

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Faculdade de Medicina**

**MAGNÉSIO ORAL EM ESCOLARES E ADOLESCENTES COM FIBROSE  
CÍSTICA: ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO, CONTROLADO  
COM PLACEBO E CRUZADO**

*CLÉSIO GONTIJO DO AMARAL*

**BELO HORIZONTE**

*2012*

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina**

**MAGNÉSIO ORAL EM ESCOLARES E ADOLESCENTES COM FIBROSE  
CÍSTICA: ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO, CONTROLADO  
COM PLACEBO E CRUZADO**

***CLÉSIO GONTIJO DO AMARAL***

*Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Doutor. Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.*

*Linha de pesquisa: Nutrologia.*

*Orientador: Prof. Dr. Paulo Augusto Moreira Camargos*

**BELO HORIZONTE**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**2012**

### Ficha catalográfica

A485m

Amaral, Clésio Gontijo

Magnésio oral em escolares e adolescentes com fibrose cística: estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado / Clésio Gontijo Amaral. - - 2011.  
133f., il.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Augusto Moreira Camargos

Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Área de Concentração: Saúde da Criança e do Adolescente. Linha de pesquisa: Nutrologia. – Belo Horizonte – MG.

1. Fibrose Cística. 2. Fibrose Cística/fisiopatologia. 3. Pulmão/fisiopatologia. 4. Magnésio. 5. Músculos Respiratórios/fisiopatologia. 6. Criança. 7. Adolescente. I. Camargos, Paulo Augusto Moreira, Orientador. II. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. III. Título.

NLM: WI 820  
CDU: 616.33

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Reitor: Prof. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup>. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Renato de Lima dos Santos

### **Faculdade de Medicina**

Diretor: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

### **Centro de Pós-Graduação**

Coordenador: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Subcoordenadora: Prof<sup>a</sup>. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Chefe do Departamento de Pediatria: Prof<sup>a</sup>. Benigna Maria de Oliveira

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Saúde da Criança e do Adolescente: Prof<sup>a</sup>. Ana Cristina Simões e Silva

Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Saúde da Criança e do Adolescente: Prof. Eduardo Araújo Oliveira

### **Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Saúde da Criança e do Adolescente**

Ana Cristina Simões e Silva

Cássio da Cunha Ibiapina

Eduardo Araújo de Oliveira

Francisco José Penna

Jorge Andrade Pinto

Ivani Novato Silva

Marcos José Burle de Aguiar

Maria Cândida Ferrarez Bouzada Viana

Michelle Ralil da Costa (Representante discente)



**FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640  
[cpg@medicina.ufmg.br](mailto:cpg@medicina.ufmg.br)



**DECLARAÇÃO**

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores: Paulo Augusto Moreira Camargos, Ricardo de Amorim Corrêa, Luciano Amédée Péret Filho, Antônio Fernando Ribeiro e Mônica Lisboa Chang Wayhs aprovou a tese de doutorado intitulada: **"MAGNÉSIO ORAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM FIBROSE CÍSTICA: ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO-CEGO, CONTROLADO COM PLACEBO E CRUZADO"** apresentada pelo Doutorando **CLÉSIO GONTIJO DO AMARAL** para obtenção do título de doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 28 de maio de 2012.

Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos

Prof. Ricardo de Amorim Corrêa

Prof. Luciano Amédée Péret Filho

Prof. Antônio Fernando Ribeiro

Prof. Mônica Lisboa Chang Wayhs



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640  
cpg@medicina.ufmg.br



ATA DA DEFESA DE TESE DE DOUTORADO de **CLÉSIO GONTIJO DO AMARAL** nº de registro 2008652640. Às dez horas, do dia **vinte e oito de maio de dois mil e doze**, reuniu-se na auditório do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital da Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, a Comissão Examinadora de tese indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **"MAGNÉSIO ORAL EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM FIBROSE CÍSTICA: ESTUDO RANDOMIZADO, DUPLO CEGO, CONTROLADO COM PLACEBO E CRUZADO"**, requisito final para a obtenção do Grau de Doutor em Ciências da Saúde: Saúde da Criança e do Adolescente, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Saúde da Criança e do Adolescente. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do trabalho final, passou a palavra ao candidato para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença do candidato e do público para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos - Orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovado</u>
Prof. Ricardo de Amorim Corrêa	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovado</u>
Prof. Luciano Amédée Péret Filho	Instituição: UFMG	Indicação: <u>aprovado</u>
Prof. Antônio Fernando Ribeiro	Instituição: UNICAMP	Indicação: <u>aprovado</u>
Profª. Mônica Lisboa Chang Wayhs	Instituição: UFSC	Indicação: <u>APROVADO</u>

Pelas indicações o candidato foi considerado \_\_\_\_\_

O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 28 de maio de 2012.

Prof. Paulo Augusto Moreira Camargos / Orientador Paulo Augusto Moreira Camargos

Prof. Ricardo de Amorim Corrêa Ricardo de Amorim Corrêa

Prof. Luciano Amédée Péret Filho Luciano Amédée Péret Filho

Prof. Antônio Fernando Ribeiro Antônio Fernando Ribeiro

Profª. Mônica Lisboa Chang Wayhs Mônica Lisboa Chang Wayhs

Profª. Ana Cristina Simões e Silva /Coordenadora Ana Cristina Simões e Silva

Profª. Ana Cristina Simões e Silva  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em  
Ciências da Saúde: Saúde da Criança e do Adolescente  
Faculdade de Medicina/UFMG

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.

## **DEDICATÓRIA**

*À Lilian, minha esposa,  
obrigado por seu amor, paciência e  
compreensão durante este trabalho.*

*Aos meus amados pais (Alice e Teófilo) que  
me forneceram a vida, amor e educação.*

*Aos meus irmãos, sobrinhos e familiares pelo  
companheirismo e incentivo.*

*Aos pais de minha esposa, José Cardoso e  
Neiva, pelo apoio e carinho.*

*Aos pais, às crianças e aos adolescentes que  
participaram e permitiram a realização deste  
estudo.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar-me e proteger-me, durante a realização deste estudo, não me deixando desistir nos momentos difíceis.

Ao orientador Prof. Dr. Paulo Augusto Moreira Camargos, pela orientação, dedicação, profissionalismo e pelos ensinamentos.

À Profa. Dra. Elizabet Vilar Guimarães por acreditar desde o início que o estudo poderia ter relevância, por sua orientação, dedicação e profissionalismo.

Às Fisioterapeutas Sandra Ribeiro Pires e Luciana Sampaio e à enfermeira Vanússia Maria de Lima pela dedicação e auxílio na realização das provas de manuvacuometria.

À Nutricionista Renata dos Santos Vieira pelo apoio na obtenção dos dados de avaliação nutricional.

Aos professores da Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da UFMG.

Aos residentes e equipe multidisciplinar de Fibrose Cística, pela ajuda no trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Análises Clínicas da UFMG, pelos exames realizados.

A Fernando H Pereira, pela competência no auxílio da análise estatística do trabalho.

Ao NUPAD – Núcleo de ações e pesquisa em apoio diagnóstico, pelo auxílio científico e financeiro.

À indústria farmacêutica ALBION, em especial ao Dr. José João Name, pelo fornecimento do magnésio.

À proprietária da AMPHORA de Belo Horizonte, farmacêutica Lívia Rebehy Queiroz e a todos os funcionários, em especial às farmacêuticas Elisabeth Maria Lopez de Prado e Karina de Sá pela manipulação do magnésio e do placebo.



*“A maioria dos seres humanos, são como folhas que caem das árvores, que voam e revolteiam pelo ar, vacilam e por último se precipitam no solo. Outros, ao contrário, quase são como estrelas; seguem seu caminho fixo, nenhum vento os alcança, pois levam em seu interior sua lei e sua meta.”*

*Sidharta Gautama.*

# *Resumo*

**Introdução:** O magnésio (Mg) é um dos íons mais importantes do corpo humano. Apesar de alguns estudos mostrarem que os pacientes com fibrose cística (FC) podem ter deficiência de Mg nenhum estudo avaliou o impacto da suplementação oral de Mg em crianças e adolescentes com FC. **Objetivos:** Avaliar prospectivamente a eficácia da suplementação oral de Mg na função pulmonar, força muscular respiratória e escore de Shwachman-Kulczycki (SK) em crianças e adolescentes com FC. **Metodologia:** Estudo duplo-cego, randomizado, controlado com placebo e cruzado. Foram incluídos 44 escolares e adolescentes com FC (idade, 7 a 19 anos, 20 masculinos) randomizados para receber Mg (n = 22, 300mg/dia) ou placebo (n = 22) durante 8 semanas com um período de intervalo de 4 semanas entre os dois períodos de suplementação. Todos os escolares e adolescentes foram submetidos ao tratamento convencional para a FC. O protocolo experimental incluiu a avaliação clínica pelo escore SK, a dosagem urinária de Mg, a manuvacuometria e a espirometria. O desfecho primário foi o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF 1) medido pela espirometria. O teste de normalidade foi realizado para todas as variáveis avaliadas. Como foi utilizado o desenho cruzado e os resultados não tiveram distribuição normal, o teste Wilcoxon foi utilizado. Em todos os testes estatísticos que foram utilizados, a diferença entre os grupos foi considerada significativa quando o p-valor do teste aplicado foi  $< 0,05$ . **Resultados:** Na avaliação espirométrica houve aumento estatisticamente significativo no VEF1, na capacidade vital forçada (CVF) e na relação VEF1/CVF somente no grupo que recebeu Mg (variação no VEF1: 4,17% previsto após Mg comparado com 0,72%, previsto após placebo,  $p = 0,002$ ; variação na CVF 3,9% previsto após Mg comparado com 0,27% previsto após placebo,  $p = 0,02$ ; variação na VEF1/CVF: 1,73% previsto após Mg comparado com -0,99% previsto após placebo,  $p = 0,002$ ). Houve melhora estatisticamente significativa das pressões respiratórias máximas (PI<sub>max</sub> e PE<sub>max</sub>) somente após a suplementação com Mg oral (variação no PI<sub>max</sub>: 11,02% previsto comparado com 0,45% previsto após placebo; variação no PE<sub>max</sub>: 11,93% previsto após Mg comparado com 0,79% previsto após placebo,  $p < 0,001$  para ambos). Além disso, os pacientes suplementados com magnésio apresentaram melhora significativa na avaliação clínica pelo escore SK (variação: 4,48 pontos após Mg comparado com -1,30 pontos após placebo,  $p < 0,001$ ). **Conclusões:** A suplementação oral de Mg melhorou os parâmetros espirométricos, manuvacuométricos e clínicos, avaliados pelo escore SK, nos escolares e adolescentes com FC avaliados.

