

# Metabolismo miocárdico após cardioplegia sangüínea hipotérmica retrógrada contínua com indução anterógrada normotérmica

*Myocardial metabolism after hypothermic retrograde continuous blood cardioplegia with anterograde warm cardioplegic induction*

Claudio G. SOBROSA<sup>1</sup>, Eva JANSSON<sup>2</sup>, Lennart KAIJSER<sup>2</sup>, Vollmer BOMFIM<sup>1</sup>

RBCCV 44205-780

## Resumo

**Objetivo:** Determinar as alterações sofridas pelo miocárdio durante a cardioplegia sangüínea hipotérmica retrógrada contínua com a adição da indução cardioplégica anterógrada normotérmica.

**Método:** Análise metabólica da cardioplegia sangüínea hipotérmica retrógrada contínua com indução anterógrada normotérmica em estudo prospectivo de 15 pacientes consecutivos. Amostras de sangue arterial e do seio coronário foram simultaneamente colhidas para análise do conteúdo de oxigênio e da concentração de lactato. Quatro biópsias miocárdicas foram obtidas para análise dos níveis de ATP, ADP, AMP e lactato no miocárdio. A isoenzima CK-MB foi analisada no sangue venoso.

**Resultados:** Não houve mortalidade no grupo. Nenhum paciente necessitou de suporte inotrópico na saída de CEC e não foi detectado IAM per ou pós-operatório. Ocorreu diminuição da extração artério-venosa do lactato e do oxigênio pelo coração durante a reperfusão, havendo uma recuperação

parcial ao final de 60 minutos de reperfusão. Os níveis miocárdicos de ATP e de seus nucleotídeos foram mantidos durante o pinçamento aórtico, porém houve redução destes nos primeiros 30 minutos de reperfusão. O lactato acumulou-se no músculo cardíaco durante o pinçamento aórtico, havendo redução durante a reperfusão.

**Conclusões:** Concluímos por uma análise metabólica que o método não conseguiu evitar o metabolismo anaeróbico durante o período de pinçamento aórtico e que somente com 60 minutos de reperfusão foi observado um grau de recuperação metabólica satisfatória. Provavelmente essas alterações são devido à injúria isquêmica celular ocorrida durante o pinçamento aórtico e parecem ter efeito transitório. Observamos melhora da proteção miocárdica com o acréscimo da indução cardioplégica anterógrada normotérmica.

**Descritores:** Soluções cardioplégicas. Parada cardíaca induzida. Adenosina trifosfato. Ácido láctico.

Trabalho realizado no Hospital Universitário de Örebro, Suécia.  
1 - Departamento de Cirurgia Cardíaca Hospital Universitário de Örebro, Suécia.  
2 - Departamento de Fisiologia Clínica do Hospital de Huddinge, Suécia.

Endereço para correspondência: Dr. Claudio G. Sobrosa. Hospital Geral Dr. Beda. R. Conselheiro Otaviano 129, Centro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. CEP: 28010-140. Tel. (22) 2737-1500. Fax: (22) 2723-9690. E-mail: elsobrosa@hotmail.com

Artigo recebido em julho de 2005  
Artigo aprovado em outubro de 2005

#### **Abstract**

**Objective:** To determinate the alterations suffering by myocardium in the hypothermic retrograde continuous blood cardioplegia with antegrade warm cardioplegic induction.

**Method:** A metabolic analysis of hypothermic retrograde continuous blood cardioplegia with antegrade warm cardioplegic induction was performed in a prospective study of 15 patients scheduled for elective coronary artery bypass grafting. Arterial and coronary sinus blood samples were simultaneously taken: before establishing cardiopulmonary bypass, after antegrade warm cardioplegic induction, when the aortic clamp was removed and 10, 30 and 60 minutes after reperfusion to analyze the oxygen content and lactate concentration. Four transmural left ventricular biopsy samples were obtained: before aortic clamping, immediately after the initial cardioplegia bolus, immediately before aortic declamping and 30 minutes after reperfusion to analyze the levels of ATP, ADP, AMP and lactate in the myocardium. The CK-MB isoenzyme was analysed in venous blood samples.

