implementação do Estudo

Os aspectos clínicos e cirúrgicos durante o período de estudo foram completados prospectivamente e todos os dados foram avaliados por, pelo menos, dois autores de forma independente, com controle de qualidade na entrada dos dados para verificação da consistência. Para controle de qualidade do desempenho da equipe, 20% dos protocolos foram selecionados aleatoriamente para revisão pelo investigador principal.

Os participantes do estudo foram treinados para uma abordagem padronizada para o preenchimento da ficha de coleta de dados (Anexo B).

O protocolo foi realizado de acordo com as diretrizes do *Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials* (SPIRIT)[39]. A abordagem deste estudo foi embasada nas diretrizes do *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT)[33].

4.12 Análise Estatística

As variáveis quantitativas foram descritas por média e desvio padrão, em casos de distribuição simétrica, e por mediana e amplitude interquartil, em casos de

distribuição assimétrica. As variáveis qualitativas foram descritas por frequências absolutas e relativas. Para avaliar o tipo de distribuição, o teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado.

O teste qui-quadrado, em conjunto com a análise dos resíduos ajustados, foi utilizado para comparar variáveis categóricas. ANOVA, em conjunto com o teste de Tukey, foi utilizado para comparar variáveis contínuas com distribuição normal e Kruskal-Wallis, conjuntamente com Dunn, para comparar variáveis contínuas assimétricas.

Um modelo de Equações de Estimativas Generalizadas (GEE) foi utilizado para comparar os parâmetros ao longo do tempo de acompanhamento e entre os grupos, complementado pelo teste *Least Significant Difference*. Um modelo linear foi utilizado para variáveis com distribuição normal e o modelo Gamma para variáveis com distribuição assimétrica.

Para avaliar a sobrevida entre os 3 grupos, o método de Kaplan-Meier em conjunto com o teste de Log-rank.

O modelo de Regressão de Azares Proporcionais de Cox univariado foi utilizado para avaliar o efeito do tipo de solução na probabilidade de óbito. Para controle de fatores confundidores, o modelo de Regressão de Azares Proporcionais de Cox multivariado foi utilizado para avaliar o efeito do tipo de solução na probabilidade de óbito.

O nível de significância adotado foi de 5% e os dados foram analisados com o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 27.0.

4.13 Monitoramento de Segurança e Dados

Embora as naturezas das soluções cardioplégicas DN e HTK sejam diferentes em relação aos seus mecanismos de ação na parada cardíaca induzida, ambas estão associadas a administração segura em dose única e capazes de preservar o miocárdio por um longo período durante a parada isquêmica da CEC[7,10,23].

Os resultados foram auditados pelo pesquisador principal a cada cinco intervenções, ou mais cedo, caso houvesse registro de eventos adversos graves no pós-operatório. No caso de existência de risco clinicamente relevante, uma comissão de pesquisadores responsável por essa avaliação tinha autoridade para suspender o estudo até determinação da relação causal.

4.14 Aspectos éticos

A pesquisa seguiu as condições estabelecidas na Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde[35].

Todos os pacientes e seus familiares foram convidados a participar do estudo após serem informados da sua finalidade e de seus riscos e benefícios e que concordaram com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo B), conforme Resolução do Conselho Nacional de Saúde.

Foi assegurado ao voluntário o direito de não participar, sem que isto representasse qualquer tipo de prejuízo para o seu atendimento dentro da instituição.

Quanto à privacidade e confidencialidade, garantiu-se a preservação do anonimato dos pacientes e a utilização dos dados obtidos na pesquisa apenas para a finalidade científica.

Os autores declaram-se isentos de qualquer interesse financeiro ou comercial na realização deste estudo.

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética em Pesquisa do Grupo Hospitalar Conceição (CEP/GHC), subdividida em duas partes: 1) avaliação laboratorial e clínica, registrada sob o número 4.029.545, aprovada em 15 de maio de 2020 e iniciada em 06 de junho de 2020, e 2) avaliação histopatológica, registrada sob o número 4.499.635, aprovada em 11 de fevereiro de 2021 e iniciada em 27 de abril de 2021 (Anexo A). Ambas foram publicadas no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC) sob os números RBR-7g5s66 e RBR-997tqhh, aprovados em 06 de julho de 2020 e 26 de janeiro de 2022, respectivamente (Anexo E).

5 RESULTADOS

A caracterização basal da amostra está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4. Características demográficas e condições clínicas dos pacientes por grupo.

Características*	HTK (n=33)	DN (n=33)	DNM (n=33)	P
Idade (anos)	63,4±11,7	64,3±12,4	62,4±10,6	0,811
Sexo				0,877
Feminino	12 (36,4)	11 (33,3)	13 (39,4)	
Masculino	21 (63,6)	22 (66,7)	20 (60,6)	
IMC (kg/m²)	27,5±5,9	27,7±4,8	28,1±4,8	0,915
Ex-tabagismo	24 (72,7)	21 (63,6)	18 (54,5)	0,308
Tabagismo ativo	7 (21,2)	4 (12,1)	6 (18,2)	0,608
MP prévio	2 (6,1)	1 (3,0)	0 (0,0)	0,357
FA previa	3 (9,1)	3 (9,1)	6 (18,2)	0,426
Fração de ejeção (%)	55,7±13,0	55,7±13,0	52,1±14,6	0,460
NYHA classe functional				0,496
I	11 (33,3)	6 (18,2)	6 (18,2)	
II	7 (21,2)	13 (39,4)	11 (33,3)	
III	11 (33,3)	10 (30,3)	9 (27,3)	
IV	4 (12,1)	4 (12,1)	7 (21,2)	
DM	15 (45,5)	11 (33,3)	12 (36,4)	0,574
Vasculopatia periférica	8 (24,2)	8 (24,2)	6 (18,2)	0,792
HAS	25 (75,8)	26 (78,8)	27 (81,8)	0,834
AVC prévio	3 (9,1)	3 (9,1)	4 (12,1)	0,895
DPOC	3 (9,1)	3 (9,1)	4 (12,1)	0,895
STS score	1,7 (0,8-2,2)	1,7 (1,1-2,7)	1,8 (0,9-2,7)	0,611
Euroscore	1,9 (1,0-3,4)	1,9 (1,1-3,5)	1,8 (1,2-2,7)	0,914
Tipo de cirurgia				0,958
CRM	21 (63,6)	20 (60,6)	20 (60,6)	
Troca valvar	12 (36,4)	13 (39,4)	13 (39,4)	

Fonte: elaborado pela autora.
*As variáveis foram descritas por média ± desvio padrão, mediana (P25 – P75) ou porcentagem.
IMC, índice de massa corporal; MP, marcapasso; FA, fibrilação atrial; NYHA, *New York Heart Association;* DM, diabetes mellitus; HAS, hipertensão arterial sistêmica; AVC, acidente vascular cerebral; DPOC, doença pulmonar obstrutiva crônica; STS score, *Society of Thoracic Surgeons score;* EuroSCORE-2, *European System for Cardiac Operative Risk Evaluation score - 2;* CRM, cirurgia de revascularização do miocárdio.

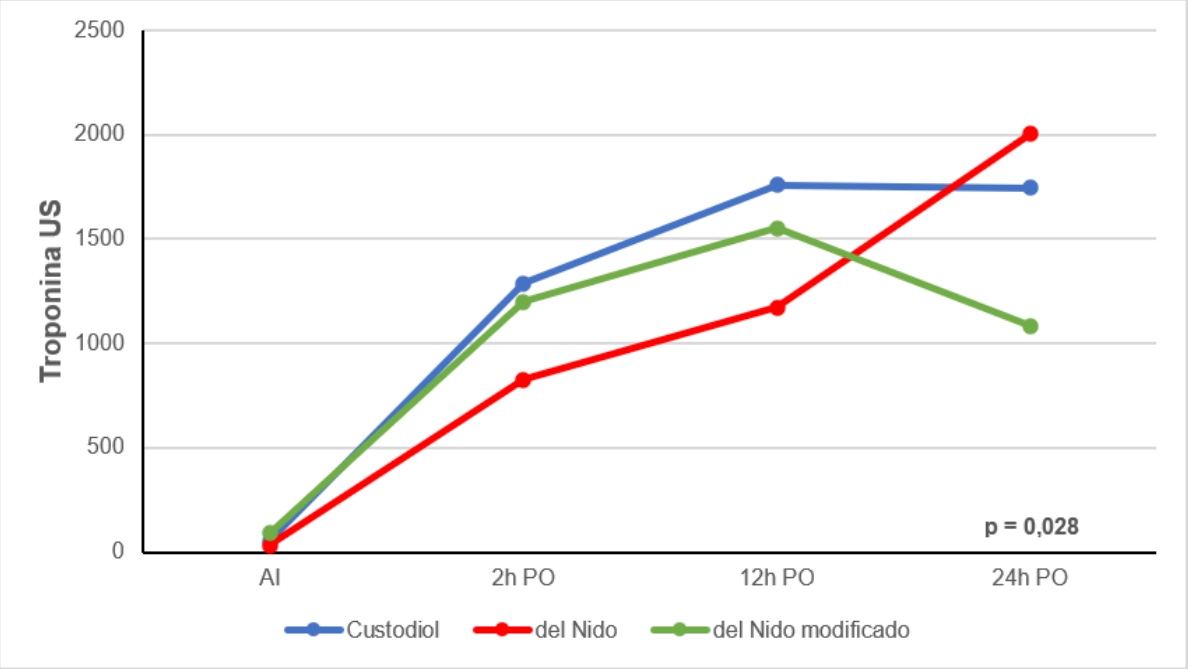
Não houve diferença estatisticamente significativa entre as características basais avaliadas. Nessa casuística, houve uma predominância do sexo masculino e a

cirurgia mais comum foi CRM, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

A tabela 5 demonstra a distribuição dos resultados da análise laboratorial entre os grupos.

Houve diferença estatisticamente significativa para a TnTc-us no efeito de interação solução *versus* tempo (p=0,028), conforme ilustra a Figura 4. Intragrupo, os níveis séricos da TnTc-us foram semelhantes nos pacientes que receberam HTK e DN, aumentando seus valores até 12h, com persistência desse aumento durante o período estudado. O comportamento do grupo que recebeu DNM foi diferente dos demais, com redução estatisticamente significativa de seus valores entre 12 e 24h após a CEC. Entre os grupos, o DN foi o que apresentou valores significativamente mais baixos em 2h (p=0,023).

Figura 4. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável troponina T cardíaca ultrassensível.



Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 5. Resultados da análise laboratorial entre os grupos nos 4 momentos.

Exames laboratoriais	HTK (n=33)	DN (n=33)	DNM (n=33)	p
	Média ± EP	Média ± EP	Média ± EP	
TnTc-us (ng/L)				
AI	52,3±27,5[a,e]	33,8 ± 7,3[a,e]	90,0 ± 66,6[a,e]	1,000
2h p-CEC	1286±216[b,f]	828 ± 85,9[a,f]	1199 ± 155[b,f]	**0,023**
12h p-CEC	1758±344[a,g]	1173 ± 129 [a,g]	1552 ± 216[a,fg]	0,111
24h p-CEC	1744±534[a,fg]	2003 ± 885[a,fg]	1083 ± 165[a,f]	0,203
CK (u/L)				
AI	59,9±6,1	71,7 ± 10,6	64,8 ± 5,5	0,600
2h p-CEC	899±154	696 ± 88,8	705 ± 55,2	0,406
12h p-CEC	1553±325	1083 ± 202	1008 ± 85,7	0,160
24h p-CEC	1695±464	1445 ± 291	1259 ± 280	0,701
PCR (mg/L)				
AI	12,9±3,2	8,4±3,1	9,9±2,7	0,589
2h p-CEC	9,9±2,8	8,1±2,8	9,2±2,3	0,907
12h p-CEC	53,0±5,9	63,1±6,5	62,8±5,7	0,426
24h p-CEC	152,5±10,4	173,3±9,3	213,2±39,6	0,137
Glicemia (mg/dL)				
AI	144,6±15,4	125,9±8,5	119,9±7,3	0,313
2h p-CEC	177,0±8,9	187,0±13,6	187,2±13,3	0,741
12h p-CEC	216,6±14,9	211,1±15,6	208,4±12,3	0,913
24h p-CEC	169,3±12,	175,6±9,1	181,5±11,5	0,763
Lactato (mmol/L)				
AI	1,38±0,24	1,37±0,16	1,08±0,07	0,117
2h p-CEC	3,66±0,62	3,01±0,45	3,17±0,40	0,680
12h p-CEC	3,61±0,61	3,81±0,74	3,21±0,33	0,678
24h p-CEC	2,94±0,38	2,56±0,42	2,38±0,37	0,553
Leucócitos (/uL)				
AI	7725±338	7818±522	7075±374	0,360
2h p-CEC	14120±894	15156±1398	13744±1026	0,706
12h p-CEC	13908±819	13820±691	13840±787	0,997
24h p-CEC	13702±669	14364±887	13309±751	0,657
pH				
AI	7,39±0,00	7,40±0,01	7,39±0,01	0,691
2h p-CEC	7,34±0,01	7,38±0,01	7,36±0,01	0,151
12h p-CEC	7,39±0,01	7,36±0,01	7,39±0,01	0,089
24h p-CEC	7,41±0,01	7,40±0,01	7,40±0,01	0,440
Bicarbonato (mmol/L)				
AI	25,3±0,43	24,5±0,40	25,1±0,34	0,348
2h p-CEC	23,1±0,49	22,2±0,47	22,9±0,41	0,306
12h p-CEC	22,4±0,61	22,4±0,60	22,6±0,54	0,951
24h p-CEC	23,3±0,45	24,2±0,50	23,5±0,39	0,368
Sódio (meq/L)				
AI	136,1±0,73[a,f]	136,6±0,42[a,ef]	135,9±0,60[a,e]	0,685
2h p-CEC	134,3±0,69[a,e]	136,1±0,58[b,e]	136,3±0,54[b,e]	**0,049**
12h p-CEC	136,1±0,76[a,f]	137,2±0,68[a,f]	136,6±0,48[a,e]	0,562
24h p-CEC	134,9±0,63[a,e]	136,3±0,62[a,e]	135,3±0,86[a,e]	0,283
Potássio (meq/L)				
AI	4,15±0,06[a,e]	4,31±0,09[a,e]	4,39±0,09[a,e]	0,066
2h p-CEC	4,06±0,08[a,e]	4,47±0,10[b,ef]	4,39±0,10[b,e]	**0,002**
12h p-CEC	4,39±0,07[a,f]	4,71±0,10[b,f]	4,80±0,14[b,f]	**0,003**
24h p-CEC	4,10±0,06[a,e]	4,41±0,08[b,e]	4,34±0,09[b,e]	**0,005**
Cálcio Iônico (mmol/L)				
AI	1,19±0,01	1,18±0,01	1,18±0,01	0,679
2h p-CEC	1,13±0,02	1,15±0,01	1,16±0,01	0,418
12h p-CEC	1,12±0,01	1,13±0,01	1,13±0,01	0,788
24h p-CEC	1,10±0,01	1,11±0,01	1,11±0,01	0,834

Fonte: elaborado pela autora. Letras iguais evidenciam resultados estatisticamente semelhantes entre os grupos (a,b) e intragrupos (e,f,g,h) pelo teste *Least Significant Difference* (LSD) com 5% de significância.
AI, antes da indução anestésica; p-CEC, tempo em horas após o término da circulação extracorpórea; TnTc-us, troponina T cardíaca ultrassensível; CK, creatinoquinase; PCR, proteína C reativa.

Em relação às variáveis CK (p=0,107), PCR (p=0,272), glicemia (p=0,422), lactato (p=0,634), leucócitos (p=0,775), pH (p=0,089), bicarbonato (p=0,259), sódio (p=0,294), potássio (p=0,483) e cálcio (p=0,625), não houve efeito significativo de interação solução *versus* tempo, conforme tabela 5 e Figuras de 5 a 14.

Para CK (Figura 5), o comportamento intragrupo das três soluções são semelhantes, aumentando até 12h após a CEC e se mantendo alto até a última análise laboratorial. Entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum momento.

Considerando a PCR (Figura 6), intragrupo houve redução significativa da PCR em 2h após a CEC para o grupo que recebeu HTK, com aumento progressivo nos momentos seguintes de avaliação. Nos grupos DN e DNM, o aumento acontece a partir das 12h e se mantém até 24h. Entre os grupos, ausência de diferenças estatisticamente significativas em todos os momentos.

Quanto a glicemia (Figura 7) e o lactato (Figura 8), houve aumento significativo de seus níveis séricos até 12h e redução em 24h em todas as soluções. Entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum momento.

Intragrupo, os leucócitos (Figura 9) aumentaram significativamente em 2h e se mantiveram em níveis elevados até 24h com todas as soluções. Entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum momento.

O pH (Figura 10) apresentou uma redução significativa em 2h na avaliação intragrupo para o HTK, com aumento progressivo em 12 e 24h. Para os que receberam DN, houve uma redução até 12h e aumento em 24h. Para DNM, houve aumento a partir das 2h após a CEC. Entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum momento.

Em relação ao bicarbonato (Figura 11), intragrupo, seus níveis séricos reduziram significativamente em 2h e se mantiveram baixos até 24h para os grupos que receberam HTK e DNM. Os pacientes do grupo DN tiveram seus níveis reduzidos em 2h, mantidos em 12h e aumentados de 12 para 24h. Entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum momento.

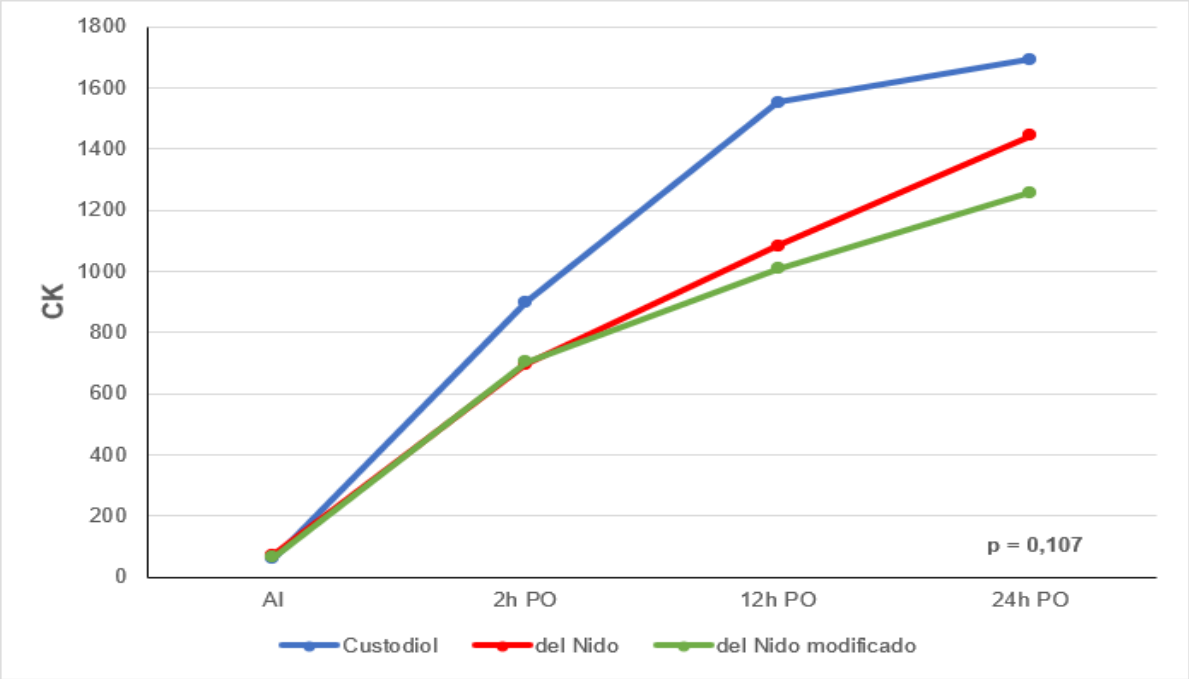
Dos eletrólitos, houve redução significativa do sódio sérico (Figura 12) em 2h após a CEC para o grupo que recebeu HTK, com aumento significativo de 2 para 12h e, novamente, redução significativa de 12 para 24h após a CEC. Para DN, houve aumento significativo de 2 para 12h e redução significativa de 12 para 24h após a CEC. No grupo DNM, não houve diferença significativa entre os tempos. Entre os

grupos, aqueles que receberam HTK apresentaram valores significativamente mais baixos em 2h após a CEC.

Quanto os níveis séricos de potássio (Figura 13), intragrupo, houve aumento significativo em 12h e redução em 24h em todas as soluções. Entre os grupos, o HTK apresentou valores significativamente mais baixos do que os demais nos momentos 2, 12 e 24h.

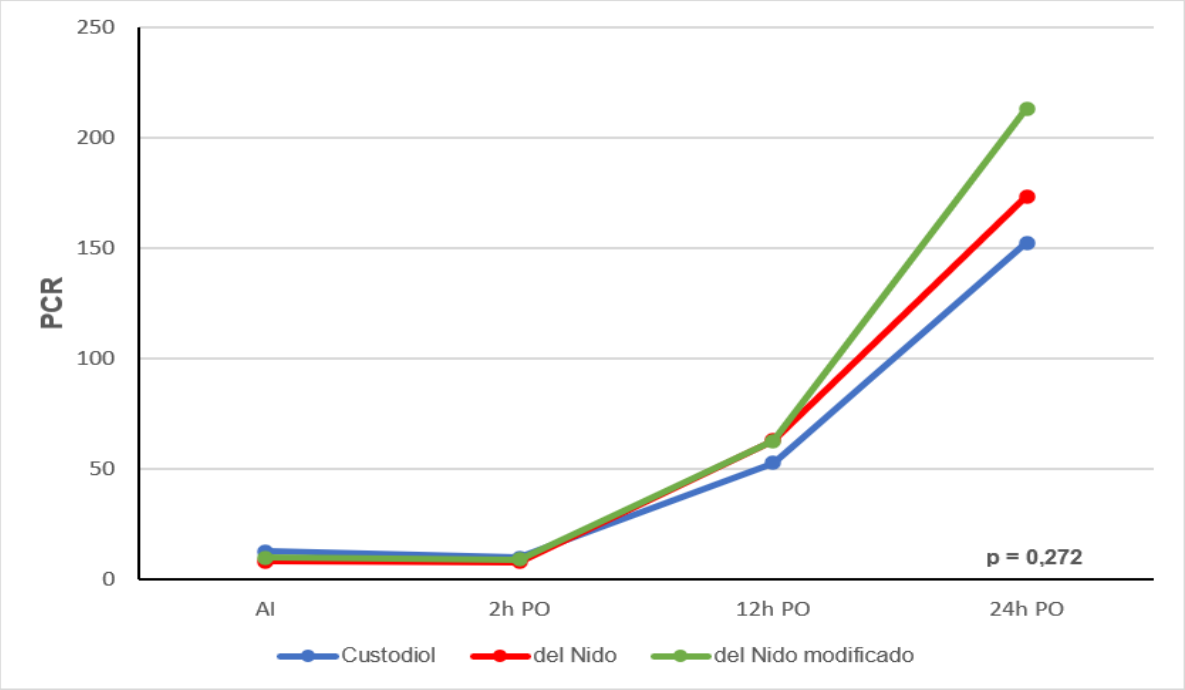
Considerando o cálcio (Figura 14), intragrupo, os pacientes que receberam HTK tiveram redução em 2h, com manutenção dos seus níveis até 24h. Para o grupo DN, ocorreu redução em 2h, se manteve em 12h e reduziu, ainda mais, em 24h após a CEC. No DNM, houve redução de 12h e se manteve até 24h. Ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Figura 5. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável creatinoquinase.



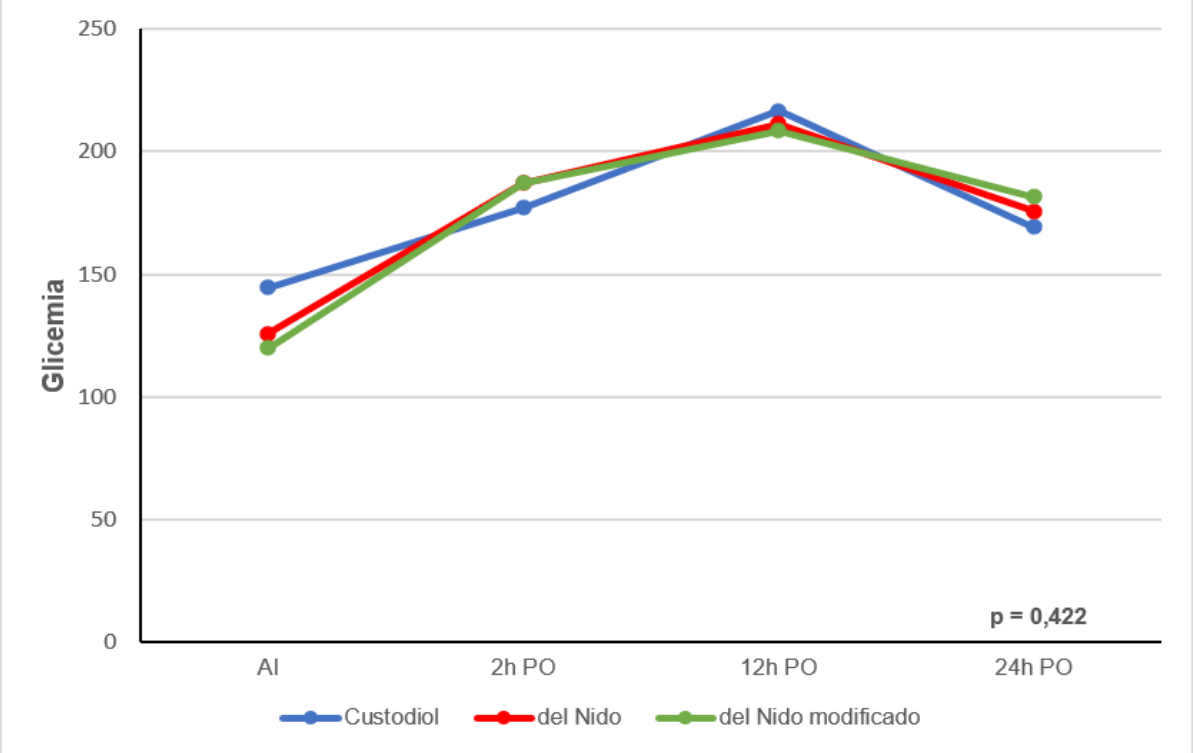
Fonte: elaborado pela autora

Figura 6. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável proteína C reativa.



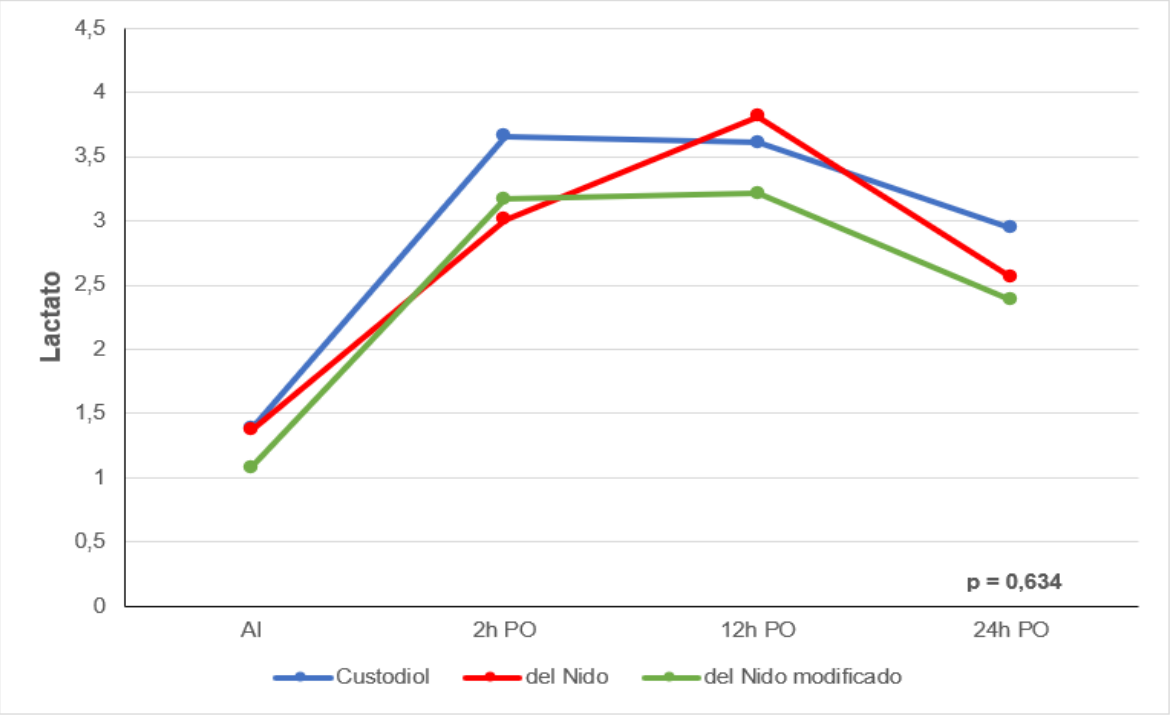
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 7. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável glicemia.



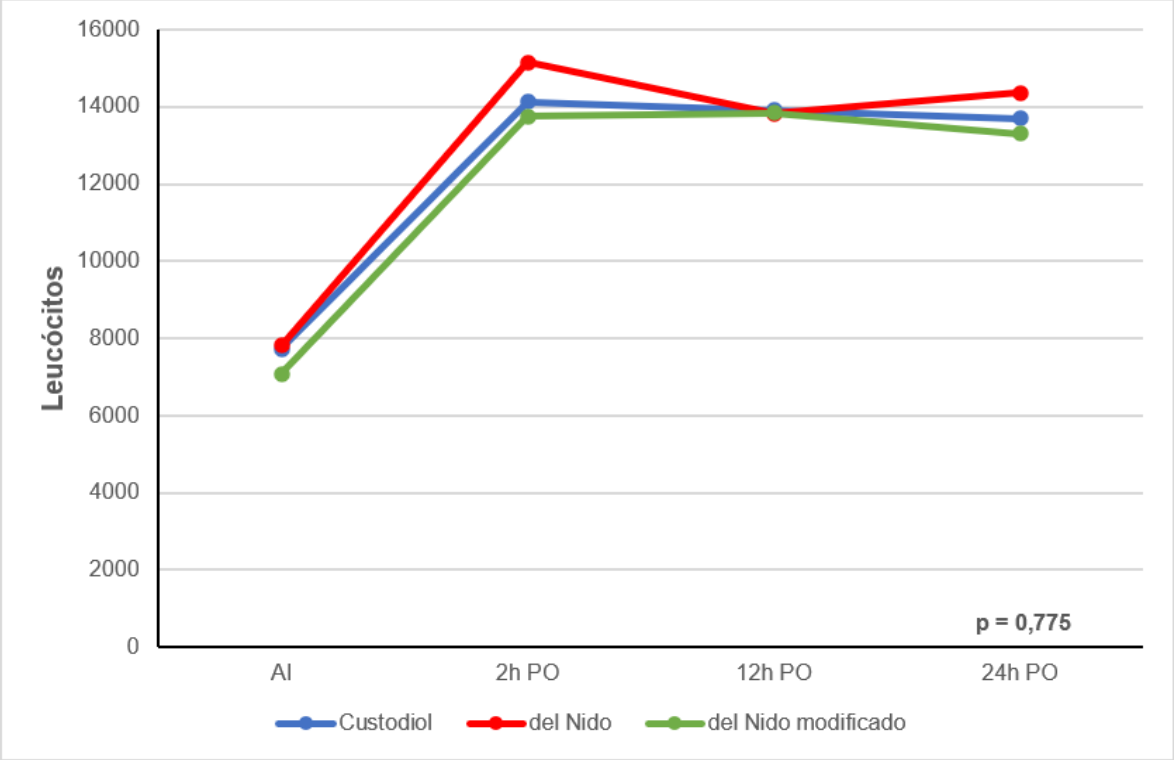
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 8. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável lactato.