**Palavras-chave:** Fibrose cística, magnésio, função pulmonar, nutrição, força muscular respiratória, criança.

# *Abstract*

**Background:** Magnesium (Mg) is one of the most important ions in the body. Although some studies report that patients with cystic fibrosis (CF) lack Mg, no international study has assessed the impact of oral Mg supplementation in CF patients. **Objective:** We prospectively investigated the long-term effect of oral Mg supplementation on lung function, respiratory muscle strength and Shwachman-Kulczycki's (SK) score of children and adolescents with CF. **Design:** This double-blind randomized placebo-controlled crossover study included 44 patients with CF (age, 7-19 years; 20 males) who were randomized to receive Mg (n=20, 300mg/day) or placebo (n=20) for 8 weeks with a 4-week washout period between trials. All were undergoing conventional treatment for CF. The experimental protocol included clinical evaluation with SK score, urinary dosage of Mg, manuvacuometry and spirometry. The primary outcome was the forced expiratory volume at first second (FEV1) measured with spirometry. The normality test was performed for all variables. As a crossover design was used and the results were not normally distributed, the Wilcoxon Signed Ranks test was used. In all statistical tests that were used, the difference between groups was significant when the p-value of the test was  $< 0.05$ . **Results:** In spirometry measurements FEV1, the forced vital capacity (FVC) and the FEV1/FVC ratio has augmented significantly in the Mg period only (change in FEV1: 4.17 % predicted after Mg versus 0.72 % predicted after placebo,  $p=0.002$ ; change in FVC: 3.9 % predicted after Mg versus 0.27 % predicted after placebo,  $p=0.02$ ; change in FEV1/FVC: 1.73 % predicted after Mg versus -0.99 % predicted after placebo,  $p=0.002$ ). In respiratory muscle strength measurements, the maximal inspiratory and expiratory pressures (MIP and MEP) significantly improved only after Mg (change in MIP: 11.02% predicted after Mg versus 0.45% predicted after placebo; change in MEP: 11.93% predicted after Mg versus 0.79% predicted after placebo;  $p < 0.001$  for both). Moreover, Mg administration had a beneficial effect on SK score (change: 4.48 points after Mg versus -1.30 points after placebo,  $p < 0.001$ ). **Conclusions:** Oral Mg supplementation helped improve lung function, respiratory muscle strength and SK score parameters in children and adolescents with CF evaluated.

**Key Words:** Cystic Fibrosis, magnesium, lung function, nutrition, respiratory muscle strength, children.

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	17
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	19
Referências.....	24
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	26
2.1 Magnésio.....	27
2.1.1 Magnésio no corpo humano.....	27
2.1.2 Química e bioquímica do magnésio.....	28
2.1.3 Fisiologia do magnésio.....	30
2.1.4 Ingestão de magnésio na dieta.....	33
2.1.5 Aspectos clínicos do magnésio.....	34
2.2 Magnésio na fibrose cística.....	35
2.2.1 Mecanismo de ação do magnésio na fibrose cística.....	35
Referências.....	43
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	49
3.1 Objetivo Primário.....	50
3.2 Objetivos Secundários.....	50
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	51
4.1 Local e época do estudo.....	52

4.2 Desenho do estudo.....	52
4.3 Critérios de elegibilidade.....	52
4.4 Variáveis.....	53
4.5 Hipótese.....	53
4.6 Tamanho da amostra.....	53
4.7 Randomização.....	54
4.8 Delineamento e procedimento do estudo.....	54
4.9 Instrumentos do estudo.....	57
4.9.1 Dosagem de magnésio urinário.....	57
4.9.2 Escore de Shwachman-Kulczycki.....	58
4.9.3 Avaliação antropométrica.....	59
4.9.4 Avaliação da força muscular respiratória.....	60
4.9.5 Avaliação da função pulmonar.....	62
4.10 Análise estatística.....	64
4.11 Aspectos éticos.....	65
Referências.....	66
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>67</b>
5.1 Oral magnesium supplementation in children with cystic fibrosis improves lung function parameters: A double-blind randomized placebo-controlled crossover trial.....	68

5.2 Oral magnesium supplementation in children with cystic fibrosis improves clinical and respiratory muscle strength parameters: A double-blind randomized placebo-controlled crossover trial.....	84
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>102</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>104</b>
<b>8 APÊNDICES E ANEXOS.....</b>	<b>107</b>
<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>108</b>
<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>110</b>
<b>APÊNDICE C.....</b>	<b>112</b>
<b>APÊNDICE D.....</b>	<b>113</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>133</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina difosfato
A	Altura
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ATP	Adenosina trifosfato
ATS	American Thoracic Society
CFTR	“Cystic fibrosis transmembrane regulator”
CVF	Capacidade vital forçada
AMPc	Adenosina monofosfato cíclica
DHA	Ácido docosahexanóico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPC	Desnutrição proteica calórica
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
ERS	European Respiratory Society
EPA	Ácido eicosapentanóico
FC	Fibrose cística
FEV1	Fluxo expiratório forçado no primeiro segundo
FEF25-75%	Fluxo Expiratório Forçado entre 25% e 75% da Capacidade Vital Forçada.
GEB	Gasto energético basal
GSH-Px	Glutathione peroxidase
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
IV	Intravenoso
MG	Magnésio
MEP	“Maximal expiratory pressure”
MIP	“Minimal expiratory pressure”
NADP	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato reduzido
NUPAD	Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico

P	Peso
PC	Placebo control
PC20	Concentração da metacolina que causa 20% de queda do parâmetro de função pulmonar utilizado.
PEmax	Pressão expiratória máxima
PFE	Pico de fluxo expiratório
PFP	Prova de função pulmonar
PG	Prostaglandina
PImax	Pressão inspiratória máxima
PUFAS	Ácidos Graxos Poliinsaturados
RDA	“Recommended Daily Allowances” - Cota diária recomendada
rhDNase	Dornase alfa recombinante humana
RNA	Ácido ribonucléico
SK	Shwachman-Kulczycki
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF	Fator de necrose tumoral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VEF1	Volume expiratório forçado no primeiro segundo
VFC	Capacidade vital forçada
WHO	“World Health Organization”



# *Apresentação*

---

---

O presente trabalho foi estruturado conforme as normas do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em Saúde da Criança e do Adolescente, da seguinte forma:

### **Parte I**

Introdução

Revisão da Literatura

Objetivos

Metodologia

### **Parte II**

Resultados e Discussão

Artigo 1: Oral magnesium supplementation in children with cystic fibrosis improves lung function parameters: A double-blind randomized placebo-controlled crossover trial.

Artigo 2: Oral magnesium supplementation in children with cystic fibrosis improves clinical and muscle strength parameters: A double-blind randomized placebo-controlled crossover trial.

### **Parte III**

Conclusões

Considerações Finais

Apêndices e Anexo

### **Nota de esclarecimento com relação aos artigos:**

Artigo 1: 40 escolares e adolescentes preencheram os critérios de inclusão, 4 escolares não conseguiram realizar as provas de função pulmonar devido à idade (7 a 8 anos).

Artigo 2: 44 escolares e adolescentes preencheram os critérios de inclusão, todos conseguiram realizar a manuvacuometria.

# *1 Introdução*

---

---

A Fibrose Cística (FC) é a doença letal, hereditária, autossômica recessiva mais comum na raça branca, que afeta o sistema glandular exócrino, sendo o sistema respiratório e o trato digestivo os mais afetados<sup>1</sup>. Tem como característica um defeito no transporte de eletrólitos através de membranas celulares epiteliais do organismo, resultando em secreções mucosas espessas e viscosas, que causam obstrução no nível de ductos e canalículos glandulares, com tríade clínica caracterizada por<sup>2</sup>: doença pulmonar obstrutiva supurativa crônica, insuficiência pancreática com má digestão e má absorção e níveis anormalmente elevados de eletrólitos no suor.

O defeito compromete a proteína “Cystic fibrosis transmembrane regulator” (CFTR), resultando em aumento da viscosidade das secreções glandulares e diminuição do clearance mucociliar<sup>3</sup>. A manifestação clínica da doença difere entre os pacientes, com variação no grau de comprometimento pulmonar e gastrointestinal, sendo o quadro respiratório registrado como causa mais comum de morte<sup>4</sup>. A deterioração pulmonar progressiva decorre da inflamação, retenção de muco, infecção crônica por *Stafilococcus aureus* e *Pseudomonas*, hiperreatividade brônquica, hiperinsuflação, instabilidade e obstrução das vias aéreas<sup>5</sup>. A antibioticoterapia ideal para o tratamento ainda não é consenso<sup>6</sup>, mas o controle da infecção pulmonar é parte importante do conjunto de cuidados, assim como o clearance da secreção brônquica, suplementação de enzimas com melhora da má-absorção e suporte nutricional<sup>3</sup>.