**Results:** There were no mortalities in the group. Inotropic support was not necessary in any patients and no peri- or

post-operative myocardial infarction was detected. There was a decrease in the arterial-venous extraction of oxygen and lactate in the heart during reperfusion, a partial recovery occurred at 60 minutes of reperfusion. The levels of ATP and the other nucleotides in the myocardium were maintained during aortic clamping, but these levels decreased during the first 30 minutes of reperfusion. The lactate accumulated in the heart muscle during aortic clamping with a decrease occurring during reperfusion.

**Conclusions:** From a metabolic point of view the method could not avoid an anaerobic metabolism during cross-clamping and only after 60 minutes of reperfusion there was a satisfactory metabolic recovery. These alterations are probably a reflection of cellular ischemic injury that occurs during cross-clamping and they seem to be of transitory effect. A better myocardium protection was observed with the addition of antegrade warm induction cardioplegia.

**Descriptors:** Cardioplegic solutions. Heart arrest, induced. Adenosine triphosphate. Lactic acid

## INTRODUÇÃO

Apesar do grande desenvolvimento das técnicas cirúrgicas de revascularização miocárdica sem o uso da circulação extracorpórea, a proteção miocárdica não perdeu sua importância devido ao elevado número de casos em que ela é extremamente necessária. Portanto, as pesquisas com proteção miocárdica continuam sendo publicadas continuamente na literatura médica mundial. As vantagens da cardioplegia sangüínea estão bem estabelecidas [1,2] e têm sido responsáveis pela melhoria da mortalidade da cirurgia nos pacientes de alto risco [3]. Vários estudos mostraram melhores resultados clínicos com o uso de cardioplegia sangüínea contínua [4-7] e/ou a perfusão retrógrada através do seio coronariano [8,9]. O método de cardioplegia retrógrada é considerado superior nos pacientes com lesão importante do tronco da artéria coronária esquerda e nos pacientes submetidos a uma nova cirurgia de revascularização miocárdica (reoperação) [10,11]. Os trabalhos clínicos de proteção miocárdica raramente identificam diferenças significantes nos resultados [12,13], portanto, a importância dos trabalhos com análise metabólica, nos quais podemos verificar pequenas diferenças nos resultados.

O objetivo deste estudo é determinar as alterações sofridas pelo miocárdio, utilizando-se, como método de proteção miocárdica, a cardioplegia sangüínea hipotérmica retrógrada contínua com a adição da indução cardioplégica anterógrada normotérmica, no intuito de melhor preservar as reservas de ATP do miocárdio durante a fase de indução da assistolia, ou até restabelecer estas reservas se houver uma depleção preexistente [14,15].

## MÉTODOS

### **Grupo de pacientes**

Foram analisados 15 pacientes encaminhados, eletivamente, para a cirurgia de revascularização miocárdica e que aceitaram participar deste estudo (o estudo foi aprovado pela comissão de ética médica do hospital). Os critérios de inclusão no estudo foram: pacientes com doença coronária obstrutiva bi ou triarterial e fração de ejeção maior que 40%. Os critérios de exclusão foram: angina instável, diabéticos insulino-dependentes e cirurgias associadas (endarterectomia, aneurismectomia ventricular esquerda, troca de valva, etc.). Todos os pacientes foram operados pelo mesmo cirurgião (CGS).

### **Técnica operatória**

A conduta anestésica empregada foi a mesma para todos os pacientes. Após esternotomia mediana e dissecação da artéria torácica interna esquerda, os pacientes foram heparinizados, o pericárdio aberto e a aorta canulada com uma cânula arterial 22F (DLP®) e o átrio direito com uma cânula venosa de duplo estágio (DLP®). A máquina de circulação extracorpórea (CEC) era da marca Stöckert® e os oxigenadores de membrana eram da marca Dideco®. Foi usada hemodiluição (perfusato de 2000 ml de Ringer lactato) e hipotermia sistêmica com uma temperatura retal entre 28-30°C.