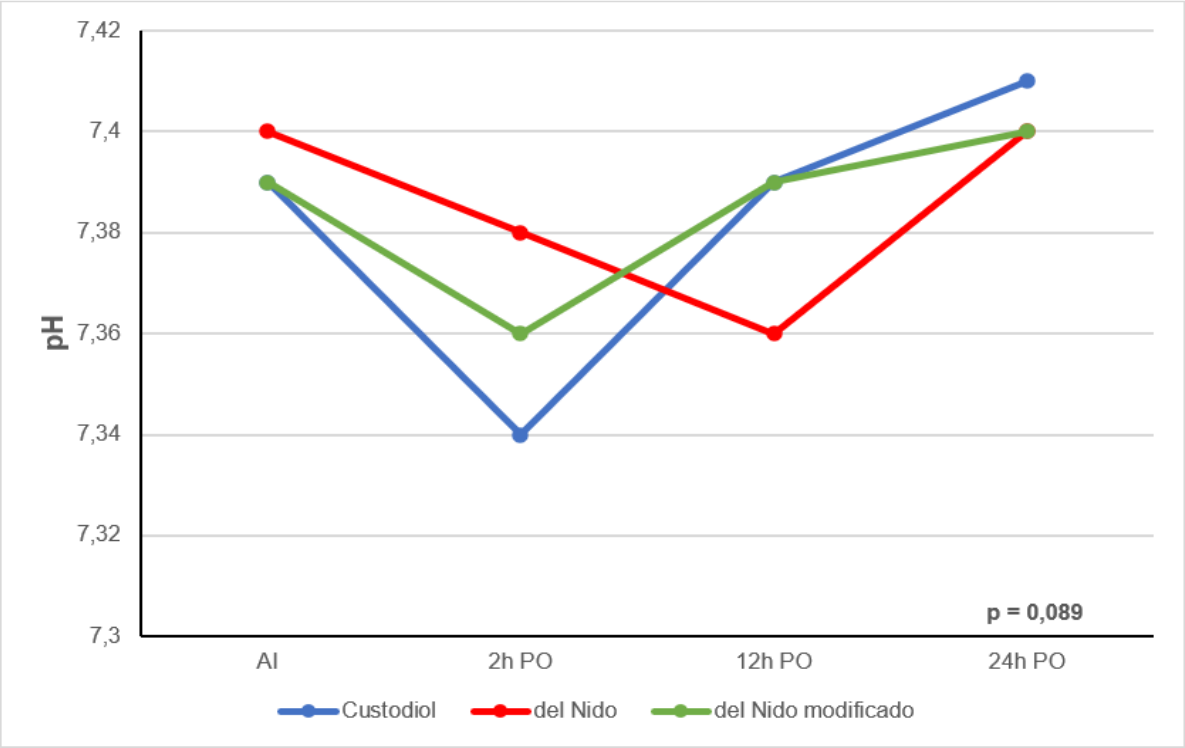
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 9. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável leucócitos.



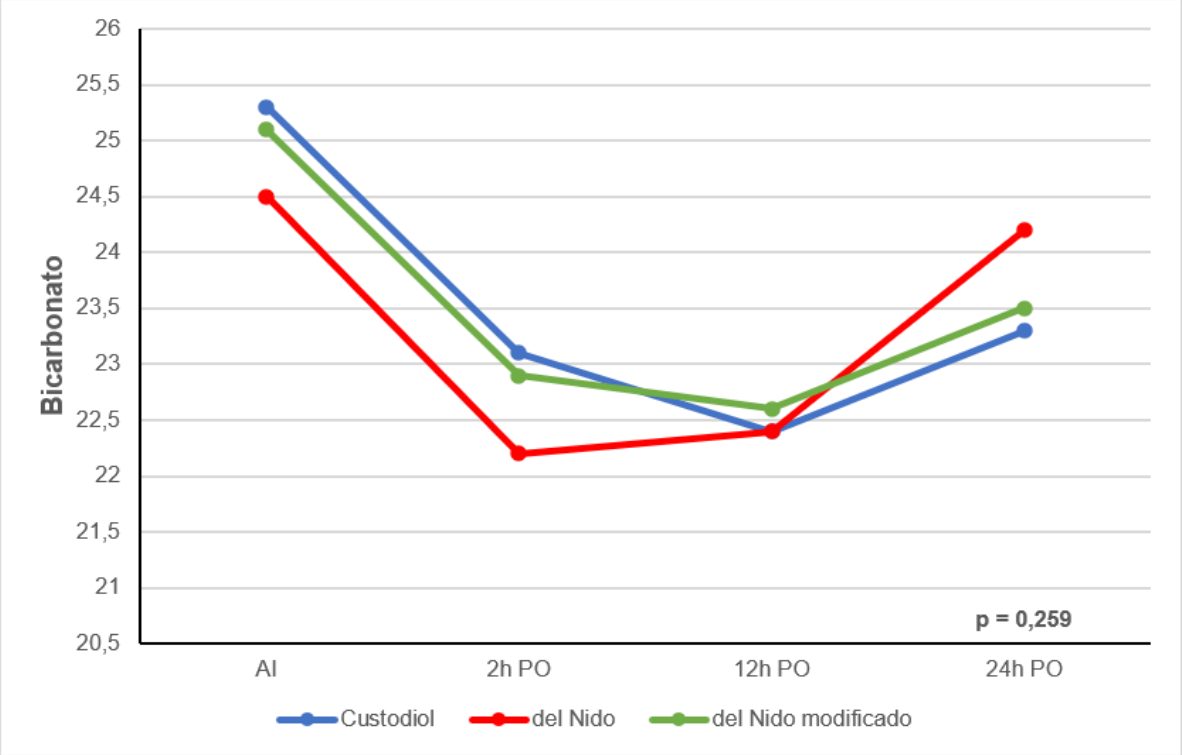
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 10. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável pH.



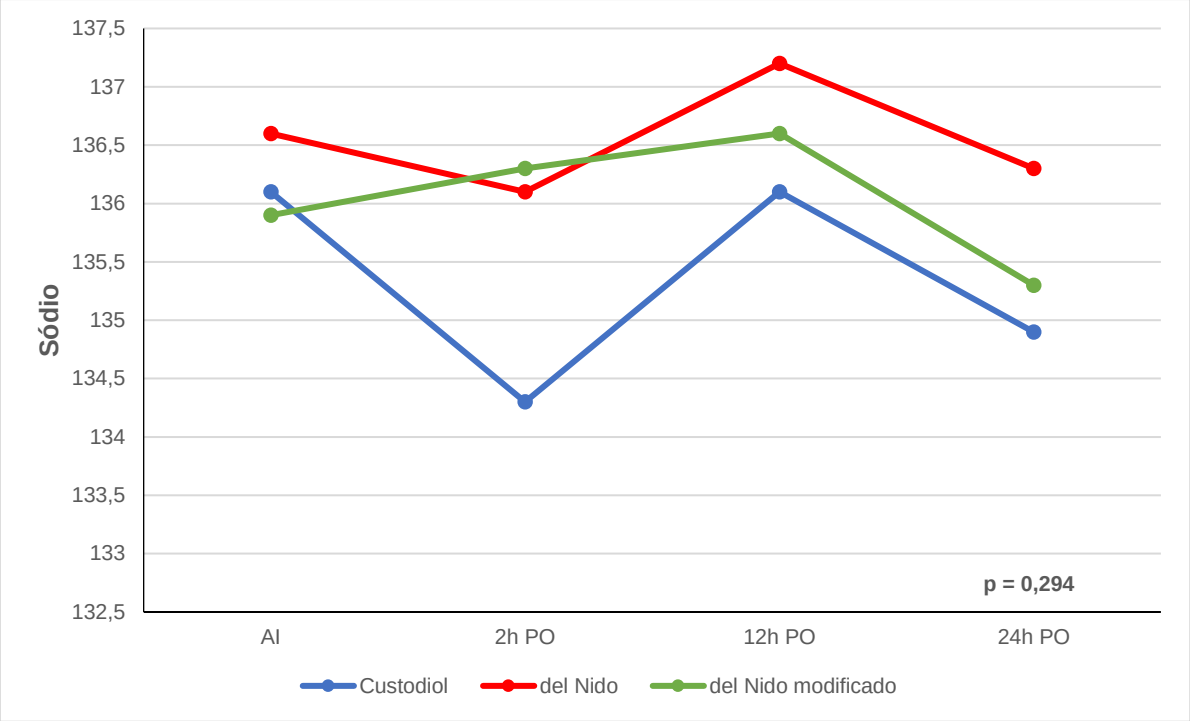
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 11. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável bicarbonato.



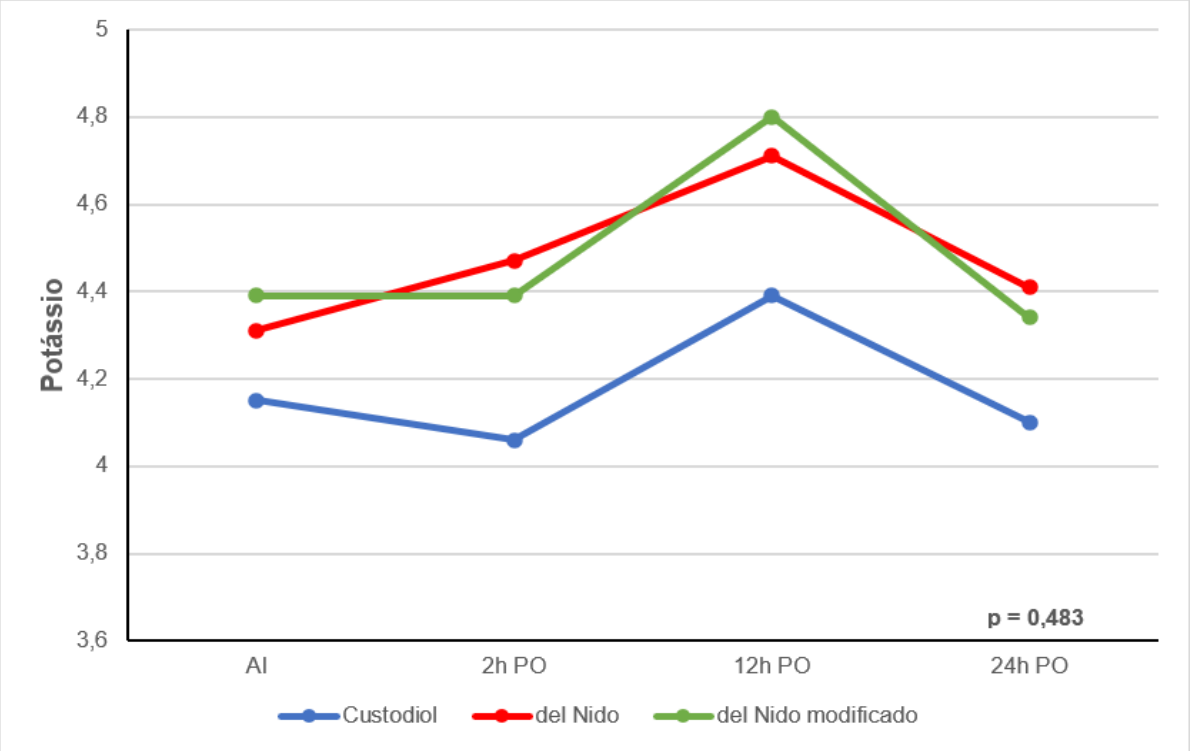
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 12. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável sódio.



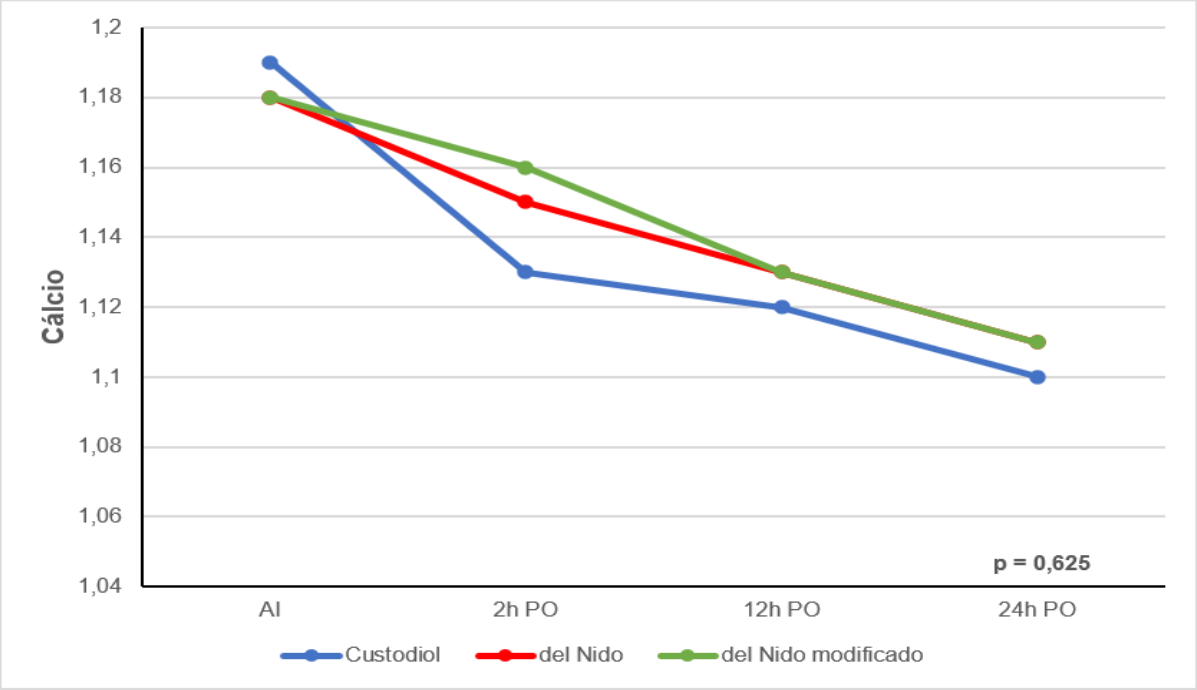
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 13. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável potássio.



Fonte: elaborado pela autora.

Figura 14. Resultados das comparações múltiplas do efeito da interação (solução versus tempo) na variável cálcio.



Fonte: elaborado pela autora.

Tabela 6– Avaliação do grau de lesão (ISHLT 2005) conforme os grupos das soluções.

Grau da lesão	HTK (18)	DN (14)	DNM (23)	P*
	n (%)	n (%)	n (%)	
Antes CEC				0,188
0	14 (77,8)	12 (85,7)	14 (58,3)	
1	4 (22,2)	1 (7,1)	9 (37,5)	
2	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,2)	
3	0 (0,0)	1 (7,1)	0 (0,0)	
Após clamp				0,424
0	13 (72,2)	9 (64,3)	13 (56,5)	
1	3 (16,7)	4 (28,6)	8 (34,8)	
2	2 (11,1)	0 (0,0)	2 (8,7)	
3	0 (0,0)	1 (7,1)	0 (0,0)	
Diferença				0,757
Redução	2 (11,1)	0 (0,0)	2 (8,7)	
Sem alteração	13 (72,2)	11 (78,6)	18 (78,3)	
Aumento	3 (16,7)	3 (21,4)	3 (13,0)	

Fonte: elaborado pela autora.
*Teste qui-quadrado.

A tabela 6 demonstra o grau das alterações histológicas do miocárdico antes da CEC e 15 minutos após a reperfusão, segundo escore ISHLT 2005, de acordo com as soluções cardioplégicas utilizadas. A análise não demonstrou alterações estatisticamente significativas entre os três grupos à microscopia óptica. Quando

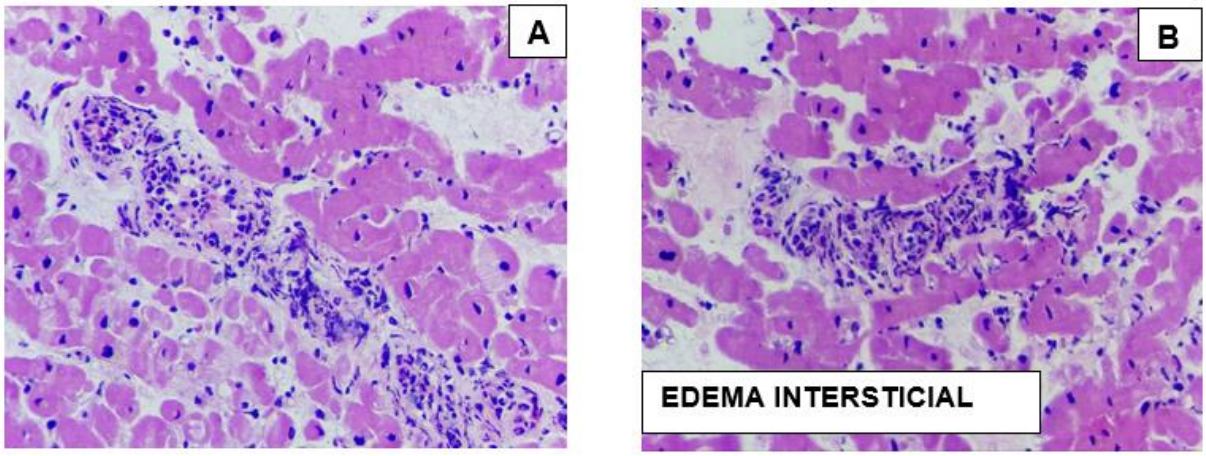
avaliada a relação do grau de lesão miocárdica com os níveis séricos de TnTc-us, não foi observada associação entre o aumento do grau da lesão e a solução cardioplégica utilizada, conforme tabela 7. No entanto, é possível observar que os níveis de TnTc-us em 2h após a CEC aumentam levemente à medida que aumenta o grau da lesão, mas sem diferença estatística significativa.

Tabela 7. Comparação dos níveis de troponina de acordo com o grau de lesão miocárdica de acordo com a classificação do ISHLT 2005.

Variáveis	Grau 0	Grau 1	Grau 2/3	P*
	Mediana (P25-P75)	Mediana (P25-P75)	Mediana (P25-P75)	
TnTc-us AI	16,3 (9,4–37,5) (n=40)	16,7 (7,9–50,6) (n=14)	16,1 (5,7–26,4) (n=2)	0,848
TnTc-us 2h**	835 (655–1381) (n=35)	887 (500–1506) (n=15)	974 (889–1136) (n=5)	0,752

Fonte: elaborado pela autora.
*Teste de Kruskal-Wallis.
**Utilizado para o cálculo o valor de troponina sérica mais próximo do momento da biópsia do miocárdio.

Figura 15. Fragmentos A e B de miocárdio à microscopia óptica.



Fragmentos de miocárdio, em coloração HE e 100x de aumento, do paciente que recebeu cardioplegia del Nido. Na imagem A (antes da CEC) verifica-se infiltrado inflamatório moderado a acentuado acometendo a parede da arteríola, com extensão do processo aos tecidos perivasculares e do interstício cardíaco, sendo classificado em grau 1R. Na imagem B (15 min após o clamp aórtico), após receber solução cardioplégica DN, tem-se áreas de edema intersticial, com área central mostrando infiltrado inflamatório moderado na parede de arteríola, classificado em grau 3R.

A tabela 8 apresenta a distribuição das variáveis no intraoperatório de acordo com as soluções cardioplégicas utilizadas. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para as seguintes variáveis: tempo de pinçamento aórtico, tempo de CEC, uso de BIA, arritmia com necessidade de desfibrilação e uso de DVAs ao término da cirurgia. Ambos os grupos obtiveram efeitos satisfatórios de parada

cardíaca, mas aqueles que receberam DN, modificado ou não, tiveram uma maior tendência de retorno espontâneo do ritmo, sem necessidade de desfibrilação (p=0,065). Entretanto, os pacientes que receberam DN foram submetidos a menos transfusões de hemoderivados (p=0,008).

Tabela 8. Distribuição das variáveis no intraoperatório de acordo com as soluções cardioplégicas utilizadas.

Desfechos*	HTK (n=33)	DN (n=33)	DNM (n=33)	P
Transfusão	26 (78,8)[b]	14 (42,4)[a]	22 (66,7)[b]	**0,008**
Desfibrilação	18 (54,5)	10 (30,3)	10 (30,3)	0,065
DVAs	31 (93,9)	31 (93,9)	33 (100)	0,353
Assistência mecânica (BIA)	1 (3,0)	1 (3,0)	0 (0,0)	0,600
MP provisório	3 (9,1)	4 (12,1)	2 (6,1)	0,693
Tempo de clamp (min)	99,2±29,1	88,2±21,3	102,8±41,4	0,153
Tempo de CEC (min)	133,9±42,1	122,5±35,9	133,7±43,7	0,428

Fonte: elaborado pela autora.
*Valores em n (%), média ± desvio padrão ou mediana (intervalo interquartil).
Letras iguais evidenciam resultados estatisticamente semelhantes entre os grupos pelo teste Least Significant Difference (LSD) com 5% de significância.
DVAs, drogas vasoativas; BIA, balão intra-aórtico; MP, marcapasso; CEC, circulação extracorpórea.

Tabela 9. Distribuição das variáveis e características clínicas na UTI.

Desfechos*	HTK (n=33)	DN (n=33)	DNM (n=33)	P
Transfusão	14 (43,8)	10 (30,3)	6 (18,2)	0,082
Sangramento total (mL)	750 (520–1087)	695 (400–937)	650 (455–775)	0,190
VM ≤ 24h	24 (75,0)	29 (87,9)	29 (87,9)	0,270
VM > 24h	8 (25,0)	4 (12,1)	4 (12,1)	0,270
Reoperação por sangramento	2 (6,3)	1 (3,0)	0 (0,0)	0,343
DVAs ≤ 24h	14 (43,8)	19 (57,6)	20 (60,6)	0,349
DVAs > 24h	15 (46,9)	11 (33,3)	10 (30,3)	0,338
IAM	0 (0,0)	2 (6,1)	1 (3,0)	0,366
Tamponamento	0 (0,0)	1 (3,0)	0 (0,0)	0,370
BIA	1 (3,1)	0 (0,0)	1 (3,0)	0,595
Diálise	1 (3,1)	1 (3,0)	0 (0,0)	0,595
FA/flutter	6 (18,8)	4 (12,1)	7 (21,2)	0,602
AVC	0 (0,0)	1 (3,0)	1 (3,0)	0,610
Arritmias CV/desf	0 (0,0)	1 (3,0)	1 (3,0)	0,610
MP Provisório tempo (h)	25,5 (3–48)	2 (2–2)	6 (6-6)	0,407
MP Provisório	2 (6,3)	1 (3,0)	1 (3,0)	0,752

Fonte: elaborado pela autora.
*Valores em n (%), média ± desvio padrão ou mediana (intervalo interquartil).
UTI, unidade de terapia intensiva; VM, ventilação mecânica; DVAs, drogas vasoativas; IAM, infarto agudo do miocárdio; BIA, balão intra-aórtico; FA, Fibrilação atrial; AVC, acidente vascular cerebral; CV/desf, cardioversão/desfibrilação; MP, marcapasso.

Considerando o período de internação na UTI, não houve diferença estatisticamente significativa em todas as variáveis avaliadas, conforme tabela 9, tais como: transfusão de hemoderivados, total de sangramento, reoperação por sangramento,

período de ventilação mecânica, tempo de uso de DVAs, tamponamento cardíaco, IAM, AVC, IRA com necessidade de diálise, FA ou flutter atrial, arritmias com necessidade de cardioversão ou desfibrilação, uso de dispositivo de assistência circulatória mecânica (BIA) e uso de MP provisório.

Já na tabela 10, temos a distribuição das variáveis e características clínicas no pós-operatório. Os tempos de internação hospitalar, os óbitos e as variações da fração de ejeção não foram estatisticamente significativos entre os grupos.

Tabela 10. Distribuição das variáveis e características clínicas no pós-operatório.

Desfechos*	**HTK (n=33)**	**DN (n=33)**	**DNM (n=33)**	**P**
Tempo internação, sem óbitos (dias)	20 (10–25)	14 (12–25,5)	12,5 (11–15,3)	0,080
Tempo internação UTI (dias)	3,7 (2,8–6,2)	2,8 (1,9–4,0)	3,7 (2,7–4,1)	0,089
Óbito ≤ 30 dias	4 (12,1)	2 (6,1)	3 (9,1)	0,693
Óbito > 30 dias	2 (6,1)	2 (6,1)	0 (0,0)	0,353
Óbito causa				0,733
Cardiogênica	3 (50,0)	3 (75,0)	2 (66,7)	
Infecciosa#	3 (50,0)	1 (25,0)	1 (33,3)	
Tempo até óbito (dias)	10,5 (2,3–29)	3,5 (0,5–52,3)	4 (1–6)	0,381
Local Óbito				0,599
Bloco	1 (16,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
UTI	4 (66,7)	4 (100)	3 (100)	
Enfermaria	1 (16,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Eventos adversos¶ sem óbito	8 (25,0)	7 (21,2)	9 (27,3)	0,846
Eventos adversos¶ com óbito	11 (33,3)	10 (30,3)	10 (30,3)	0,954
Δ FEVE (%)	-1,24±9,85 (n=29)	-0,76±7,85 (n=29)	0,70±11,1 (n=30)	0,726

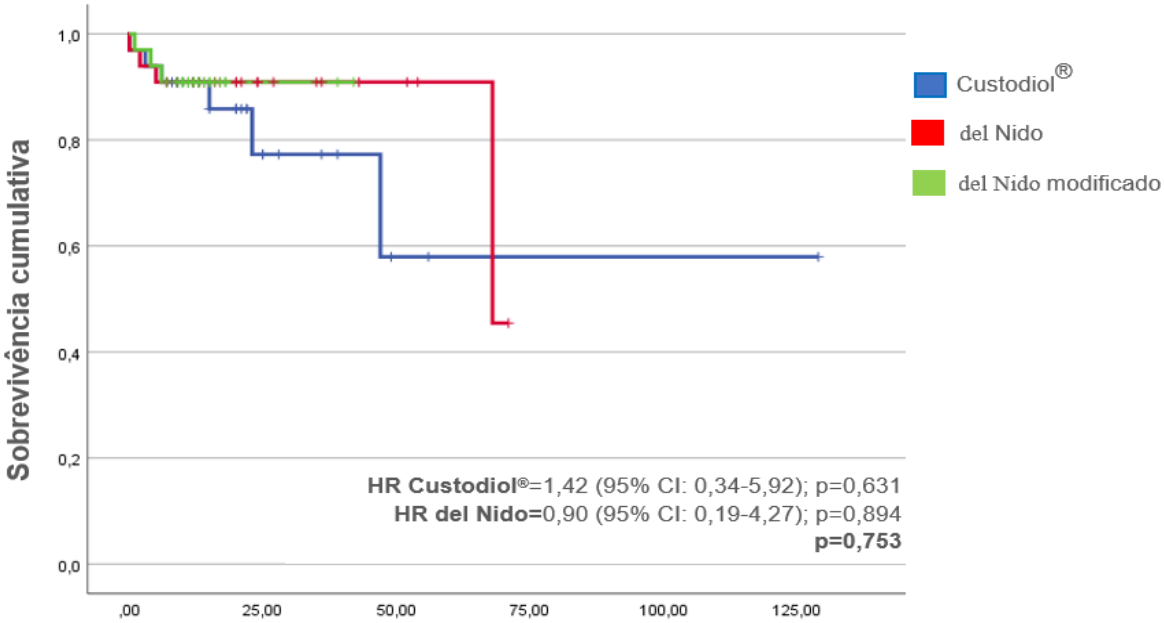
Fonte: elaborado pela autora.
* Valores em n (%), média ± desvio padrão ou mediana (intervalo interquartil).
PO, pós-operatório; UTI, unidade de terapia intensiva; FEVE, fração de ejeção do ventrículo esquerdo.
Os óbitos por causas infecciosas foram devido a sepse por infecção respiratória bacteriana (n=4) ou viral por SARS-CoV-2 (n=1).
¶ Eventos adversos: IAM, arritmia, diálise, tamponamento, reoperação, cardioversão, FA/Flutter e BIA.

A Figura 16 demonstra a análise da sobrevivência cumulativa dos pacientes em relação ao tempo no pós-operatório (p=0,753). O *Hazard Ratio* (HR) do HTK foi de 1,42 (IC 95%: 0,34 - 5,92; p=0,631), ou seja, os pacientes em uso de HTK tiveram 42% maior risco de óbito quando comparados aos que usaram DNM. O HR do DN foi de 0,90 (IC 95%: 0,19 - 4,27; p=0,894), sendo que os pacientes do grupo DN apresentaram 10% menos risco de óbito quando comparados aos em uso de DNM.

Quando ajustado (Figura 17) para transfusão de hemoderivados no transoperatório, têm-se o HR do HTK de 1,40 (IC 95%: 0,33 - 5,88; p=0,647), ou seja, os pacientes que receberam HTK tiveram 40% maior risco de óbito quando comparados aos que receberam DNM. Para DN, HR = 0,93 (IC 95%: 0,19 - 4,51;

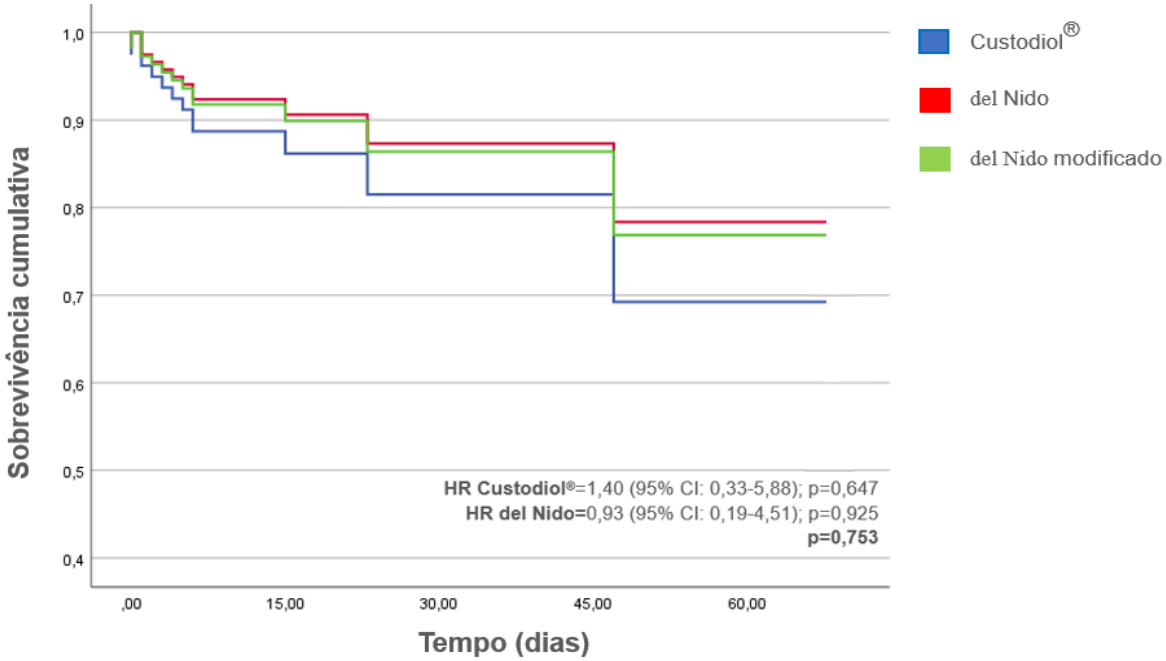
p=0,925), os pacientes tiveram 7% menos risco de óbito quando comparados aos em uso de DNM. No entanto, apesar das diferenças encontradas a favor de uma das soluções, não houve diferença estatisticamente significativa de mortalidade para todos os grupos avaliados ao longo do tempo.

Figura 16. Curva de Kaplan-Meier para avaliação da probabilidade de sobrevida.



Fonte: elaborado pela autora.

Figura 17. Curva de Kaplan-Meier ajustada* para avaliação da probabilidade de sobrevida.



Fonte: elaborado pela autora.
*Ajuste realizado para transfusão no intraoperatório, único desfecho significativo neste período na comparação entre as 3 soluções cardioplégicas.

6 DISCUSSÃO

A implementação deste protocolo assistencial para o Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição, orientando a decisão do tipo de solução cardioplégica a ser utilizada nas cirurgias, objetiva facilitar e uniformizar o manejo desses pacientes na prática cirúrgica diária, buscando melhorias nos desfechos clínicos e na proteção miocárdica. Atualmente, a solução cardioplégica padronizada na Instituição é o HTK. A avaliação de outras soluções de dose única não padronizadas, como a solução de DN e DNM, pode trazer benefícios significativos. É importante considerar a segurança do paciente como uma prioridade e garantir que essas soluções atendam aos padrões de qualidade necessários para procedimentos de cirurgia cardíaca bem-sucedidos. Além disso, a avaliação de tecnologias em saúde sempre pode levar a outros benefícios institucionais, incluindo a redução de gastos do Sistema Único de Saúde.

Uma das maiores vantagens do HTK e DN, tanto convencional como modificado, é que ambos podem fornecer um longo período de proteção miocárdica com infusão de dose única, o que pode ser essencial, principalmente, para a redução dos tempos cirúrgicos, com consequente potencial melhora dos desfechos[44].

Nesse ensaio clínico randomizado duplo cego, 99 pacientes adultos, submetidos a cirurgia cardiovascular eletiva e isolada, foram randomizados para receber HTK, DN ou DNM, com o objetivo de avaliar proteção miocárdica. Esse estudo forneceu dados demográficos e perfis clínicos pré-operatórios similares entre os grupos e, na análise comparativa, resultados semelhantes, tanto clínicos como laboratoriais, intra e pós-operatórias. Existem poucos estudos na literatura que comparem as três soluções cardioplégicas, muitos deles realizam comparações entre duas delas ou com cardioplegias sanguíneas convencionais.

A avaliação da proteção miocárdica pode ser feita através de biomarcadores e de desfechos clínicos. Os aumentos da troponina sérica, após a abertura do pinçamento aórtico, podem refletir o grau do dano miocárdico, o que está intimamente relacionado com a incidência de eventos adversos e pode ser usado como um indicador de efeito protetor[45].