Segundo o Consenso Europeu de Nutrição, os pacientes com Fibrose Cística têm inúmeras deficiências nutricionais. Cabe destacar o déficit de vitaminas lipossolúveis A, D, E, K e hidrossolúveis C, B12; bem como, dos minerais: sódio, cloro, potássio, cálcio e magnésio. Com relação aos oligoelementos ocorre déficit principalmente de ferro, zinco, cobre, manganês, selênio e cromo<sup>7</sup>. Cada um destes nutrientes tem uma ação fisiológica e bioquímica importante para todos os seres vivos. Alguns destes nutrientes têm uma importante ação antioxidante como as vitaminas A, E, C, os beta carotenos, o selênio, manganês, cobre, zinco e magnésio<sup>7</sup>.

Dentre os minerais, o magnésio atua como co-fator em mais de 300 reações enzimáticas, incluindo aquelas envolvidas no sistema adenilato ciclase. O fato de ser indispensável para o metabolismo do ATP significa que ele é essencial para um grande número de processos metabólicos como a utilização de glicose, a síntese de gorduras, proteínas e ácidos nucléicos; a contração muscular e a transmissão neuromuscular. Nestes dois últimos casos atua juntamente com o cálcio<sup>8</sup>.

A deficiência de magnésio está relacionada a uma série de doenças no organismo, como a eclâmpsia, hipertensão arterial, arteriosclerose, cardiopatias, osteoporose, diabetes, alergias, DPOC e asma<sup>8</sup>. Nos últimos anos houve um crescente interesse no estudo do magnésio e sua importância na regulação da musculatura lisa brônquica e vascular pulmonares. Estes resultados têm levantado a possibilidade para a utilização deste mineral no tratamento de doenças pulmonares como a asma, alergias, DPOC e hipertensão pulmonar<sup>8</sup>.

O mecanismo de ação do magnésio na asma, por exemplo, ainda não está completamente esclarecido. A melhora imediata notada após administração de magnésio intravenoso aponta para um efeito broncodilatador. Isto pode ocorrer pela relação com o cálcio. O cálcio é importante para a contração da musculatura lisa brônquica e o magnésio promove o seu relaxamento. Assim, o magnésio compete com o cálcio na sua entrada para o interior da célula, e também promove inibição da liberação intracelular de cálcio pelo retículo endoplasmático<sup>8</sup>. Com a diminuição do cálcio e o aumento proporcional do magnésio intracelular ocorre o relaxamento da musculatura brônquica.

O magnésio é o segundo cátion mais abundante no meio intra-celular<sup>8</sup>. Ele é essencial para manter o potencial elétrico através da membrana celular e assim o tônus broncomotor. Ele inibe a contração vascular<sup>9</sup> e bronquial<sup>10</sup> da musculatura lisa “in vitro”, inibe a liberação de histamina dos mastócitos<sup>11</sup>, estimula a produção de prostaciclina<sup>12</sup> e óxido nítrico<sup>13</sup>. Assim, a deficiência de magnésio aumenta a concentração intracelular de cálcio, o grau de peroxidação lipídica e a secreção de histamina e citocinas inflamatórias (Interleucina 1 e 6)<sup>14</sup>. O magnésio também inibe a transmissão colinérgica<sup>15</sup>. Isto pode explicar porque a deficiência de magnésio intra-celular pode estar associada com a inflamação e hiperreatividade das vias aéreas.

Há evidência epidemiológica de que uma dieta pobre em magnésio, na população geral, está associada com piora da função pulmonar, hiperreatividade brônquica e aumento no risco de sibilância<sup>16</sup>. Estudos utilizando magnésio intravenoso<sup>17, 18</sup>, ou inalatório<sup>19, 20</sup> mostraram efeito benéfico no controle da asma aguda em adultos e crianças. Com relação ao uso do magnésio oral na asma, Hill J *et al.*<sup>21</sup>, em 1997, realizaram um estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado e cruzado com 17 asmáticos com idade entre 25 e 60 anos, submetidos a aumento do magnésio na dieta por período de 2 semanas. Eles verificaram que este aumento estava associado a uma melhora dos sintomas clínicos e redução do uso de broncodilatador. Em contrapartida, não houve melhora nas medidas de reatividade das vias aéreas. Os autores colocam

a possibilidade do tempo de reposição ter sido insuficiente para uma alteração na reatividade. Por outro lado, em 2003 Fogarty *et al.* mostraram que a suplementação de magnésio oral não teve efeito em adultos asmáticos<sup>22</sup>.

Em 2006 concluiu-se na Unicamp (Campinas - SP) um estudo duplo-cego, randomizado e controlado com placebo. Foram incluídos 37 escolares e adolescentes (7-19 anos de idade) com asma atópica persistente moderada e os autores concluíram que a suplementação oral de magnésio por 2 meses foi eficaz em melhorar clinicamente a asma moderada. Também houve uma melhor resposta ao teste cutâneo de hipersensibilidade imediata e ao teste de provocação brônquica com metacolina<sup>23</sup>.

Estudo realizado em 1991 mostrou que pode haver uma deficiência de Magnésio nos pacientes fibrocísticos<sup>24</sup>. Embora em estudo anterior, os autores não encontraram redução dos níveis séricos de magnésio nos pacientes com fibrose cística<sup>25</sup>. O magnésio é um íon intracelular e a correlação entre o nível sérico e o nível intracelular é pequeno. Provavelmente porque apenas 1% das reservas de magnésio corporal pode ser encontrada no sangue<sup>26</sup>. O tratamento dos pacientes com fibrose cística com alguns antibióticos como aminoglicosídeos levam a uma depleção das reservas de magnésio, contribuindo ainda mais para os distúrbios respiratórios<sup>27</sup>.

No manuseio de pacientes com fibrose cística, a inalação com rhDNase-I é usada para facilitar a remoção de muco dos pulmões. Entretanto, um importante grupo de pacientes com fibrose cística não se beneficiam com este tratamento. Assim, um estudo foi realizado por Sanders *et al.*, em 2006, para elucidar o motivo desta falta de resposta. Os autores verificaram que a ausência de resposta à inalação com rhDNase-I, por parte de alguns pacientes foi devido a baixa concentração de magnésio no escarro e que o aumento na concentração de magnésio no escarro por meio da suplementação oral pode ser uma estratégia promissora para os pacientes sem resposta à inalação com rhDNase<sup>28</sup>. Resultados semelhantes foram encontrados por Rosenecker em 2009<sup>29</sup>.

Embora o mecanismo de ação do magnésio na doença respiratória ainda não esteja completamente elucidado, o seu uso inalatório, intra-venoso ou oral tem se mostrado eficaz nas diferentes doenças pulmonares em vários estudos realizados, tanto em adultos como em crianças. Assim, considerando a fibrose cística uma importante doença nutricional com manifestações pulmonares e gastrointestinais, fica evidente a importância de tratamentos que melhorem o quadro nutricional e ao mesmo tempo sejam efetivos na melhora do quadro respiratório.

Nas últimas décadas houve um interesse cada vez mais crescente no estudo da bioquímica do magnésio, sua importância nutricional e participação potencial nas doenças humanas e particularmente na patogênese dos distúrbios pulmonares. Além disto, o magnésio é um mineral de baixo custo e não foram verificados efeitos colaterais mais graves, após a sua suplementação, nos diferentes estudos realizados. Embora existam estudos mostrando que os pacientes com Fibrose Cística têm deficiência de magnésio, existe uma escassez de estudos que avaliem a importância da suplementação oral de magnésio em pacientes fibrocísticos.

## REFERÊNCIAS

1. Staab D. Cystic fibrosis - therapeutic challenge in cystic fibrosis children. *Eur J Endocrinol*, 2004; 151(8): 77-80.
2. Hodson ME, Geddes DM. *Cystic Fibrosis*. London, Chapman & Hall, 1995.
3. Döring G, Cönway SP, Heijerman HGM. Antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a European consensus. *Eur Respir J* 2000; 16: 749-67.
4. Michell I, Nakielna E, Tullis E, Adair C. *Cystic Fibrosis*. *Chest* 2000; 118: 80-4.
5. Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, Goss CH, Mogayzel PJ, Willey-Courand DB, Bujan J, Finder J, Lester M, Quittell L et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: Chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 957-69.
6. Robinson P. *Cystic Fibrosis*. *Thorax*, 2001; 56: 237-41.
7. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood J, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG, Robberecht E, Döring G. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cyst Fibros*, 2002; 1(2):51-75.
8. Saris NEL, Mervaala E, Karppanen H, Khawaja JÁ, Lewenstam A. Magnesium: an update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clinica Chimica Acta* 2000; 294(1-2): 1-26.
9. Altura BM, Magnesium deficiency and hipertension: Correlation between magnesium deficient diets and microcirculatory changes in situ. *Science* 1984; 223: 1315-7.
10. Spivey WH, Skobelolf EM, Levin RM. Effect of magnesium chloride on rabbit bronchial smooth muscle. *Ann Emerg Med* 1990; 19: 1107-12.
11. Bois P. Effect of magnesium deficiency on mast cells and urinary histamine in rats. *B J Exp Path* 1963; 44: 151-5.
12. Nadler JL, Goodson S, Rude RK. Evidence that prostacyclin mediates the vascular action of magnesium in humans. *Hypertension* 1987; 9: 379-83.
13. Kemp PA, Gardiner SM, March JE, Bennett T, Rubin PC. Effects of N-nitro-l- arginine methyl ester on regional haemodynamic responses to MgSO<sub>4</sub> in conscious rats. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 325-31.
14. Weiglicki WB, Phillips TM. Pathobiology of magnesium deficiency: a cytokine/neurogenic inflammation hypothesis. *Am J Physiol* 1992; 263: 734-7.
15. Del Castillo J, Engback L. The mechanism of neuromuscular block produced by magnesium. *J. Physiol.* 1954; 124: 370-84.
16. Britton J, Pavord I, Richards K. Dietary magnesium, lung function, wheezing and airway hyperreactivity in a random adult population sample. *Lancet* 1994; 344: 357-62.