### **Proteção miocárdica**

Um cateter de cardioplegia retrógrada (DLP®) foi introduzido no seio coronário através de um orifício na parede do átrio direito. A pressão da cardioplegia retrógrada foi continuamente monitorizada e mantida abaixo de 50

mmHg. Um pequeno termômetro em forma de agulha foi introduzido no ápice do ventrículo esquerdo para monitorização contínua da temperatura miocárdica. Um isolador térmico especial foi usado entre o coração e o diafragma para proteção de possíveis lesões térmicas do nervo frênico e gelo pastoso foi colocado sobre o coração. Sangue oxigenado vindo do oxigenador em uma linha em "Y" foi misturado com uma solução de cloreto de potássio na proporção 4:1, dando uma concentração sangüínea de potássio de 20 mmol/L e um hematócrito de 22%. A dose de indução cardioplégica foi realizada com a infusão de 750 ml de cardioplegia sangüínea normotérmica (37°C) anterógrada através da cânula de cardioplegia anterógrada (DLP®) na raiz da aorta, seguida pela infusão de 500 ml de cardioplegia sangüínea fria, uma temperatura de 4-6°C, infundida no seio coronário, numa velocidade de 200-300 ml/min, a uma pressão abaixo de 50 mmHg. Após indução, a concentração de potássio da cardioplegia foi alterada para 10 mmol/L (proporção 8:1) e mantida a uma temperatura de 4-6°C, infundida continuamente no seio coronário, na velocidade de 50-75 ml/min, a uma pressão abaixo de 50 mmHg.

Quando necessário, foi usada uma irrigação de salina para facilitar as anastomoses distais, facilitando a visão das bordas das artérias, pois o sangramento contínuo através das artérias coronárias impedia, às vezes, a visibilização perfeita. O reaquecimento foi iniciado durante a última anastomose distal e as anastomoses proximais na aorta foram realizadas com a ajuda de uma pinça arterial colocada tangencialmente na aorta.

### Mensurações

Amostras de sangue arterial (a) e do seio coronário (sc) foram colhidas para análise do conteúdo de oxigênio e da concentração de lactato. As amostras foram simultaneamente colhidas: antes do início da CEC, ao término da indução anterógrada normotérmica, na abertura da aorta e com 10, 30 e 60 minutos de reperfusão (por problemas técnicos, a análise das amostras colhidas após a indução cardioplégica foi realizada em apenas oito pacientes). Com uma pistola especial (Biopty-Cut®), foram obtidas, do ápice do VE, quatro biópsias miocárdicas: (1) após instalação da CEC (mas antes do pinçamento aórtico), (2) imediatamente após o término da indução cardioplégica, (3) antes do despinçamento aórtico e (4) com 30 minutos de reperfusão. As biópsias foram congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e armazenadas à -80°C até a sua análise. No dia da análise, as biópsias foram limpas de gordura, sangue e tecido conectivo sob dissecação microscópica à temperatura (22°C) e umidade constante (30%) e extraídas em 0,5 M de ácido perclórico. O ácido foi removido e neutralizado com 2 M de  $\text{KHCO}_3$  e analisado por métodos de fluorometria enzimática para determinação das concentrações de trifosfato de

adenosina (ATP), difosfato de adenosina (ADP), monofosfato de adenosina (AMP), total de nucleotídeos da adenosina (TAN) definidos como (ATP+ADP+AMP) e lactato. Foi também calculada a relação ATP/ADP.

A isoenzima CK-MB foi analisada no sangue venoso em amostras retiradas antes da CEC e 1, 3, 6, 9 12 e 24 horas após o despinçamento aórtico. Um método de espectrometria de massa (IMx STAT CK-MB, Abbot laboratórios, Abbot Park, IL 60064, USA) que tem alta sensibilidade e sensibilidade diagnóstica foi utilizado para determinação da fração MB. As pressões invasivas de artéria radial, átrio direito e esquerdo, foram usadas para a monitorização hemodinâmica pós-operatória.

### Análise estatística

O teste do t-Student foi o método estatístico usado. Diferenças significativas foram definidas como probabilidade de  $p < 0,05$  para cada teste. Os valores são apresentados como a média dos desvios padrões.