Entre as soluções comparadas, foi evidenciado níveis mais baixos do biomarcador de lesão miocárdica TnTc-us no grupo que recebeu DN 2h após a CEC (p=0,028). HTK e DN apresentaram comportamentos semelhantes em 12 e 24h após

a CEC, sendo que o grupo DNM teve a maior queda dos valores em 24h. De qualquer forma, as diferenças entre os grupos em relação a esse marcador foram muito pequenas, com provável ausência de tradução clínica em virtude dos demais achados dessa casuística. Ross *et al*[46] realizaram uma extensa análise dos valores pós-operatórios de TnTc-us em estudo observacional de uma população adulta, comparando solução de DN com sanguínea hipercalêmica, com os valores do biomarcador também semelhantes entre os grupos. Talwar *et al*[24], investigando pacientes até 12 anos de idade, que foram randomizados para receber DN ou HTK durante cirurgia para correção de tetralogia de Fallot, observaram que os pacientes do grupo DN apresentaram níveis mais baixos de troponina I 24 horas após a CEC (P<0,001); quando comparando DN com DNM, não encontraram diferenças entre os grupos (p=0,15)[25].

Ambos os grupos obtiveram efeitos satisfatórios de parada cardíaca e não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nos tempos cirúrgicos. Para o grupo HTK, houve maior tendência a fibrilação ventricular após a liberação do pinçamento aórtico (p=0,065). A taxa mais alta de retorno ao ritmo espontâneo no grupo DN, modificado ou não, possivelmente esteja relacionada a menor lesão por isquemia de reperfusão e os mecanismos envolvidos podem ser: 1) inibição do influxo de cálcio e 2) associação entre o miocárdio isquêmico e o reaquecimento progressivo durante a reperfusão[1,29,47]. O HTK é uma solução cristaloide pura, que contém sulfato de magnésio (bloqueador dos canais de cálcio) e uma dose muito baixa de cálcio, à semelhança do DN. No entanto, o HTK não contém lidocaína (outro bloqueador de cálcio); talvez, o efeito conjunto dos bloqueadores do acúmulo de cálcio no DN (lidocaína e magnésio) seja mais forte do que no HTK (apenas magnésio). Apesar de comparar DN com soluções cardioplégicas convencionais, Zhai *et al*[45] fizeram uma revisão sistemática e meta-análise com 37 estudos observacionais e 4 ensaios clínicos randomizados, incluindo 21.779 pacientes adultos, encontrando um risco menor de necessidade de desfibrilação nos pacientes que receberam DN (RR 0,50, 95%IC: 0,33-0,75, p=0,0007). Da mesma forma, em outros artigos recentemente publicados[47–51], o uso do HTK também foi associado ao aumento da fibrilação de reperfusão.

Durante a cirurgia, a transfusão de hemoderivados foi o único desfecho que demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, com DN necessitando de menos transfusões em comparação com HTK e DNM (p=0,008). As

transfusões sanguíneas durante a cirurgia cardíaca estão associadas com aumento de mortalidade, mesmo em pacientes de baixo risco, e tendem a aumentar o tempo de permanência hospitalar significativamente[52–54], o que não ocorreu nessa casuística ($p<0,05$). Contudo, os pacientes do grupo HTK e DNM, que receberam mais transfusões, tiveram maior tempo de permanência na UTI, com resultado tendendo à significância estatística ($p=0,089$). Ainda, os pacientes que receberam soluções de DN, modificado ou não, receberam menor volume de cardioplegia do que aqueles que receberam HTK. É sabido que a administração de menores volumes de cardioplegia pode estar relacionada a menor hemodiluição e redução das necessidades de transfusões no pós-operatório[55]. No entanto, o significado clínico desse achado precisa ser avaliado em um contexto mais amplo, considerando outros fatores que podem influenciar as necessidades de transfusão. Duan *et al*[47], comparando HTK e del Nido em um estudo observacional avaliando 146 pacientes adultos submetidos a cirurgias valvares complexas, também observaram que o grupo DN apresentou menos transfusões ($p<0,05$) e menor tempo de permanência na UTI ($p<0,05$). Já Karaarslan *et al*[56], em outro estudo observacional comparando pacientes submetidos à CRM recebendo soluções de DN ou DNM, observaram menos transfusões no grupo DNM ($p=0,023$), contrariando os achados dessa casuística.

Nos achados relativos às dosagens séricas de eletrólitos, o grupo que recebeu HTK apresentou valores significativamente mais baixos de sódio e de potássio em 2h ($p=0,049$ e $p=0,002$, respectivamente), sendo que o potássio persistiu com esse comportamento até 24h após a CEC ($p<0,05$). Essas alterações são esperadas para as soluções intracelulares devido à sua composição, com baixo teor desses eletrólitos, além de resultar em hemodiluição pelo maior volume infundido. Dessa maneira, recomendar-se-ia restringir o uso dessa cardioplegia nos pacientes predispostos a distúrbios hidroeletrolíticos, a fim de prevenir resultados adversos[26,57–59]. Outras variáveis laboratoriais séricas, como CK, PCR, leucócitos, glicose, pH, lactato, bicarbonato e cálcio, refletiram padrões semelhantes, com respostas metabólicas habituais esperadas após as cirurgias cardiovasculares. A ausência de diferenças estatisticamente significativas dessas últimas entre os grupos, nos diversos momentos do estudo, corrobora com achados de outros estudos similares[26,57–59].

No pós-operatório, vários desfechos clínicos foram analisados. Os eventos adversos maiores foram estatisticamente semelhantes entre os grupos durante o tempo de permanência na UTI ($p>0,05$), como IAM, AVC, tamponamento cardíaco,

arritmias graves, necessidade de assistência circulatória mecânica e insuficiência renal aguda (IRA) associada à diálise, à semelhança de outros estudos[47–51].

Quanto às taxas de sobrevida, os grupos não apresentaram variações significativas estatisticamente. Embora os cálculos do HR tenham indicado tendências potenciais no maior risco de mortalidade para o grupo HTK, esses resultados carecem de significância estatística e devem ser interpretados com maior cautela devido ao tamanho relativamente pequeno da amostra. Uma recente meta-análise em rede[44] comparando DN, HTK e cardioplegia sanguínea, incluindo 1.191 pacientes adultos de 9 estudos observacionais retrospectivos, avaliou mortalidade como desfecho primário. No geral, não foram encontradas diferenças entre DN e HTK, cardioplegia sanguínea e DN, assim como cardioplegia sanguínea e HTK em relação à mortalidade em 30 dias ou durante o período de internação hospitalar (OR=0,44, IC95%: 0,07-2,13; OR=0,48, IC95%: 0,09-2,00; e OR=0,92, IC95%:0,30-2,81, respectivamente).

No contexto da análise histológica, o escore ISHLT 2005 foi usado para classificar as lesões teciduais, na ausência de um escore específico para avaliação de dano tecidual agudo ou subagudo. Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas, as variações dentro de cada grupo mostraram que a solução HTK teve uma resposta mista em relação à progressão da lesão, enquanto os grupos DN e DNM exibiram aumentos mínimos nos escores de lesão. Essa tendência necessita de investigações adicionais para confirmação, uma vez que foi realizada com microscopia óptica. Talwar[24,32] estudaram a análise estrutural celular miocárdica por meio da microscopia eletrônica na população pediátrica, evidenciando mais edema miocárdico (P=0,02) e desordem miofibrilar (P=0,04) no grupo HTK, juntamente com menores reservas de glicogênio (P=0,04), quando comparado ao grupo que recebeu DN; quando comparado DN com DNM, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (P>0,05).

Assim, uma solução de cardioplegia ideal deve minimizar o dano ao miocárdio, a hemodiluição, a necessidade de infusões múltiplas e a incidência de arritmias após liberação do pinçamento aórtico, além de ser economicamente viável. O custo da solução base de Plasma Lyte, utilizada na preparação da solução DN, foi de R$ 22,90 por frasco, necessitando 2 frascos por cirurgia habitualmente, perfazendo um custo total de R$ 45,80. Já para Ringer Lactato, quando utilizado como base para o preparo da solução de DNM, foi de R$ 4,00 o frasco, totalizando R$ 8,00 por paciente. O HTK, considerando a necessidade de 2 frascos, totaliza R$ 2.158,00 por paciente. Os

valores apresentados são os vigentes no Hospital Nossa Senhora da Conceição em outubro de 2023, semelhantes aos apresentados pelo Painel de Preços do Ministério da Gestão e da Inovação em Serviços Públicos do Governo Federal do Brasil no mesmo período[60]. Desta forma, a realização de um protocolo institucional, além de orientar com embasamento e segurança a decisão da melhor conduta, poderia reduzir significativamente os custos para o sistema de saúde, alterando a rotina da Instituição para o uso de del Nido em pacientes eletivos, com o inconveniente da necessidade de formulação no ambiente cirúrgico. A economia obtida com a solução de cardioplegia poderia custear novos equipamentos para benefícios tanto dos pacientes quanto institucional.

Por fim, os resultados encontrados neste estudo oferecem informações importantes para novas pesquisas e tomada de decisões para instituições onde não se consegue obter a cardioplegia HTK ou a solução base de Plasma Lyte. Os achados sugerem que, embora tenham ocorrido diferenças específicas e pontuais nos níveis de troponina e nas transfusões intraoperatórias, o impacto desses achados não parece influenciar nos desfechos clínicos dos pacientes. Dada a complexidade da cirurgia cardiovascular e a natureza multifatorial dos desfechos dos pacientes, são necessários estudos amostrais maiores para corroborar com esses achados e melhor elucidação dos eventos raros.

É importante salientar, ainda, que essas recomendações constituem apenas um guia prático para uso na rotina intraoperatória, cujas condutas devem ser individualizadas na dependência das características de cada paciente, além das preferências individuais dos médicos especialistas responsáveis por cada etapa.

7 LIMITAÇÕES

Esse estudo conta com limitações que merecem menção: 1) a amostra foi calculada de tamanho necessário para avaliação da troponina, sendo de número insuficiente para eventos raros e algumas análises categóricas; 2) o método utilizado para avaliação histológica pareceu adequado, no entanto, a microscopia eletrônica poderia ter fornecido melhor avaliação das alterações estruturais e celulares do miocárdio do que a microscopia óptica utilizada; e 3) a patologia variável (doença coronariana ou valvar), apesar de aproximar a casuística de uma amostra “de mundo real”, pode determinar algum viés de aferição devido às alterações em câmaras cardíacas inerentes a cada uma delas, o que parece ter sido minimizado pela amostra homogênea consequente à randomização adequada.

8 CONCLUSÃO

As três soluções cardioplégicas utilizadas no estudo demonstraram proteção miocárdica semelhante para os desfechos avaliados intra e pós-operatórios.

1) Os achados para TnTc-us sugerem uma boa proteção miocárdica com as três soluções, demonstrando maior semelhança entre o grupo HTK e DN, porém as diferenças encontradas entre as 3 soluções não parecem ter repercutido nos desfechos clínicos avaliados. A alteração que chama mais atenção foi a observada no grupo DNM, o qual determinou queda dos valores 24h após a CEC, possibilitando considerar uma possível recuperação miocárdica precoce em relação às outras, que mantiveram valores altos.

2) Os indicadores clínicos indiretos de proteção miocárdica avaliados nos períodos intra e pós-operatório apresentaram resultados estatisticamente semelhantes em todos os grupos.

3) Os pacientes que receberam DN foram submetidos a menos transfusões de hemoderivados no intraoperatório.

4) As dosagens séricas de sódio e potássio foram inferiores no grupo HTK. Para os demais desfechos avaliados, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Sugere-se, evitar a solução de HTK nos pacientes com predisposição a distúrbio hidroeletrolíticos.

5) Ausência de alterações histológicas estatisticamente significativas do miocárdio à microscopia óptica na comparação entre as soluções cardioplégicas. Não foi observado relação entre o aumento do grau de lesão tecidual com os níveis séricos de troponina.

Desta forma, considerando resultados semelhantes para pacientes adultos e eletivos para cirurgia isolada de troca valvar ou CRM, a escolha pode ser baseada nos custos ou disponibilidade da solução em cada instituição. Além disso, a avaliação e escolha guiada de tecnologias em saúde pode levar a outros benefícios institucionais, incluindo a redução de gastos do Sistema Único de Saúde.

São necessários mais estudos prospectivos para avaliação de eventos raros e inclusão de situações de urgência e emergência, cirurgia de congênitos, cirurgias múltiplas e reoperações.

REFERÊNCIAS

1. SANETRA, K.; PAWLAK, I.; CISOWSKI, M. Del Nido cardioplegia – what is the current evidence? Polish Journal of Cardio-Thoracic Surgery. v. 15, n. 2, p. 114-118, 2018.

2. FERGUSON, Z.G. *et al*. Evidence-based medicine and myocardial protection — where is the evidence? Perfusion. v. 30, n. 5, p. 415-422, 2015.

3. HAYASHIDA, N. *et al*. Minimally Diluted Tepid Blood Cardioplegia. The Annals of Thoracic Surgery. v. 65, n. 3, p. 615-621, 1998.

4. AD, Niv. del Nido cardioplegia: Ready for prime time in adult cardiac surgery? The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. v. 149, n. 2, p. 637-638, 2015.

5. GROENEWOUD, A.F. *et al.* First results of the multicenter study of HTK protection for kidney transplants. Transplantation proceedings. v. 22, n. 5, p. 2212, 1990.

6. HOLSCHER, M.; GROENEWOUD, A.F. Current status of the HTK solution of Bretschneider in organ preservation. Transplantation proceedings. v. 23, n 5, p. 2334-2337, 1991.

7. EDELMAN, J.J.B. *et al.* Custodiol for myocardial protection and preservation: a systematic review. Ann Cardiothorac Surg. v. 2, n. 6, p. 717-728, 2013.

8. HETTE, A.N.; SOBRAL, M.L.P. Mechanical Circulatory Assist Devices: Which Is the Best Device as Bridge to Heart Transplantation? Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.21470/1678-9741-2021-0562>. Acesso em: 15 jul. 2022.

9. CHAMBERS, D.J.; HEARSE, D.J. Developments in cardioprotection: “polarized” arrest as an alternative to “depolarized” arrest. The Annals of Thoracic Surgery. v. 68, n. 5, p. 1960-1966, 1999.

10. MATTE, G.S.; DEL NIDO, P.J. History and use of del Nido cardioplegia solution at Boston Children’s Hospital. J Extra Corpor Technol. V. 44, n. 3, p. 98-103, 2012.

11. YAYLA-TUNÇER, E. *et al.* Acute Changes in Myocardial Expression of Heat Shock Proteins and Apoptotic Response Following Blood, del Nido, or Custodiol Cardioplegia in Infants Undergoing Open-Heart Surgery. Pediatric Cardiology. v. 43, n. 3, p. 567-579, 2021.

12. OTA, T. *et al.* Short-term outcomes in adult cardiac surgery in the use of del Nido cardioplegia solution. Perfusion. v. 31, n. 1, p. 27-33, 2015.

13. GUAJARDO SALINAS, G.E.; NUTT, R.; RODRIGUEZ-ARAUJO, G. Del Nido cardioplegia in low-risk adults undergoing first time coronary artery bypass surgery. Perfusion, v. 32, n. 1, p. 68-73, 2017.

14. KIM, K. *et al.* Use of del Nido Cardioplegia for Adult Cardiac Surgery at the Cleveland Clinic: Perfusion Implications. The Journal of extra-corporeal technology. v. 46, n. 4, p. 317-323, 2014.

15. MONGERO, L.B. Del Nido Cardioplegia - Not Just Kids Stuff. The Journal of extra-corporeal technology. v. 48, n. 2, p. 25-28, 2016.

16. NAJJAR, M. *et al.* Feasibility and safety of continuous retrograde administration of Del Nido cardioplegia: a case series. Journal of Cardiothoracic Surgery. v. 10, n. 1, p. 176, 2015.

17. YEREBAKAN, H. *et al.* Del Nido Cardioplegia can be safely administered in high-risk coronary artery bypass grafting surgery after acute myocardial infarction: a propensity matched comparison. Journal of Cardiothoracic Surgery. v. 9, n. 1, p. 141, 2014.

18. DOBSON, G.P.; JONES, M.W. Adenosine and lidocaine: a new concept in nondepolarizing surgical myocardial arrest, protection, and preservation. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. v. 127, n. 3, p. 794-805, 2004.

19. GOVINDAPILLAI, A. *et al.* Protecting the aged heart during cardiac surgery: Use of del Nido cardioplegia provides superior functional recovery in isolated hearts. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. v. 146, n. 4, p. 940-948, 2013.

20. O'BLENES, S.B. *et al.* Protecting the aged heart during cardiac surgery: The potential benefits of del Nido cardioplegia. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. v. 141, n. 3, p. 762-770, 2011.

21. POWELL, W. J. *et al*. The protective effect of hyperosmotic mannitol in myocardial ischemia and necrosis. Circulation. v. 54, n. 4, p. 603-615, 1976.

22. KANTATHUT, N. *et al*. Lactated Ringer's as a Base Solution for del Nido Cardioplegia. J Extra Corpor Technol. v. 51, n. 3, p. 153-159, 2019.

23. SIDDIQI, S.; BLACKSTONE, E.H.; BAKAEEN, F. G. Bretschneider and del Nido solutions: Are they safe for coronary artery bypass grafting? If so, how should we use them? Journal of Cardiac Surgery. v. 33, n. 5, p. 229-234, 2018.

24. TALWAR, S. *et al*. Comparison of del Nido and histidine-tryptophan-ketoglutarate cardioplegia solutions in pediatric patients undergoing open heart surgery: A prospective randomized clinical trial. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. v. 157, n. 3, p. 1182-1192, 2019.

25. TALWAR, S. *et al*. Plasmalyte-A Based del Nido Cardioplegia Versus Plain Ringer Based del Nido Cardioplegia: Double-Blind Randomized Trial. World J Pediatr Congenit Heart Surg. v. 13, n. 2, p. 187–95, 2022.

26. MEHRABANIAN, M.J. *et al*. Clinical Outcomes and Electrolyte Balance Factors in Complex Cardiac Operations in Adults; Del Nido® Versus Custodiol® Cardioplegia Solutions: A Randomized Controlled Clinical Trial. Iranian Red Crescent Medical Journal. v. 20, n. 4, p. 646-648, 2018.

27. SORABELLA, R.A. *et al*. Myocardial Protection Using Del Nido Cardioplegia Solution in Adult Reoperative Aortic Valve Surgery. Journal of Cardiac Surgery. v. 29, n. 4, p. 445-449, 2014.

28. KIM, J.S. *et al*. Sufficient myocardial protection of del Nido cardioplegia regardless of ventricular mass and myocardial ischemic time in adult cardiac surgical patients. Journal of Thoracic Disease. v. 8, n. 8, p. 2004-2010, 2016.

29. AD, N. *et al*. The use of del Nido cardioplegia in adult cardiac surgery: A prospective randomized trial. J Thorac Cardiovasc Surg. v. 155, n. 3, p. 1011-1018, 2018.

30. TIMEK, T. *et al*. Propensity Matched Analysis of del Nido Cardioplegia in Adult Coronary Artery Bypass Grafting: Initial Experience With 100 Consecutive Patients. The Annals of Thoracic Surgery. v. 101, n. 6, p. 2237-2241, 2016.

31. ZIAZADEH, D. *et al*. Single dose del Nido Cardioplegia in Minimally Invasive Aortic Valve Surgery. Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery. v. 29, n. 4, p. 471-476, 2017.

32. VISTARINI, N. *et al*. Del Nido cardioplegia in the setting of minimally invasive aortic valve surgery. Perfusion. v. 32, n. 2, p. 112-117, 2017.

33. KANTATHUT, N. *et al*. Comparison of Single-Dose Cardioplegia in Valvular Heart Surgery: Lactated Ringer's-Based del Nido vs. Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate Cardioplegia Solution. Braz J Cardiovasc Surg. v. 38, n. 6, p. e20220447, 2023.

34. CONSORT Transparent Reporting of Trials. Disponível em: <http://www.consort-statement.org>. Acesso em: 10 jan. 2020.

35. BRASIL. Conselho Nacional de Saúde e Ministério da Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Brasília, DF, p. 59. Disponível em: Acesso em: 10 de jan. de 2020.

36. BRASIL. UFRGS. Francisconi CF, Goldim JR. Termo de Consentimento Informado para Pesquisa. Auxílio para a sua estruturação. Disponível em: <http://www.bioetica.ufrgs.br/conspesq.htm>. Acesso em: 10 jan. 2020.

37. THYGESEN, K. *et al*. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). J Am Coll Cardiol. v. 72, n. 18, p. 2231-2264, 2018.

38. GARCIA-GARCIA, H.M. *et al*. Standardized End Point Definitions for Coronary Intervention Trials. European Heart Journal. v. 39, n. 23, p. 2192-2207, 2018.

39. NEIL, D.A.H. Transplant Pathology. In: Suvarna, S.K. Cardiac Pathology. London: Springer London, 2013. c.10, p163–181.

40. CHAN, A.W. *et al*. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. Annals of Internal Medicine. v. 158, n. 3, p. 200-207, 2013.

41. COOPER, L.T. *et al*. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology Endorsed by the Heart Failure Society of America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. Europen Heart Journal. v. 28, n. 24, p. 3076-3093, 2007.

42. ALHAN, H.C. *et al*. Intermittent aortic cross-clamping and cold crystalloid cardioplegia for low-risk coronary patients. Ann Thorac Surg. v. 61, n. 3, p. 834-839, 1996.

43. DUSSIN, L.H. *et al*. Análise ultra-estrutural do miocárdio usando solução cardioplégica cristalóide com e sem procaína em pacientes submetidos à troca valvar aórtica. Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular. v. 23, n. 3, p. 389-395, 2008.

44. CHAN, J. *et al*. Network meta-analysis comparing blood cardioplegia, Del Nido cardioplegia and Custodiol cardioplegia in minimally invasive cardiac surgery. Perfusion. v. 38, p.464–72, 2023.

45. ZHAI, K. *et al*. Del Nido cardioplegia for myocardial protection in adult cardiac surgery: a systematic review and update meta-analysis. Perfusion (United Kingdom). v. 38, p. 6–17, 2023.

46. Ross, J.D.W. *el al*. Del Nido cardioplegia in adult cardiac surgery: analysis of myocardial protection and post-operative high-sensitivity Troponin T. ANZ J Surg. v.91, n. 10, p. 2192–8, 2021.

47. DUAN, L. *et al*. Del Nido versus HTK cardioplegia for myocardial protection during adult complex valve surgery: a retrospective study. BMC Cardiovasc Disord. v. 21, n. 1, p. 604, 2021.

48. BRAATHEN, B. *et al*. One single dose of histidine-tryptophan-ketoglutarate solution gives equally good myocardial protection in elective mitral valve surgery as repetitive cold blood cardioplegia: A prospective randomized study. Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. v. 141, n. 4, p. 995–1001, 2011.

49. MERCAN, I. *et al.* Comparison between the Effects of Bretschneider's HTK Solution and Cold Blood Cardioplegia on Systemic Endothelial Functions in Patients who Undergo Coronary Artery Bypass Surgery: a Prospective Randomized and Controlled Trial. Braz J Cardiovasc Surg. v. 35, n. 5, p. 634-643, 2020.

50. ALI, I.; HASSAN, A.; SHOKRI, H.; KHORSHED, R. Efficacy of Histidine–Tryptophan–Ketoglutarate Solution Versus Blood Cardioplegia in Cardiac Surgical Procedures: A Randomized Controlled | Parallel Group Study. Heart Surg Forum. v. 24, n. 1, p. 170–176, 2021.

51. GAUDINO, M. *et al*. Randomized trial of HTK versus warm blood cardioplegia for right ventricular protection in mitral surgery. Scandinavian Cardiovascular Journal. v. 47, n. 6, p. 359–367, 2013.

52. JAKOBSEN, CJ. *et al*. Transfusion of blood during cardiac surgery is associated with higher long-term mortality in low-risk patients. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. v. 42, n. 1, p. 114–120, 2012.

53. GALAS, FR. *et al*. Blood transfusion in cardiac surgery is a risk factor for increased hospital length of stay in adult patients. J Cardiothorac Surg. v. 8, n. 1, p. 54, 2013.

54. SANETRA, K. *et al*. The impact of del Nido cardioplegia solution on blood morphology parameters. Perfusion (United Kingdom). v. 38, n. 2, p. 277–284, 2023.

55. LI, Y. *et al*. Del Nido cardioplegia for myocardial protection in adult cardiac surgery: A systematic review and meta-analysis. ASAIO Journal. v. 64, n. 3, p. 360–367, 2018.

56. KARAARSLAN, K.; ERDINC, I. Is Modified Del Nido Cardioplegia as Effective as Del Nido Cardioplegia in Patients with Isolated Coronary Artery Bypass Surgery? Heart Surgery Forum. v. 25, n. 1, p. 163–167, 2022.

57. VERES G. *et al*. Custodiol-N, the novel cardioplegic solution reduces ischemia/reperfusion injury after cardiopulmonary bypass. J Cardiothorac Surg. v. 10, n.1, p. 27, 2015.

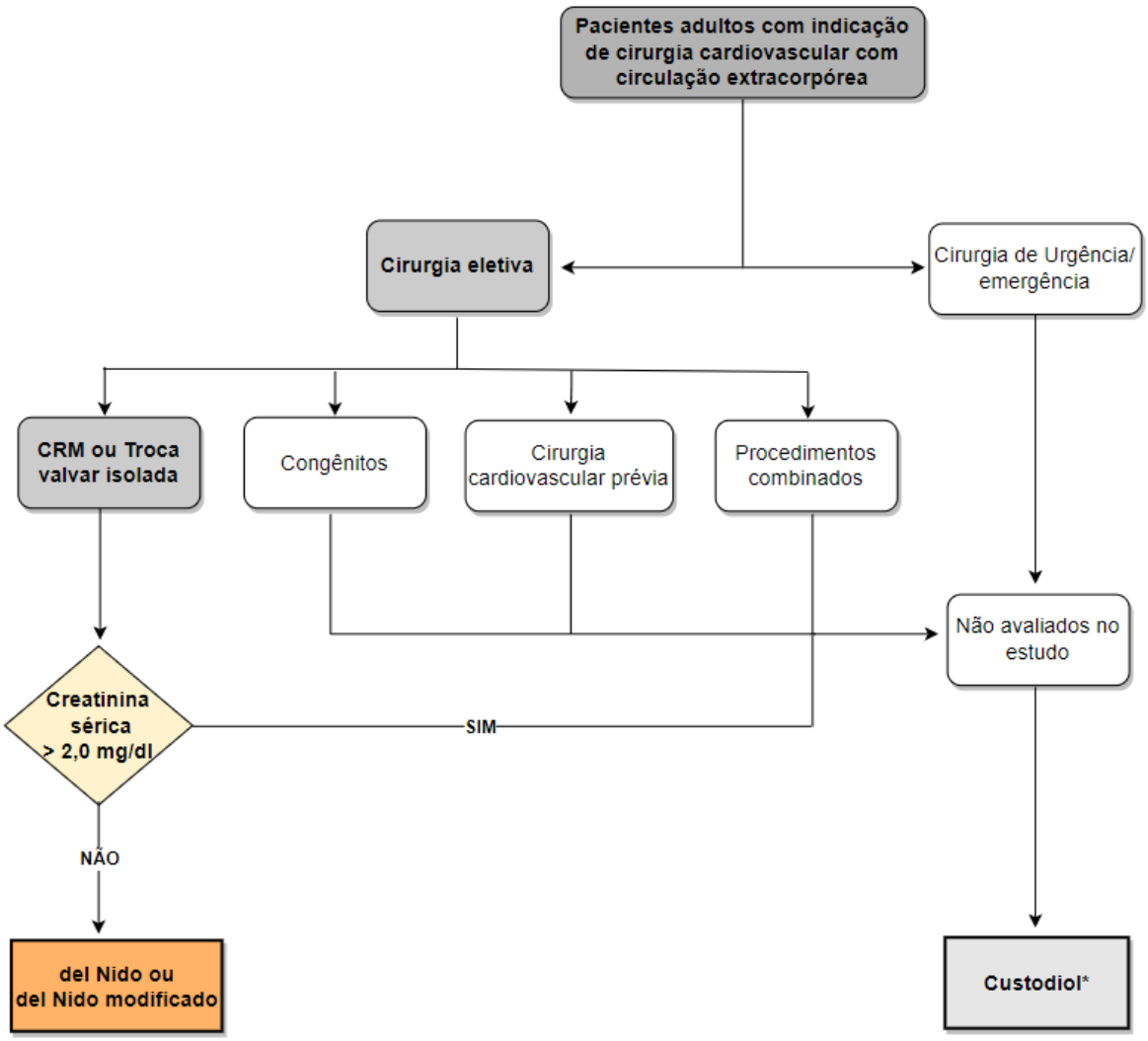
58. CARMO, HRP do. *et al*. Development of cardioplegic solution without potassium: experimental study in rat. Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular. v. 28, n. 4, p. 524–530, 2013.

59. LINDNER, G. *et al*. Acute hyponatremia after cardioplegia by histidine-tryptophane-ketoglutarate – a retrospective study. J Cardiothorac Surg. v. 7, n. 1, p. 52, 2012.

60. PAINEL DE PREÇOS. Ministério da Gestão e da Inovação em Serviços Públicos. Brasília, DF. Disponível em: < https://paineldeprecos.planejamento.gov.br/> Acesso em: 10 de out. de 2023.

9 PRODUTO TÉCNICO

Protocolo assistencial do Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição - Fluxograma para orientar a decisão do tipo de solução cardioplégica a ser utilizada nas cirurgias cardiovasculares.



* Solução cardioplégica padronizada na instituição desde 2015.
CRM, cirurgia de revascularização miocárdica; troca valvar isolada, implante valvar mitral ou aórtico; congênitos, comunicação interatrial e forame oval patente; procedimentos combinados, dois ou mais procedimentos.

10 ARTIGO CIENTÍFICO (pretensa publicação na British Medical Journal – BMJ)

COMPARISON BETWEEN SINGLE-DOSE CARDIOPLEGIC SOLUTIONS IN MYOCARDIAL PROTECTION: A DOUBLE-BLIND RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

Authors: Kathize Betti Lira[1,2], Renan Senandes Delvaux[1], Felipe Abatti Spadini[1,2], Luis Henrique Hauschild[1,2], Rafael Oliveira Ceron[1,3], Fernando Anschau[2,4], Luciane Kopittke[2,4], Juarez Rode[1,3], Rafael Antônio Widholzer Rey[1,3], Estefânia Inês Wittke[1,2,3], Alfeu Roberto Rombaldi[1,3], Adriana Silveira Almeida[1,2,3,4].

[1]Postgraduate Program in Cardiovascular Surgery, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 596 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

[2]Postgraduate Program in Technology Assessment for SUS (PPGATSUS/GHC), Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 326 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

[3]Cardiothoracic Surgery Division, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 596 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

[4]Health Technology Assessment Center (NATS), Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 326 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

Kathize B. Lira: kathizelira91@gmail.com

Renan S. Delvaux: renan_delvaux@hotmail.com

Felipe A. Spadini: felipespadini@gmail.com

Luis H. Hauschild: lh.hauschild@gmail.com

Rafael O. Ceron: rafael_ceron2000@yahoo.com.br

Fernando Anschau: afernando@ghc.com.br

Luciane Kopittke: lucianekopittke@gmail.com

Juarez Rode: juarezrode@terra.com.br

Rafael A. W. Rey: rafawrey@gmail.com

Estefânia I. Wittke: wittkecardio@gmail.com

Alfeu R. Rombaldi: ar.rombaldi@gmail.com

Adriana S. Almeida: adrianasdealmeida@gmail.com

Address correspondence to: Adriana Silveira Almeida, Cardiovascular Surgery Department, Hospital Nossa Senhora da Conceição, 596 Francisco Trein Avenue, Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: adrianasdealmeida@gmail.com

Contributors: (I) Conception and design: all authors; (II) Administrative support: ASA, FA, LK; (III) Provision of study materials or patients: ASA; (IV) Collection and assembly

of data: KBL; (V) Data analysis and interpretation: KBL, ASA; (VI) Manuscript writing: All authors; (VII) Final approval of manuscript: All authors.

Acknowledgments: We thank Hospital Nossa Senhora da Conceição for supporting this research, as well as all colleagues and employees who helped to make this project happen.

Ethics and dissemination: This protocol and its related documents were approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Nossa Senhora da Conceição, Brazil, registered under No. 4.029.545. The findings of this study will be published in a peer-reviewed journal in the related field.

Funding: Financial support was provided by Hospital Nossa Senhora da Conceição and did not receive any other specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Competing interests: The authors declare themselves exempt from any financial or commercial interest in conducting this study.

What is already known on this topic: With the advent of minimally invasive cardiac surgeries, the use of single-dose cardioplegic solutions for myocardial protection during induced cardiac arrest in surgery has increased, especially Custodiol® (HTK), del Nido (DN), and modified del Nido (DNM). To date, there is no conclusive evidence regarding the advantages or disadvantages of single-dose cardioplegic solutions. The standardization of the method or the ideal type of solution remains controversial due to the scarcity of studies with clear designs comparing outcomes.