17. Ciarallo L, Sauer AH, Shannon MW. Intravenous magnesium therapy for moderate to severe pediatric asthma: results of a randomized, placebo-controlled trial. *J Pediatr* 1996 Dec; 129(6): 809-14.
18. Silverman RA, Osborn H, Runge J, Gallagher EJ, Chiang W, Feldman J, Gaeta T, Freeman K, Levin B, Mancherje N, Scharf S. IV magnesium sulfate in the treatment of acute severe asthma: a multicenter randomized controlled trial. *Chest* 2002 Aug; 122(2): 489-97.
19. Blitz M, Blitz S, Hughes R, Diner B, Beasley R, Knopp J, Rowe BH. Aerosolized magnesium sulfate for acute asthma: a systematic review. *Chest* 2005 Jul; 128(1): 337-44.
20. Lu XY, Zhou JY. Comparison of different vehicles for nebulized salbutamol in treatment of bronchial asthma exacerbations: a Meta-analysis. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2006 May; 35(3): 336-41.
21. Hill J, Micklewright A, Lewis S, Britton J. Investigation of the effect of short-term change in dietary magnesium intake in asthma. *Eur Respir J* 1997 Oct; 10(10): 2225-9.
22. Fogarty A, Lewis SA, Scrivener SL, Antoniak M, Pacey S, Pringle M, Britton J. Oral magnesium and vitamin C supplements in asthma: a parallel group randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2003 Oct; 33(10): 1355-9.
23. Gontijo-Amaral C, Ribeiro MAGO, Gontijo LSC, Condino-Neto A, Ribeiro JD. Oral magnesium supplementation in asthmatic children: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr*, 2007; 61: 54-60.
24. Foucard T, Gebre-Medhin M, Gustavson KH, Lindh U. Low concentrations of sodium and magnesium in erythrocytes from cystic fibrosis heterozygotes. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80(1): 57-61.
25. Kelleher J, Goode HF, Field HP, Walker BE, Miller MG, Littlewood JM. Essential element nutrition status in cystic fibrosis. *Hum Nutr Appl Nutr* 1986 Apr; 40(2): 79-84.
26. Arnaud JM. Update on the assessment of magnesium status. *Brit J Nutr* 2008; 99 (3): 24-36.
27. Von Vigier RO, Truttmann AC, Zindler-Schmocker K, Bettinelli A, Aebischer CC, Wermuth B, Bianchetti MG. Aminoglycosides and renal magnesium homeostasis in humans. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(6): 822-6.
28. Sanders NN, Franckx H, De Boeck K, Haustraete J, De Smedt SC, Demeester J. Role of magnesium in the failure of rDNase therapy in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 2006; 61(11): 962-6.
29. Rosenecker J, Naundorf S, Rudolph C. Airway surface liquid contains endogenous DNase activity which can be activated by exogenous magnesium. *Eur J Med Res* 2009; 14: 304-8.

## *2 Revisão da literatura*

---

---

## 2.1 Magnésio

### 2.1.1 O magnésio no corpo humano

O organismo humano contém de 21 a 28 g de magnésio, distribuídos de maneira bem desigual<sup>1</sup>. A concentração de magnésio é muito maior no líquido intracelular que no líquido extracelular. Após o potássio, é o segundo cátion em importância no líquido intracelular<sup>2</sup>.

A maior concentração de magnésio no organismo humano encontra-se no esqueleto, que contém cerca de 60% das reservas totais de magnésio. A massa muscular contém cerca de metade do restante do magnésio do organismo; nele, a concentração é, em condições normais, da ordem de 15 a 20 meq/Kg de peso seco (26%). O músculo liso é tão rico em magnésio como o músculo estriado. O teor de magnésio do líquido intracelular dos músculos tem um papel determinante na sua excitabilidade<sup>3</sup>.

Os glóbulos vermelhos contêm cerca de 5 meq/l de magnésio, equivalente a 1% das reservas totais, e por isto não é um bom parâmetro de medida do magnésio no organismo. O magnésio encontra-se no núcleo das células, e os glóbulos vermelhos não têm núcleo; isto explica por que os reticulócitos são mais ricos em magnésio que os glóbulos vermelhos mais velhos<sup>4</sup>.

Apesar da dosagem de magnésio sérica não mostrar a reserva corporal óssea, muscular e de outros tecidos, é normalmente utilizada na prática clínica para determinar a quantidade de magnésio no organismo. A concentração normal sérica de magnésio, reflexo do teor de magnésio do líquido extracelular, é de 1,8 a 2,8 meq/l<sup>5</sup>. O magnésio intracelular pode ser encontrado em todos os órgãos. Aqueles que mais o contêm são: o coração, o fígado, o pâncreas, o cérebro, os rins, o tubo digestivo, o baço e os pulmões<sup>4,6</sup>. A TABELA 1 mostra o teor do magnésio em diferentes órgãos do organismo.

**TABELA 1.** Teor de magnésio dos diferentes órgãos em estado natural em mg/Kg

<b>Órgãos</b>	<b>Teor de Magnésio (mg/Kg)</b>
Osso	1.000
Músculos	215
Rins	207
Coração	175
Baço	142
Cérebro	140
Testículos	95
Pulmões	74

Tabela extraída de Lederer<sup>4</sup>.

### 2.1.2 Química e bioquímica do magnésio

O magnésio é um dos principais cátions intracelulares, com uma concentração livre no citoplasma em torno de 0,5 mmol/l<sup>7,8,9,10</sup>. O cálcio livre no citoplasma é somente 1/10000 do íon correspondente extracelular, tradicionalmente chamado cálcio ionizado. Assim, o cálcio é um agente ideal para transdução de sinais rápidos e ativação celular. O magnésio, cujo gradiente na membrana plasmática é insignificante, e a concentração extracelular (magnésio ionizado) está em torno de 0,7 mmol/l, pode ter uma ação como elemento regulatório em longo prazo<sup>7,9,11</sup>.

Com o objetivo de entender o mecanismo de ação do magnésio, é importante estudar sua química e bioquímica. Diferente do cálcio, o magnésio é um íon menor que atrai moléculas de água mais avidamente. Assim, na prática o íon é grande<sup>9, 10,12</sup>. Suas 6 ligações coordenadas têm distâncias mais rígidas que as 6 a 8 ligações coordenadas do íon cálcio.

O magnésio liga-se a grupos de nitrogênios neutros como aminoácidos e grupos imidazólicos, além de se unir ao oxigênio em grupos ácidos. Por outro lado, o cálcio se liga ao oxigênio em ânions multidentados<sup>9</sup>. Como resultado, as ligações do magnésio às proteínas e outras moléculas são mais fracas que as ligações do cálcio. Assim, é mais difícil para o magnésio

alcançar as ligações mais profundamente situadas nas proteínas e passar pelos canais estreitos nas membranas biológicas<sup>13</sup>.

O magnésio é o co-fator de centenas de reações enzimáticas<sup>2,11,14,15</sup> e é especialmente importante para as enzimas que utilizam nucleotídeos como co-fator ou substrato. Como regra, não é o nucleotídeo livre, mas sua forma combinada ao magnésio, o real co-fator ou substrato. Isto é verdade para as fosfotransferases e hidrolases como ATPases, que são de importância central na bioquímica da célula, particularmente no metabolismo energético.

Em adição, o magnésio é requerido para a síntese de proteínas e ácidos nucléicos, para o ciclo celular, integridade do citoesqueleto e da mitocôndria e para a ligação de substâncias à membrana plasmática<sup>2, 15</sup>. O magnésio frequentemente modula o transporte iônico por bombas, carreadores e canais, e assim pode modular a transdução de sinais e as concentrações citoplasmáticas de cálcio e potássio<sup>10,15,16,17</sup>.

O magnésio intervém particularmente para ativar as enzimas que hidrolisam e transferem os fosfatos, particularmente as fosfatases, e, principalmente, aquelas que dizem respeito à adenosina trifosfato (ATP)<sup>2</sup>. O ATP é indispensável para a utilização da glicose, na síntese das gorduras, proteínas, ácidos nucléicos e coenzimas, na contração muscular, na transferência dos grupos metil, na ativação de sulfatos, acetatos e formatos. Isto quer dizer que o efeito ativador do magnésio se exerce em todas essas reações<sup>18</sup>.

Wacker em 1969<sup>19</sup> mostrou que o magnésio catalisa também as enzimas que utilizam o ATP ou que atuam na transferência de fosfatos. Como o ATP pode formar um complexo com o magnésio, Mc Intyre em 1963<sup>20</sup> sugeriu que esse complexo seria o substrato da enzima. Para Schroeder et al. (1969)<sup>21</sup>, o magnésio, que não forma complexos estáveis, seria a ponte em um grande número de relações químicas. Quando fosfatos orgânicos tomam parte numa reação, o magnésio seria habitualmente o co-fator inorgânico.

Carregado positivamente (Mg<sup>++</sup>) o magnésio é capaz de se ligar eletrostaticamente a grupos carregados negativamente nas membranas, proteínas e ácidos nucléicos. A ligação à membrana fosfolipídica pode modificar a conformação local e ter um efeito geral elétrico<sup>22</sup>.

O magnésio também deve influenciar a ligação de outros cátions como cálcio e poliaminas<sup>14</sup> que, dependendo de suas concentrações, deve ter efeito antagônico ou cooperativo. Geralmente, o magnésio tem um efeito protetor e estabilizador da membrana, que deve ser devido ao seu efeito elétrico<sup>22</sup> e inibição da fosfolipase A2<sup>14</sup>.