## RESULTADOS

### Resultados clínicos

Dois pacientes foram eliminados do estudo devido ao deslocamento do cateter do seio coronário. A idade dos pacientes, sexo, fração de ejeção (FE), número de anastomoses periféricas, tempo de pinçamento aórtico e de CEC e tempo para obter-se assistolia estão relacionados na Tabela 1. Trinta por cento dos pacientes (quatro pacientes) tinham história de IAM prévio. Não houve mortalidade no grupo. Nenhum paciente necessitou de suporte inotrópico. Não houve nenhum IAM per ou pós-operatório (elevação enzimática acompanhada de aparecimento de onda Q em pelo menos duas derivações). Um paciente foi reoperado devido à instabilidade do esterno e evoluiu bem. Seis (46%) pacientes apresentaram fibrilação atrial durante a internação.

Tabela 1. Dados dos Pacientes  
(Média ± Desvio Padrão)

Número de pacientes	13
Homem/Mulher	11/2
Idade (anos)	63 ± 7,7
FE Pré-operatória (%)	71 ± 12,5
Anastomoses distais (N)	3,6 ± 0,7
Tempo de CEC (min)	100 ± 17,5
Tempo de pinçamento Ao (min)	53 ± 13,9
Tempo p/ obter assistolia (segundos)	52 ± 30

## Resultados metabólicos

### Metabolismo do lactato

Medidas seqüenciais do lactato miocárdico sangüíneo (arterial e do seio coronariano) colhidos antes da CEC, ao final da indução normotérmica, na abertura da aorta e 10, 30 e 60 minutos de reperfusão são mostradas na Figura 1 (valores negativos indicam produção de lactato). Antes da CEC, a diferença (a-sc) de lactato foi de +0,04 mmol/L. Ao final da indução cardioplégica normotérmica, este valor subiu para +0,09 mmol/L, porém estatisticamente não significante. No início da reperfusão, houve uma mudança para liberação de lactato de -0,22 mmol/L, que progressivamente aumentou para -0,79 mmol/L, aos 10 minutos de reperfusão e, ainda aos 30 minutos de reperfusão, havia produção de lactato de -0,25 mmol/L (todos valores estatisticamente significantes). Somente aos 60 minutos de reperfusão, a diferença artério-

venosa de lactato tinha retornado aos níveis iniciais (+0,03 mmol/L).

### Metabolismo do oxigênio

Medidas sangüíneas seqüenciais da diferença arterial-seio coronário (a-sc) do conteúdo de oxigênio feitos antes da CEC, ao término da indução cardioplégica normotérmica, na abertura da aorta e 10, 30 e 60 minutos de reperfusão são mostrados na Figura 2. A diferença a-sc de oxigênio antes da CEC foi de 108 ml/L. Ao final da indução cardioplégica normotérmica, este valor caiu para apenas 10 ml/L. Quando a aorta foi despinçada, havia uma extração de apenas 18 ml/L. Esta extração reduzida de O<sub>2</sub> aumentou para 84 ml/L aos 60 minutos de reperfusão, ainda reduzida em relação aos valores iniciais (todos os valores comparados com o controle são estatisticamente significantes).

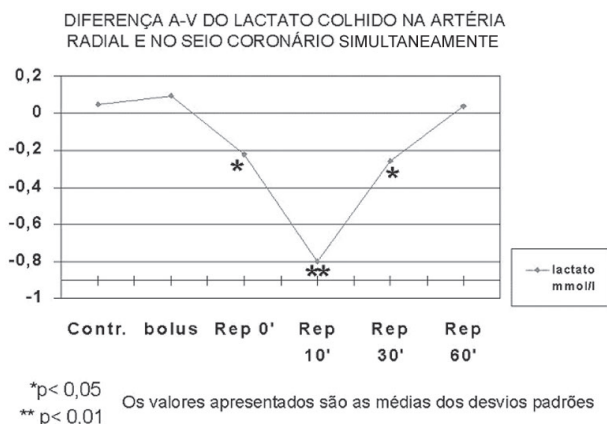


Fig. 1 - Diferença A-V do lactato colhido na artéria radial e no seio coronário simultaneamente