What this study adds: To assess the effects of three single-dose cardioplegic solutions on myocardial protection through laboratory analysis and indirect clinical indicators during intraoperative and postoperative periods.

ABSTRACT

Objective: Assess the effects of the cardioplegic solutions Custodiol® (HTK), del Nido (DN), and modified del Nido (DNM) on myocardial protection, considering clinical and laboratory evaluation.
Design: Double-blind randomized clinical trial.
Setting: Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, RS, Brazil, from June 2020 to November 2022.
Eligibility criteria for participants: Included patients aged 18 years or older, in accordance with the Informed Consent Form. Excluded were cases of urgency or emergency, prior cardiac surgery, multiple surgeries, chronic kidney failure (serum creatinine greater than 2.0 mg/dl), and severe psychiatric illness.
Participants: 99 adult patients undergoing elective cardiovascular surgery for valve replacement or myocardial revascularization with cardiopulmonary bypass (CPB).
Intervention: Administration of HTK, DN, or DNM during CPB.
Main outcome measures: The primary outcome was the assessment of myocardial protection based on the serum levels of high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) at 4 time points (baseline, 2, 12, and 24 hours after CPB). Additionally, indirect measures of myocardial protection were compared, both laboratory and clinical, during intra and postoperative periods. Analyses were conducted on an intention-to-treat basis. A Generalized Estimating Equations (GEE) model was used to compare parameters over the follow-up time and between groups, complemented by the Least Significant Difference test.
Results: Among the groups, those who received the DN solution had significantly lower troponin values 2 hours after the end of CPB ($p=0.028$). Patients who received HTK or DNM required more transfusions during surgery ($p=0.008$). The HTK group had significantly lower sodium and potassium levels at 2 hours ($p=0.049$ and $p=0.002$, respectively), with potassium continuing to exhibit this pattern up to 24 hours after CPB ($p<0.05$). Other aspects were similar in the case series, including mortality.
Conclusions: The three cardioplegic solutions used in the study did not show significant differences in myocardial protection and in most of the intra and postoperative findings. Further clinical trials are needed to assess rare events and include situations of urgency and emergency, adult congenital surgery, multiple surgeries, and reoperations.
Trial registration: Brazilian Clinical Trials Registry (ReBEC): RBR-7g5s66.

Keywords: Cardioplegic solution; myocardial protection; Bretschneider solution; Custodiol; del Nido solution; Lactated Ringer solution; modified del Nido cardioplegia solution.

Introduction

Cardiac surgery typically involves the use of cardiopulmonary bypass (CPB) and induced cardiac arrest, which requires adequate myocardial protection to prevent myocardial stunning, cellular apoptosis, and infarction if inadequate. Myocardial protection is achieved through cardioplegic solutions, which limit myocardial metabolism and enable resistance to longer periods of ischemia, crucial for a successful surgical outcome. The search for the ideal cardioplegic solution remains undefined; many solutions are commercially available, but there are no guidelines regarding the gold standard[1,2]. Crystalloid cardioplegia, such as Bretschneider solution, Custodiol®, or HTK Solution, and blood cardioplegia, including del Nido solution, are all commonly used and provide adequate myocardial protection, but the evidence is not clear[3].

HTK solution, described in 1970, is an intracellular solution with low sodium, potassium, and calcium content that induces diastolic cardiac arrest. Administered as a single-dose, it provides myocardial protection for up to 3 hours, allowing for longer uninterrupted procedures. It is widely used in complex cardiac surgeries and organ preservation for transplantation[4-7].

DN solution, developed by Pedro del Nido in 1990 for pediatric surgery, has been used in the adult population since 2010. It is a mixed extracellular solution that allows protection for up to 90 minutes. The crystalloid base includes Plasma-Lyte and induces rapid depolarized diastolic arrest[2,8]. In many countries, the unavailability of Plasma-Lyte hinders the use of DN cardioplegia as the primary solution in many cardiovascular surgery centers. Consequently, to access the benefits of this solution, Ringer's lactate solution is used as the base solution, known as modified del Nido solution (MDN). Although the main formula was not designed to contain calcium, Ringer's lactate has shown good results in centers that use it[9,10].

Therefore, the authors aimed to analyze myocardial protection through clinical and laboratory outcomes among the three long-duration solutions over time.

Methods

Details of this prospective cohort study have been previously reported[11]. Methods relevant to this report are described below.

Study design

Double-blind randomized clinical trial. Ninety-nine patients undergoing elective valve replacement or myocardial revascularization surgery were randomized from June 8, 2020, to November 18, 2022, to receive HTK, DN, or MDN solution at Hospital Nossa Senhora da Conceição, a tertiary referral center for Cardiovascular Surgery in Southern Brazil, to compare the effects of long-acting cardioplegia solutions on myocardial protection and perioperative outcomes. The study was conducted following the Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials checklist (SPIRIT)[12], as depicted in Figure 1. The approach of this study will adhere to the guidelines of the Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT)[13], as illustrated in Figure 2. This study and its associated documents were approved by the Research Ethics Committee of Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, registered under nº. 4.029.545. The findings of this study will be published in a peer-reviewed journal in the relevant field.

	Study period					
	Enrollment	**Allocation**	**Post-allocation**			**Close-out**
Time point	Interviews	Following confirmation of elegibility to day of surgery	Day of surgery	0-24h Postoperative	Postoperative onwards until discharge	Discharge or 30 days after enrollment
Enrollment						
Eligibility screen	X					
Informed consent	X					
Demographic data	X					
Anthropometric data	X					
Clinical data	X					
Allocation (randomization)		X				
Interventions						
Custodiol®			X			
del Nido			X			
Modified del Nido			X			
Assessments						
Baseline variables		X	X			
Peri-procedure variables			X	X	X	
Clinical outcomes			X	X	X	X
Echocardiogram	X					X

Figure 1. Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials (SPIRIT)[11] checklist. Enrolment, Interventions, and Assessments.

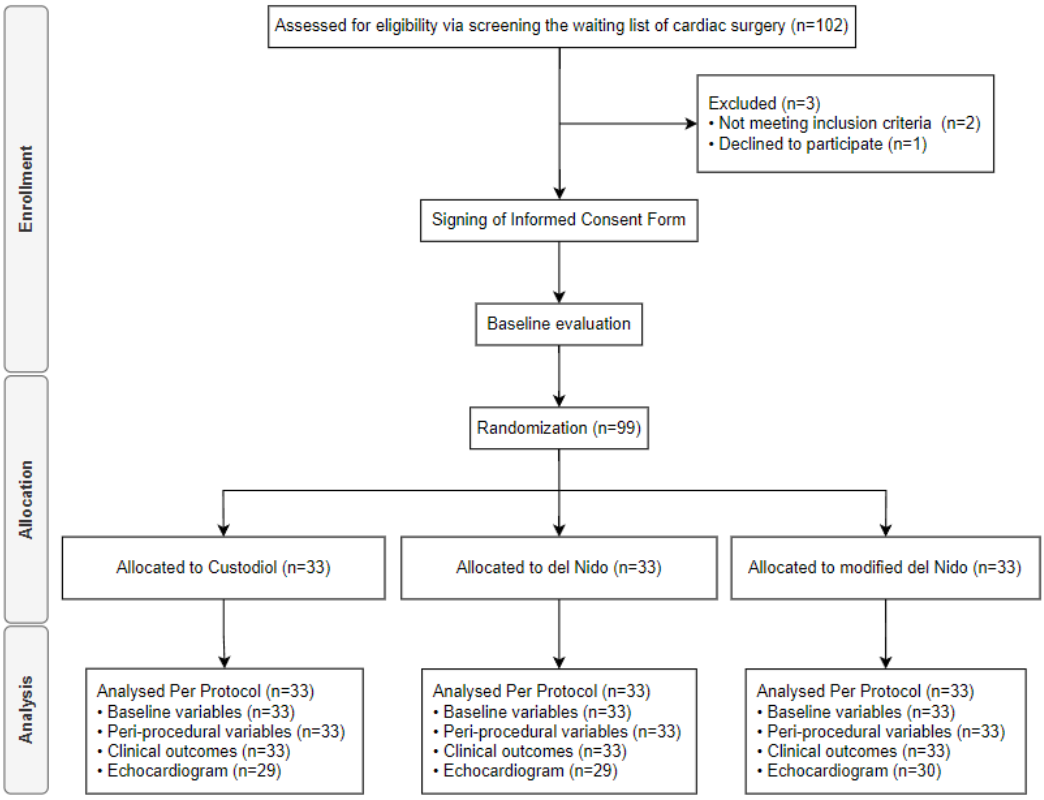


Figure 2. Flowchart: CONSORT[13] statement.

Participants

Adult patients undergoing myocardial revascularization surgery or elective valve replacement in a tertiary referral hospital in Cardiovascular Surgery in southern Brazil, randomized to receive DN solution, MDN, or HTK during CPB. They will be monitored to evaluate the effectiveness of the treatment initially proposed. The sample size calculation was performed for the Cardioplegia Trial using the G-Power software version 3.1.9.4, considering an effect f=0.466 on troponin levels, based on the study by Talwar *et al*[14]. To maintain a significance level α=0.05 and power of 95%, it would be necessary to investigate 75 patients. Considering possible losses of up to 20% and maintenance of statistical power in the multivariate analysis, a minimum of 90 individuals will be selected for the study, with at least 30 randomized to each group. The study site was chosen for convenience and the researchers previously selected eligibility criteria. All patients undergoing valve replacement surgery or myocardial revascularization with elective CPB will be included. Patients with prior cardiac surgery,

chronic renal failure (serum creatinine greater than 2.0 mg/dl), severe psychiatric illness, emergency surgeries, and multiple surgeries will be excluded from the study.

Outcomes

The primary outcome was the assessment of myocardial protection with the 3 cardioplegic solutions through serum high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) measurement. The indirect clinical indicators of myocardial protection in the perioperative period were assessed, such as arrhythmias, LVEF changes, use of vasoactive or inotropic agents, and the need for hemodynamic support with an intra-aortic balloon (IABP). Other intraoperative and postoperative outcomes were assessed. Deaths were classified according to the Academic Research Consortium (ARC)-2[15].

Randomisation and blinding

The patients were randomised in blocks to receive the DN, MDN or HTK solutions during CPB, with a sequence generated by website randomizer.org and the numbers being placed in opaque envelopes and sealed individually. On the same day as the surgery and before anesthesia induction, patients were randomly selected by the research team to receive the cardioplegic solution. The perfusionist received the sealed opaque envelope indicating the cardioplegic solution to be prepared and administered according to its specificities. All participants, including patients, anesthesiologists, echocardiographers, clinical laboratory analysis teams, and nursing staff, were blinded to the type of intervention. Since the infusion of HTK requires a different administration time and interval between doses than DN solution, the surgical team will only be blinded to intervention with DN or MDN and will not participate in the analysis of results to avoid measurement biases. Standardization of solution volumes and administration times and intervals between doses is not possible due to the potential increase in patient risks. All patients, after surgery, were transferred to the ICU for cardiac surgery recovery and were treated by a specialized postoperative team following institutional standardized protocols, blind to the type of cardioplegia administered during the operation. After ICU discharge, these patients were transferred to the cardiology postoperative unit and managed until hospital discharge by the responsible team, following their protocols while remaining blinded. Additionally, the principal investigator, who identified the outcomes and conducted statistical

analyses, was blinded to the type of intervention used in each case. All deaths or reported complications, cardiovascular or otherwise, during the study conduct were analyzed. All researchers involved in the adjudication process remained blinded to patient allocation regarding the type of intervention. Adjudicated data were used for the final safety and efficacy analysis.

Surgical Technique

Surgical technique Conventional general anesthesia was used for all patients. The surgical approach was via median sternotomy. The CPB was established by an arterial cannula in the ascending aorta or femoral artery. Venous drainage was obtained via a two-stage cannula in the right atrium or bicaval cannulation through the superior and inferior vena cavae or femoral vein. Under CPB and aortic cross-clamping, cardioplegic arrest was induced.

Cardioplegic solutions: preparation and administration

The cardioplegic solutions were administered in an antergrade manner, at the root of the aorta or coronary ostia, as per specific indication.

All solutions were prepared by the perfusionist, the professional responsible for conducting CPB, according to the standardised aseptic techniques routinised in the Cardiovascular Surgery Service, without any difference from what was habitually used before the beginning of the study since these solutions are already standardised and correctly employed at the institution, except for Plasma-Lyte. HTK cardioplegia is a sterile prepackaged solution that does not require preparation since it comes ready for infusion. The composition of this solution can be seen in previously published protocol[15]. It was administered in a single dose of 25 mL/kg, over a period of 6 to 8 minutes, at a temperature of 4 to 8°C, with a perfusion pressure of 150 to 200 mm Hg and the possibility of an additional dose only after 3 hours of the first[7].

The DN and MDN solutions were manipulated at the Service just before their administration, and either Plasma-Lyte A or the lactated Ringer's solution (MDN) was used as the crystalloid base. They were administered as a single-dose of 20 mL/kg (maximum of 1.000 mL for patients weighing over 50 kg), typically at a delivery temperature of 4°C, with a system pressure of 100 to 200 mmHg, and an administration flow rate of 200 to 300 ml/min. If necessary, additional doses could be infused after 90 minutes from the initial dose[1].

The nature of cardioplegic solutions DN and HTK is distinct in terms of their vehicles (blood and crystalloid, respectively) and electrolytic compositions (extracellular and intracellular, respectively), differing in the cardiac arrest mechanism (DN causes a depolarising arrest, while HTK causes a hyperpolarising arrest).

Statistical analysis

Quantitative variables were described by means and standard deviation (SD) in cases of symmetrical distributions or by medians and interquartile range (IQR) in cases of asymmetric distributions. Qualitative variables will be described by the absolute and relative frequencies.

The Kolmogorov-Smirnov test was applied to assess the distribution type. The chi-square test, in conjunction with adjusted residual analysis, was used to compare categorical variables. ANOVA, along with Tukey's test, was employed for comparing continuous variables with a normal distribution, while Kruskal-Wallis, in conjunction with Dunn's test, was used for comparing skewed continuous variables. A Generalized Estimating Equations (GEE) model was employed to compare parameters over the follow-up period and between groups, supplemented by the Least Significant Difference test. A linear model was used for normally distributed variables, and a Gamma model was used for skewed variables. To assess survival among the three groups, Kaplan-Meier method, along with the Log-rank test, was utilized. Univariate Cox Proportional Hazards Regression was employed to assess the effect of the type of solution on the probability of death. For controlling confounding factors, a multivariate Cox Proportional Hazards Regression model was used to assess the effect of the type of solution on the probability of death. The significance level adopted was 5%, and the data were analyzed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 27.0.

Results

The baseline characterization of the sample is presented in Table 1. There was no statistically significant difference among the assessed baseline characteristics. In this study, there was a predominance of males, and the most common surgery was coronary artery bypass surgery (CABG), with no statistically significant difference between the groups.

Table 2 shows the distribution of laboratory analysis results among the groups. There was a statistically significant difference for high-sensitivity cardiac troponin T (hs-cTnT) in the solution versus time interaction effect (p=0.028), as illustrated in Figure 3. Intragroup, serum levels of hs-cTnT were similar in patients who received HTK and DN, with an increase in values up to 12 hours, with this increase persisting throughout the study period. The behavior of the group that received MDN was different from the others, with a statistically significant reduction in values between 12 and 24 hours after CPB. Among the groups, DN showed significantly lower values at 2 hours (p=0.023).

Table 1. Baseline clinical characteristics and surgical procedures of patients according the study groups.

Baseline Characteristics*	**HTK (n=33)**	**DN (n=33)**	**MDN (n=33)**	**P value**
Age (years)	63.4±11.7	64.3±12.4	62.4±10.6	0.811
Gender				0.877
Female	12 (36.4)	11 (33.3)	13 (39.4)	
Male	21 (63.6)	22 (66.7)	20 (60.6)	
BMI (kg/m²)	27.5±5.9	27.7±4.8	28.1±4.8	0.915
Former smoker	24 (72.7)	21 (63.6)	18 (54.5)	0.308
Current smoker	7 (21.2)	4 (12.1)	6 (18.2)	0.608
Pacemaker	2 (6.1)	1 (3.0)	0 (0.0)	0.357
Atrial fibrillation	3 (9.1)	3 (9.1)	6 (18.2)	0.426
LVEF (%)	55.7±13.0	55.7±13.0	52.1±14.6	0.460
NYHA Classification				0.496
I	11 (33.3)	6 (18.2)	6 (18.2)	
II	7 (21.2)	13 (39.4)	11 (33.3)	
III	11 (33.3)	10 (30.3)	9 (27.3)	
IV	4 (12.1)	4 (12.1)	7 (21.2)	
Diabetes mellitus	15 (45.5)	11 (33.3)	12 (36.4)	0.574
Peripheral vasculopathy	8 (24.2)	8 (24.2)	6 (18.2)	0.792
Hypertension	25 (75.8)	26 (78.8)	27 (81.8)	0.834
Cerebrovascular disease	3 (9.1)	3 (9.1)	4 (12.1)	0.895
Chronic pulmonary disease	3 (9.1)	3 (9.1)	4 (12.1)	0.895
STS risk score	1.7 (0.8-2.2)	1.7 (1.1-2.7)	1.8 (0.9-2.7)	0.611
Euroscore-2	1.9 (1.0-3.4)	1.9 (1.1-3.5)	1.8 (1.2-2.7)	0.914
Surgery				0.958
CABG surgery	21 (63.6)	20 (60.6)	20 (60.6)	
Valve surgery	12 (36.4)	13 (39.4)	13 (39.4)	

*Variables were described by mean ± SD, median (P25-P75) or as number (percentage).
HTK, histidine-tryptophan-ketoglutarate; DN, del Nido, MDN, modified del Nido; BMI, Body Mass Index, STS score, *Society of Thoracic Surgeons score;* EuroSCORE-2, *European System for Cardiac Operative Risk Evaluation score - 2;* NYHA, *New York Heart Association; LV*EF, left ventricular fraction ejection; CABG, Coronary Artery Bypass Grafting; Valve surgery, Aortic Valve Replacement or Mitral Valve Replacement.

Table 2. Distribution of Blood Parameters between groups at 4 different moments.

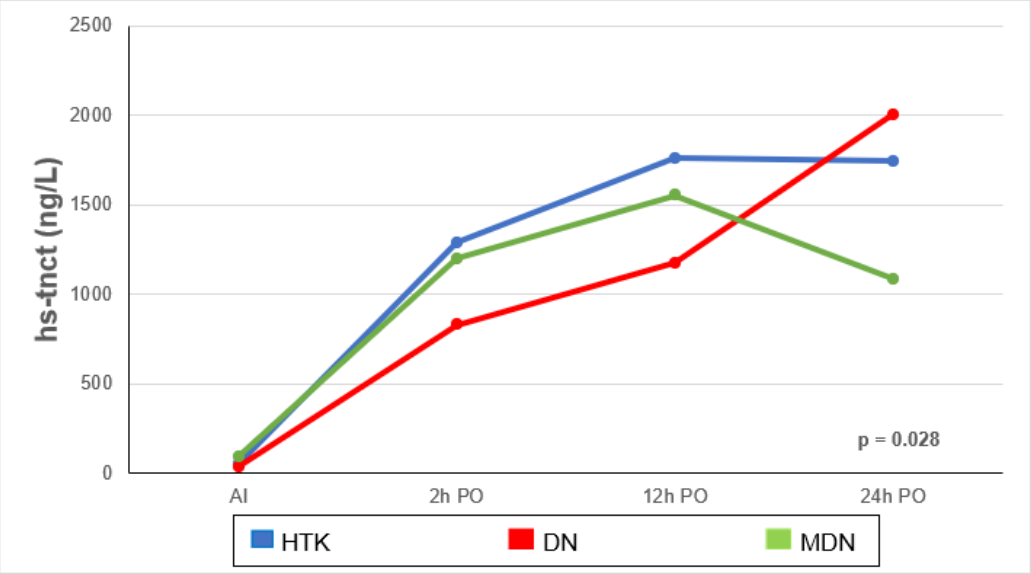
Variables[#]	HTK (n=33)	DN (n=33)	MDN (n=33)	p
	Mean ± EP	Mean ± EP	Mean ± EP	value
hs-cTcT (ng/L)				
BI	52.3±27.5[a,e]	33.8±7.3[a,e]	90.0±66.6[a,e]	1.000
2h PO	1286±216[b,f]	828±85.9[a,f]	1199±155[b,f]	**0.023**
12h PO	1758±344[a,g]	1173±129 [a,g]	1552±216[a,fg]	0.111
24h PO	1744±534[a,fg]	2003±885[a,fg]	1083±165[a,f]	0.203
CK (u/L)				
BI	59.9±6.1	71.7±10.6	64.8±5.5	0.600
2h PO	899±154	696±88.8	705±55.2	0.406
12h PO	1553±325	1083±202	1008±85.7	0.160
24h PO	1695±464	1445±291	1259±280	0.701
PCR (mg/L)				
BI	12.9±3.2	8.4±3.1	9.9±2.7	0.589
2h PO	9.9±2.8	8.1±2.8	9.2±2.3	0.907
12h PO	53.0±5.9	63.1±6.5	62.8±5.7	0.426
24h PO	152.5±10.4	173.3±9.3	213.2±39.6	0.137
Glucose (mg/dL)				
BI	144.6±15.4	125.9±8.5	119.9±7.3	0.313
2h PO	177.0±8.9	187.0±13.6	187.2±13.3	0.741
12h PO	216.6±14.9	211.1±15.6	208.4±12.3	0.913
24h PO	169.3±12.0	175.6±9.1	181.5±11.5	0.763
Lactated (mmol/L)				
BI	1.38±0.24	1.37±0.16	1.08±0.07	0.117
2h PO	3.66±0.62	3.01±0.45	3.17±0.40	0.680
12h PO	3.61±0.61	3.81±0.74	3.21±0.33	0.678
24h PO	2.94±0.38	2.56±0.42	2.38±0.37	0.553
Leukocytes (/uL)				
BI	7725±338	7818±522	7075±374	0.360
2h PO	14120±894	15156±1398	13744±1026	0.706
12h PO	13908±819	13820±691	13840±787	0.997
24h PO	13702±669	14364±887	13309±751	0.657
pH				
BI	7.39±0.00	7.40±0.01	7.39±0.01	0.691
2h PO	7.34±0.01	7.38±0.01	7.36±0.01	0.151
12h PO	7.39±0.01	7.36±0.01	7.39±0.01	0.089
24h PO	7.41±0.01	7.40±0.01	7.40±0.01	0.440
Bicarbonate (mmol/L)				
BI	25.3±0.43	24.5±0.40	25.1±0.34	0.348
2h PO	23.1±0.49	22.2±0.47	22.9±0.41	0.306
12h PO	22.4±0.61	22.4±0.60	22.6±0.54	0.951
24h PO	23.3±0.45	24.2±0.50	23.5±0.39	0.368
Sodium (meq/L)				
BI	136.1±0.73[a,f]	136.6±0.42[a,ef]	135.9±0.60[a,e]	0.685
2h PO	134.3±0.69[a,e]	136.1±0.58[b,e]	136.3±0.54[b,e]	**0.049**
12h PO	136.1±0.76[a,f]	137.2±0.68[a,f]	136.6±0.48[a,e]	0.562
24h PO	134.9±0.63[a,e]	136.3±0.62[a,e]	135.3±0.86[a,e]	0.283
Potassium (meq/L)				
BI	4.15±0.06[a,e]	4.31±0.09[a,e]	4.39±0.09[a,e]	0.066
2h PO	4.06±0.08[a,e]	4.47±0.10[b,ef]	4.39±0.10[b,e]	**0.002**
12h PO	4.39±0.07[a,f]	4.71±0.10[b,f]	4.80±0.14[b,f]	**0.003**
24h PO	4.10±0.06[a,e]	4.41±0.08[b,e]	4.34±0.09[b,e]	**0.005**
Calcium (mmol/L)				
BI	1.19±0.01	1.18±0.01	1.18±0.01	0.679
2h PO	1.13±0.02	1.15±0.01	1.16±0.01	0.418
12h PO	1.12±0.01	1.13±0.01	1.13±0.01	0.788
24h PO	1.10±0.01	1.11±0.01	1.11±0.01	0.834

Equal letters indicate statistically similar results between groups (a,b) and within groups (e,f,g,h) by the Least Significant Difference (LSD) test at a 5% significance level.

[#] Variables were described by mean ± SE.

HTK, histidine-tryptophan-ketoglutarate; DN, del Nido; MDN, modified del Nido; BI, before induction; PO, postoperstive; hs-cTnT, high-sensitive cardiac troponin T; CK, creatine kinase; PCR, protein C reactive.

Figure 3. Interaction effect (solution versus time) for high-sensitivity troponin T cardiac.



HTK, histidine-tryptophan-ketoglutarate; DN, del Nido; MDN, modified del Nido.

Regarding the variables CK (p=0.107), PCR (p=0.272), glucose (p=0.422), lactate (p=0.634), leukocytes (p=0.775), pH (p=0.089), bicarbonate (p=0.259), sodium (p=0.294), potassium (p=0.483) and calcium (p=0.625), there was no significant interaction effect of solution versus time, as shown in Table 2.

For CK, the intragroup behavior of the three solutions was similar, with an increase up to 12 hours after CPB and remaining elevated until the last laboratory analysis. Among the groups, there was no statistically significant difference at any time.

Regarding PCR, intragroup, there was a significant reduction at 2 hours after CPB for the HTK group, with a progressive increase in subsequent assessment times. In the DN and MDN groups, the increase occurred from 12 hours and remained up to 24 hours. Between the groups, there were no statistically significant differences at all time points.

For glucose and lactate, there was a significant increase in their serum levels up to 12 hours and a reduction at 24 hours for all solutions. Between the groups, there were no statistically significant differences at any time.

Intragroup, leukocytes significantly increased at 2 hours and remained at elevated levels until 24 hours with all solutions. Between the groups, there were no statistically significant differences at any time. For pH, showed a significant reduction at 2 hours intragroup evaluation for HTK, with a progressive increase at 12 and 24 hours. For those who received DN, there was a reduction up to 12 hours and an

increase at 24 hours. For MDN, there was an increase from 2 hours after CPB. Between the groups, there were no statistically significant differences at any time.

Considering bicarbonate, intragroup, serum levels significantly reduced at 2 hours and remained low until 24 hours for the HTK and MDN groups. Patients in the DN group had their levels reduced at 2 hours, maintained at 12 hours, and increased from 12 to 24 hours. Between the groups, there were no statistically significant differences at any time.

For the electrolytes, there was a significant reduction in serum sodium at 2 hours after CPB for the HTK group, with a significant increase from 2 to 12 hours and another significant reduction from 12 to 24 hours after CPB. For DN, there was a significant increase from 2 to 12 hours and a significant reduction from 12 to 24 hours after CPB. In the MDN group, there was no significant difference between the time intervals. Comparing the groups, those who received HTK had significantly lower values at 2 hours after CPB.

Regarding serum potassium levels, intragroup, there was a significant increase at 12 hours and a reduction at 24 hours for all solutions. Among the groups, HTK showed significantly lower values than the others at the 2, 12, and 24-hour time points.

Considering calcium, intragroup, patients who received HTK had a reduction at 2 hours, with maintenance of their levels until 24 hours. For the DN group, there was a reduction at 2 hours, followed by maintenance at 12 hours and further reduction at 24 hours after CPB. In MDN, there was a reduction at 12 hours and maintenance until 24 hours. There was no statistically significant difference between the groups.

Table 3. Intraoperative parameters.

Outcomes*	**HTK (n=33)**	**DN (n=33)**	**MDN (n=33)**	**P value**
Transfusion	26 (78.8)[b]	14 (42.4)[a]	22 (66.7)[ab]	**0.008**
Desfibrillation	18 (54.5)	10 (30.3)	10 (30.3)	0.065
Vasoactive drugs	31 (93.9)	31 (93.9)	33 (100)	0.353
IABP	1 (3.0)	1 (3.0)	0 (0.0)	0.600
Pacemaker	3 (9.1)	4 (12.1)	2 (6.1)	0.693
Cross-clamp time (min)	99.2±29.1	88.2±21.3	102.8±41.4	0.153
Total CPB time (min)	133.9±42.1	122.5±35.9	133.7±43.7	0.428

*Variables were described by mean ± SD, median (P25-P75) or as number (percentage).
HTK, histidine-tryptophan-ketoglutarate; DN, del Nido; MDN, modified del Nido; IABP, intra-aortic balloon pump.

Table 3 presents the distribution of intraoperative variables according to the cardioplegic solutions used. There was no statistically significant difference between the groups for the following variables: aortic cross-clamp time, CPB time, use of IABP, arrhythmia requiring defibrillation, and the use of inotropic drugs at the end of surgery. Both groups achieved satisfactory cardiac arrest effects, but those who received DN, whether modified or not, had a higher tendency for spontaneous rhythm return without the need for defibrillation (p=0.065). However, patients who received DN underwent fewer blood transfusions (p=0.008).

Table 4. Intensive care unit parameters.

Outcomes*	HTK (n=33)	DN (n=33)	MDN (n=33)	P value
Blood Transfusion	14 (43.8)	10 (30.3)	6 (18.2)	0.082
Bleeding (mL)	750 (520-1087)	695 (400-937)	650 (455-775)	0.190
Mechanical ventilation ≤ 24h	24 (75.0)	29 (87.9)	29 (87.9)	0.270
Mechanical ventilation > 24h	8 (25.0)	4 (12.1)	4 (12.1)	0.270
Reoperation for bleeding	2 (6.3)	1 (3.0)	0 (0.0)	0.343
Vasoactive drugs ≤ 24h	14 (43.8)	19 (57.6)	20 (60.6)	0.349
Vasoactive drugs > 24h	15 (46.9)	11 (33.3)	10 (30.3)	0.338
Myocardial infarction	0 (0.0)	2 (6.1)	1 (3.0)	0.366
Tamponade	0 (0.0)	1 (3.0)	0 (0.0)	0.370
IABP	1 (3.1)	0 (0.0)	1 (3.0)	0.595
Dialysis	1 (3.1)	1 (3.0)	0 (0.0)	0.595
Atrial fibrillation/flutter	6 (18.8)	4 (12.1)	7 (21.2)	0.602
Stroke	0 (0.0)	1 (3.0)	1 (3.0)	0.610
Cardioversion/ Defibrillation	0 (0.0)	1 (3.0)	1 (3.0)	0.610
Temporary pacemaker (hours)	25.5 (3-48)	2 (2-2)	6 (6-6)	0.407
Temporary pacemaker	2 (6.3)	1 (3.0)	1 (3.0)	0.752

Variables were described by mean ± SD, median (P25-P75) or as number (percentage).
HTK, histidine-tryptophan-ketoglutarate; DN, del Nido; MDN, modified del Nido; IABP, intra-aortic balloon pump.

Considering the length of stay in the ICU, there was no statistically significant difference in all assessed variables, as shown in Table 4, such as blood transfusion, total bleeding, reoperation for bleeding, duration of mechanical ventilation, duration of IABP use, cardiac tamponade, myocardial infarction (MI), stroke, acute kidney injury (AKI) requiring dialysis, atrial fibrillation or flutter, arrhythmias requiring cardioversion or defibrillation, use of IABP, and temporary pacemaker use.

Table 5 shows the distribution of postoperative variables and clinical characteristics. Hospitalization times, deaths, and changes in LVEF were not statistically significant between the groups.

Table 5. Postoperative parameters.

Outcomes*	HTK (n=33)	DN (n=33)	MDN (n=33)	P value
Hospital stay, no death (days)	20 (10–25)	14 (12-25.5)	12.5 (11-15.3)	0.080
ICU stay (days)	3.7 (2.8–6.2)	2.8 (1.9-4.0)	3.7 (2.7-4.1)	0.089
Death ≤ 30 days	4 (12.1)	2 (6.1)	3 (9.1)	0.693
Death > 30 days	2 (6.1)	2 (6.1)	0 (0.0)	0.353
Cause of death				0.733
Cardiac-related death	3 (50.0)	3 (75.0)	2 (66.7)	
Infectious causes†	3 (50.0)	1 (25.0)	1 (33.3)	
Time until death (days)	10.5 (2.3–29)	3.5 (0.5–52.3)	4 (1–6)	0.381
Place of death				0.599
Operating room	1 (16.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	
ICU	4 (66.7)	4 (100)	3 (100)	
Cardiology unit	1 (16.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Δ LVEF‡ (%)	-1.24±9.85 (n=29)	-0.76±7.85 (n=29)	0.70±11.1 (n=30)	0.726
Adverse events§ (no deaths)	8 (25.0)	7 (21.2)	9 (27.3)	0.846
Adverse events§ (with deaths)	11 (33.3)	10 (30.3)	10 (30.3)	0.954

*Variables were described by mean ± SD, median (P25-P75) or as number (percentage).
†Deaths due to infectious causes were due to sepsis from bacterial respiratory infection (n=4) or viral SARS-CoV-2 infection (n=1).
‡ Variation in left ventricular ejection fraction by subtracting postoperative from preoperative values.
§Adverse events: MI, arrhythmia, dialysis, tamponade, reoperation, cardioversion, atrial fibrillation or flutter and IABP.
HTK, histidine-tryptophan-ketoglutarate; IABP, intra-aortic balloon pump; ICU, intensive care unit; DN, del Nido; LVEF, left ventricular ejection fraction; MDN, modified del Nido; MI, myocardial infarction.