Em muitas reações bioquímicas o magnésio pode ser parcialmente, ou em alguns casos, completamente substituído por poliaminas, espermina, espermidina ou a diamina putrescina<sup>23</sup>. Assim, magnésio e poliaminas se ligam eficientemente a grupos carregados negativamente nas membranas, ácidos nucleicos e ribossomos<sup>24,25</sup>. Os dois tipos de cátions são envolvidos na síntese de DNA, RNA, e proteínas. Entretanto, uma questão não resolvida é: se o magnésio e poliaminas podem ter ações iguais ou similares, que tipo de cátion é atualmente operante na célula em uma condição fisiológica particular? Além do mais, o que determina a escolha da célula na alternativa particular realmente usada? Poliaminas com suas cargas separadas a distâncias fixas deve ser a espécie molecular preferida sempre e quando a complexidade estrutural da espécie interativa requer, como na estabilização do DNA. Há também evidência experimental de efeitos substitutivos. Assim, a deficiência de magnésio no rato, produz um aumento no conteúdo de espermidina no córtex cerebral<sup>26</sup>.

O magnésio tem um papel importante na estrutura de numerosas macromoléculas. Os estudos de Dove e Davidson (1962)<sup>27</sup> e Rodgers (1966)<sup>28</sup> mostram que a organização bem ordenada do DNA, RNA e dos ribossomos fica estabilizada graças à presença do magnésio.

### **2.1.3 Fisiologia do magnésio**

#### **A. Controle do magnésio livre citoplasmático**

O magnésio é importante para as funções normais neurológicas e musculares. A hipomagnesemia leva à hiperexcitabilidade em razão principalmente do transporte celular de cálcio<sup>2, 7, 8, 11</sup>.

Embora a concentração de magnésio livre na membrana plasmática seja pequena, ele influencia várias atividades celulares. Os principais fatores que afetam o magnésio livre no citoplasma são a concentração de nucleotídeo e a operação do sistema de transporte na membrana plasmática e mitocondrial. Especialmente importante é o ATP que se fixa ao magnésio com uma constante de associação em torno de 4<sup>9</sup>. Já a constante de associação do magnésio pelo ADP é em torno de 2. Assim, o magnésio livre no citoplasma, aumenta nas células que tem menos energia, ou seja, menos ATP<sup>8</sup>. Isto ocorre, por exemplo, na anóxia ou isquemia<sup>29</sup>. O mesmo ocorre com o magnésio livre na matriz mitocondrial<sup>30</sup>. Uma situação especial ocorre nos eritrócitos, onde a hemoglobina e o 2,3-bifosfogluconato são importantes tampões de magnésio. A influência do

magnésio livre e total sobre o estado de oxigenação da hemoglobina (magnésio livre aumenta a deoxigenação) foi descoberto recentemente por Raftos *et al.*<sup>31</sup>.

A passagem de magnésio para dentro da célula ocorre por difusão, a partir da maior concentração iônica livre no espaço extracelular<sup>7,8,10</sup>. Isto é promovido pelo potencial negativo da membrana na porção citoplasmática. Já a saída do magnésio de dentro da célula, ocorre contra o gradiente eletroquímico, envolvendo um gasto energético. Isto ocorre à custa do gradiente de sódio nos eritrócitos, hepatócitos, axônios e células ascíticas<sup>2,10,15,16</sup>. Estudo realizado por Flatman em 1991 mostra a possibilidade de um mecanismo neuroelétrico de  $2 \text{ Na}^+ / 1 \text{ Mg}^+$ , onde a energia utilizada seria somente às custas do gradiente de sódio. Inclusive nas células musculares lisas, ocorre o mesmo mecanismo<sup>32</sup>. Entretanto, há uma dependência de ATP, que tem sido relacionada à existência de um mecanismo de bomba do magnésio; podendo, também, estar envolvido a ligação ou fosforilação à proteínas. O magnésio também influencia a atividade de proteínas quinases, assim, a elevação de magnésio nos eritrócitos observada com a deoxigenação da hemoglobina, está associada com a fosforilação da banda 3 da tirosina<sup>33</sup>.

O transporte mitocondrial de magnésio também influencia o magnésio intracelular. O gradiente, na parte interna da membrana mitocondrial, é pequeno, mas, às custas de energia, ocorre o fluxo de magnésio da mitocôndria para o citosol. O mecanismo deste transporte não está claro. O magnésio livre na matriz mitocondrial também modifica com o estado metabólico: é reduzido pelo fosfato inorgânico e ATP e aumentado pela conversão do ATP em ADP<sup>30</sup>. O influxo é estimulado pelo fosfato inorgânico e inibido por potássio e quinina<sup>34</sup>. O magnésio livre na matriz mitocondrial regula a fosforilação oxidativa e afeta a troca  $\text{K}^+/\text{H}^+$  que controla o volume mitocondrial<sup>35</sup>. De especial importância é a inibição pelo magnésio da dilatação e desacoplamento da mitocôndria que eleva a concentração de cálcio até o seu limiar. Esta disfunção mitocondrial é causada pela abertura de um grande poro na parte interna da membrana, o que é chamado permeabilidade mitocondrial transitória<sup>36</sup>. A probabilidade da abertura do poro aumenta com o cálcio e diminui com o magnésio<sup>37</sup>. Esta é a maneira como o magnésio pode proteger a célula do efeito nocivo da abertura irreversível do poro, que ocorre em várias condições patológicas<sup>38, 39</sup>. Células tumorais têm um alto conteúdo de magnésio que inibe a permeabilidade transitória<sup>40</sup>.

A saída do magnésio da mitocôndria ocorre por um mecanismo separado<sup>16,30</sup>, possivelmente por antagonismo ao H<sup>+</sup> ou K<sup>+</sup><sup>41</sup>. Situações que aumentam o magnésio livre na matriz mitocondrial, como diminuição do ATP com troca pelo ADP, também estimula a saída<sup>30</sup>.

O retículo endoplasmático também está envolvido na captação do magnésio, que atua como antagonista do cálcio na bomba de cálcio, pelo menos em algumas situações<sup>16</sup>.

## B. Absorção intestinal do magnésio

O magnésio é absorvido principalmente ao nível do íleo e cólon<sup>8,14</sup>. A absorção principal ocorre por mecanismo paracelular passivo. Sua passagem para a serosa ocorre por mecanismo ativo<sup>6,42</sup>. O que dá suporte à teoria do transporte passivo é o encontro de uma relação linear entre a concentração de magnésio no lúmen e sua absorção, embora existam indícios de saturação; que, entretanto, pode se dever à fixação do magnésio e não ao seu transporte<sup>42</sup>.

Estudos mais recentes com vesículas das vilosidades intestinais, usando Mag-fura-2 confirmam o envolvimento de uma bomba de 2Na<sup>+</sup> / 1Mg<sup>+</sup> na absorção do magnésio pela membrana basolateral<sup>43</sup>. Entretanto, a dependência do sódio pode ser devido à atividade da Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> - 2Cl<sup>-</sup> que fornece o Cl<sup>-</sup> à Mg<sup>++</sup> - 2Cl<sup>-</sup> conjugada que é considerado o atual mecanismo de extrusão do magnésio<sup>44</sup>.

A absorção do magnésio no decorrer do dia é bastante variável e depende do ritmo alimentar, sendo mais importante após o almoço e à tarde<sup>4</sup>.

Alcock e Mc Intyre, em 1964<sup>45</sup>; mostraram que uma quantidade excessiva de cálcio reduz a absorção intestinal de magnésio. Segundo os autores, isto ocorre por um mecanismo de concorrência, pois a via metabólica seria a mesma para estes dois cátions.

## C. Excreção renal

O rim é o órgão mais importante na homeostase do magnésio contido no organismo. Aproximadamente 75% do total do magnésio plasmático é filtrado através da membrana glomerular. Contrário ao sódio e cálcio, somente 15% do filtrado é reabsorvido no túbulo proximal, a maior parte (50 a 60%) na porção ascendente da alça de henle<sup>7,8</sup>.

Em condições fisiológicas, somente 3 a 5% do magnésio filtrado é excretado na urina<sup>8</sup>. A reabsorção tubular ocorre pelo mecanismo passivo paracelular e transporte epitelial. Drogas como



os diuréticos, tiazídicos, cisplatina, gentamicina e ciclosporina causam a perda de magnésio na urina, pela inibição da reabsorção tubular<sup>7,8</sup>.

#### **D. Modulação hormonal do magnésio**

Apesar de estudos recentes com propostas para a existência de um controle hormonal específico na homeostase do magnésio<sup>46,47</sup>, os fatores endócrinos que controlam o magnésio plasmático ou urinário não estão completamente esclarecidos. Entre muitas extensas revisões sobre a homeostase do magnésio<sup>48</sup>, descrevem o magnésio como um íon órfão no organismo, pela aparente ausência de controle endócrino específico similar ao existente para o cálcio, sódio e potássio. A disponibilidade celular do magnésio é regulada pelo rim, trato gastro-intestinal e osso. O rim é o principal órgão na regulação do magnésio corporal. Muitos hormônios, incluindo o paratormônio, calcitonina, vitamina D, insulina, glucagon, hormônio antidiurético, aldosterona e hormônios sexuais foram citados por alguns pesquisadores como tendo uma ação no balanço do magnésio no organismo<sup>47,48</sup>, não afastando a possibilidade que estes hormônios não sejam os reguladores primários da homeostase do magnésio.

Em muitos tecidos, hormônios afetam o conteúdo celular de magnésio, pela modulação da saída de magnésio que é dependente de energia. Este processo pode ser influenciado por hormônios via mensageiros intracelulares, frequentemente o cálcio livre citoplasmático ou o cAMP<sup>49</sup>. Agonistas  $\alpha$ 1 adrenérgico como fenilefrina e  $\beta$  adrenérgico como norepinefrina ou isoproterenol estimulam a saída de magnésio em células cardíacas e hepáticas<sup>16</sup>.

Mc Coy & Kenny<sup>50</sup>, em 1996, mostraram que há interação entre a vitamina D e o magnésio, interferindo positivamente no sistema imunológico.

#### **2.1.4 Ingestão de magnésio da dieta**

As fontes mais ricas de magnésio na dieta são: sementes inteiras, cereais integrais, vegetais de folhas verdes, legumes e nozes. O magnésio que está presente em alimentos não processados é quase completamente perdido no processamento dos alimentos<sup>51</sup>.