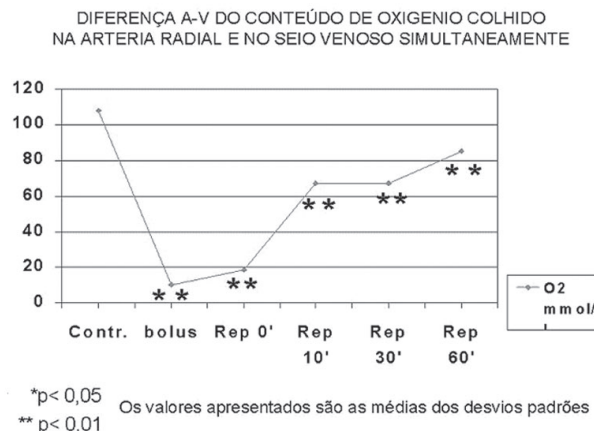


Fig. 2 - Diferença A-V do conteúdo de oxigênio colhido na artéria radial e no seio venoso simultaneamente

Tabela 2. Valores do ATP, ADP, AMP, TAN, ATP/ADP encontrado no miocárdio (biópsias).

	Controle	Ind.Card.	Antes rep	30' rep	N Válidos
ATP	22,59±5,1	20,17±5,9*	21,37±3,0	18,15±5,3**	13
ADP	2,48±0,29	2,75±0,64	3,30±0,89*	2,57±0,47	13
AMP	0,12±0,60	0,24±0,19	0,28±0,15*	0,17±0,14**	13
TAN	25,19±5,24	23,16±6,14*	24,96±3,21	20,90±5,31**	13
ATP/ADP	9,08±1,95	7,39±2,38**	6,86±1,91*	7,10±2,59*	13

ATP=Trifosfato de Adenosina, ADP= Difosfato de Adenosina, AMP= Monofosfato de Adenosina, TAN= total de nucleotídeos da adenosina, ATP/ADP= relação entre o ATP e ADP. Os valores são mg/g de músculo seco e apresentados como a média ± desvio padrão (\*p< 0,05 e \*\*p< 0,01 em relação ao controle)

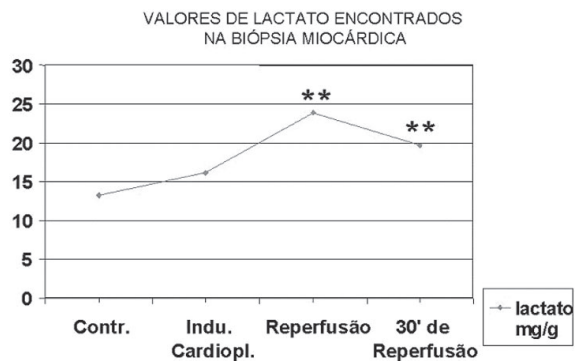
### Biópsias miocárdicas

A primeira biópsia miocárdica, realizada antes do pinçamento aórtico, mostra que o ATP no músculo cardíaco foi de 22,6 mg/g de músculo seco. As duas biópsias realizadas durante o pinçamento aórtico (logo após a indução cardioplégica e antes do despinçamento aórtico) mostraram níveis de 20,2 e 21,4 mg/g, respectivamente. Aos 30 minutos de reperfusão, houve uma diminuição para 18,1 mg/L. Nós também analisamos a relação ATP/ADP que é considerada um marcador da função metabólica celular. Os resultados são mostrados na Tabela 2.

O controle de lactato no miocárdio antes de CEC foi de 13,20 mg/g seca de músculo. As duas biópsias realizadas durante o pinçamento aórtico mostraram valores de 16,14 mg/g, logo após a indução cardioplégica e de 23,90 mg/g, antes do despinçamento aórtico ( $p < 0,01$ ). Aos 30 minutos de reperfusão, o nível de lactato no músculo havia diminuído para 19,67 mg/g, mas ainda com significância estatística em comparação com a biópsia de controle ( $p < 0,01$ ). Os resultados são mostrados na Figura 3.

### Níveis plasmáticos da enzima CK-MB

O pico de CK-MB ocorreu principalmente 6 horas após o despinçamento aórtico. Os resultados são mostrados na Tabela 3 e na Figura 4.