Figure 4 illustrates the cumulative survival analysis of patients in relation to postoperative time (p=0.753). The Hazard Ratio (HR) for HTK was 1.42 (95% CI: 0.34-5.92; p=0.631), meaning that patients using HTK had a 42% higher risk of death compared to those who used MDN. The HR for DN was 0.90 (95% CI: 0.19-4.27; p=0.894), indicating that patients in the DN group had a 10% lower risk of death compared to those using MDN.

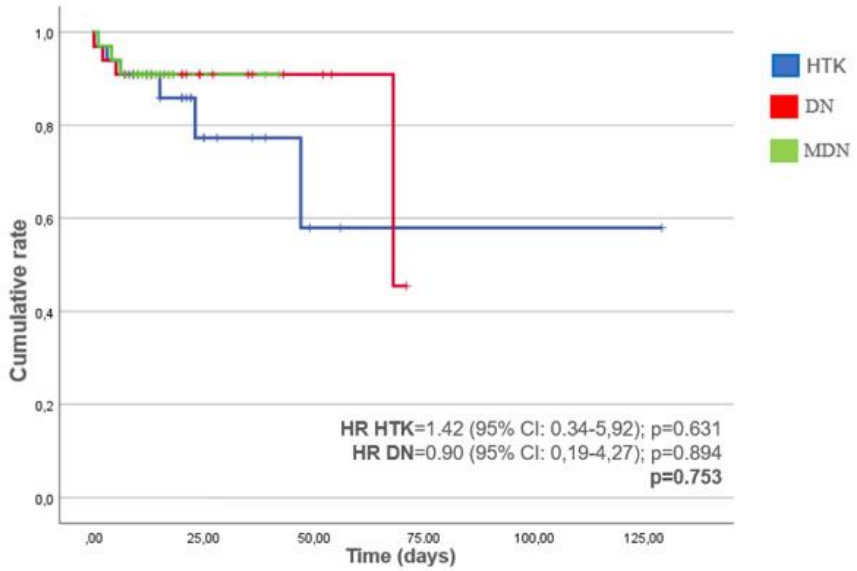


Figure 4. Kaplan-Meier curves to assess probability of survival.

Discussion

In this double-blind clinical trial, 99 adult patients undergoing elective isolated cardiovascular surgery were randomised to receive HTK, DN, or MDN solutions, with the aim of assessing myocardial protection. This study provided similar demographic and preoperative clinical profiles among the groups, and in the comparative analysis, similar clinical and laboratory results were observed, both intraoperatively and postoperatively. There are few studies in the literature that compare all three cardioplegic solutions, with many of them comparing two of them or conventional blood cardioplegias.

The assessment of myocardial protection can be done through biomarkers and clinical outcomes. Increases in serum troponin levels after aortic cross-clamp removal may reflect the degree of myocardial damage, which is closely related to the incidence of adverse events and can be used as an indicator of a protective effect[16].

Among the compared solutions, lower levels of the myocardial injury biomarker TnTc-us were evidenced in the DN group 2 hours after CPB (p=0.028). HTK and DN exhibited similar behaviors at 12 and 24 hours after CPB, while the MDN group showed the most significant decrease in values at 24 hours. Nevertheless, the differences between the groups regarding this marker were very small, with likely no clinical significance due to the other findings in this clinical trial. Ross *et al*[17] conducted an extensive analysis of postoperative TnTc-us values in an observational study of an adult population, comparing DN solution with hyperkalemic blood cardioplegia, with similar biomarker values between the groups. Talwar *et al*[13], investigating patients up to 12 years of age who were randomised to receive DN or HTK during surgery for tetralogy of Fallot correction, observed that DN group patients had lower troponin I levels 24 hours after CPB (P<0.001); when comparing DN with MDN, they found no differences between the groups (p=0.15)[18].

Both groups achieved satisfactory cardiac arrest effects, and no statistically significant differences were found in surgical times. For the HTK group, there was a higher tendency for ventricular fibrillation after aortic cross-clamp release (p=0.065). The higher rate of spontaneous rhythm returns in the DN group, modified or not, is possibly related to less ischemia-reperfusion injury, and the mechanisms involved may include: 1) inhibition of calcium influx and 2) the association between ischemic myocardium and progressive warming during reperfusion[1,19,20]. HTK is a pure

crystalloid solution, containing magnesium sulfate (a calcium channel blocker) and a very low dose of calcium, similar to DN. However, HTK does not contain lidocaine (another calcium blocker); perhaps, the combined effect of calcium accumulation blockers in DN (lidocaine and magnesium) is stronger than in HTK (magnesium only). Despite comparing DN with conventional blood cardioplegic solutions, Zhai *et al*[16] conducted a systematic review and meta-analysis with 37 observational studies and 4 randomised clinical trials, including 21.779 adult patients, finding a lower risk of defibrillation requirement in patients who received DN (RR 0.50, 95% CI: 0.33-0.75, p=0.0007). Similarly, in other recently published articles[46-50], the use of HTK was also associated with an increased risk of reperfusion fibrillation.

During surgery, the transfusion of blood products was the only outcome that showed a statistically significant difference between the groups, with DN requiring fewer transfusions compared to HTK and MDN (p=0.008). Blood transfusions during cardiac surgery are associated with increased mortality, even in low-risk patients, and tend to significantly increase hospital stay[21-23], which did not occur in this study (p<0.05). However, patients in the HTK and MDN groups, who received more transfusions, had a longer ICU stay, with the result approaching statistical significance (p=0.089). Furthermore, patients receiving DN solutions, modified or not, received a smaller volume of cardioplegia than those who received HTK. It is known that administering smaller volumes of cardioplegia may be related to less hemodilution and reduced postoperative transfusion requirements[24]. However, the clinical significance of this finding needs to be evaluated in a broader context, considering other factors that may influence transfusion needs. Duan et al[20], comparing HTK and DN in an observational study of 146 adult patients undergoing complex valve surgeries, also observed fewer transfusions in the DN group (p<0.05) and a shorter ICU stay (p<0.05). On the other hand, Karaarslan et al[25], in another observational study comparing patients undergoing CABG receiving DN or DNM solutions, observed fewer transfusions in the MDN group (p=0.023), contrary to the findings of this study.

Regarding serum electrolyte levels, the HTK group had significantly lower sodium and potassium values at 2 hours (p=0.049 and p=0.002, respectively), and potassium persisted in this behavior until 24 hours after CPB (p<0.05). These alterations are expected for intracellular solutions due to their composition, with low electrolyte content, as well as resulting in hemodilution due to the larger infused volume[26-29]. Therefore, it would be recommended to restrict the use of this cardioplegia

in patients predisposed to hydroelectrolytic disturbances to prevent adverse outcomes. Other serum laboratory variables, such as CK, PCR, leukocytes, glucose, pH, lactate, bicarbonate, and calcium, reflected similar patterns with usual metabolic responses expected after cardiovascular surgeries. The absence of statistically significant differences among these variables between the groups at different study time points is consistent with findings from other similar studies[26-28,30].

In the postoperative period, various clinical outcomes were analyzed. Major adverse events were statistically similar between the groups during ICU stay ($p>0.05$), such as MI, stroke, cardiac tamponade, severe arrhythmias, need for mechanical circulatory support, and dialysis-associated AKI, like other studies[26-29].

Regarding survival rates, the groups did not present statistically significant variations. Although HR calculations indicated potential trends towards higher mortality risk for the HTK group, these results lack statistical significance and should be interpreted with greater caution due to the relatively small sample size. A recent network meta-analysis[31] comparing DN, HTK, and blood cardioplegia, including 1,191 adult patients from 9 retrospective observational studies, assessed mortality as the primary outcome. Overall, no differences were found between DN and HTK, blood cardioplegia and DN, as well as blood cardioplegia and HTK in terms of 30-day mortality or during the hospitalization period (OR=0.44, 95% CI: 0.07-2.13; OR=0.48, 95% CI: 0.09-2.00; and OR=0.92, 95% CI: 0.30-2.81, respectively).

Finally, the results obtained in this study provide important information for further research and decision-making in institutions where it is not possible to obtain HTK cardioplegia or Plasma-Lyte based solutions. The findings suggest that, although specific and occasional differences occurred in troponin levels and intraoperative transfusions, the impact of these findings does not appear to influence patient clinical outcomes. Given the complexity of cardiovascular surgery and the multifactorial nature of patient outcomes, larger sample studies are needed to confirm these findings and provide better elucidation of rare events.

Limitations of this study

The main limitations of this study are that it was conducted at a single center, and the sample size is insufficient for rare events.

Conclusions and public health implications

The three cardioplegic solutions used in the study demonstrated similar myocardial protection for the assessed intraoperative and postoperative outcomes.

The values for hs-cTnT suggest good myocardial protection with all three solutions, with greater similarity observed between the HTK and DN groups. The MDN group showed lower values at 24 hours after CPB, possibly indicating better myocardial recovery. However, these observed differences did not have any impact on the evaluated clinical outcomes. Between the other laboratory analysis, there were differences in sodium and potassium levels, with lower values in the HTK group. There was a significant difference in intraoperative blood transfusions, with the MDN group having lower values, while the other assessed parameters did not show any differences. In the postoperative period, there were no differences in the evaluated outcomes.

Thus, the study demonstrated that the choice of cardioplegia can be based on cost or the solution's availability at each institution. It is suggested to avoid HTK solution in patients predisposed to electrolyte disturbances. Further prospective studies are needed to assess rare events and include situations of urgency and emergency, congenital surgeries, and multiple surgeries.

REFERÊNCIAS

1. Sanetra K, Pawlak I, Cisowski M. Del Nido cardioplegia - what is the current evidence?. Kardiochir Torakochirurgia Pol. 2018;15(2):114-118. doi:10.5114/kitp.2018.76477.

2. Matte GS, del Nido PJ. History and use of del Nido cardioplegia solution at Boston Children's Hospital. J Extra Corpor Technol. 2012;44(3):98-103.

3. Ferguson ZG, Yarborough DE, Jarvis BL, Sistino JJ. Evidence-based medicine and myocardial protection--where is the evidence? Perfusion. 2015;30(5):415-422. doi:10.1177/0267659114551856.

4. Hölscher M, Groenewoud AF. Current status of the HTK solution of Bretschneider in organ preservation. Transplant Proc. 1991;23(5):2334-2337.

5. Chambers DJ, Hearse DJ. Developments in cardioprotection: "polarized" arrest as an alternative to "depolarized" arrest. Ann Thorac Surg. 1999;68(5):1960-1966. doi:10.1016/s0003-4975(99)01020-6.

6. Edelman JJ, Seco M, Dunne B, et al. Custodiol for myocardial protection and preservation: a systematic review. Ann Cardiothorac Surg. 2013;2(6):717-728. doi:10.3978/j.issn.2225-319X.2013.11.10.

7. Hette AN, Sobral MLP. Mechanical Circulatory Assist Devices: Which Is the Best Device as Bridge to Heart Transplantation?. Braz J Cardiovasc Surg. 2022;37(5). doi.org/10.21470/1678-9741-2021-0562.

8. Vistarini N, Laliberté E, Beauchamp P, et al. Del Nido cardioplegia in the setting of minimally invasive aortic valve surgery. Perfusion. 2017;32(2):112-117. doi:10.1177/0267659116662701.

9. Kantathut N, Shaishana CCP C, Thongcherd CCP W, et al. Experience in the Use of del Nido Cardioplegia in Ramathibodi Hospital [Internet]. J Med Assoc Thai. 2017; 100. Available from: http://www.jmatonline.com

10. Kantathut N, Cherntanomwong P, Khajarern S, Leelayana P. Lactated Ringer's as a Base Solution for del Nido Cardioplegia. J Extra Corpor Technol. 2019;51(3):153-159.

11. Almeida AS, Ceron RO, Anschau F, et al. Comparison between Custodiol, del Nido and modified del Nido in the myocardial protection - Cardioplegia Trial: a study protocol for a randomised, double-blind clinical trial. BMJ Open. 2021;11(9):e047942. Published 2021 Sep 6. doi:10.1136/bmjopen-2020-047942.

12. Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, et al. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. Ann Intern Med. 2013;158(3):200-207. doi:10.7326/0003-4819-158-3-201302050-00583.

13. CONSORT Transparent Reporting of Trials. Disponível em: <http://www.consort-statement.org>. Acesso em: 10 jan. 2020.

14. Talwar S, Chatterjee S, Sreenivas V, et al. Comparison of del Nido and histidine-tryptophan-ketoglutarate cardioplegia solutions in pediatric patients undergoing open heart surgery: A prospective randomized clinical trial. J Thorac Cardiovasc Surg. 2019;157(3):1182-1192.e1. doi:10.1016/j.jtcvs.2018.09.140.

15. Garcia-Garcia HM, McFadden EP, Farb A, et al. Standardized End Point Definitions for Coronary Intervention Trials: The Academic Research Consortium-2 Consensus Document. Circulation. 2018;137(24):2635-2650. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.029289

16. Zhai K, Cheng X, Zhang P, et al. Del Nido cardioplegia for myocardial protection in adult cardiac surgery: a systematic review and update meta-analysis. Perfusion. 2023;38(1):6-17. doi:10.1177/02676591211031095.

17. Ross JDW, Newland RF, Hamson RTJ, Rice GD, Baker RA. Del Nido cardioplegia in adult cardiac surgery: analysis of myocardial protection and post-operative high-sensitivity Troponin T. ANZ J Surg. 2021;91(10):2192-2198. doi:10.1111/ans.17135.

18. Talwar S, Harshavardhan N, Kapoor PM, et al. Plasmalyte-A Based del Nido Cardioplegia Versus Plain Ringer Based del Nido Cardioplegia: Double-Blind Randomized Trial. World J Pediatr Congenit Heart Surg. 2022;13(2):187-195. doi:10.1177/21501351211073610.

19. Ad N, Holmes SD, Massimiano PS, Rongione AJ, Fornaresio LM, Fitzgerald D. The use of del Nido cardioplegia in adult cardiac surgery: A prospective randomized trial. J Thorac Cardiovasc Surg. 2018;155(3):1011-1018. doi:10.1016/j.jtcvs.2017.09.146.

20. Duan L, Hu GH, Wang E, et al. Del Nido versus HTK cardioplegia for myocardial protection during adult complex valve surgery: a retrospective study. BMC Cardiovasc Disord. 2021;21(1):604. Published 2021 Dec 18. doi:10.1186/s12872-021-02411-w.

21. Jakobsen CJ, Ryhammer PK, Tang M, Andreasen JJ, Mortensen PE. Transfusion of blood during cardiac surgery is associated with higher long-term mortality in low-risk patients. Eur J Cardiothorac Surg. 2012;42(1):114-120. doi:10.1093/ejcts/ezr242.

22. Galas FR, Almeida JP, Fukushima JT, et al. Blood transfusion in cardiac surgery is a risk factor for increased hospital length of stay in adult patients. J Cardiothorac Surg. 2013;8:54. doi:10.1186/1749-8090-8-54.

23. Sanetra K, Domaradzki W, Cisowski M, et al. The impact of del Nido cardioplegia solution on blood morphology parameters. Perfusion. 2023;38(2):277-284. doi:10.1177/02676591211049020.

24. Li Y, Lin H, Zhao Y, et al. Del Nido Cardioplegia for Myocardial Protection in Adult Cardiac Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis. ASAIO J. 2018;64(3):360-367. doi:10.1097/MAT.0000000000000652.

25. Karaarslan K, Erdinc I. Is Modified Del Nido Cardioplegia as Effective as Del Nido Cardioplegia in Patients with Isolated Coronary Artery Bypass Surgery?. Heart Surg Forum. 2022;25(1): e163-E167. 2022. doi:10.1532/hsf.4491.

26. Lindner G, Zapletal B, Schwarz C, et al. Acute hyponatremia after cardioplegia by histidine-tryptophane-ketoglutarate--a retrospective study. J Cardiothorac Surg. 2012;7:52. doi:10.1186/1749-8090-7-52.

27. Reichert K, Carmo HR, Lima F, et al. Development of cardioplegic solution without potassium: experimental study in rat. Rev Bras Cir Cardiovasc. 2013;28(4):524-530. doi:10.5935/1678-9741.20130085.

28. Veres G, Radovits T, Merkely B, Karck M, et al. Custodiol-N, the novel cardioplegic solution reduces ischemia/reperfusion injury after cardiopulmonary bypass. J Cardiothorac Surg. 2015;10:27. doi:10.1186/s13019-015-0226-9.

29. Mehrabanian MJ, Firoozabadi MD, Tafti SHA, et al. Clinical outcomes and electrolyte balance factors in complex cardiac operations in adults; del nido versus custodiol cardioplegia solutions: A randomized controlled clinical trial. Iran Red Crescent Med J. 2018;20(4). doi:10.5812/ircmj.64648.

30. Sorabella RA, Akashi H, Yerebakan H, et al. Myocardial protection using del nido cardioplegia solution in adult reoperative aortic valve surgery. J Card Surg. 2014;29(4):445-449. doi:10.1111/jocs.12360.

31. Chan J, Oo S, Butt S, et al. Network meta-analysis comparing blood cardioplegia, Del Nido cardioplegia and custodiol cardioplegia in minimally invasive cardiac surgery. Perfusion. 2023;38(3):464-472. doi:10.1177/02676591221075522.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DA ÉTICA E PESQUISA

HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEIÇÃO - GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: COMPARAÇÃO ENTRE AS SOLUÇÕES CARDIOPLÉGICAS CUSTODIOL E DEL NIDO NA PROTEÇÃO MIOCÁRDICA E DESFECHOS CLÍNICOS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO CEGO

Pesquisador: Adriana Silveira de Almeida

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 29410120.2.0000.5530

Instituição Proponente: HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEICAO SA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.029.545

Apresentação do Projeto:

A busca por uma solução cardioplégica ideal continua desde o início da cirurgia cardíaca. A cardioplegia fornece proteção do coração, limita a atividade metabólica e aumenta a capacidade do miocárdio de resistir a isquemia por períodos prolongados de tempo, sendo essencial para um bom resultado cirúrgico. Até o momento, não há evidências conclusivas na literatura mundial que comprovem vantagens ou desvantagens de uma solução em relação à outra. Com o objetivo de determinar qual das soluções cardioplégicas correntemente usadas apresenta melhor proteção miocárdica e relação de custo-efetividade, os autores realizarão um ensaio clínico randomizado e duplo cego, comparando as soluções Custodiol® e del Nido, em 90 pacientes adultos submetidos à cirurgia cardíaca com circulação extra-corpórea, em um hospital terciário de referência na região sul do Brasil.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo primário é a avaliação da proteção miocárdica entre as 3 soluções cardioplégicas através dos níveis séricos das enzimas cardíacas (CK, CK-MB e troponina) no pós-operatório imediato e com 12 e 24 horas após o término da CEC.

Os desfechos secundários incluem:

1. Avaliações de medidas adicionais de proteção miocárdica: fibrilação ventricular

Endereço: Francisco Trein, 326 - Centro de Educação Tecnológica e Pesquisa em Saúde - Escola GHC
Bairro: CRISTO REDENTOR **CEP:** 91.350-200
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3357-2805 **E-mail:** cep-ghc@ghc.com.br

após a abertura do clamp aórtico, alterações da fração de ejeção no pós-operatório, tempo de uso de vasopressores ou soluções inotrópicas e necessidade de suporte hemodinâmico com balão intra-aórtico;
2. Resultados intra-operatórios: volume total de cardioplegia e número de doses, tempo total de clamp aórtico e de circulação extra-corpórea;
3. Desfechos clínicos: tempo de permanência em unidade de tratamento intensivo, incidência de fibrilação atrial ou flutter no pós-operatório, IAM, mortalidade e transfusões de hemoderivados;
4. Comparações entre as soluções cardioplégicas quanto a predição de eventos cardiovasculares maiores em pacientes adultos submetidos à cirurgia cardíaca;
5. Comparar a relação de custo-efetividade entre as soluções.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
As soluções utilizadas no estudo são rotineiramente usadas para este tipo de cirurgia, mantendo o risco habitual de contaminação no preparo e manuseio das soluções.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
Texto adequadamente escrito. Esclarecidas as duvidas junto a comissão de medicamentos. Cegamento adequadamente descrito

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
adequados

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1509061.pdf	06/05/2020 18:11:16		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa.pdf	06/05/2020 18:10:01	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Resposta_ao_Parecer_Consubstanciado_do_CEP.pdf	06/05/2020 18:05:23	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Luciane_Kopittke.pdf	18/02/2020 23:07:49	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Fernando_Anschau.	18/02/2020	Adriana Silveira de	Aceito

HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEIÇÃO - GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO

Continuação do Parecer: 4.029.545

Outros	pdf	23:07:14	Almeida	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Rafael_Ceron.pdf	18/02/2020 23:06:39	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Adriana_Almeida.pdf	18/02/2020 23:01:14	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_CONEP.pdf	18/02/2020 22:47:19	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Termo_Entrega_Relatorio_Parcial_Final.pdf	18/02/2020 22:46:07	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Relacao_Integrantes_Pesquisa.pdf	18/02/2020 22:44:49	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Declaração de concordância	Termo_anuencia_responsavel.pdf	13/02/2020 23:08:15	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	13/02/2020 23:06:04	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Formulario_SF12.pdf	13/02/2020 22:58:18	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	13/02/2020 22:58:02	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Ficha_de_Coleta.pdf	13/02/2020 22:57:51	Adriana Silveira de Almeida	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

PORTO ALEGRE, 15 de Maio de 2020

Assinado por:
Daniel Demétrio Faustino da Silva
(Coordenador(a))

Endereço: Francisco Trein, 326 - Centro de Educação Tecnológica e Pesquisa em Saúde - Escola GHC
Bairro: CRISTO REDENTOR **CEP:** 91.350-200
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3357-2805 **E-mail:** cep-ghc@ghc.com.br

HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEIÇÃO - GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Comparação entre as Soluções Cardioplégicas de Longa Duração na Proteção Miocárdica com Análise Tecidual e Laboratorial: Ensaio Clínico Randomizado Duplo Cego

Pesquisador: Adriana Silveira de Almeida

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 41375220.6.0000.5530

Instituição Proponente: HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEICAO SA

Patrocinador Principal: HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEICAO SA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.535.088

Apresentação do Projeto:

Resposta ao Parecer Consubstanciado do CEP

Número do Parecer: 4.499.635.

Pendências

1. "Não identifico o TERMO DE ANUÊNCIA DO RESPONSÁVEL PELO SETOR/SERVIÇO ONDE SERÁ REALIZADA A PESQUISA NO GHC!" "Está faltando o TERMO DE ANUÊNCIA DO RESPONSÁVEL PELO SETOR/SERVIÇO ONDE SERÁ REALIZADA A PESQUISA NO GHC."

O "Termo de Anuência do Responsável pelo Setor/Serviço Onde Será Realizada a Pesquisa no GHC", assinado pelo Dr Rafael de Oliveira Ceron, Coordenador do Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição, foi adicionado às demais documentações na página de submissão. Ainda, foi adicionado o termo de anuência fornecido pela Gerência de Unidades de Internação do HNSC.

2. "No TCLE é importante constrar o email do cep e deixar claro que serão feitas 4 coletas de sangue."

No modelo fornecido pelo CEP não consta e-mail. Conforme solicitado, foi acrescentado.

As coletas necessárias para pesquisa (4) são de número inferior ao mínimo realizado habitualmente no manejo e controle desses pacientes. Acrescentamos ao TCLE: "Para fins do

estudo, serão considerados resultados de exames da coleta de apenas 4 amostras de sangue.". Acrescentamos no Projeto item "4.6 Coleta de dados" (página 15): "As coletas, às vezes, poderão coincidir ou substituir às realizadas na rotina.".

3. "Falta o item riscos e benefícios no arquivo do Projeto."

Acrescentado na página 21, conforme solicitado, item "4.13 Avaliação dos Riscos e Benefícios" (subitens 4.13.1 e 4.13.2).

4. "Não está incluso o risco de quebra de sigilo que sempre existe em qualquer pesquisa."

Incluída, no item "7 Aspectos éticos" do Projeto (página 25) e no TCLE, a declaração da existência de risco de quebra de sigilo.

5. "Quanto aos custos e quem irá arcar om os mesmos, ficam dúvidas."

Os custos serão cobertos por parte da economia gerada pelo uso de solução cardioplégica de menor custo, conforme discriminado no orçamento atualizado, com anuência da Instituição/Gerência de Unidades de Internação do HNSC (vide documentação anexada, assinada pela Gerência de Unidades de Internação do HNSC, e questionamento números 6, 8 e 9).

6. "Quem vai arcar com os custos laboratoriais?"

Os custos de laboratório serão cobertos pelo Hospital Nossa Senhora da Conceição, com parte da economia gerada pelo uso de solução cardioplégica de menor custo, conforme discriminado no orçamento atualizado, com anuência da Instituição/Gerência de Unidades de Internação do HNSC (vide documentação anexada, assinada pela Gerência de Unidades de Internação do HNSC, e questionamentos 5, 8 e 9).

7. "Os autores citam que uma amostra de sangue faz parte do protocolo usual. Após citam que: "Coleta de amostra de sangue em 4 momentos: antes da indução anestésica e 2, 12 e 24h após o término da CEC35" Mas apenas 2 amostras a mais constam nos custos e não 3 como parece ser."

Para fins do estudo, serão utilizados resultados da coleta de 4 amostras, como referido na página 15 do Projeto de Pesquisa, item "4.6 Coleta de dados", subitem 5.

Rotineiramente, várias amostras para exame de controle são coletadas no perioperatório. A primeira e a segunda coletas sempre irão coincidir com as coletas de rotina do Serviço. As 2 coletas previstas no orçamento cobrirão as terceiras e quartas coletas quando essas, eventualmente, não coincidirem com as coletas de rotina.

8. "E o custo das biópsias? Quem irá arcar?"

Os custos das biópsias/exames anatomopatológicos serão cobertos pelo Hospital Nossa Senhora da Conceição, com a utilização de parte da economia gerada pelo uso de solução cardioplégica de menor custo, conforme discriminado no orçamento atualizado, com anuência da

Instituição/Gerência de Unidades de Internação do HNSC (vide documentação anexada, assinada pela Gerência de Unidades de Internação do HNSC, e questionamentos 5, 6 e 9).

9. "É necessário elucidar a fonte pagadora de cada um dos custos."

O item "6 Orçamento", página 24, foi atualizado com as informações solicitadas.

Fontes pagadoras de cada um dos custos:

1. Hospital Nossa Senhora da Conceição, com custos já arcados pelo hospital na rotina, independentes do estudo proposto: exames de sangue (Laboratório de Análises Clínicas do HNSC), soluções cardioplégicas Custodiol e componentes das duas soluções de del Nido, exceto o Plasma-Lyte.

2. Hospital Nossa Senhora da Conceição, com parte da economia gerada pelo estudo proposto: biópsias/exames anatomopatológicos e exames laboratoriais que, eventualmente, excederem a rotina do Serviço.

3. Pesquisadores: solução de Plasma-Lyte, deslocamento para obtenção dos dados deste projeto e material de escritório.

Obs 1.: Anexado dois documentos de anuência, assinados pelo Gerente de Unidades de Internação do HNSC, para autorização e custeio das despesas com parte da economia gerada pela Pesquisa proposta, conforme discriminadas nos itens 1 e 2 deste questionamento.

Obs 2.: Todas as alterações realizadas no Projeto de Pesquisa ou Termo de Consentimento Livre e Esclarecido estão escritas em vermelho ou circuladas de vermelho (ex., Fig. 3).

Objetivo da Pesquisa:

Resposta ao Parecer Consubstanciado do CEP

Número do Parecer: 4.499.635.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Acrescentados ao Projeto:

Riscos:

Todas as soluções cardioplégicas utilizadas para o presente estudo são de uso corrente, muito utilizadas em todo o mundo, com bom perfil de segurança para o paciente. Os riscos ao paciente são mínimos, podendo ocorrer pequenos sangramentos nos locais da biópsia, o que é de muito fácil correção, se necessário, durante o procedimento cirúrgico.

Benefícios:

HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEIÇÃO - GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO

Continuação do Parecer: 4.535.088

Este é um protocolo de um ensaio clínico duplo-cego randomizado, sem precedentes até o momento, comparando os efeitos de três soluções cardioplégicas de longa ação na proteção miocárdica e nos resultados clínicos em cirurgia cardíaca. Este protocolo de pesquisa foi meticulosamente desenhado e segue os padrões de protocolos de ensaios clínicos bem elaborados. Os resultados obtidos no ensaio clínico proposto podem fornecer subsídios, por meio da publicação, para implantação e inserção de protocolos clínicos em diversas instituições, aumentando a segurança e reduzindo despesas. Além disso, nosso estudo pode contribuir para a avaliação internacional da solução cardioplégica com melhor perfil para redução da lesão miocárdica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Esclarecidas questões quanto aos custos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Um dos termos de anuência do responsável pelo setor apresentados está sem o título do projeto.

Recomendações:

Que o risco de quebra de sigilo seja apresentado também nos "Riscos e benefícios" do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem outras pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1673259.pdf	21/01/2021 13:17:14		Aceito
Outros	Termo_Concordancia_Gerencia_Unidades_Internacao.pdf	21/01/2021 13:12:07	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Declaração de concordância	Termo_Anuencia_Responsavel_Setor_Realizada_Pesquisa.pdf	21/01/2021 13:11:03	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Orçamento	Termo_Concordancia_Custos_Pesquisa_Gerencia_Unidades_Internacao.pdf	21/01/2021 13:10:28	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v2.pdf	21/01/2021 13:09:04	Adriana Silveira de Almeida	Aceito

Endereço: Francisco Trein, 326 - Centro de Educação Tecnológica e Pesquisa em Saúde - Escola GHC
Bairro: CRISTO REDENTOR **CEP:** 91.350-200
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3357-2805 **E-mail:** cep-ghc@ghc.com.br

HOSPITAL NOSSA SENHORA DA CONCEIÇÃO - GRUPO HOSPITALAR CONCEIÇÃO

Continuação do Parecer: 4.535.088

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetodelNidoXdelNidomodificadoXCustodiol_CEPv2.pdf	21/01/2021 13:08:07	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	RespostaParecerConsubstanciadoCEP_4499635.pdf	21/01/2021 13:06:44	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Kathize_Betti_Lira.pdf	24/12/2020 18:58:07	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Luciane_Kopittke.pdf	24/12/2020 18:46:12	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Fernando_Anschau.pdf	24/12/2020 18:42:10	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Adriana_Almeida.pdf	24/12/2020 18:41:03	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Relacao_dos_intergrantes_do_Projeto_de_Pesquisa.pdf	23/12/2020 12:35:25	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso_paraentrega_de_relatorio.pdf	23/12/2020 12:31:04	Adriana Silveira de Almeida	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.pdf	23/12/2020 12:21:23	Adriana Silveira de Almeida	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

PORTO ALEGRE, 11 de Fevereiro de 2021

Assinado por:
Daniel Demétrio Faustino da Silva
(Coordenador(a))

Endereço: Francisco Trein, 326 - Centro de Educação Tecnológica e Pesquisa em Saúde - Escola GHC
Bairro: CRISTO REDENTOR **CEP:** 91.350-200
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3357-2805 **E-mail:** cep-ghc@ghc.com.br

ANEXO B – FICHA DE COLETA DE DADOS

COMPARAÇÃO ENTRE AS SOLUÇÕES CARDIOPLÉGICAS DE LONGA DURAÇÃO NA PROTEÇÃO MIOCÁRDICA COM ANÁLISE TECIDUAL E LABORATORIAL: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO CEGO

Paciente nº _____

Data: ___/___/20___

Endereço: _____

Cidade: _____ **Telefone**: _____

Data de nascimento: ___/___/20___ **Sexo**: Masculino (1) Feminino (2)

1. História pregressa

Peso: _____ Kg Altura: _____ m

ICC classe (NYAH): I (1) II (2) III (3) IV (4)

Ritmo ECG: sinusal (1) fibrilação atrial (2) outros (3) _____

IAM prévio: não (0) sim (1)

HAS: não (0) sim (1)

Diabetes mellitus: não (0) sim (1)

AVC: não (0) sim (1)

FA pré-operatória: não (0) sim (1)

MP pré-operatório: não (0) sim (1)

BIA: não (0) sim (1)

Endocardite: não (0) sim (1)

DPOC: não (0) sim (1)

Vasculopatia periférica: não (0) sim (1)

Tabagista durante a vida: não (0) sim (1)

Tabagista ativo: não (0) sim (1)

Escores de risco: EuroSCORE-2 _____ STS *Score* _____ Ambler _____

2. Tratamento clínico – medicação de uso crônico pré-operatório

Medicações: não (0) sim (1) Não adesão à medicação (2)

1. Hipolipemiantes: Inibidores da HMG-CoA-redutase (1) Colestiramina e colestipol (2) Niacina (3) Clofibrato e genfibrozil (4) Probucol (5)

2. Betabloqueador: Propranolol (7) Sotalol (8) Oxprenolol (9) Timolol (10) Nadolol (11) Pindolol (12) Atenolol (13) Metoprolol (14) Acebutol (15) Labetalol (16)

3. Nitrato: Nitroglicerina (17) Isossorbida (18)

4. Bloqueadores do canal de cálcio: Verapamil (19) Diltiazem (20) Nifedipina (21) Anlodipina (22) Felodipina (23) Isradipina (24)

5. Inibidores da enzima de conversão da angiotensina I (inibidores da ECA): Captopril (25) Ramipril (26) Enalapril (27) Lisinopril (28)

6. Antiagregantes plaquetários: Aspirina (29) Ticlopidina (30) Clopidogrel (31)

7. Insulina (32)

8. Hipoglicemiante oral: Metformina (33) Glibenclamida (34) Outra (35):_____

3. Características angiográficas basais - CORONARIOGRAFIA

Data: ___/___/_____

Conceitos
Lesão moderada: **50**-69%
Lesão grave: **70**-89%
Lesão subtotal: **90**-99%
Oclusão: **100**%

Dominância direita: não (0) sim (1)

Tronco coronária esquerda: não (0) sim (1)

SE "sim": moderada (1) grave (2) suboclusão (3) oclusão(4)

Descendente anterior: não (0) sim (1)

SE "sim": moderada (1) grave (2) suboclusão (3) oclusão(4)

Circunflexa: não (0) sim (1)

SE "sim": moderada (1) grave (2) suboclusão (3) oclusão(4)

Marginal da Circunflexa: não (0) sim (1). Se "sim", quantas?_____

SE "sim": Mg1: moderada (1) grave (2) suboclusão (3) oclusão(4)

Mg2: moderada (1) grave (2) suboclusão (3) oclusão(4)

Mg3: moderada (1) grave (2) suboclusão (3) oclusão(4)

Mg4: moderada (1) grave (2) suboclusão (3) oclusão(4)

Coronária direita: não (0) sim (1)

SE "sim": moderada (1) grave (2) suboclusão (3) oclusão(4)

4. Ecocardiograma pré-operatório

Data: ___/___/_____

FE:_____%

VE hipertófico: não (0) sim (1)

VE dilatado: não (0) sim (1)

Doença valvar MODERADA ou GRAVE: não (0) sim (1)

Se doença valvar MODERADA ou GRAVE "sim":
Estenose aórtica (1) Estenose aórtica com insuficiência (2) Insuficiência aórtica (3)
Estenose mitral (4) Estenose mitral com insuficiência (5) Insuficiência mitral (6)
Insuficiência tricúspide (7) Endocardite valvar mitral (8) Endocardite valvar aórtica (9)
Endocardite valvar tricúspide (10)
Outros (11) _____

Aorta: _____mm

Átrio esquerdo: _____mm

Diâmetro diastólico final VE: _____mm

Diâmetro sistólico final VE: _____mm

Volume diastólico final VE: _____mL

Volume sistólico final VE: _____mL

Massa ventricular: _____ g/m^2

PSAP: _____ mmHg

5. Cirurgia de Revascularização Miocárdica

Data: ___/___/_____

Score SYNTAX: Baixo – 0 a 22 (1) Médio – 23 a 32 (2) Alto – >32 (3)

Enxertos venosos, quantos? (0) (1) (2) (3) (4)

Enxertos arteriais: ATIE não (0) sim (1) ATID não (0) sim (1)

Radial não (0) sim (1) Se "sim", quantas? _____

Outro não (0) sim (1) Se "sim", qual?_____

Tempo de CEC:_____ min **Tempo de Clamp**:_____ min

Transfusão (total transoperatório): não (0) sim (1)

CHAD:_____U Plasma fresco congelado:_____U Plaquetas:_____U

Crioprecipitado:_____U

Necessidade de desfibrilação: não (0) sim (1)

BIA: não (0) sim (1)

MP provisório: não (0) sim (1) Se "sim", tempo:_____ hs.