Fitatos, álcool ou um excesso de fosfato e cálcio diminuem a absorção de magnésio, presumivelmente pela diminuição relativa na concentração luminal de magnésio. Carne, peixe, leite e frutas são geralmente pobres em magnésio<sup>51</sup>.

A quantidade de magnésio diária que deve ser ingerida (RDA) é de 350 mg/ dia para adultos masculinos e 280 mg/ dia para adultos femininos (Food and Nutrition Board, 1989)<sup>52</sup>. Este valor aumenta com a lactação (355 mg/dia). O leite humano contém 30 a 40 mg/l de magnésio que é suficiente para o recém-nascido.

Há evidências de que a ingestão diária de magnésio diminuiu desde o início deste século, quando era estimado em torno de 475 a 500 mg<sup>53</sup>. Serviços de investigação epidemiológica em dieta mostram que a média de ingestão diária atual de magnésio em países ocidentais está abaixo da RDA < 300 a 350 mg<sup>54</sup>.

Morgan e Stampley<sup>55</sup> mediram a ingestão de magnésio e cálcio nas mulheres, comparando os dados do “US Department of Agriculture’s” de 1977 a 1978 com o “Nationwide Food Consumption Survey” e o “Continuing Survey of Food Intake by individuals” de 1985. Os resultados mostraram que a ingestão de cálcio aumentou significativamente de 1978 para 1985, enquanto a ingestão de magnésio diminuiu neste mesmo período.

### **2.1.5 Aspectos clínicos do magnésio**

O magnésio tem um importante papel na modulação das funções de transporte e receptores, transdução de sinais, atividades enzimáticas, metabolismo energético, síntese de ácidos nucléicos e proteínas, bem como proteção das membranas biológicas. Assim, uma dieta deficiente em magnésio tem uma importante ação na patogênese e no agravamento de muitas enfermidades. Entre estas enfermidades destaca-se a doença cardíaca isquêmica, insuficiência cardíaca congestiva, arritmias cardíacas, morte súbita, complicações vasculares do *diabetes mellitus*, eclâmpsia e pré-eclâmpsia, hipertensão arterial, aterosclerose, alergias, hipertensão pulmonar e asma<sup>56,57,58,59,60</sup>. Além disto, muitos estudos demonstram o efeito benéfico da suplementação do magnésio no tratamento de doenças como o acidente vascular cerebral<sup>61</sup>, eclâmpsia<sup>62</sup>, osteoporose<sup>63</sup>, enxaquecas<sup>64</sup>, desordens do sistema imunológico<sup>50</sup> e asma brônquica<sup>65,66,67</sup>.

## 2.2 Magnésio na fibrose cística

Muitos fatores podem ser responsáveis pela deficiência de magnésio em pacientes com fibrose cística. Primeiro, inquéritos alimentares atuais mostram que a ingestão de Mg média nos países ocidentais, é muitas vezes aquém das recomendadas pela RDA (280 e 350 mg / dia para adultos do sexo feminino e masculino, respectivamente)<sup>52</sup>. Segundo, a má absorção gastrointestinal, um sintoma comum da fibrose cística, pode causar hipomagnesemia<sup>68</sup>. Terceiro, certos antibióticos e agentes quimioterápicos usados por pacientes com fibrose cística também podem induzir a hipomagnesemia<sup>69</sup>.

Estudos realizados em pacientes com fibrose cística evidenciaram esta deficiência de magnésio<sup>70,71</sup>, embora um estudo anterior não encontrasse qualquer redução nas concentrações de Mg sérico nestes pacientes<sup>72</sup>. O magnésio é um íon intracelular e a correlação entre o nível sérico e o nível intracelular é pequeno. Provavelmente porque apenas 1% das reservas de magnésio corporal pode ser encontrada no sangue. Medidas de magnésio sérico refletem variações em curto prazo na ingestão, mas não refletem as reservas de magnésio corporal<sup>28</sup>. Mesmo as dosagens de magnésio no eritrócito, células mononucleares e granulócitos podem não refletir as dosagens de magnésio corporal, pois a maior concentração de magnésio encontra-se nos músculos (30%) e ossos (60%)<sup>73</sup>.

No manuseio de pacientes com fibrose cística, a inalação com rhDNase-I é usada para facilitar a remoção de secreção dos pulmões. Entretanto, um importante grupo de pacientes com fibrose cística não se beneficiam com este tratamento. Assim, um estudo foi realizado por Sanders et. al. em 2006<sup>74</sup> para elucidar o motivo desta falta de resposta. Os autores verificaram que a ausência de resposta à inalação com rhDNase-I, por parte de alguns pacientes foi devido a baixa concentração de magnésio no escarro. Os autores concluíram que o aumento na concentração de magnésio no escarro por meio da suplementação oral pode ser uma estratégia promissora para os pacientes sem resposta à inalação com rhDNase. Em outro estudo realizado por Rosenecker e colaboradores em 2009 os autores obtiveram resultados semelhantes<sup>75</sup>.

### 2.2.1 Mecanismo de ação do magnésio na fibrose cística:

O mecanismo de ação do magnésio na fibrose cística ainda não está completamente elucidado. Como o magnésio tem uma participação importante em uma grande variedade de

atividades celulares e processos biológicos, a sua ação na fibrose cística pode envolver muitas vias metabólicas. Ele atua como co-fator em mais de 300 reações enzimáticas, incluindo aquelas envolvidas no sistema adenilato ciclase e age com o cálcio para afetar a transmissão neuromuscular. Evidências sugerem que a ação do magnésio na fibrose cística pode ser explicada pelos seguintes mecanismos básicos:

- A. O papel do magnésio no metabolismo energético
- B. Antagonismo com o cálcio
- C. O efeito pro-inflamatório com a depleção de magnésio
- D. Aumento na produção de espécies reativas de oxigênio com a deficiência de magnésio
- E. Outras ações do magnésio

#### **A. Magnésio e metabolismo energético**

A fibrose cística é uma doença autossômica recessiva caracterizada por mutações no gen responsável pela produção da CFTR. Esta proteína controla um canal iônico de cloretos e sódio localizado na membrana apical das células dos epitélios de vários órgãos do sistema respiratório e digestivo e é regulada pelo AMPc (adenosina 3'5' monofosfato cíclico)<sup>76</sup>. O AMPc é um dos mais importantes mensageiros secundários, envolvido como modulador de processos fisiológicos. Este mensageiro secundário é formado a partir do ATP em uma reação catalisada pela adenilil ciclase, uma enzima associada com a face interna da membrana plasmática. O magnésio é um co-fator de todas as enzimas envolvidas nas reações de transferência de fosfato que utilizam a adenosina-trifosfato (fosforilação oxidativa) e outros nucleotídeos-trifosfato como substratos.<sup>77</sup>

#### **B. Antagonismo com o Cálcio**

Estudo prévio conduzindo em adultos saudáveis jovens demonstrou a importância do magnésio no transporte de membrana e na contração e relaxamento muscular<sup>78</sup>. A deficiência de magnésio causa danos estruturais nas células musculares promovendo o aumento do estresse oxidativo com comprometimento da homeostase intracelular de cálcio.<sup>79</sup>

A relação de antagonismo do magnésio com o cálcio é bem evidenciado na asma brônquica. O magnésio é um cátion que tem efeito modulatório na contratilidade das células musculares de vários tecidos: hipomagnesemia leva à contratilidade<sup>53,56</sup>; hipermagnesemia, ao

relaxamento<sup>80</sup>. A relação entre hipomagnesemia e aumento da contratilidade pode ser explicada pelo antagonismo entre magnésio e cálcio<sup>57</sup>.

Como antagonista do cálcio, o magnésio atua nas vias aéreas provocando o relaxamento da musculatura lisa, vascular e brônquica, conseguindo impedir ou retardar os transtornos ocasionados no equilíbrio eletrolítico muscular<sup>80</sup>.

O magnésio extracelular reduz a permeabilidade das membranas ao bloquear canais específicos de cálcio, o magnésio existente nas membranas ativa as bombas que expulsam o cálcio e o sódio para o exterior da célula. O magnésio intracelular debilita a união entre o cálcio e as proteínas miofibrilares (treponina e miosina) e reduz a liberação de cálcio a partir do retículo endoplasmático<sup>57</sup>:

Além do efeito direto na musculatura lisa brônquica, o magnésio tem um efeito indireto, também como antagonista do cálcio:

- ✓ Via inibição da transmissão colinérgica, diminuindo a liberação de acetilcolina pelos terminais nervosos motores, reduzindo a sensibilidade da placa motora à acetilcolina e diminuindo a amplitude do potencial da placa motora<sup>81</sup>.
- ✓ O magnésio diminui a liberação de histamina, citocinas inflamatórias (IL1 e IL6) e outros mediadores químicos pelos basófilos e mastócitos<sup>82</sup>.
- ✓ Promove a estabilização dos linfócitos T<sup>83</sup>.

Adultos moderadamente treinados apresentam melhora da função cardiorrespiratória durante um teste de esforço submáximo de 30 min, após receberem suplementação com magnésio oral<sup>84</sup>. Estes achados sugerem um efeito potencialmente benéfico da suplementação de magnésio na força e no metabolismo muscular. No entanto, ainda não está claro se este efeito benéfico do magnésio está relacionado a um prévio estado nutricional deficiente ou a um efeito farmacológico<sup>85</sup>.

A relação do magnésio com o cálcio pode explicar também a ação do magnésio nos pacientes com fibrose cística que não respondem à dornase alfa recombinante humana (rhDNase), uma vez que o cálcio é importante para a estabilidade da rhDNase I enquanto o magnésio é importante para sua atividade<sup>74</sup>.