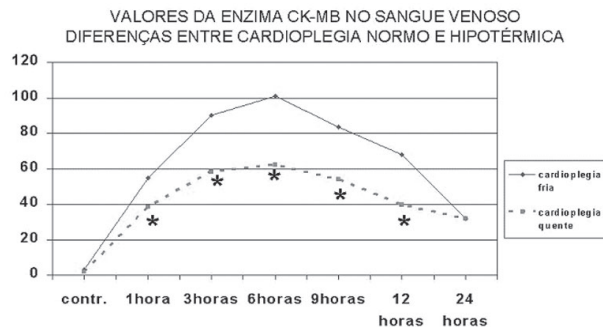


\* $p < 0,05$  Os valores apresentados são as médias dos desvios padrões  
 \*\* $p < 0,01$

Fig. 3 – Valores de lactato encontrados na biópsia miocárdica

Tabela 3. Valores plasmáticos da enzima CKMB (Média ± Desvio padrão).

Tempo (horas)	Pré CEC	1	3	6	9	12	24
CK- MB (mg/l)	1,9±0,7	38±11	58±25	61±21	54±24	39±29	31±24



Os valores apresentados são as médias dos desvios padrões

\* $p > 0,05$  em relação ao valores da cardioplegia hipotérmica

Fig. 4 – Valores da enzima CK-MB no sangue venoso. Diferenças entre cardioplegia normo e hipotérmica

### COMENTÁRIOS

Sob um ponto de vista clínico, os resultados obtidos neste estudo foram bons. Houve uma redução no tempo para obter-se assistolia com a introdução da indução normotérmica comparativamente com trabalho anterior [16]. Isto pode reduzir consideravelmente a perda de ATP durante o período para obter-se o término da atividade eletromecânica. Os resultados metabólicos foram muito semelhantes a um trabalho anterior [16] com o mesmo método de cardioplegia, porém sem a indução anterógrada normotérmica. Foi observada uma incidência alta de fibrilação atrial pós-operatória (46%).

### Metabolismo do lactato

Similarmente ao nosso estudo anterior [16], a diferença arterial-seio coronário de lactato antes da CEC mostrou uma extração normal do lactato. O miocárdio em condições aeróbicas normais usa o lactato na produção de energia (ATP) e o libera durante o metabolismo anaeróbico. O valor da diferença a-sc de lactato ao término da indução cardioplégica normotérmica foi positivo, sugerindo uma utilização do lactato como fonte de energia. Porém, o valor da diferença artério-venosa de  $O_2$  neste mesmo período foi irrisória, deixando-se a dúvida de como o miocárdio poderia utilizar lactato como fonte energética em condições praticamente anaeróbicas. Verificamos que, após o despinçamento aórtico, havia uma liberação de lactato. Isto pode ser derivado, tanto da produção anormal naquele momento, como de um acúmulo prévio durante o pinçamento aórtico. Ou até

de ambas hipóteses, indicando algum grau de metabolismo anaeróbico no início da reperfusão. Portanto, a cardioplegia sangüínea hipotérmica retrógrada contínua parece não ter liberado oxigênio suficiente para as células, provavelmente devido à baixa temperatura [17] ou devido à presença de regiões do coração não perfundidas satisfatoriamente pela cardioplegia retrógrada. O acúmulo progressivo do lactato no miocárdio, durante o tempo de pinçamento aórtico mostrado nas biópsias, reforça o indício da presença de metabolismo anaeróbico, pelo menos na região onde as biópsias foram realizadas. A produção de lactato continuou a aumentar durante os primeiros dez minutos de reperfusão. Este metabolismo anaeróbico na presença de uma provável liberação normal de oxigênio pode indicar a presença de uma disfunção temporária das células miocárdicas [18]. Somente aos 60 minutos de reperfusão cessou-se a produção de lactato.

#### **Extração de O<sub>2</sub>**

A extração miocárdica de oxigênio foi muito reduzida após a indução cardioplégica normotérmica e após o despinçamento aórtico. Esta extração aumentou progressivamente durante a reperfusão, embora após 60 minutos de reperfusão ainda fosse significativamente menor do que o controle pré-CEC. Isto pode reforçar a hipótese de uma diminuição da capacidade celular de utilizar o O<sub>2</sub> oferecido. Esta disfunção metabólica celular, de pelo menos um grupo de células, é provavelmente ao nível mitocondrial [4, 18-20].