Óbito transoperatório: não (0) sim (1) Causa: _____

Drogas vasoativas (saída de sala cirúrgica): não (0) sim (1)

Se "sim":

Noradrenalina (1): dose _____ µg/Kg/min

Adrenalina (2): dose _____ µg/Kg/min

Dobutamina (3): dose _____ µg/Kg/min

Dopamina (4): dose _____ µg/Kg/min

Outras (5) _____: dose _____ µg/Kg/min

6. Cirurgia para troca valvar

Data: ___/___/_____

Troca valvar: Aórtica (1) Mitral (2) Tricúspide (3)

Plastia: Aórtica (1) Mitral (2) Tricúspide (3)

Patologia:

Estenose aórtica (1) Estenose aórtica com insuficiência (2) Insuficiência aórtica (3)
Estenose mitral (4) Estenose mitral com insuficiência (5) Insuficiência mitral (6)
Insuficiência tricúspide (7) Endocardite valvar mitral (8) Endocardite valvar aórtica (9)
Endocardite valvar tricúspide (10) Outros (11)_____

Prótese: não (0) sim (1) Se "sim", t**ipo de prótese**: Metálica (1) Biológica (2)

Marca prótese:_____

Transfusão (total transoperatório): não (0) sim (1)

CHAD:_____U Plasma fresco congelado:_____U Plaquetas:_____U

Crioprecipitado:_____U

Tempo de CEC:_____ min **Tempo de Clamp**:_____ min

Necessidade de desfibrilação: não (0) sim (1)

BIA: não (0) sim (1)

MP provisório: não (0) sim (1) Se SIM, tempo:_____ hs.

Óbito transprocedimento: não (0) sim (1)

Causa: _____

Drogas vasoativas (saída de sala cirúrgica): não (0) sim (1)

Se "sim":

Noradrenalina (1): dose _____ µg/Kg/min

Adrenalina (2): dose _____ µg/Kg/min

Dobutamina (3): dose _____ µg/Kg/min

Dopamina (4): dose _____ µg/Kg/min

Outras (5)_____: dose _____ µg/Kg/min

7. Internação UTI

Data internação UTI: ___/___/_____ **Hora**:_____

Data Alta UTI: ___/___/_____ **Hora**:_____

Complicações PO (UTI):

IAM: não (0) sim (1)

AVC: não (0) sim (1)

Arritmias com necessidade cardioversão/desfibrilação: não (0) sim (1)

BAVT permanente: não (0) sim (1)

Fibrilação/flutter atrial: não (0) sim (1)

BIA: não (0) sim (1)

Diálise: não (0) sim (1)

Reoperação por sangramento: não (0) sim (1)

Tamponamento cardíaco: não (0) sim (1)

MP provisório: não (0) sim (1) Se “sim”, tempo:_____ hs.

Sangramento - drenos:

6h pós-operatório ou até REOPERAÇÃO (total):_____mL

24h pós-operatório (total):_____mL

48h pós-operatório (total):_____mL

Sangramento total:_____mL

Transfusão (total durante internação UTI): não (0) sim (1)

CHAD:_____U Plasma fresco congelado:_____U

Plaquetas:_____U Crioprecipitado:_____U

Ventilação mecânica PO (1ª extubação): COMEÇA A CONTAR QUANDO CHEGAR NA UTI

Ventilação mecânica PO > 24h: não (0) sim (1)

Ventilação mecânuca PO < 24h: não (0) sim (1)

Suporte inotrópico: não (0) sim (1)

Se “sim”:

>24h: não (0) sim (1)

< 24h: não (0) sim (1)

Noradrenalina (1) Adrenalina (2) Dobutamina (3) Dopamina (4)

Outras (5): dose _____

Duração:_____ hs.

Óbito:

não (0)

sim (1) Data: ___/___/_____

Causa óbito:

cardíaca (1)

cardiovascular = IAM fatal ou AVC (2)

não-cardíaco (3)

Causa do óbito (atestado de óbito):_____

8. Avaliação laboratorial

1. Pré-operatório

Função renal: Creatinina: _____ mg/dL Uréia: _____ mg/dL

TGO: _____ TGP: _____

TSH: _____ T4 livre: _____

Perfil lipídico: Triglicerídios: _____ mg/dL Colesterol Total: _____ mg/dL

HDL: _____ mg/dL LDL: _____ mg/dL

Enzimas cardíacas: **CK: _____ ng/mL** **Troponina T Ultrassensível**: **_____ ng/mL**

Proteína C Reativa: _____ mg/L

Glicemia: _____mg/dL Hb glicada: _____ Albumina: _____

Gasometria: pH: _____ HCO_3: _____ mEq/L Lactato: _____mg/dL

Eletrólitos: Sódio: _____ mEq/L Potássio: _____ mEq/L Cálcio iônico: _____ mEq/L

Hemoglobina: _____ g/dL **Hematócrito: _____ %**

Leucócitos: _____/uL **Bastões: _____/uL _____%**

Segmentados: _____/uL _____% **Eosinófilos: _____/uL _____%**

Basófilos: _____/uL _____% **Monócitos: _____/uL _____%**

Linfócitos: _____/uL _____%

Plaquetas:_____

2. Indução anestésica:

Função renal: Creatinina: _____ mg/dL Uréia: _____ mg/dL

Enzimas cardíacas: CK: _____ ng/mL Troponina T Ultrassensível: _____ ng/mL

Proteína C Reativa: _____ mg/L

Glicemia: _____mg/dL

Gasometria: pH: _____ HCO_3: _____ mEq/L Lactato: _____mg/dL

Eletrólitos: Sódio: _____ mEq/L Potássio: _____ mEq/L Cálcio iônico: _____ mEq/L

Hemoglobina: _____ g/dL Eosinófilos: _____/uL _____%

Hematócrito: _____ % Basófilos: _____/uL _____%

Leucócitos: _____/uL Monócitos: _____/uL _____%

Bastões: _____/uL _____% Linfócitos: _____/uL _____%

Segmentados: _____/uL _____%

3. **2h após término CEC**

Função renal: Creatinina: _____ mg/dL Uréia: _____ mg/dL

Enzimas cardíacas: CK: _____ ng/mL Troponina T Ultrassensível: _____ ng/mL

Proteína C Reativa: _____ mg/L

Glicemia: _____mg/dL

Gasometria: pH: _____ HCO_3: _____ mEq/L Lactato: _____mg/dL

Eletrólitos: Sódio: _____ mEq/L Potássio: _____ mEq/L Cálcio iônico: _____ mEq/L

Hemoglobina: _____ g/dL Eosinófilos: _____/uL _____%

Hematócrito: _____ % Basófilos: _____/uL _____%

Leucócitos: _____/uL Monócitos: _____/uL _____%

Bastões: _____/uL _____% Linfócitos: _____/uL _____%

Segmentados: _____/uL _____%

4. **12h após término CEC**

Função renal: Creatinina: _____ mg/dL Uréia: _____ mg/dL

Enzimas cardíacas: CK: _____ ng/mL Troponina T Ultrassensível: _____ ng/mL

Proteína C Reativa: _____ mg/L

Glicemia: _____mg/dL

Gasometria: pH: _____ HCO_3: _____ mEq/L Lactato: _____mg/dL

Eletrólitos: Sódio: _____ mEq/L Potássio: _____ mEq/L Cálcio iônico: _____ mEq/L

Hemoglobina: _____ g/dL Eosinófilos: _____/uL _____%

Hematócrito: _____ % Basófilos: _____/uL _____%

Leucócitos: _____/uL Monócitos: _____/uL _____%

Bastões: _____/uL _____% Linfócitos: _____/uL _____%

Segmentados: _____/uL _____%

5. **24h após término CEC**

Função renal: Creatinina: _____ mg/dL Uréia: _____ mg/dL

Enzimas cardíacas: CK: _____ ng/mL Troponina T Ultrassensível: _____ ng/mL

Proteína C Reativa: _____ mg/L

Glicemia: _____mg/dL

Gasometria: pH: _____ HCO_3: _____ mEq/L Lactato: _____mg/dL

Eletrólitos: Sódio: _____ mEq/L Potássio: _____ mEq/L Cálcio iônico: _____ mEq/L

Hemoglobina: _____ g/dL Eosinófilos: _____/uL _____%

Hematócrito: _____ %

Leucócitos: _____/uL

Bastões: _____/uL _____%

Segmentados: _____/uL _____%

Basófilos: _____/uL _____%

Monócitos: _____/uL _____%

Linfócitos: _____/uL _____%

9. Ecocardiograma pós-operatório

Data: ___/___/_____

FE:_____%

10. Evolução hospitalar

Óbito na internação:

não (0)

sim (1) Data: ___/___/_____ Causa:_____

Data da internação hospitalar: ___/___/_____

Data da alta hospitalar: ___/___/_____

Tempo de internação (dias): _____ Tempo de internação PO (dias): _____

Ritmo ECG na alta:

sinusal (1) fibrilação atrial (2)

outros (3) _____

11. Análise estrutural miocárdica - Patlogia

Antes da CEC :

Grau 0 ( ) Grau 1 ( ) Grau 2 ( ) Grau 3 ( )

15 minutos após abertura do clampeamento aórtico:

Grau 0 ( ) Grau 1 ( ) Grau 2 ( ) Grau 3 ( )

ANEXO C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

COMPARAÇÃO ENTRE AS SOLUÇÕES CARDIOPLÉGICAS DE LONGA DURAÇÃO NA PROTEÇÃO MIOCÁRDICA COM ANÁLISE TECIDUAL E LABORATORIAL: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DUPLO CEGO

CONSENTIMENTO INFORMADO

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa de cunho institucional intitulada "Comparação entre as soluções cardioplégicas de longa duração na proteção miocárdica com análise tecidual e laboratorial: ensaio clínico randomizado duplo cego", que têm o objetivo de investigar o desempenho das soluções que fazem a parada e a proteção do coração durante a cirurgia para a troca de válvula ou de revascularização do coração (cirurgia de ponte de safena). Não será utilizada nenhuma substância diferente das já utilizadas na cirurgia cardíaca e aprovadas na literatura. O tema escolhido se justifica pela importância de entender qual é a melhor solução para parar e proteger o coração para cada paciente. Isto poderá ajudar na indicação do tratamento mais adequado para cada pessoa.

O estudo envolve algumas perguntas sobre hábitos de vida, doenças prévias e medicações que esteja usando. Após, será realizada uma série de medidas corporais utilizando fita métrica e balança, além da medida da pressão arterial. Na sequência, será realizada coleta de sangue para análise de fatores que podem ser influenciados por qualquer uma das soluções de proteção do coração, o que já é realizado de rotina antes, durante a após as cirurgias do coração. Será encaminhado para análise a biópsia de dois diminutos fragmentos do músculo do coração (1,0 mm) obtidos durante a cirurgia, sendo as complicações raras, como sangramento no local da biópsia, de fácil correção com sutura antes do final da cirurgia. Terminando as análises, o material biológico restante será descartado. Após o procedimento, um pesquisador do estudo irá acompanhar a sua evolução e tratamento durante e após a cirurgia, anotando a evolução e os exames. Posteriormente, poderá será feito contato telefônico para realizar um questionário sobre a sua evolução clínica.

A participação no estudo não lhe trará custos.

Não haverá modificação na realização do seu tratamento em virtude do estudo, sendo executado da mesma maneira que é feito em quaisquer outros pacientes. Apenas depois de realizado é que será feita a análise de qual a solução usada durante a cirurgia que determina melhores resultados

em relação a proteção do coração. Estes dados serão anotados para a pesquisa, não sofrendo qualquer mudança em decorrência de sua participação neste estudo e sem gastos adicionais.

Todas as informações serão mantidas em sigilo, garantindo a confidencialidade.

A decisão de participar ou não do estudo é voluntária e não lhe trará nenhum prejuízo à sua assistência médica caso opte por não participar. Sua participação neste estudo não trará qualquer risco ou desconforto para sua saúde, entretanto poderá tomar um pouco da sua atenção e do seu tempo.

Durante o estudo, em qualquer momento, será garantida a possibilidade de desistir, bastando comunicar sua decisão, não precisando qualquer justificativa.

Os dados obtidos serão utilizados somente para este estudo, sendo os mesmos armazenados pelo(a) pesquisador(a) principal durante 5 (cinco) anos e, após, totalmente destruídos (conforme preconiza a Resolução 466/12).

Eu_____, recebi as informações sobre os objetivos e a importância desta pesquisa de forma clara e concordo em participar do estudo. Declaro que também fui informado:

· Da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento acerca dos assuntos relacionados a esta pesquisa;

· De que minha participação é voluntária e terei a liberdade de retirar o meu consentimento, a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo para a minha vida pessoal e nem para o atendimento na instituição (nos casos de pesquisa com profissionais é para minha atuação profissional);

· Da garantia que não serei identificado quando da divulgação dos resultados e que as informações serão utilizadas somente para fins científicos do presente projeto de pesquisa;

· Sobre o projeto de pesquisa e a forma como será conduzido e que em caso de dúvida ou novas perguntas poderei entrar em contato com os pesquisadores: Dra. Kathyze Betti Lira, e-mail: kathizelira@hotmail.com; Dra. Adriana Silveira de Almeida (pesquisadora responsável), e-mail: adrianasdealmeida@gmail.com ou Dr. Rafael de Oliveira Ceron (médico coordenador do Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição e pesquisador), e-mail: rafael_ceron2000@yahoo.com.br**,** pelo telefone (51) 3357-2303, no Centro de Cardiologia e de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Nossa Senhora da Conceição, situado na Av. Francisco Trein, 596, bairro Cristo Redentor, Porto Alegre/RS.

· Também que, se houver dúvidas quanto a questões éticas, poderei entrar em contato com Daniela Montano Wilhelms, Coordenadora-geral do Comitê de Ética em Pesquisa do GHC pelo telefone 3357-2805, endereço Av. Francisco Trein 326, Centro de Educação Tecnológica e Pesquisa em Saúde – CETPS (ESCOLA TÉCNICA GHC), Gerência de Ensino e Pesquisa, das 08h às 12h e das 14h:30min às 15:30h (item obrigatório);

Declaro que recebi uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, ficando outra via com a pesquisadora.

Porto Alegre, ___, de _____ de 20__.

Nome do Participante: _____Ass:_____

Nome do Pesquisador:_____Ass:_____

Este formulário foi lido para_____ (nome do paciente) em _____/_____/_____(data) pelo_____ (nome do pesquisador) enquanto eu estava presente.

Assinatura da Testemunha:_____

Nome:_____ Data: ____/____ /_____

ANEXO D – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA BMJ

Abstract - Original research, systematic reviews, and meta-analyses require structured abstracts. The abstract should provide the context or background for the study and should state the study's purpose, basic procedures (selection of study participants, settings, measurements, analytical methods), main findings (giving specific effect sizes and their statistical and clinical significance, if possible), and principal conclusions. It should emphasize new and important aspects of the study or observations, note important limitations, and not overinterpret findings. Clinical trial abstracts should include items that the CONSORT group has identified as essential. Funding sources should be listed separately after the abstract to facilitate proper display and indexing for search retrieval by MEDLINE.

Because abstracts are the only substantive portion of the article indexed in many electronic databases, and the only portion many readers read, authors need to ensure that they accurately reflect the content of the article. Unfortunately, information in abstracts often differs from that in the text. Authors and editors should work in the process of revision and review to ensure that information is consistent in both places. The format required for structured abstracts differs from journal to journal, and some journals use more than one format; authors need to prepare their abstracts in the format specified by the journal they have chosen.

The ICMJE recommends that journals publish the clinical trial registration number at the end of the abstract. The ICMJE also recommends that, when a registration number is available, authors list that number the first time they use a trial acronym to refer to the trial they are reporting or to other trials that they mention in the manuscript. If the data have been deposited in a public repository and/or are being used in a secondary analysis, authors should state at the end of the abstract the unique, persistent data set identifier, repository name and number.

Introduction - Provide a context or background for the study (that is, the nature of the problem and its significance). State the specific purpose or research objective of, or hypothesis tested by, the study or observation. Cite only directly pertinent references, and do not include data or conclusions from the work being reported.

Methods - The guiding principle of the Methods section should be clarity about how and why a study was done in a particular way. The Methods section should aim to be sufficiently detailed such that others with access to the data would be able to reproduce the results. In general, the section should include only information that was available at the time the plan or protocol for the study was being written; all information obtained during the study belongs in the Results section. If an organization was paid or otherwise contracted to help conduct the research (examples include data collection and management), then this should be detailed in the methods.

The Methods section should include a statement indicating that the research was approved by an independent local, regional or national review body (e.g., ethics committee, institutional review board). If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the Helsinki Declaration, the authors must explain the rationale for their approach and demonstrate that the local, regional or national review body explicitly approved the doubtful aspects of the study. (See section II.E.)

Selection and Description of Participants - Clearly describe the selection of observational or experimental participants (healthy individuals or patients, including controls), including eligibility and exclusion criteria and a description of the source population. Because the relevance of such variables as age, sex, or ethnicity is not always known at the time of study design, researchers should aim for inclusion of representative populations into all study types and at a minimum provide descriptive data for these and other relevant demographic variables. Comment on how representative the study sample is of the larger population of interest.

Ensure correct use of the terms sex (when reporting biological factors) and gender (identity, psychosocial or cultural factors), and, unless inappropriate, report the sex and/or gender of study participants, the sex of animals or cells, and describe the methods used to determine sex and gender. If the study was done involving an exclusive population, for example in only one sex, authors should justify why. Authors should define how they determined race or ethnicity and justify their relevance. In the case where race or ethnicity was not collected, explain why it was not collected. Race and ethnicity are social and not biological constructs; authors should interpret results associated with race and ethnicity in that context. Authors should use neutral, precise, and respectful language to describe study participants and avoid the use of terminology that might stigmatize participants.

Technical Information - Specify the study's main and secondary objectives–usually identified as primary and secondary outcomes. Identify methods, equipment (give the manufacturer's name and address in parentheses), and procedures in sufficient detail to allow others to reproduce the results. Give references to established methods, including statistical methods (see below); provide references and brief descriptions for methods that have been published but are not well-known; describe new or substantially modified methods, give the reasons for using them, and evaluate their limitations. Identify precisely all drugs and chemicals used, including generic name(s), dose(s), and route(s) of administration. Identify appropriate scientific names and gene names.

Statistics - Describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to judge its appropriateness for the study and to verify the reported results. When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Avoid relying solely on statistical hypothesis testing, such as P values, which fail to convey important information about effect size and precision of estimates. References for the design of the study and statistical methods should be to standard works when possible (with pages stated). Define statistical terms, abbreviations, and most symbols. Specify the statistical software package(s) and versions used. Distinguish prespecified from exploratory analyses, including subgroup analyses.

Results - Present your results in logical sequence in the text, tables, and figures, giving the main or most important findings first. Do not repeat all the data in the tables or figures in the text; emphasize or summarize only the most important observations. Provide data on all primary and secondary outcomes identified in the Methods Section. Extra or supplementary materials and technical details can be placed in an appendix where they will be accessible but will not interrupt the flow of the text, or they can be published solely in the electronic version of the journal.

Give numeric results not only as derivatives (for example, percentages) but also as the absolute numbers from which the derivatives were calculated. Restrict tables and figures to those needed to explain the argument of the paper and to assess supporting data. Use graphs as an alternative to tables with many entries; do not

duplicate data in graphs and tables. Avoid nontechnical uses of technical terms in statistics, such as “random” (which implies a randomizing device), “normal,” “significant,” “correlations,” and “sample.”

Separate reporting of data by demographic variables, such as age and sex, facilitate pooling of data for subgroups across studies and should be routine, unless there are compelling reasons not to stratify reporting, which should be explained.

Discussion - It is useful to begin the discussion by briefly summarizing the main findings and explore possible mechanisms or explanations for these findings. Emphasize the new and important aspects of your study and put your findings in the context of the totality of the relevant evidence. State the limitations of your study and explore the implications of your findings for future research and for clinical practice or policy. Discuss the influence or association of variables, such as sex and/or gender, on your findings, where appropriate, and the limitations of the data. Do not repeat in detail data or other information given in other parts of the manuscript, such as in the Introduction or the Results section.

Link the conclusions with the goals of the study but avoid unqualified statements and conclusions not adequately supported by the data. Distinguish between clinical and statistical significance and avoid making statements on economic benefits and costs unless the manuscript includes the appropriate economic data and analyses. Avoid claiming priority or alluding to work that has not been completed. State new hypotheses when warranted but label them clearly.

References

General Considerations - Authors should provide direct references to original research sources whenever possible. References should not be used by authors, editors, or peer reviewers to promote self-interests. Authors should avoid citing articles in predatory or pseudo-journals. When preprints are cited, the citation should clearly indicate that the reference is a preprint (also see Section III.D.3). Although references to review articles can be an efficient way to guide readers to a body of literature, review articles do not always reflect original work accurately. On the other hand, extensive lists of references to original work on a topic can use excessive space. Fewer references to key original papers often serve as well as more exhaustive lists, particularly since references can now be added to the electronic version of published

papers, and since electronic literature searching allows readers to retrieve published literature efficiently.

References to papers accepted but not yet published should be designated as “in press” or “forthcoming.” Information from manuscripts submitted but not accepted should be cited in the text as “unpublished observations” with written permission from the source.

Published articles should reference the unique, persistent identifiers of the data sets employed.

Avoid citing a “personal communication” unless it provides essential information not available from a public source, in which case the name of the person and date of communication should be cited in parentheses in the text. For scientific articles, obtain written permission and confirmation of accuracy from the source of a personal communication. Referencing AI-generated material as the primary source is not acceptable.

Some but not all journals check the accuracy of all reference citations; thus, citation errors sometimes appear in the published version of articles. To minimize such errors, references should be verified using either an electronic bibliographic source, such as PubMed, or print copies from original sources. Authors are responsible for checking that none of the references cite retracted articles except in the context of referring to the retraction. For articles published in journals indexed in MEDLINE, the ICMJE considers PubMed the authoritative source for information about retractions. Authors can identify retracted articles in MEDLINE by searching PubMed for "Retracted publication [pt]", where the term "pt" in square brackets stands for publication type, or by going directly to the PubMed's list of retracted publications.

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses.

References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used for MEDLINE (www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals). Journals vary on whether they ask authors to cite electronic references within parentheses in the text or in numbered references following the text. Authors should consult with the journal to which they plan to submit their work.

Style and Format - References should follow the standards summarized in the NLM's Sample References webpage and detailed in the NLM's Citing Medicine, 2nd edition. These resources are regularly updated as new media develop, and currently include guidance for print documents; unpublished material; audio and visual media; material on CD-ROM, DVD, or disk; and material on the Internet.

Tables - Tables capture information concisely and display it efficiently; they also provide information at any desired level of detail and precision. Including data in tables rather than text frequently makes it possible to reduce the length of the text.

Prepare tables according to the specific journal's requirements; to avoid errors it is best if tables can be directly imported into the journal's publication software. Number tables consecutively in the order of their first citation in the text and supply a title for each. Titles in tables should be short but self-explanatory, containing information that allows readers to understand the table's content without having to go back to the text. Be sure that each table is cited in the text.

Give each column a short or an abbreviated heading. Authors should place explanatory matter in footnotes, not in the heading. Explain all nonstandard abbreviations in footnotes and use symbols to explain information if needed. Symbols may vary from journal to journal (alphabet letter or such symbols as *, †, ‡, §), so check each journal's instructions for authors for required practice. Identify statistical measures of variations, such as standard deviation and standard error of the mean.

If you use data from another published or unpublished source, obtain permission and acknowledge that source fully.

Additional tables containing backup data too extensive to publish in print may be appropriate for publication in the electronic version of the journal, deposited with an archival service, or made available to readers directly by the authors. An appropriate statement should be added to the text to inform readers that this additional information is available and where it is located. Submit such tables for consideration with the paper so that they will be available to the peer reviewers.

Illustrations (Figures) - Digital images of manuscript illustrations should be submitted in a suitable format for print publication. Most submission systems have detailed instructions on the quality of images and check them after manuscript upload. For print

submissions, figures should be either professionally drawn and photographed, or submitted as photographic-quality digital prints.

For radiological and other clinical and diagnostic images, as well as pictures of pathology specimens or photomicrographs, send high-resolution photographic image files. Before-and-after images should be taken with the same intensity, direction, and color of light. Since blots are used as primary evidence in many scientific articles, editors may require deposition of the original photographs of blots on the journal's website.

Although some journals redraw figures, many do not. Letters, numbers, and symbols on figures should therefore be clear and consistent throughout, and large enough to remain legible when the figure is reduced for publication. Figures should be made as self-explanatory as possible since many will be used directly in slide presentations. Titles and detailed explanations belong in the legends—not on the illustrations themselves.

Photomicrographs should have internal scale markers. Symbols, arrows, or letters used in photomicrographs should contrast with the background. Explain the internal scale and identify the method of staining in photomicrographs.

Figures should be numbered consecutively according to the order in which they have been cited in the text. If a figure has been published previously, acknowledge the original source and submit written permission from the copyright holder to reproduce it. Permission is required irrespective of authorship or publisher except for documents in the public domain.

Abbreviations and Symbols - Use only standard abbreviations; use of nonstandard abbreviations can be confusing to readers. Avoid abbreviations in the title of the manuscript. The spelled-out abbreviation followed by the abbreviation in parentheses should be used on first mention unless the abbreviation is a standard unit of measurement.

ANEXO E – APROVAÇÃO NO REGISTRO BRASILEIRO DE ENSAIOS CLÍNICOS

Url do registro(trial url):http://www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-7g5s66/
Numero de Registro (Register Number):RBR-7g5s66

Prezado Registrante,

Temos o prazer de informar que seu estudo foi publicado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC).

Agradecemos por seu registro e colaboração e, desde já, nos colocamos à disposição para esclarecer quaisquer dúvidas que possam surgir, seja em caso de atualização do registro ou, até mesmo, uma nova submissão.

Por favor, não hesite em contactar-nos.

Cordialmente,

ReBEC Staff - ReBEC/ICICT/LIS
Av. Brasil 4036 - Maré - sala 807
Rio de Janeiro RJ CEP: 21040-360
Tel: +55(21)3882-9227
www.ensaiosclinicos.gov.br

Url do registro(trial url):http://www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-997tqhh/
Numero de Registro (Register Number):RBR-997tqhh

Prezado Registrante,

Temos o prazer de informar que seu estudo foi publicado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC).

Agradecemos por seu registro e colaboração e, desde já, nos colocamos à disposição para esclarecer quaisquer dúvidas que possam surgir, seja em caso de atualização do registro ou, até mesmo, uma nova submissão.

Por favor, não hesite em contactar-nos.

Cordialmente,

ReBEC Staff - ReBEC/ICICT/LIS
Av. Brasil 4036 - Maré - sala 807
Rio de Janeiro RJ CEP: 21040-360
Tel: +55(21)3882-9227
www.ensaiosclinicos.gov.br

ANEXO E – Publicação do Protocolo da Pesquisa 1 – BMJ Open

Open access Protocol

BMJ Open

Comparison between Custodiol, del Nido and modified del Nido in the myocardial protection - Cardioplegia Trial: a study protocol for a randomised, double-blind clinical trial

Adriana Silveira Almeida ,[1,2] Rafael Oliveira Ceron ,[1] Fernando Anschau ,[2] Luciane Kopittke ,[2] Kathize Betti Lira ,[1] Renan Senandes Delvaux ,[1] Juarez Rode ,[1] Rafael Antônio Widholzer Rey ,[1] Estefânia Inês Wittke ,[1] Alfeu Roberto Rombaldi [1]

To cite: Almeida AS, Ceron RO, Anschau F, *et al*. Comparison between Custodiol, del Nido and modified del Nido in the myocardial protection - Cardioplegia Trial: a study protocol for a randomised, double-blind clinical trial. *BMJ Open* 2021;**11**:e047942. doi:10.1136/bmjopen-2020-047942

► Prepublication history and additional supplemental material for this paper are available online. To view these files, please visit the journal online (http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2020-047942).

Received 15 December 2020
Accepted 20 August 2021

Check for updates

© Author(s) (or their employer(s)) 2021. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

[1]Cardiothoracic Surgery Division, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil
[2]Health Technology Assessment Center (NATS) and Education and Research Center (GEP), Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

Correspondence to
Dr Adriana Silveira Almeida; adrianasdealmeida@gmail.com

ABSTRACT

Introduction Myocardial protection is essential for successful cardiac surgery, and the search for an ideal cardioplegic solution has continued since its beginning. In this context, Custodiol, del Nido and modified del Nido are single-dose cardioplegic solutions with good safety profiles and great relevance in modern surgical practice. While these solutions have all been evaluated for their impact on patient outcomes independently, limited research exists comparing them directly. Thus, the present study aims to examine the effects of these cardioplegic solutions on myocardial protection and clinical outcomes in adult patients undergoing elective cardiac surgery. The assessment of the increase in myocardial injury biomarkers in patients submitted to all treatment methods may be considered a major strength of our study.

Methods and analysis This is a clinical trial study protocol that will compare myocardial protection and clinical outcomes among three patient groups based on which cardioplegic solution was used. Patients will be randomised to receive del Nido (n=30), modified del Nido (n=30) or Custodiol (n=30). Myocardial injury biomarkers will be measured at the baseline and 2 hours, 12 hours and 24 hours after the cardiopulmonary bypass. Clinical outcomes will be assessed during the trans operative period and the intensive care unit stay, in addition to other haematological parameters.