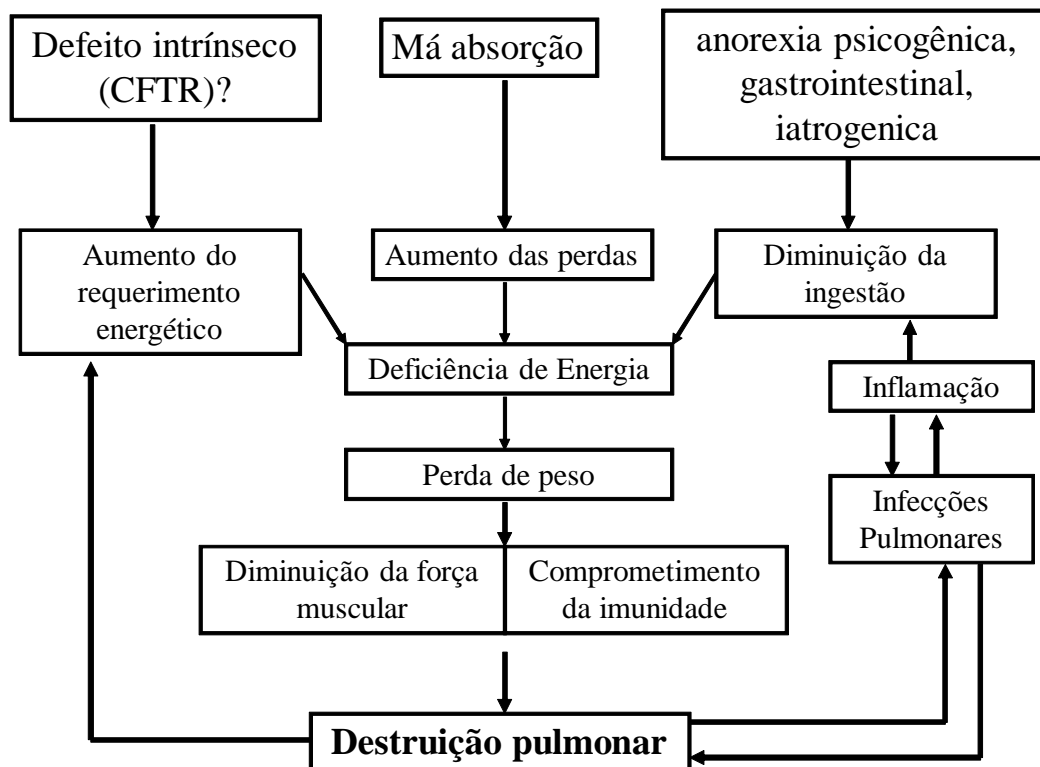
### C. Deficiência de Magnésio e inflamação

A inflamação das vias aéreas desempenha um papel fundamental na patogênese da fibrose cística, sendo o resultado da combinação de infecção pulmonar bacteriana crônica com a resposta exacerbada do paciente. Muitos estudos mostram a relação entre inflamação, infecção crônica e desnutrição, conforme resumido pela FIGURA 1<sup>86</sup>.

A deficiência de magnésio está relacionada a um estado pro inflamatório pela produção aumentada de Interleucina  $1\beta$  e do fator de necrose tumoral  $\alpha$ <sup>87</sup>. Além disto, com a deficiência de magnésio ocorre um aumento na concentração de neuropeptídeos proinflamatórios<sup>88</sup>.

Há duas classes de ácidos graxos poli-insaturados obtidos a partir da dieta: ômega 3 e ômega 6. O ácido graxo ômega 6 representado pelo ácido linoleico, que é metabolizado em ácido aracdônico e o ácido graxo ômega 3 representado pelo ácido  $\alpha$  linolênico, que é metabolizado em ácido eicosapentanóico (EPA) e ácido docosahexanóico (DHA). O ácido aracdônico é incorporado à membrana celular a partir do qual é liberado para atuar como precursor dos leucotrienos, prostaglandinas e tromboxanos da série par. Quando o ácido eicosapentanóico é liberado da membrana ele substitui o ácido aracdônico e é o precursor para a síntese das prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos da série impar. Importante ressaltar que os precursores da série impar são menos inflamatórios que os da série par. Para a produção do ácido graxo eicosapentanóico é importante a ação da enzima delta 6 dessaturase que é dependente de magnésio. Assim, com a deficiência de magnésio ocorre maior produção dos precursores da série par e, portanto maior inflamação<sup>89</sup>.

**FIGURA 1:** Desnutrição e inflamação crônica na fibrose cística.



Extraído de Staab D, 2004.

#### D. Efeito antioxidante do Magnésio

O magnésio tem ação nas reações enzimáticas relacionadas ao sistema da adenilato-ciclase para produção de ATP. A deficiência de magnésio leva a uma redução na produção de ATP, prejudicando a bomba de sódio/potássio e causando a despolarização celular com influxo de íons sódio e cálcio para o meio intracelular e edema citotóxico<sup>14</sup>.

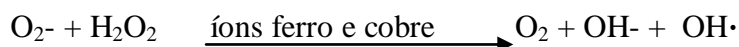
O aumento do cálcio pelo influxo através da membrana e também pela maior liberação das reservas intracelulares (retículo endoplasmático) desperta outras vias metabólicas, incluindo a ativação da fosfolipase, liberação de prostaglandinas, lipases, proteases e endonucleases que lesam várias estruturas celulares<sup>90</sup>.

O aumento do cálcio intracelular contribui para a formação de xantina, hipoxantina e prostaglandinas que inativam a fosforilação oxidativa intra-mitocondrial. A hipoxantina é o

substrato para a xantina oxidase, uma das duas formas da enzima xantina oxidoreductase. Em condições fisiológicas a forma xantina dehidrogenase da xantina oxidoreductase predomina. Esta forma utiliza NAD<sup>+</sup> como aceptor de elétron e não gera metabólitos tóxicos. Em condições de isquemia ou redução do ATP (deficiência de magnésio), a xantinaoxidoreductase é rapidamente convertida em xantina oxidase que utiliza moléculas de oxigênio como substrato para produção de espécies reativas do oxigênio como o radical superóxido e o peróxido de hidrogênio<sup>90</sup>.



O radical superóxido e o peróxido de hidrogênio, na presença de íons ferro e cobre, pela reação de Fenton proposto por Haber e Weis, em 1934<sup>91</sup>, origina o radical hidroxila, o oxidante mais instável que se conhece.



Sendo muito reativo, o radical hidroxila provoca reação em cadeia, atacando e danificando quase todas as moléculas em microssegundos<sup>91</sup>. O radical hidroxila reage com substâncias biológicas como proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS). É esta última reação que resulta na peroxidação da membrana lipídica. PUFAS estão presentes em altas concentrações na membrana celular e são mais susceptíveis ao ataque de radicais livres. Com isto ocorre a liberação de ácido aracdônico, que pode ser catalisado pela lipoxigenase; com produção de eicosanóides (citoquinas) e leucotrienos, ou pela cicloxigenase, com produção de tromboxano, prostaglandina e prostaciclina<sup>92</sup>.

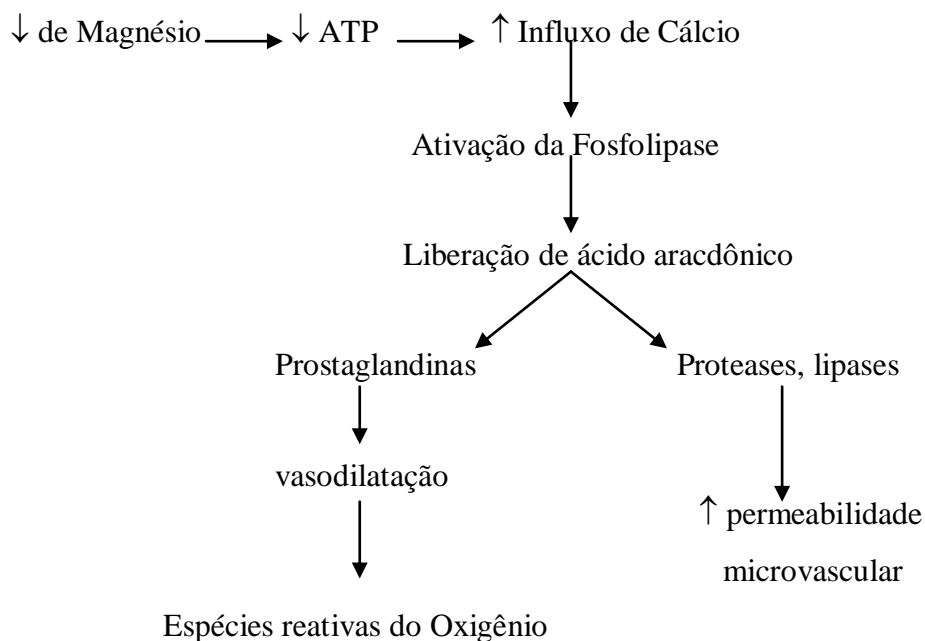
Estes produtos têm uma importante ação na fisiopatologia da inflamação na fibrose cística, promovendo dano ao epitélio pulmonar, aumento da permeabilidade vascular e quimiotaxia de leucócitos. Isto pode explicar porque a deficiência de magnésio intracelular pode estar associada a alterações pulmonares crônicas nos pacientes fibrocísticos<sup>91,92,93</sup>.

Além disto, estudo realizado por Mak et al., em 1992<sup>94</sup>, mostra que os bloqueadores dos canais de cálcio protegem as células endoteliais contra as espécies reativas do oxigênio por sua



propriedade lipídica antiperoxidativa e manutenção dos níveis de glutathiona. O magnésio como antagonista do cálcio pode ter também um efeito neste sentido (FIGURA 2).

**FIGURA 2.** Relação da deficiência de magnésio com a liberação de mediadores inflamatórios e espécies reativas do oxigênio.