#### **Reservas de ATP**

Em relação aos níveis dos nucleotídeos da adenina, houve uma preservação destes durante o pinçamento aórtico, provavelmente pelo baixo consumo com a assistolia [21]. Mas mesmo assim observa-se aumento dos níveis de ADP e AMP por degradação do ATP. Estes parâmetros metabólicos também indicam que houve um aumento na produção de ATP com 30 minutos de reperfusão, apesar dos seus níveis ainda permanecerem reduzidos. Portanto, apesar do início da recuperação metabólica, a produção aeróbica de ATP não é suficiente para manter os níveis de ATP. Este metabolismo celular inadequado durante a reperfusão poderia ser devido a alterações mitocondriais com incapacidade transitória de manter um metabolismo aeróbico normal. Também é possível que a depleção dos nucleotídeos da adenina com conseqüente perda dos precursores do ATP tenha retardado a regeneração do ATP miocárdio [14, 19, 22-25].

#### **CK-MB**

Os níveis pós-operatórios de CK-MB sérica observados neste grupo de pacientes (Figura 4) pode indicar uma função

celular temporariamente comprometida. A membrana celular é muito sensível à isquemia e, após períodos prolongados de anóxia, até moléculas relativamente grandes como as enzimas podem atravessar a membrana celular. Porém, comparando-se a curva da CK-MB sérica pós-operatória deste grupo com o grupo do nosso trabalho anterior [12] (Figura 4), em que não utilizamos a indução anterógrada normotérmica, verificamos uma importante redução dos níveis séricos pós-operatórios da CK-MB no grupo deste trabalho. Portanto, parece que a proteção miocárdica produzida pela cardioplegia sangüínea hipotérmica retrógrada contínua foi melhorada com o acréscimo da indução anterógrada normotérmica.

#### **CONCLUSÕES**

O método não conseguiu evitar o metabolismo miocárdico anaeróbico durante o tempo de pinçamento aórtico, apesar da cardioplegia ser sangüínea e contínua. Foram observadas alterações no metabolismo da célula miocárdica durante a primeira hora de reperfusão. As alterações no metabolismo celular são provavelmente transitórias, pois ocorre uma recuperação quase completa após 60 minutos de reperfusão.

Comparado com trabalho anterior [16], a adição da indução normotérmica reduziu o tempo para obter-se assistolia (Tabela 1), e houve uma importante redução dos níveis séricos pós-operatórios da CK-MB (Figura 4).

Os resultados clínicos obtidos foram bons e consideramos o método seguro e simples. Outros estudos metabólicos com diferentes temperaturas da cardioplegia e o uso de precursores do ATP são aconselháveis.

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem às enfermeiras Sras. Laila Östersjö, Jenny Larsson, Catharina Hjelm e Jane Strand, pela dedicação aos pacientes deste estudo, assim como aos anestesistas, perfusionistas e enfermeiras da UTI.

#### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Mentzer Jr RM, Jahania MS, Lasley RD. Myocardial protection. In: Cohn LH, Edmunds Jr LH, eds. Cardiac surgery in the adult. New York:McGraw-Hill, 2003:413-38.
2. Åmark K, Berggren H, Björk K, Ekroth A, Ekroth R, Nilsson K et al. Blood cardioplegia provides superior protection in infant cardiac surgery. Ann Thorac Surg. 2005;80(3):989-94.