Ethics and dissemination This protocol and its related documents were approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Nossa Senhora da Conceição, Brazil, registered under no. 4.029.545. The findings of this study will be published in a peer-reviewed journal in the related field.

Trial registration number RBR-7g5s66.

Strengths and limitations of this study

- ► This is one of the first prospective randomised clinical trials comparing myocardial damage and clinical outcomes between Custodiol, del Nido and modified del Nido cardioplegic solutions.
- ► The assessment of the increase in myocardial injury biomarkers in patients submitted to all treatment methods may be considered a major strength of our study.
- ► The broad inclusion criteria will increase generalisability and may also make it possible to evaluate subgroups of interest.
- ► This trial will be performed at a single centre.
- ► This is a study with an insufficient sample for rare events.

INTRODUCTION

Cardiac surgery procedures usually involve using cardiopulmonary bypass (CPB) and cardiac arrest, and, in consequence, myocardial protection is essential.[1] Failure to adequately protect the heart may lead to severe adverse consequences, including myocardial infarction (MI), ischaemia-reperfusion injury and low-output cardiac syndrome. Such complications are associated with more extended stays in the intensive care unit (ICU), congestive heart failure and increased perioperative mortality.[2]

Cardioplegia is a fundamental component in providing heart protection, limiting metabolic activity and increasing the myocardium's capacity to resist ischaemia for prolonged periods, thus being essential for good surgical outcomes. Seeking an ideal solution, long-acting cardioplegic solutions were introduced[3] with two primary benefits: (1) in more complex or minimally invasive cardiac surgeries, the application of cardioplegia in a single dose avoids procedure interruptions, reducing the aortic cross-clamping time[3 4] and (2) patients submitted to cardiac surgery

still suffer from postoperative cardiac dysfunction, with it being postulated that single-dose cardioplegia would protect the heart more effectively.[3]

The histidine-tryptophan-ketoglutarate solution or Custodiol (Essential Pharmaceuticals, Ewing, New Jersey, USA) was described by Bretschneider in the 1970s[5] and conceived as an alternative to hyperkalaemic crystalloid cardioplegic solutions[6 7] used by some centres for myocardial protection in complex cardiac surgery and for organ preservation in transplant surgery.[8] The del Nido cardioplegia was developed by Pedro del Nido and his team at the University of Pittsburgh in the 1990s,[1 9 10] having been used since 1994 for paediatric cardiac surgery at the Boston Children's Hospital and also used successfully in adults since 2003.[1 11–16] The base solution for del Nido cardioplegia is usually Plasma-Lyte A (Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, Illinois, USA), which has an electrolyte composition similar to the extracellular fluid and is calcium-free. More recently, some authors have advocated[17] the use of traditional del Nido cardioplegia ingredients added to lactated Ringer's solution, as the base solution provided either similar or superior myocardial protection than the blood cardioplegia strategy. Both, Custodiol and del Nido, be it traditional or modified, are associated with safe single-dose administration and capable of proper myocardial protection for prolonged periods during ischaemia in CPB, allowing the performance of uninterrupted procedures.[3 8 10 18–21]

Thus far, there are no guidelines regarding using of a specific solution, and the literature does not confirm the superiority of one over the others.[1] The standardisation of the method or ideal type of cardioplegic solution remains controversial due to the scarcity of studies clearly outlining the advantages and disadvantages of the available solutions. While each of these solutions has been evaluated for their impact on patient outcomes independently, limited research is available comparing them directly. Thus, the present study aims to examine the effects of Custodiol and traditional or modified del Nido, cardioplegic solutions, all with good safety profiles and great relevance in modern surgical practice, on myocardial protection and clinical outcomes in patients undergoing cardiac surgery.

METHODS AND ANALYSIS

The study protocol was developed following the Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials checklist,[22] provided in online supplemental file 1. This study's approach will be based on the Consolidated Standards of Reporting Trials.[23]

Study design

A randomised, double-blinded, clinical trial study will be carried out at the Hospital Nossa Senhora da Conceição, a tertiary referral hospital in Cardiovascular Surgery in southern Brazil, to compare the effects of cardioplegic solutions—Custodiol, del Nido and modified del Nido—on myocardial protection and perioperative outcomes. The study design is shown in figure 1.

Patient and public involvement statement

The patients or the public will not be involved in the design, recruitment or conduction of the study.

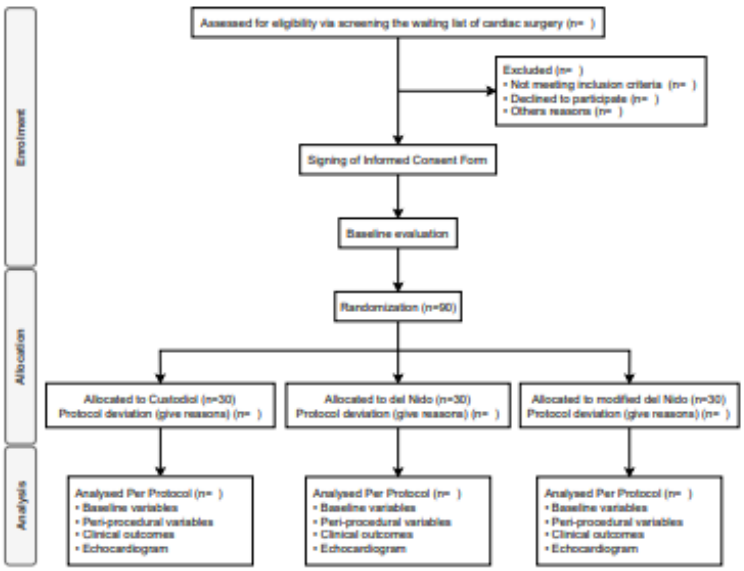


Figure 1 Consort diagram: flow of the participants throughout the study.

Almeida AS, *et al*. *BMJ Open* 2021;**11**:e047942. doi:10.1136/bmjopen-2020-047942

	Study Period					
	Enrolment	Allocation	Post-allocation			Close-out
Time point	Interviews	Following confirmation of eligibility to day of surgery	Day of surgery	0-24h Post op	Post op onwards until discharge	Discharge or 30 days after enrolment
Enrolment						
Eligibility screen	X					
Informed consent	X					
Demographic data	X					
Anthropometric data	X					
Clinical data	X					
Allocation (randomization)		X				
Interventions						
Custodiol			X			
del Nido			X			
del Nido modificado			X			
Assessments						
Baseline variables		X	X			
Peri-procedural variables			X	X	X	
Clinical outcomes			X	X	X	X
Echocardiogram	X					X

Figure 2 Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials (SPIRIT) checklist. Enrolment, interventions and assessments.

1. Assessments of additional myocardial protection measures: incidence of ventricular fibrillation requiring electrical defibrillation after aortic cross-clamp removal, postoperative changes in the left ventricular ejection fraction (LVEF) and in the ventricular septal function, blood gas analysis, duration of inotrope or vasopressor requirement and requirement for intra-aortic balloon pump (IABP) support.
2. Intraoperative outcomes: total volume of cardioplegia and number of doses, total aortic cross-clamp time and CPB.
3. Clinical outcomes: ICU stay, prolonged ventilation (over 24 hours), the incidence of postoperative atrial fibrillation (AF) or flutter, acute MI, mortality and blood products transfusion.
4. Comparisons among cardioplegic solutions regarding the prediction of major cardiovascular events in adult patients undergoing cardiac surgery.

Participant timeline

The schedule for enrolment, interventions and assessments is outlined in figure 2. The recruitment of study participants began in 15 July 2020.

Sample size

The sample size calculation was performed using the G-Power program V.3.1.9.4. Considering an effect f=0.466 on troponin levels based on the study by Talwar *et al*,[24] maintaining a 95% statistical power and a 5% significance, it would be necessary to investigate 75 patients. Thus, with an additional 20% to account for potential losses, 90 individuals will be selected for the study, with 30 randomised for each group.

Recruitment and allocation

Candidate patients for cardiac surgery will be identified at the point of referral or from the inpatient waiting list by the clinical team and approached by a research team member about participation in the study. After consent, the eligible patients will be randomised to receive Custodiol, del Nido or modified del Nido following confirmation of eligibility.

Randomisation

The patients will be randomised in blocks to receive the del Nido, modified del Nido or Custodiol solutions during CPB, with a sequence generated by website randomizer.org and the numbers being placed in opaque envelopes and sealed individually.

Blinding

On the same day of surgery and before anaesthetic induction, the perfusionist will receive the opaque and sealed envelope indicating the cardioplegic solution to be prepared and administered according to its particularities.

All the patients, anaesthetists, echocardiographers, nurses and laboratory staff will be blinded to the type of intervention.

Since the Custodiol infusion requires an administration time and interval between doses different from the del Nido solution, the surgical team will only be blinded to the intervention with del Nido or modified del Nido, besides not participating in the analysis of the results to avoid measurement biases. There is no possibility of standardising the volume of the solutions, administration times and interval between doses due to the potential increase in risk for the patients.

After surgery, all patients will be transferred to the ICU, intended for the recovery of patients submitted to cardiac surgery, and monitored by a team with postoperative expertise in the specialty, according to the standard institutional protocols, blinded to the type of cardioplegia administered during the surgery. After discharge from the ICU, these patients will be transferred to the postoperative cardiology unit, where they will be managed until hospital discharge by the team responsible, according to standard protocols, also blinded to the type of intervention.

Moreover, the lead investigator, who will identify the outcomes and perform the statistical analyses, will be blinded to the type of intervention used in each case.

All deaths or complications, be they cardiovascular or not, reported during the conduction of the study will be analysed. All researchers involved in the adjudication process will remain blind to the allocation of the patients regarding the type of intervention. The adjudicated data will be used in the final analysis of safety and efficacy.

Data collection methods

Baseline assessments

The baseline interviews pertaining to demographic, anthropometric and clinical data using a standardised questionnaire will be recorded during the enrolment process, following consent and before the randomisation. Demographic data include age, gender and education

Eligibility criteria

Subject inclusion and exclusion criteria are defined as follows. The study centre was chosen by convenience, and the eligibility criteria were defined a priori by care providers.

Patients referred for elective valve replacement surgery or coronary artery bypass grafting surgery aged at least 18 years will be enrolled. Patients with chronic renal disease (previous medical diagnosis or serum creatinine greater than 1.5 mg/dL), previous cardiac surgery, severe psychiatric illness, or inability or unwillingness to give informed consent for participation will be excluded.

Interventions

Adult patients undergoing elective myocardial revascularisation surgery or valve replacement will be randomised to receive cardioplegic solutions del Nido (using Plasma-Lyte A as the base solution), modified del Nido (using lactated Ringer's as the base solution) or Custodiol during CPB. They will be followed up for evaluating the effectiveness of the treatments initially proposed.

Surgical technique

Conventional general anaesthesia will be used for all patients. The surgical approach will be via median sternotomy. The CPB will be established by an arterial cannula in the ascending aorta or femoral artery. Venous drainage will be obtained via a two-stage cannula in the right atrium or bicaval cannulation through the superior and inferior vena cavae or femoral vein. Under CPB and aortic cross-clamping, cardioplegic arrest will be induced.

Myocardial protection: preparation and handling of the solutions

The cardioplegic solutions will be administered antegradely, at the root of the aorta or coronary ostia, as per specific indication.

All solutions will be prepared by the perfusionist, the professional responsible for conducting CPB, according to the standardised aseptic techniques routinised in the Cardiovascular Surgery Service, without any difference from what was habitually used before the beginning of the study since these solutions are already standardised and correctly employed at the institution.

Custodiol cardioplegia is a sterile prepackaged solution that does not require preparation since it comes ready for infusion. The composition of this solution may be observed in table 1.[8] This solution will be administered in a single dose of 25 mL/kg over 6–8 min at a temperature of 4°C–8°C with a perfusion pressure of 150–200 mm Hg and the possibility of an additional dose only after 3 hours of the first.

The del Nido and modified del Nido solutions will be manipulated at the Service moments before their administration, and either Plasma-Lyte A or the lactated Ringer's solution (modified del Nido) was used as the crystalloid base. The crystalloid:autologous blood ratio is 4:1. The composition made into a protocol at the Institution may also be observed in table 2. The solutions will be administered through a single dose of 20 mL/kg (maximum of 1000 mL for patients weighing over 50 kg), usually with a delivery temperature of 4°C, system pressure of 100–200 mm Hg, and an administration flow of 200–300 mL/min.[1] If necessary, additional doses will be infused after 90 min of the initial one.[1]

The nature of cardioplegic solutions del Nido and Custodiol is distinct in terms of their vehicles (blood and crystalloid, respectively) and electrolytic compositions (extracellular and intracellular, respectively), differing in the cardiac arrest mechanism (del Nido causes a depolarising arrest, while Custodiol causes a hyperpolarising arrest).

Table 1 Custodiol composition

Composition	
Sodium chloride	15.0 mmol/L
Potassium chloride	9.0 mmol/L
Magnesium chloride	4.0 mmol/L
Calcium chloride	0.015 mmol/L
Histidine	180.0 mmol/L
Tryptophan	2.0 mmol/L
Ketoglutarate	1.0 mmol/L
Mannitol	30.0 mmol/L
pH	7.02–7.20 at 25°C (77.0°F) 7.4–7.45 at 4°C (39.2°F) Osmolality: 310 mosmol/Kg

Outcomes

Primary outcome

The primary outcome will be to assess myocardial protection between cardioplegic solutions Custodiol, del Nido and modified del Nido using the serum levels of cardiac enzymes, including creatine kinase (CK), CK isoenzyme MB (CK-MB) and troponin in the immediate postoperative period as well as 12 hours and 24 hours after the CPB.

Secondary outcomes

The secondary outcomes include:

Table 2 Compositions of del Nido cardioplegia

del Nido cardioplegia (1:4)	
Composition	
Plasma-Lyte A or Lactated Ringer's solution	1000 mL
Sodium bicarbonate 1 mEq/mL	13 mL
Mannitol (20%)	16.3 mL
Magnesium sulfate (50%)	4 mL
Lidocaine (1%)	13 mL
Potassium chloride 2 mEq/mL	13 mL
Dose 20 mL/kg with a maximum dose of 1000 mL for patients weighing more than 50 Kg	

level. Anthropometric data include weight, height and body mass index. Clinical data include diseases, treatment information, medical history and medications at the time, as well as preoperative laboratory work, an echocardiogram and coronary angiography. Venous blood samples will be collected to measure the lipid profile, blood count, serum electrolyte levels (Na+, K+), blood gas analysis, C reactive protein, creatinine, urea and glucose.

Diabetes mellitus will be defined as a patient's self-report of a physician's diagnosis or use of hypoglycaemic agents or insulin. Three blood pressure measurements will be taken using a validated automatic device according to guidelines.[25] Hypertension will be defined as the average of the last two among three blood pressure measurements greater than 140/90 mm Hg, or the use of blood pressure-lowering medication.

The estimated surgical risk will be calculated before the randomisation by the EuroSCORE (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation), Society of Thoracic Surgery (STS) Score and Ambler, available online: http://www.euroscore.org; http://riskcalc.sts.org/stswebriskcalc/calculate and https://wwwthecalculatorco/health/Heart-Valve-Surgery-Risk-Calculator-1107html. Note: the STS Score allows calculating isolated surgeries for aortic and mitral valve replacement; combined surgery cannot be included in the STS, only in the Ambler.

Laboratory assessment

Arterial blood will be collected from patients to perform serum troponin and CK-MB tests, in addition to blood count, glucose, C reactive protein, lactate, and blood gas measurements, at four scheduled times: before anaesthesia induction, and 2 hours, 12 hours and 24 hours after the discontinuation of CPB.[9]

Laboratory measurements will be performed by the clinical diagnostic laboratory of the hospital, and the devices will be checked and calibrated as part of the daily laboratory practice. The laboratory staff will be unaware of the groups to which each patient is assigned.

Echocardiogram

The calculated LVEF and ventricular septal function will be assessed using transthoracic echocardiography at two different times: during enrolment and on the seventh postoperative day. The echocardiography exams will be performed by the hospital diagnostic service with standardised equipment and techniques for all patients.

Clinical outcomes

A predefined team of researchers will monitor clinical or surgical outcomes during the transoperative period and the ICU stay.

Other parameters of cross-clamp time, CPB time, the total volume of cardioplegia and number of doses, mechanical ventilation, haemodynamic parameters, transfusion of blood and blood products, the requirement for IABP support and the use of inotropes will be recorded.

Outcomes after surgical treatment defined before the analysis, including mortality, MI, stroke, the incidence of blood products transfusion, as well as prolonged ventilation (over 24 hours) and ICU stay, will be compared among groups. In addition, we will compare, among the groups, the proportion of patients experiencing postoperative new-onset AF or flutter requiring treatment, heart block and ventricular tachycardia or fibrillation requiring cardioversion or intravenous amiodarone.

MI will be diagnosed by increasing cardiac biomarkers in the presence of symptoms or ECG abnormalities suggestive of ischaemia.[26 27]

Strokes will be diagnosed by CT scanning and compatible clinical findings, besides medical record reviews.[28 29]

Deaths will be classified according to the Atherosclerosis Risk in Communities Study protocol.[26]

Data management

The data will be managed by study investigators using a predesigned data collection form and SPSS files V.26.0 (IBM) with double data entry.

Data checks will be performed regularly to ensure data quality. Patients will be identified by codes to ensure their anonymity, and only the authors involved in the trial will have access to their full identification details.

The total number of patients meeting the eligibility criteria of the study will be recorded, as well as the number of patients agreeing or not to participate in the study, the number of patients assigned to each branch of the study, the number of patients attending all sessions, the number of patients included in the final analysis and the number of withdrawals.

Statistical analysis

Quantitative variables will be described by means and SDs in cases of symmetrical distributions or by medians and IQRs in cases of asymmetric distributions. Qualitative variables will be described by the absolute and relative frequencies.

To compare means among groups, a one-way analysis of variance with Tukey's post hoc analysis will be applied. In case of asymmetry, the Kruskal-Wallis test complemented by the Dunn test shall be used. In order to compare proportions among groups, Pearson's χ^2 test complemented by the adjusted residual test shall be applied.

A generalised estimating equations model will be used to compare the parameters over the follow-up time among the groups, complemented by the Bonferroni test. A linear model will be used for variables with normal distribution and the gamma model for those with asymmetric distribution.

The significance level adopted will be 5%, and the data will be analysed using the SPSS V.26.0.

Safety and data monitoring

Although the natures of the del Nido and Custodiol cardioplegic solutions are different regarding their cardiac arrest mechanisms, both are associated with safe

single-dose administration and capable of preserving the myocardium for a prolonged period during ischaemia in CPB.[3 8 10]

The outcomes will be audited by the lead investigator every five interventions or earlier if serious adverse postoperative events are recorded.

Adverse events will be evaluated by the study investigators, who will decide to stop the study early if there is a clinically relevant increased risk.

All data will be evaluated by at least two authors independently, with quality control on data entry to verify amplitude and consistency. For quality control of the team's performance, 20% of the protocols will be randomly selected for review by the lead investigator.

ETHICS AND DISSEMINATION

Registered under no. 4.029.545, this study protocol and its related documents were approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Nossa Senhora da Conceição, which is accredited by the Office of Human Research Protections as an institutional review board. This study will be conducted following the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards. All participants will provide informed consent (online supplemental file 2). During the preclinical assessment, investigators will explain all study details. When it is not possible to obtain consent for whatever reason, the patient cannot be involved. It will be ensured to the volunteer the right not to participate, without this representing any prejudice to their care within the institution.

Any modifications that could impact the conduction of the study, such as changes to the objective, design, sample or significant administrative aspects, will require a formal request for amendment with the institutional research ethics committee.

Regarding privacy and confidentiality, the preservation of patient anonymity and the use of data obtained in the research only for the purpose of the project are guaranteed.

The findings of this study will be submitted to a peer-reviewed journal for publication and presented at relevant medical conferences.

Data availability statement

The datasets generated and used during this study are available from the corresponding author on reasonable request.

The technical appendix, statistical code and dataset may be available on the completion of the trial from the Dryad or a similar repository.

DISCUSSION

Potential impact and significance of the clinical trial

This project was developed through extensive bibliographic research on a subject of great importance in daily surgical practice. The interpretation of the results published in several studies enabled the development of this well-structured protocol.

Optimal myocardial protection during cardiac surgery is one of the main components of a successful procedure. Since the 1950s,[30 31] many strategies have continuously been developed to improve myocardial protection and prevent further ischaemic injury. Over the past few decades, there have been no standardised guidelines for using cardioplegic solutions, and prolonged-action or single-dose solutions seem closer than expected to an ideal solution.

Talwar *et al*[64] randomised 100 paediatric patients submitted to elective surgical correction of Fallot's tetralogy to receive cardioplegic solutions del Nido or Custodiol. The first was associated with the better preservation of the cardiac index, shorter mechanical ventilation time, shorter stay at the ICU and the hospital, better cardiac output, lower inotropic scores and lower release of troponin-I. Electronic microscopy evinced less myocardium oedema and better preservation of the myofibrillar architecture and glycogen storage in the group that received del Nido. In another clinical trial, Mehrabanian *et al*[62] randomised 40 patients to receive one of these cardioplegic solutions, concluding that both offer effective and similar cardioprotective properties during CPB in adults. The authors did not show any significant differences in CPB time, cross-clamp duration, urine output, chest tube drainage, duration of mechanical ventilation, ICU stay, mean arterial pressure, LVEF, use of blood products and inotropic support. Blood chemistry parameters and blood gas analysis revealed a similar trend between the groups except for sodium levels after cardioplegia and the end of CPB, potassium levels after cardioplegia, and bicarbonate anions at the end of the bypass, with lower results in the Custodiol group compared with the del Nido group.

In several studies, patients who received del Nido had lower ventricular fibrillation rates after aortic cross-clamp removals than those who received conventional blood cardioplegia,[4 9 12 33–35] in addition to lower CK-MB values,[34] lower glucose levels during CPB[35–37] or less use of postoperative intravenous insulin,[34] less need for transoperative inotropic support and lower troponin levels,[9] suggesting better myocardial protection with this solution.

The base solution for the del Nido cardioplegia is Plasma-Lyte A, which is unfortunately unavailable in many countries, precluding many cardiac centres from using del Nido cardioplegia with their typical base solution. Kantathut *et al*[17] published an observational study that evaluated myocardial preservation and clinical outcomes when using the lactated Ringer's solution as the base solution for the del Nido cardioplegia compared with the standard blood cardioplegia strategy (St. Thomas cardioplegia). The group that received the modified del Nido stayed at the ICU and the hospital for a shorter time, showing a lower use of inotropic support and a lower incidence of postoperative fibrillation or flutter. These results

Almeida AS, *et al*. *BMJ Open* 2021;**11**:e047942. doi:10.1136/bmjopen-2020-047942

make the lactated Ringer's solution seem like an excellent alternative to Plasma-Lyte A in the del Nido formulation for adult patient surgeries.

Hence, the del Nido cardioplegic solution seems highly efficient both for myocardial protection and regarding the economic aspects. However, extensive literature comparing its use with that of Custodiol does not exist, especially with the addition of the lactated Ringer's solution to its formulation. Therefore, it is necessary to conduct prospective and randomised studies to prove the hypothesis of the superiority of this cardioplegia over the others in terms of myocardial protection in adult patients.[1 12]

Clinical applicability

The results obtained in the proposed clinical trial may provide subsidies via publication to implement and insert clinical protocols in many institutions, increasing safety and reducing expenses. In addition, despite being performed in a single centre, the clinical practice of our hospital reflects the standard of practice in our country and may contribute to the international assessment of the cardioplegic solution with the best profile for reducing myocardial injury.

Twitter Adriana Silveira Almeida @adriana25504

Acknowledgements This study would not have been possible without the commitment and enthusiasm of all professionals and patients within the Cardiothoracic Surgery Division, surgical centre, intensive care unit and clinical laboratory at the Hospital Nossa Senhora da Conceição. Also, we thank the Board of the Hospital for providing the opportunity to carry out this project at the Institution, with clear individual, collective and institutional benefits, especially because it is one of the largest reference tertiary public hospitals in the country.

Contributors ASA, ROC, FA, LK, KBL, RSD, JR and RAWR contributed to the conceptualisation, study design, proposal development, methodology, validation, resources, writing-original draft, writing-review, editing and visualisation. ASA is also responsible for data curation and supervision. KBL and RSD are also involved in recruitment and data collection. EIW and ARR are involved in the clinical follow-up in the preoperative and postoperative period, as well as in requesting and reviewing tests necessary for research at this stage. All authors have read and approved the final version to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work.

Funding The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Competing interests None declared.

Patient consent for publication Not required.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Supplemental material This content has been supplied by the author(s). It has not been vetted by BMJ Publishing Group Limited (BMJ) and may not have been peer-reviewed. Any opinions or recommendations discussed are solely those of the author(s) and are not endorsed by BMJ. BMJ disclaims all liability and responsibility arising from any reliance placed on the content. Where the content includes any translated material, BMJ does not warrant the accuracy and reliability of the translations (including but not limited to local regulations, clinical guidelines, terminology, drug names and drug dosages), and is not responsible for any error and/or omissions arising from translation and adaptation or otherwise.

Open access This is an open access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited, appropriate credit is given, any changes made indicated, and the use is non-commercial. See: http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

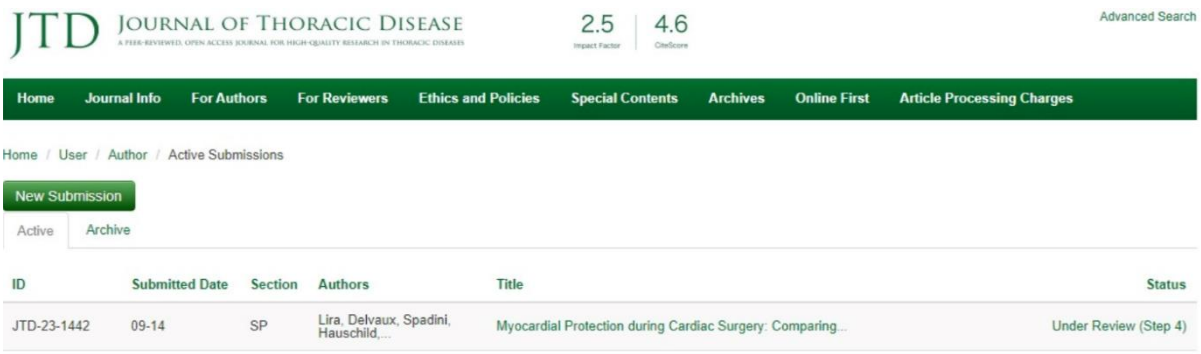
ORCID iDs
Adriana Silveira Almeida http://orcid.org/0000-0001-5639-9708
Rafael Oliveira Ceron http://orcid.org/0000-0002-3517-1526
Fernando Anschau http://orcid.org/0000-0002-2657-5406
Luciane Kopittke http://orcid.org/0000-0002-6606-7756
Kathize Betti Lira http://orcid.org/0000-0002-4479-3319
Renan Senandes Delvaux http://orcid.org/0000-0002-6368-5866
Juarez Rode http://orcid.org/0000-0002-8430-7514
Rafael Antônio Widholzer Rey http://orcid.org/0000-0002-3656-7573
Estefânia Inês Wittke http://orcid.org/0000-0002-2384-6186
Alfeu Roberto Rombaldi http://orcid.org/0000-0001-9377-9698

REFERENCES

1 Sanetra K, Pawlak I, Cisowski M. Del Nido cardioplegia - what is the current evidence? *Kardiochir Torakochirurgia Pol* 2018;15:114–8.
2 Vivacqua A, Robinson J, Abbas AE, *et al*. Single-dose cardioplegia protects myocardium as well as traditional repetitive dosing: a noninferiority randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2020;159:1857–63.
3 Siddiqi S, Blackstone EH, Bakaeen FG. Bretschneider and del NIDO solutions: are they safe for coronary artery bypass grafting? if so, how should we use them? *J Card Surg* 2018;33:229–34.
4 Buel ST, Striker CW, O'Brien JE. Del NIDO versus St. Thomas cardioplegia solutions: a single-center retrospective analysis of post Cross-Clamp defibrillation rates. *J Extra Corpor Technol* 2016;48:67–70.
5 Bretschneider HJ, Hübner G, Knoll D, *et al*. Myocardial resistance and tolerance to ischemia: physiological and biochemical basis. *J Cardiovasc Surg* 1975;16:241–60.
6 Groenewoud AF, Buchholz B, Gubernatis F, *et al*. First results of the multicenter study of HTK protection for kidney transplants. *Transplant Proc* 1990;22:2212.
7 Hölscher M, Groenewoud AF. Current status of the HTK solution of Bretschneider in organ preservation. *Transplant Proc* 1991;23:2334–7.
8 Edelman JJB, Seco M, Dunne B, *et al*. Custodiol for myocardial protection and preservation: a systematic review. *Ann Cardiothorac Surg* 2013;2:717–28.
9 Ad N, Holmes SD, Massimiano PS, *et al*. The use of del NIDO cardioplegia in adult cardiac surgery: a prospective randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2018;155:1011–8.
10 Matte GS, del Nido PJ. History and use of del Nido cardioplegia solution at Boston children's Hospital. *J Extra Corpor Technol* 2012;44:98–103.
11 Ota T, Yerebakan H, Neely RC, *et al*. Short-term outcomes in adult cardiac surgery in the use of del Nido cardioplegia solution. *Perfusion* 2016;31:27–33.
12 Guajardo Salinas GE, Nutt R, Rodriguez-Araujo G. Del NIDO cardioplegia in low risk adults undergoing first time coronary artery bypass surgery. *Perfusion* 2017;32:68–73.
13 Kim K, Ball C, Grady P, *et al*. Use of del Nido cardioplegia for adult cardiac surgery at the Cleveland clinic: perfusion implications. *J Extra Corpor Technol* 2014;46:317–23.
14 Mongero LB. Del Nido Cardioplegia-Not just kids stuff. *J Extra Corpor Technol* 2016;48:P25–8.
15 Najjar M, George I, Akashi H, *et al*. Feasibility and safety of continuous retrograde administration of del Nido cardioplegia: a case series. *J Cardiothorac Surg* 2015;10:176.
16 Yerebakan H, Sorabella RA, Najjar M, *et al*. Del Nido cardioplegia can be safely administered in high-risk coronary artery bypass grafting surgery after acute myocardial infarction: a propensity matched comparison. *J Cardiothorac Surg* 2014;9:141.
17 Kantathut N, Cherntanomwong P, Khajarern S, *et al*. Lactated Ringer's as a base solution for del NIDO cardioplegia. *J Extra Corpor Technol* 2019;51:153–9.
18 An KR, Rahman IA, Tam DY, *et al*. A systematic review and meta-analysis of del NIDO versus conventional cardioplegia in adult cardiac surgery. *Innovations* 2019;14:385–93.
19 Orak Y, Kocarslan A, Boran OF, *et al*. Comparison of the operative and postoperative effects of del Nido and blood cardioplegia solutions in cardiopulmonary bypass surgery. *Braz J Cardiovasc Surg* 2020;35:689–96.
20 Pérez-Andreu J, Fernández-Doblas J, Sao Avilés A, *et al*. Myocardial protection in the arterial switch operation: Custodiol versus cold blood cardioplegia. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2020;30:136–43.
21 George G, Varsha AV, Philip MA, *et al*. Myocardial protection in cardiac surgery: del Nido versus blood cardioplegia. *Ann Card Anaesth* 2020;23:477–84.

22 Chan A-W, Tetzlaff JM, Altman DG, *et al*. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. *Ann Intern Med* 2013;158:200–7.
23 Schulz KF, Altman DG, Moher D, *et al*. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Intern Med* 2010;152:726–32.
24 Talwar S, Chatterjee S, Sreenivas V, *et al*. Comparison of del Nido and histidine-tryptophan-ketoglutarate cardioplegia solutions in pediatric patients undergoing open heart surgery: A prospective randomized clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2019;157:1182–92.
25 Williams B, Mancia G, Spiering W, *et al*. 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J* 2018;39:3021–104.
26 The ARIC Investigators. The Atherosclerosis risk in communities (ARIC) study: design and objectives. The ARIC Investigators. *Am J Epidemiol* 1989;129:687–702.
27 Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, *et al*. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *J Am Coll Cardiol* 2018;72:2231–64.
28 Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, *et al*. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: 2019 update to the 2018 guidelines for the early management of acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American heart Association/American stroke association. *Stroke* 2019;50:e344–418. Erratum in: Stroke 2019;50(12):e440-e441.
29 Hemphill JC, Greenberg SM, Anderson CS, *et al*. Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American heart Association/American stroke association. *Stroke* 2015;46:2032–60.
30 Ferguson ZG, Yarborough DE, Jarvis BL, *et al*. Evidence-based medicine and myocardial protection--where is the evidence? *Perfusion* 2015;30:415–22.
31 Li Y, Lin H, Zhao Y, *et al*. Del NIDO cardioplegia for myocardial protection in adult cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis. *Asaio J* 2018;64:360–7.
32 Mehrabanian MJ, Dehghani Firoozabadi M, Ahmadi Tafti SH, *et al*. Clinical outcomes and electrolyte balance factors in complex cardiac operations in adults; del Nido® versus Custodiol® cardioplegia solutions: a randomized controlled clinical trial. *Iran Red Crescent Med J* 2018;20:e64648.
33 Kim JS, Jeong JH, Moon SJ, *et al*. Sufficient myocardial protection of del Nido cardioplegia regardless of ventricular mass and myocardial ischemic time in adult cardiac surgical patients. *J Thorac Dis* 2016;8:2004–10.
34 Vistarini N, Laliberté E, Beauchamp P, *et al*. Del Nido cardioplegia in the setting of minimally invasive aortic valve surgery. *Perfusion* 2017;32:112–7.
35 Misra S, Srinivasan A, Jena SS, *et al*. Myocardial protection in adult cardiac surgery with del NIDO versus blood cardioplegia: a systematic review and meta-analysis. *Heart Lung Circ* 2021;30:642–55.
36 Timek T, Willekes C, Hulme O, *et al*. Propensity matched analysis of del Nido cardioplegia in adult coronary artery bypass grafting: initial experience with 100 consecutive patients. *Ann Thorac Surg* 2016;101:2237–41.
37 Ziazadeh D, Mater R, Himelhoch B. Single-dose del Nido cardioplegia in minimally invasive aortic valve surgery. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2017;S1043-0679:30287–3.

ANEXO E – Publicação do Protocolo da Pesquisa 2 – JTD (*under review*)



Title: Myocardial Protection during Cardiac Surgery: Comparing Histological Effects of Custodiol, del Nido, and Modified del Nido Solutions – Study Protocol for a Secondary Analysis of the CARDIOPLEGIA Trial

Authors: Kathize Betti Lira[1,2], Renan Senandes Delvaux[1], Felipe Abatti Spadini[1,2], Luis Henrique Hauschild[1,2], Rafael Oliveira Ceron[1,3], Fernando Anschau[2,4], Luciane Kopittke[2,4], Juarez Rode[1,3], Rafael Antônio Widholzer Rey[1,3], Estefânia Inês Wittke[1,2,3], Alfeu Roberto Rombaldi[1,3], Eduardo Cambruzzi[5], Eron Rodrigues Cunha Lopes[5], Adriana Silveira Almeida[1,2,3,4].

Affiliation:

[1]Postgraduate Program in Cardiovascular Surgery, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 596 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

[2]Postgraduate Program in Technology Assessment for SUS (PPGATSUS/GHC), Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 326 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

[3]Cardiothoracic Surgery Division, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 596 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

[4]Health Technology Assessment Center (NATS), Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 326 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

[5]Department of Pathology, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Grupo Hospitalar Conceição, Av. Francisco Trein, 596 - Cristo Redentor, Porto Alegre - RS, Brazil, ZIP 91350-200.

Correspondence:

Kathize B. Lira: kathizelira91@gmail.com

Renan S. Delvaux: renan_delvaux@hotmail.com

Felipe A. Spadini: felipespadini@gmail.com

Luis H. Hauschild: lh.hauschild@gmail.com

Rafael O. Ceron: rafael_ceron2000@yahoo.com.br

Fernando Anschau: afernando@ghc.com.br

Luciane Kopittke: lucianekopittke@gmail.com

Juarez Rode: juarezrode@terra.com.br

Rafael A. W. Rey: rafawrey@gmail.com

Estefânia I. Wittke: wittkecardio@gmail.com

Alfeu R. Rombaldi: ar.rombaldi@gmail.com

Fernando Anschau: afernando@ghc.com.br

Luciane Kopittke: lucianekopittke@gmail.com

Eduardo Cambruzzi: ecambruzzi@unisinos.br

Eron R. C. Lopes: eron.patologia@gmail.com

Adriana S. Almeida: adrianasdealmeida@gmail.com

Corresponding Author: Adriana Silveira Almeida, Cardiovascular Surgery Department, Hospital Nossa Senhora da Conceição, 596 Francisco Trein Avenue, Porto Alegre, RS, Brazil, ZIP 91350-200. E-mail: adrianasdealmeida@gmail.com

Running title: CARDIOPLEGIA Trial: comparing histological effects.

Word Count: 2,333.

Number of figures, videos and tables: 3 tables, 2 figures.

Author Contributions

(I) Conception and design: All Authors

(II) Administrative support: ASA, ROC, FA, LK

(III) Provision of study materials or patients: ASA, ROC, JR, RAWR, EIW, ARR, EC, ERCL

(IV) Collection and assembly of data: KBL, RSD, FAS, LHH

(V) Data analysis and interpretation: All authors

(VI) Manuscript writing: All authors

(VII) Final approval of manuscript: All authors

Abstract

Background: Myocardial protection is extremely important for the success of cardiac surgery, as structural lesions of the heart muscle can occur during the surgical procedure shortly after aortic cross-clamping. Even if the loss of muscle contractility is not related to cell death, if hypoxia persists without adequate protection, it can trigger ATP consumption, with loss of microvilli and formation of blisters, with swelling and edema. In this context, Custodiol, del Nido, and modified del Nido are single-dose cardioplegic solutions with good safety profiles and great relevance in modern surgical practice. While all these solutions have been independently evaluated for their impact on patient outcomes, there is limited research comparing them directly. Thus, the present study aims to compare single-dose cardioplegic solutions in myocardial protection with histological analysis.

Methods: In a double-blind clinical trial, at least 90 patients will be randomized to receive del Nido, modified del Nido, or Custodiol. Myocardial biopsies will be collected before cardiopulmonary bypass and 15 minutes after reperfusion. The surgical, anesthetic and perfusion techniques will be the same for all patients, following the Institution's standard protocols.

Discussion: The ideal cardioplegic solution does not exist, and its selection remains a challenge for surgeons. In modern surgical practice, understanding the behavior of these solutions and the ischemic tissue damage caused during induced cardiac arrest allows for safer surgical procedures. The results of this clinical trial can help in understanding the behavior of cardioplegic solutions and their tissue effects. Thus, by selecting the best cardioplegic solution, ischemic damage can be minimized, enhancing the effectiveness of this essential technique in cardiac procedures. The study may aid in implementing clinical protocols in several institutions, aiming to choose the solution with a superior myocardial protection profile, increasing safety, and reducing expenses. Furthermore, despite being conducted at a single center, our hospital is a specialized reference center in the country, reflecting the

national standard of practice and it may contribute to standardized recommendations among healthcare institutions worldwide

Registration: Brazilian Clinical Trials Registry (ReBEC, http://ensaiosclinicos.gov.br/): RBR-997tqhh. Registered: January 26th, 2022.

Keywords: Cardioplegic solutions, Myocardial protection, Custodiol solution, Bretschneider cardioplegic solution, del Nido solution

1. Introduction

1.1 Background

Most cardiac surgeries require cardiopulmonary bypass (CPB) with induced cardiac arrest. In this context, myocardial protection with cardioplegia is essential, limiting the metabolic activity of the heart and enhancing the myocardium's ability to resist ischemia for prolonged periods of time, optimizing surgical outcomes.

1.2 Rationale and knowledge gap

The search for an ideal cardioplegic solution remains elusive. The need for postoperative hemodynamic support (inotropic, assistive devices, intra-aortic balloon pump) indicates that myocardial damage after cardiac surgery remains prevalent with the usual cardioplegic techniques and solutions. The literature does not clearly confirm the superiority of any method, and no studies directly compare solutions, especially long-term ones.

1.3 Objective

Therefore, this study is a secondary analysis of the Cardioplegia Trial and aims to compare the effects of Custodiol, del Nido, and modified del Nido solutions on myocardial protection, through histological examination for analysis of cellular structural changes, in patients undergoing elective cardiac surgery.

This manuscript is written following the Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials checklist (SPIRIT) (1), as shown in Figure 1. The approach of this study will be based on the guidelines of the Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) (2). This is an independently registered Cardioplegia Trial substudy (Brazilian Clinical Trials Registry - ReBEC, http://ensaiosclinicos.gov.br/: RBR-997tqhh).

2. Methods

Details of this trial have been previously reported (3). Methods relevant to this report are described below.

2.1 Study design

A double-blind, randomized clinical trial to compare the effects of long-term cardioplegia solutions (Custodiol®, del Nido, and modified Del Nido) on myocardial protection through myocardial cytological evaluation. The study flowchart can be seen in Figure 2.

2.2 Eligibility Criteria

The study site was chosen for convenience and the researchers previously selected eligibility criteria. All patients undergoing valve replacement surgery or myocardial revascularization with elective cardiopulmonary bypass at Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil, will be included. Patients with prior cardiac surgery, chronic renal failure (serum creatinine greater than 2.0 mg/dl), severe psychiatric illness, emergency surgeries, and multiple surgeries will be excluded from the study.

2.3 Surgical Technique

General anesthesia will be used for all patients. The surgical approach will be via median sternotomy. CPB will be used by arterial cannulation in the ascending aorta or femoral artery and double-stage venous cannulation in the right atrium or single-stage in the superior and inferior vena cava. Cardiac arrest due to cardioplegia will be performed in CPB and after aortic cross-clamping.

2.4 Cardioplegic solutions: preparation and administration

The perfusionist will prepare the solutions. Myocardial protection will be performed by infusing cardioplegic solution into the aortic root or coronary ostia anterogradingly, as specifically indicated.

Custodiol solution is sterile and does not require preparation for administration. The composition (Table 1) will be administered in a single-dose of 25mL/kg, in up to 6 to 8min, at a temperature of 4°C to 8°C, with infusion pressure of 150 to 200 mmHg and the possibility of an infusion of additional doses after 3 hours of the initial dose.

According to the routine, the del Nido and modified del Nido solutions will be handled in the Service, having as crystalloid base Plasma-Lyte or Ringer Lactate, respectively, and autologous blood in a ratio of 4:1 (Table 2). They will be administered at a dose of 20 mL/kg (maximum of 1,000 mL for patients weighing more than 50 kg), at a temperature of 4°C, with a system pressure of 100 to 200 mmHg, and administration flow of 200 to 300 mL/min. If necessary, additional doses may be infused after 90 minutes of the initial dose (4).

2.5 Tissue analysis: myocardial biopsy

During the surgical procedure, a biopsy of a myocardial fragment of the anterior wall of the right ventricle with a dermatological punch of 1 mm will be performed at two different times: 1) B1 (first biopsy): before the cardiopulmonary bypass (moment 1); and 2) B2 (second biopsy): 15 minutes after the opening of the aortic cross-clamping (moment 2), still in cardiopulmonary bypass. The biopsied material will be immediately placed in a vial with formaldehyde and sent to the hospital's Pathology Service for analysis under optical microscopy.

Inflammatory cells such as leukocytes (neutrophils, macrophages, and lymphocytes) and events such as margination, diapedesis, edema, and tissue necrosis will be analyzed. The analysis of the myocardial biopsy will be performed in the Pathology Laboratory of the hospital by two specialized pathologists, independently blinded to any and all interventions performed. The standardized scale of the International Society of Heart and Lung Transplantation 2005 (ISHLT 2005) (5,6) will be used to evaluate structural changes, according to Table 3.

2.6 Main outcome and participant timeline

The strength of this analysis is comparing the histological findings of myocardial tissue of patients undergoing elective CPB surgery using the cardioplegic solutions Custodiol, del Nido, and modified del Nido.

The schedule of enrollment, interventions, and evaluations is described in Figure 2. Recruitment of study participants began on January 26th, 2022.

2.7 Sample

Adult patients undergoing myocardial revascularization surgery or elective valve replacement in a tertiary referral hospital in Cardiovascular Surgery in southern Brazil, randomized to receive Del Nido solution, modified Del Nido, or Custodiol® during CPB. They will be monitored to evaluate the effectiveness of the treatment initially proposed.

The sample size calculation was performed for the Cardioplegia Trial using the G-Power software version 3.1.9.4, considering an effect f=0.466 on troponin levels, based on the study by Talwar et al (7). To maintain a significance level α=0.05 and power of 95%, it would be necessary to investigate 75 patients. Considering possible losses of up to 20% and maintenance of statistical power in the multivariate analysis, a minimum of 90 individuals will be selected for the study, with at least 30 randomized to each group.

2.8 Recruitment and allocation

Candidate patients for cardiac surgery will be identified when referred or from the surgical waiting list by a clinical member and approached by a team researcher about participation in the research. Eligible patients will be randomized to receive Custodiol, del Nido, or modified del Nido after consent and confirmation of eligibility criteria.

2.9 Randomization

Patients will be randomized in blocks to receive the solutions of Custodiol, del Nido or modified del Nido during CPB through the randomizer.org website. The numbers will be placed in opaque and individually sealed envelopes.

2.10 Blinding and adjudication of independent events

On the same day of surgery and before anesthetic induction, the perfusionist will receive the opaque and sealed envelope indicating the cardioplegic solution to be prepared and administered according to its particularities.

All participants will be blinded to the type of intervention. The surgical team will be blinded only for intervention with del Nido or modified del Nido since the Custodiol® infusion requires a different administration time and interval between doses than the del Nido solution.

All researchers involved in the adjudication process will remain blind to patient allocation as to the intervention type. The adjudicated data will be used in the final safety and efficacy analysis.

2.11 Data collection

Right ventricular myocardial biopsy collection, measuring approximately 1 mm in its largest diameter, in 2 moments: before the beginning of CPB and 15 minutes after opening the aortic cross-clamping.

2.12 Statistical Analysis

Quantitative variables will be described by mean and standard deviation, in cases of symmetric distribution, or median and interquartile amplitude, in cases of asymmetric distribution. Absolute and relative frequencies will describe qualitative variables. Pearson's chi-square test will be used to compare categorical variables. ANOVA will be used to compare continuous variables with normal distribution and Kruskal-Wallis for asymmetric continuous variables. The Shapiro-Wilk test will be used to evaluate the normality of continuous variables. A Generalized Estimating Equations (GEE) model will be used to compare parameters over the follow-up time between groups, complemented by the Bonferroni test. A linear model will be used for variables with normal distribution and the Gamma model for variables with the asymmetric distribution. The significance level adopted will be 5%, and the data will be analyzed with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 27.0.

The agreement among pathologists in myocardial assessment will be evaluated using the kappa statistics, calculated using WinPEPI version 11.65. The agreement strength was defined as light (0.00 to 0.20), fair (0.21 to 0.40), moderate (0.41 to 0.60), substantial (0.61 to 0.80), or near perfect (0.81 to 1.00) (8).

2.13 Safety and data monitoring

While the del Nido and Custodiol® cardioplegic solutions differ in terms of their mechanisms for inducing cardiac arrest, both exhibit the ability for safe administration in a single-dose. They are equally proficient in maintaining myocardial preservation over extended periods during ischemia within the context of cardiopulmonary bypass procedures (9-11).

The main investigator will conduct audits of the outcomes after every five interventions, or sooner in instances of documenting severe postoperative adverse events. The study investigators will assess adverse events and possess the authority to prematurely conclude the study if there is a noticeable and clinically significant rise in risk.

All collected data will undergo evaluation by at least two independent authors, with rigorous quality control measures implemented during data entry to ensure accuracy and coherence. To ensure the team's performance quality, the main investigator will randomly review 20% of the protocols for quality assessment.

2.14 Ethical Aspects and Dissemination

The authors are accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. The study will be conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (as revised in 2013). The study protocol and its related documents were approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Nossa Senhora da Conceição, registered under No. 4,029,545, and informed consent was obtained from all individual participants.

Any modification that may impact the conduct of the study, such as changes to the design, objective, sample, or significant administrative aspects, will require a formal amendment to the Institutional Research Ethics Committee.

Concerning the matters of privacy and confidentiality, it is assured that patient identities will remain anonymous, and the collected data will solely serve the research's intended objectives. The study's outcomes will undergo submission to a peer-reviewed journal for publication, alongside presentations at pertinent medical conferences.

2.15 Data availability statement

The datasets generated and used during this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

The technical appendix, statistical code, and dataset may be available upon the completion of the trial from the Dryad or a similar repository.

3. Discussion

Custodiol, del Nido, and modified del Nido are all cardioplegic solutions used for myocardial protection during cardiac surgery. A secondary analysis of the randomized controlled Cardioplegia Trial will compare the efficacy of these solutions in terms of histological analysis.

3.1 Potential impact and significance of the clinical trial

Although the nature of the cardioplegic solutions del Nido and Custodiol® is distinct, both are associated with safe administration in a single-dose and can preserve the myocardium for a long period during ischemia in the CPB (9-11). However, the mechanisms involved in this process are not yet completely known. The literature does not clearly confirm the superiority of any cardioplegic solution, and there are no direct comparison studies between long-term solutions.

In a clinical trial conducted by Talwar and colleagues (7), 100 pediatric patients undergoing elective tetralogy of Fallot surgery, between July 2017 and January 2018, were randomized to receive del Nido or Custodiol® cardioplegic solution. The group that received del Nido showed better preservation of cardiac index and output, lower inotropic scores, and release of troponin-I, shorter duration of mechanical ventilation, and stay in the intensive care unit and hospital. Electron microscopy showed less myocardial edema and better preservation of myofibrillar architecture and glycogen storage. Mehrabanian and colleagues (12) randomized 40 patients to receive one of these cardioplegic solutions, concluding that both also offer effective and comparable myocardial protection during cardiopulmonary bypass in adults.

The need for hemodynamic support in the postoperative period suggests that myocardial damage after cardiac surgery persists with the usual cardioplegias. Few studies have compared Cardioplegia Custodiol or del Nido with conventional blood (13-19), all showing the superiority of long-lasting ones, often without histological analysis.

The cardioplegia del Nido solution seems highly efficient, both in myocardial protection and economic aspects. However, there are few randomized trials in pediatric patients and even fewer in adult patients, most of which are retrospective, which makes their value limited (4,20). Therefore, it is necessary to conduct prospective and randomized studies to prove the hypothesis of viability or superiority of this cardioplegia over the others in terms of myocardial protection.

This is the first study directly comparing the three cardioplegic solutions regarding myocardial histological changes in patients during cardiac surgery. However, the main limitation of our research is the calculation of the sample size, performed for the Cardioplegia Trial, based on the evaluation of cardiac enzymes. This is a secondary main study analysis, so the sample number may be insufficient for rare findings. Despite being carried out in one center, our hospital’s clinical practice reflects our country’s practice pattern. It may contribute for the international assessment of the effectiveness of these therapies in current surgical practice.

3.2 Clinical applicability

The ideal cardioplegic solution does not exist, and its selection remains a challenge for surgeons. In modern surgical practice, understanding the behavior of these solutions and the ischemic tissue damage caused during induced cardiac arrest allows for safer surgical procedures. The results of this clinical trial can help in understanding the behavior of cardioplegic solutions and their tissue effects. Thus, by selecting the best cardioplegic solution, ischemic damage can be minimized, enhancing the effectiveness of this essential technique in cardiac procedures. The study may aid in implementing clinical protocols in several institutions, aiming to choose the solution with a superior myocardial protection profile, increasing safety, and reducing expenses. Furthermore, despite being conducted at a single center, our hospital is a specialized reference center in the country, reflecting the national standard of practice and it may contribute to standardized recommendations among healthcare institutions worldwide.

Acknowledgements

We thank Hospital Nossa Senhora da Conceição for supporting this research, as well as all colleagues and employees who helped to make this project happen.

Footnote

Reporting Checklist: The authors have completed the SPIRIT reporting checklist.

Conflict of Interest: All authors have completed the ICMJE uniform disclosure form. The authors have no conflicts of interest to declare.

Ethical Statement: The authors are accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. The study will be conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (as revised in 2013). The study was approved by the Research Ethics Committee of

the Hospital Nossa Senhora da Conceição, registered under No. 4,029,545, and informed consent was obtained from all individual participants.

References

1. Chan AW, Tetzlaff JM, Altman DG, et al. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. Ann Intern Med. 2013 Feb 5;158(3):200-7. doi: 10.7326/0003-4819-158-3-201302050-00583.

2. Schulz KF, Altman DG, Moher D; CONSORT Group. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. Ann Intern Med. 2010 Jun 1;152(11):726-32. doi: 10.7326/0003-4819-152-11-201006010-00232.

3. Almeida AS, Ceron RO, Anschau F, et al. Comparison between Custodiol, del Nido and modified del Nido in the myocardial protection - Cardioplegia Trial: a study protocol for a randomised, double-blind clinical trial. BMJ Open. 2021 Sep 6;11(9):e047942. doi: 10.1136/bmjopen-2020-047942.

4. Sanetra K, Pawlak I, Cisowski M. Del Nido cardioplegia - what is the current evidence? Kardiochir Torakochirurgia Pol 2018;15(2):114-118.

5. Stewart S, Winters GL, Fishbein MC, et al. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. J Heart Lung Transplant 2005;24(11):1710-20.

6. Neil DAH: Transplant Pathology. Cardiac Pathology: A Guide to Current Practice. Edited by Suvarna SK. London, Springer, 2013, pp. 245-70.

7. Talwar S, Chatterjee S, Sreenivas V, et al. Comparison of del Nido and histidine-tryptophan-ketoglutarate cardioplegia solutions in pediatric patients undergoing open heart surgery: A prospective randomized clinical trial. J Thorac Cardiovasc Surg 2019;157(3):1182-1192.e1.

8. Altman DG. Practical Statistics for Medical Research. London: Chapman & Hall, 1991, p.404.

9. Edelman JJB, Seco M, Dunne B, et al. Custodiol for myocardial protection and preservation: a systematic review. Ann Cardiothorac Surg 2013; 2(6): 717-728.

10. Matte GS, del Nido PJ. History and use of del Nido cardioplegia solution at Boston Children's Hospital. J Extra Corpor Technol 2012; 44: 98-103.

11. Siddiqi S, Blackstone EH, Bakaeen FG. Bretschneider and del Nido solutions: Are they safe for coronary artery bypass grafting? If so, how should we use them? J Card Surg 2018;33(5):229-234.

12. Mehrabanian MJ, Firoozabadi MD, Tafti SHA, et al. Clinical outcomes and electrolyte balance factors in complex cardiac operations in adults; del nido versus custodiol cardioplegia solutions: a randomized controlled clinical trial. Iran Red Crescent Med J 2018; 20(4):e64648.

13. Ad N, Holmes SD, Massimiano PS, et al. The use of del Nido cardioplegia in adult cardiac surgery: A prospective randomized trial. J Thorac Cardiovasc Surg 2018;155(3):1011-1018.

14. George G, Varsha AV, Philip MA, et al. Myocardial protection in cardiac surgery: Del Nido versus blood cardioplegia. Ann Card Anaesth 2020;23(4):477-484.

15. Ler A, Sazzad F, Ong GS, et al. Comparison of outcomes of the use of Del Nido and St. Thomas cardioplegia in adult and paediatric cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis. Perfusion 2020;35(8):724-735.

16. Misra S, Srinivasan A, Jena SS, et al. Myocardial Protection in Adult Cardiac Surgery With del Nido Versus Blood Cardioplegia: A Systematic Review and Meta-Analysis. Heart Lung Circ 2021;30(5):642-655.

17. Ali I, Hassan A, Shokri H, et al. Efficacy of Histidine-Tryptophan-Ketoglutarate Solution Versus Blood Cardioplegia in Cardiac Surgical Procedures: A Randomized Controlled | Parallel Group Study. Heart Surg Forum 2021;24(1):E170-E176.

18. Sen O, Aydin U, Kadirogullari E, et al. Custodiol versus Blood Cardioplegia: Comparison of Myocardial Immunohistochemical Analysis and Clinical Outcomes. Braz J Cardiovasc Surg 2022;37(5):680-687.

19. Albadrani M. Histidine-tryptophan-ketoglutarate solution versus multidose cardioplegia for myocardial protection in cardiac surgeries: a systematic review and meta-analysis. J Cardiothorac Surg 2022;17(1):133.

20. Guajardo Salinas GE, Nutt R, Rodriguez-Araujo G. Del Nido cardioplegia in low risk adults undergoing first time coronary artery bypass surgery. Perfusion 2017;32(1):68-73.

Figure Subtitles

Figure 1. Flowchart: CONSORT statement (2).

Figure 2. Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials (SPIRIT) checklist (1). Enrolment, Interventions, and Assessments.

Figure 3. Flowchart outlining the ISHLT 2005 classification as used in the study (6).

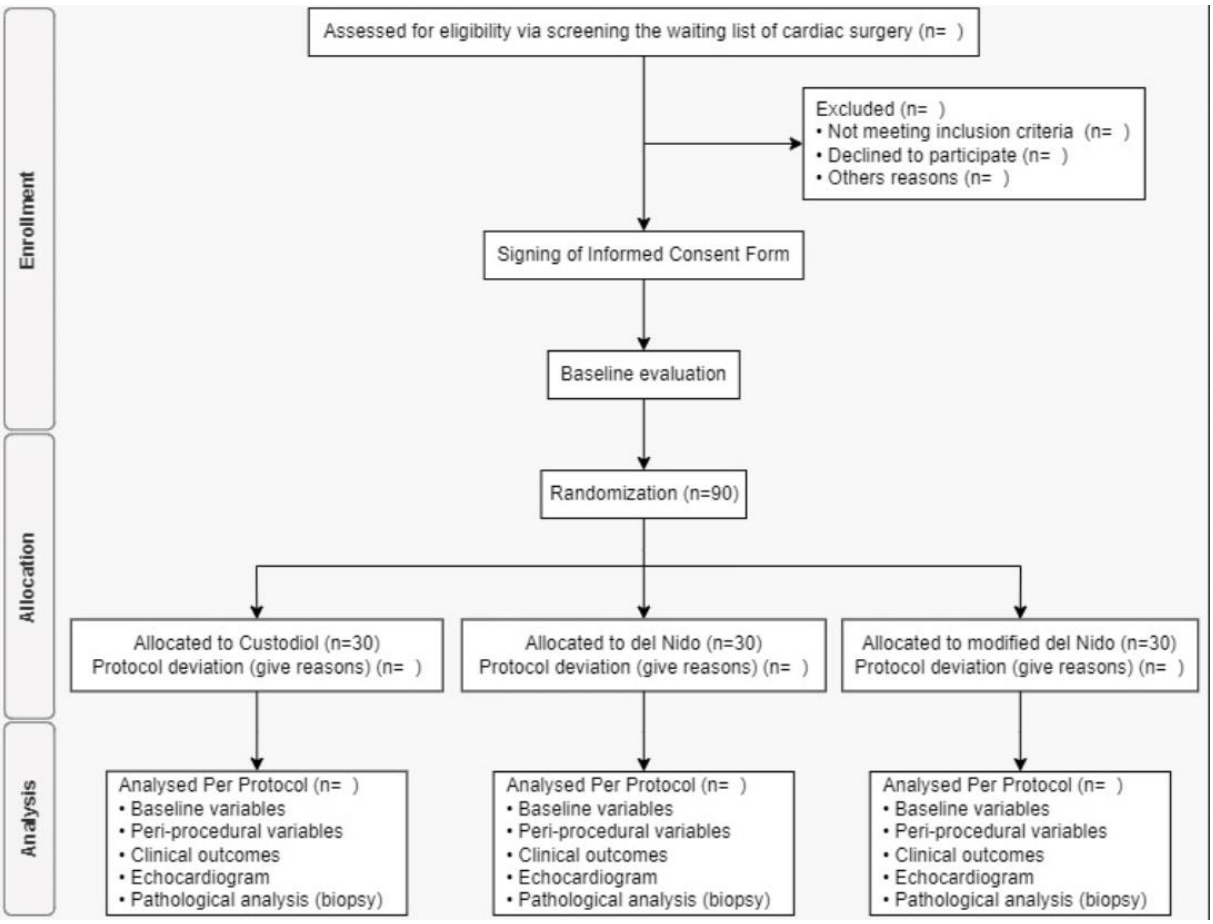


Figure 1. Flowchart: CONSORT statement (2).

	Study period					
	Enrollment	**Allocation**	**Post-allocation**			**Close-out**
Time point	Interviews	Following confirmation of elegibility to day of surgery	Day of surgery	0-24h Postoperative	Postoperative onwards until discharge	Discharge or 30 days after enrollment
Enrollment						
Eligibility screen	X					
Informed consent	X					
Demographic data	X					
Anthropometric data	X					
Clinical data	X					
Allocation (randomization)		X				
Interventions						
Custodiol®			X			
del Nido			X			
Modified del Nido			X			
Assessments						
Baseline variables		X	X			
Peri-procedure variables			X	X	X	
Clinical outcomes			X	X	X	X
Echocardiogram	X					X
Anatomopathological			X			

Figure 2. Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials (SPIRIT) checklist (1). Enrolment, Interventions, and Assessments.

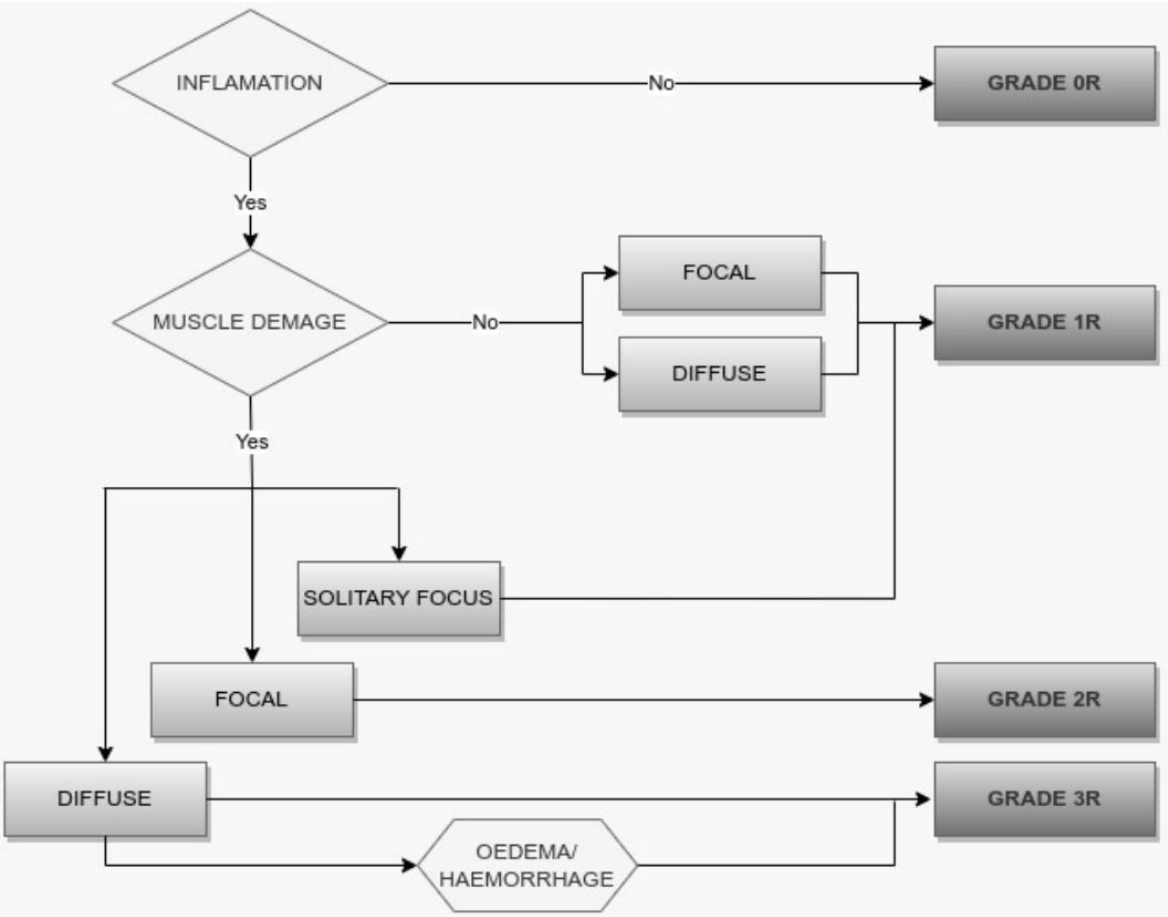


Figure 3. Flowchart outlining the ISHLT 2005 classification as used in the study (6).

Tables

Table 1. Custodiol® composition

Composition	
Sodium chloride	15.0 mmol/L
Potassium chloride	9.0 mmol/l
Magnesium chloride	4.0 mmol/L
Calcium chloride	0.015 mmol/L
Histidine	180.0 mmol/L
Tryptophan	2.0 mmol/L
Ketoglutarate	1.0 mmol/L
Mannitol	30.0 mmol/L
pH	7.02-7.20 at 25°C (77.0° F) 7.4 – 7.45 at 4°C (39.2° F) Osmolality: 310 mosmol/Kg

Table 2. Composition of del Nido cardioplegia

Composition	Volume (mL)
Plasma-Lyte A or Lactated Ringer's solution	1,000
Sodium bicarbonate 1 mEq/mL	13
Mannitol (20%)	16.3
Magnesium sulfate (50%)	4
Lidocaine (1%)	13
Potassium chloride 2 mEq/mL	13
Dose 20 mL/kg with a maximum dose of 1,000 mL for patients weighing more than 50 Kg	