3. Catinella FP, Cunningham JN, Adams PX, Snively SL, Gross RI, Spencer FC. Myocardial protection with cold blood potassium cardioplegia during prolonged aortic cross-clamping. *Ann Thorac Surg.* 1982;33(3):228-33.
4. Bomfim V, Kaijser L, Bendz R, Sylvén C, Morillo F, Olin C. Myocardial protection during aortic valve replacement: cardiac metabolism and enzyme release following continuous blood cardioplegia. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg.* 1981;15(2):141-7.
5. Khuri SF, Warner KG, Josa M, Butler M, Hayes A, Hanson R, Siouffi S et al. The superiority of continuous cold blood cardioplegia in the metabolic protection of the hypertrophied human heart. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1988;95(3):442-54.
6. Panos A, Christakis GT, Lichtenstein SV, Wittnich C, El-Dalati N, Salerno TA. Operation for acute postinfarction mitral insufficiency using continuous oxygenated blood cardioplegia. *Ann Thorac Surg.* 1989;48(6):816-9.
7. Louagie YA, Jamart J, Gonzalez M, Collard E, Broka S, Galanti L et al. Continuous cold blood cardioplegia improves myocardial protection: a prospective randomized study. *Ann Thorac Surg.* 2004;77(2):664-71.
8. Gundry SR, Kirsh MM. A comparison of retrograde cardioplegia versus anterograde cardioplegia in the presence of coronary artery obstruction. *Ann Thorac Surg.* 1984;38(2):124-7.
9. Partington MT, Acar C, Buckberg GD, Julia P, Kofsky ER, Bugyi HI. Studies of retrograde cardioplegia I. Capillary blood flow distribution to myocardium supplied by open and occluded arteries. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1989;97(4):605-12.
10. Bothe W. Retrograde administration. *Multimedia manual of cardiothoracic surgery.* (august 9, 2005) 809:711.
11. Borger MA, Rao V, Weisel RD, Floh AA, Cohen G, Feindel CM et al. Reoperative coronary bypass surgery: Effect of patent grafts and retrograde cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001;121(1):83-90.
12. Mallidi HR, Sever J, Tamariz M, Singh S, Hanayama N, Christakis GT et al. The short-term and long-term effects of warm or tepid cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;125(3):711-20.
13. Yau TM, Weisel RD, Mickle DA, Ivanov J, Mohabeer MK, Tumiati L et al. Optimal delivery of blood cardioplegia. *Circulation.* 1991;84(5 Suppl): III 380-8.
14. Rosenkranz ER, Vinten-Johansen J, Buckberg GD, Okamoto F, Edwards H, Bugyi H. Benefits of normothermic induction of blood cardioplegia in energy-depleted hearts, with maintenance of arrest by multidose cold blood cardioplegic infusions. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1982;84(5):667-77.
15. Hanafy HM, Allen BS, Winkelmann JW, Ham J, Osimani D, Hartz RS. Warm blood cardioplegic induction: an underused modality. *Ann Thorac Surg.* 1994;58(6):1589-94.
16. Sobrosa C G, Jansson E, Kaijser L, Bomfim V. Metabolismo miocárdico após cardioplegia sanguínea hipotérmica retrógrada contínua. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2000;15(3):219-26.
17. Magovern Jr GJ, Flaherty JT, Gott VL, Bulkley BH, Gardner TJ. Failure of blood cardioplegia to protect myocardium at lower temperatures. *Circulation.* 1982;66(2 pt 2):60-7.
18. Engelman RM, Rousou JH, Lemeshow S, Dobbs WA. The metabolic consequences of blood and crystalloid cardioplegia. *Circulation.* 1981;64(2 pt 2):II 67-74.
19. Rosenkranz ER, Okamoto F, Buckberg GD, Vinten-Johansen J, Allen BS, Leaf J et al. II- Biochemical studies: failure of tissue adenosine triphosphate levels to predict recovery of contractile function after controlled reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1986;92(3 pt 2):488-501.
20. Bomfim V. Continuous blood cardioplegia: a unique approach. In: Engelman RM, Levitsk S, eds. *A textbook of clinical cardioplegia.* New York: Futura;1982. p.265-76.
21. Rosenkranz ER, Okamoto F, Buckberg GD, Vinten-Johansen J, Robertson JM, Bugyi H. Safety of prolonged aortic clamping with blood cardioplegia. II- Glutamate enrichment in energy-depleted hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1984;88(3):402-10.
22. Ely SW, Mentzer RM Jr, Lasley RD, Lee BK, Berne RM. Functional and metabolic evidence of enhanced myocardial tolerance to ischemia and reperfusion with adenosine. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1985;90(4):549-56.
23. Bolling SF, Bies LE, Gallagher KP, Bove EL. Enhanced myocardial protection with adenosine. *Ann Thorac Surg.* 1989;47(6): 809 15.
24. Bolling SF, Bies LE, Bove EL, Gallagher KP. Augmenting intracellular adenosine improves myocardial recovery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1990;99(3):469 74.
25. Fiore AC, Naunheim KS, Kaiser GC, Willman VI, McBride LR, Pennington DG et al. Coronary sinus versus aortic root perfusion with blood cardioplegia in elective myocardial revascularization. *Ann Thorac Surg.* 1989;47(5):684-8.