Atualmente estudos sugerem que os radicais livres podem estar envolvidos na lesão tissular induzida pela deficiência de magnésio<sup>79</sup>. Por exemplo, o magnésio é o co-fator da glicose-6-fosfato desidrogenase e da 6-fosfogluconato desidrogenase, duas enzimas do ciclo das pentoses que catalisam a produção do NADPH a partir do NADP+. Assim a deficiência de magnésio na dieta, diminui a atividade da glutathiona redutase, resultando na oxidação de proteínas induzida por radicais (indicado pela geração de proteína carbonila) com lesões tissulares nos rins, cérebro e musculatura<sup>79</sup>. Em estudo realizado por Cairns e Kraft<sup>95</sup>, em 1996, os autores verificaram redução na produção de superóxido em neutrófilos, obtidos de adultos asmáticos; evidenciando o efeito antioxidante e antiinflamatório do magnésio.

### **E. Outras ações do magnésio:**

- Magnésio, juntamente com a vitamina C, B3 (niacina), B6 (piridoxina) e o zinco são os co-fatores da enzima delta 6 dessaturase. Esta enzima catalisa a reação onde o ácido docosapentanóico (DPA) ganha duas ligações e se transforma no ácido docosahexanóico (DHA). Este, por sua vez, é importante para a fluidez da membrana celular e para a troca entre as células. Os receptores das membranas também são ativados pelo DHA<sup>89</sup>.
- Magnésio desempenha um papel vital na associação reversível das partículas intra-celulares e na ligação de macromoléculas às organelas subcelulares. Assim, a ligação do RNAm aos ribossomos depende do magnésio, bem como a integridade funcional das subunidades ribossômicas. Ele é indispensável para a síntese dos ácidos ribonucléicos e desoxirribonucléicos. Neste sentido, o magnésio também é importante para a transmissão de caracteres hereditários dos seres vivos<sup>96</sup>.
- Geração de óxido nítrico<sup>97</sup> e prostaciclina<sup>98</sup>.

## REFERENCIAS

1. Widdowson EM, Mc Cance R.A, Spray CM. The chemical composition of human body. *Clin Sci* 1951; 10: 113.
2. Wacker W, Parisi A. Magnesium metabolism. *N Engl J Med* 1968; 278: 658-63.
3. Lim P, Jacob E, Dong S, Khvo OT. Value for tissue magnesium as a guide in detecting magnesium deficiency. *J Clin Pathol* 1969; 22: 417-21.
4. Lederer J. Magnésio: mitos e realidade. São Paulo, Manole Dois LTDA 1990; 3-104.
5. Montgomery P. Treatment of magnesium deficiency. *Clin Pharm* 1987; 6: 834-5.
6. Walser M. Magnesium metabolism. *Ergeb Physiol* 1967; 59: 185-296.
7. Shils ME. Magnesium. In: ME Shils, JA Olson and M Shike Editors, *Modern nutrition in health and disease* (8 ed), Philadelphia 1994: 164-84.
8. Quamme GA. Renal magnesium handling: new insights in understanding old problems. *Kidney Int* 1997; 52: 1180-95.
9. Williams RJP. The biochemistry of sodium, potassium, magnesium, and calcium. *Q Rev Chem Soc* 1970; 24: 331-65.
10. Flatman PW. Mechanism of magnesium transport. *Annu Rev Physiol* 1991; 53: 259-71.
11. Grubbs RD, Maguire ME. Magnesium as a regulatory cation: criteria and evaluation. *Magnesium* 1987; 6: 113-27.
12. Jung DW, Brierley GP. Magnesium transport by mitochondria. *J Bioenerg Biomembr* 1994; 26: 527-35.
13. Carafoli E. Intracellular calcium homeostasis. *Annu Ver Biochem* 1987; 56: 395-433.
14. Saris NEL, Khawaja JA. Interaction of Mg<sup>2+</sup> and polyamines with membrane enzyme activities. In: Halpern MJ, Durlach J. Ed. *Current research in magnesium*. London: Lilley 1996. 205-9.
15. Beyenbach KW. Transport of magnesium across biological membranes. *Magnes Trace Elem* 1990; 9: 233-54.
16. Romani A, Scarpa A. Regulation of cell magnesium. *Arch Biochem Biophys* 1992; 298: 1-12.
17. Agus ZS, Morad M. Modulation of cardiac ion channels by magnesium. *Annu Rev Physiol* 1991; 53, 229-307.
18. Reinhart R. Magnesium metabolism. *Arch Intern Med* 1998; 148: 2415-20.
19. Wacker WEC. The biochemistry of magnesium. *Ann N Y Acad Sc* 1969; 162: 717-26.

20. Mc Intyre I. An outline of magnesium metabolism in health and disease. A review. *J Chron Dis* 1963; 16: 201-15.
21. Schoeder HA, Nason HP, Tipton IH. Essential metals in man: magnesium. *J Chron Dis* 1969; 21: 815.
22. Bara M, Guiet-Bara A, Durlach J. Analysis of magnesium membrane effects: binding and screening. *Magnes Res* 1990; 29: 4121-8.
23. Morgan DML. Polyamines. *Essays Biochem* 1987; 23: 83-115.
24. Rowat E, Williams RJ. The binding of polyamines and magnesium to DNA. *J Inorg Biochem* 1992; 46: 87-92.
25. Khawaja JA. Interaction of ribosomes and ribosomal subparticles with endoplasmic reticulum membranes in vitro: effect of spermine and magnesium. *Biochim Biophys Acta* 1871; 254: 117-28.
26. Khawaja JA, Niittyala J, Lindholm DB. The effect of magnesium deficiency on the polyamine content of different rat tissues. *Nutr Rep Intern* 1984; 29: 903-10.
27. Dove WF, Davidson N. Cation effects on denaturation on DNA. *J Molec Biol* 1962; 5: 467-78.
28. Rodgers A. Magnesium ions and structure of *E. coli* ribosomal ribonucleic acid. *Biochem J* 1966; 100: 102-9.
29. Gasbarrini A, Borle AB, Farghali H, Bender C, Francavilla A, Van Thiel D. Effect of anoxia on intracellular ATP, Na, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, and cytotoxicity in rat hepatocytes. *Biochem J* 1992; 286: 657-69.
30. Jung DW, Apel L, Brierley GP. Matrix free Mg<sup>2+</sup> changes with metabolic state in isolated heart mitochondria. *Biochemistry* 1988; 1: 29-33.
31. Raftos JE, Lew VL, Flatman PW. Refinement and evaluation of a model of Mg<sup>2+</sup> buffering in human red cells. *Eur J Biochem* 1999; 263: 635-45.
32. Tashiro M, Konishi M. Na<sup>+</sup> gradient-dependent Mg<sup>2+</sup> transport in smooth muscle cells of guinea pig *Tenia caecum*. *Biophys J* 1997; 73: 3371-84.
33. Barbul A, Zipser Y, Nachles A, Korenstein R. Deoxygenation and elevation of intracellular magnesium induce tyrosine phosphorylation of band 3 in human erythrocytes. *FEBS Lett* 1999; 455: 87-91.
34. Brierley GP, Daves M, Jung DW. Respiration-dependent uptake and extrusion of Mg<sup>2+</sup> by isolated heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 1987; 253: 322-32.
35. Brierley GP, Baysal K, Jung DW. Cation transport systems in mitochondria: Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> uniports and exchangers. *J Bioenerg Biomembr* 1994; 26: 519-26.

36. Zoratti M, Szabó I. The mitochondrial permeability transition. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1241: 139-76.
37. Bernardi P, Veronese P, Petronilli V. Modulation of the mitochondrial cyclosporin A-sensitive permeability transition pore. Evidence for two separate Mg<sup>2+</sup> binding sites with opposing effects on the pore open probability. *J Biol Chem* 1993; 268: 1005-10.
38. Zamzami N, Hirsch T, Dallaporta B, Petit PX, Kroemer G. Mitochondrial implications in accidental and programmed cell death: apoptosis and necrosis. *J Bioenerg Biomembr* 1998; 29: 185- 93.
39. Kowaltowski AJ, Naia-da-Silva ES, Castilho RF, Vercesi AE. Ca<sup>2+</sup> - stimulated mitochondrial reactive oxygen species generation and permeability transition are inhibited by dibucaine or Mg<sup>2+</sup>. *Arch Biochem Biophys* 1998; 359: 77-81.
40. Evtodienko YU, Teplova VVV, Azarashvily TS, Virtanen I, Saris NEL. Mechanisms of the resistance to the mitochondrial permeability transition in tumor cells. *Pathophysiology* 1999; 6: 171-8.
41. Diwan JJ. Mitochondrial transport of K<sup>+</sup> and Mg<sup>2+</sup>. *Biochim Biophys Acta* 1987; 895: 155-65.
42. Kayne LH, Lee DBN. Intestinal magnesium absorption. *Miner Electrolyte Metab* 1993; 19: 210-7.
43. Juttner R, Ebel H. Characterization of Mg<sup>2+</sup> transport in brush border membrane vesicles of rabbit ileum studied with mag-fura-2. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1370: 51-63.
44. Bijvelds MJC, Flik G, Kolar ZI. Cellular magnesium transport in the vertebrate intestine. *Magnes Res* 1998; 11: 315- 22.
45. Alcock N, Mc Intyre I. Some effects of magnesium repletion on calcium metabolism in the rat. *Clin Sci* 1964; 26: 219.
46. Zofkova I, Kancheva RL. The relationship between magnesium and calciotropic hormones. *Magnes Res* 1995; 8: 77-84.
47. De Rouffignac C, Quamme G. Renal magnesium handling and its hormonal control. *Physiol Rev* 1994; 74: 305-22.
48. Kelepouris E, Agus ZS. Hypomagnesemia: Renal magnesium handling. *Semin Nephrol* 1998; 18: 58-73.
49. Brunner EH, Delabroise AM, Haddad ZH. Effect of parenteral magnesium on pulmonary function, plasma cAMP and histamine in bronchial asthma. *J Asthma* 1985; 22: 3-11.
50. Mc Coy H, Kenny MA. Interaction between magnesium y vitamin D: possible implications in the immune system. *Magnes Res* 1996; 9:185-203.
51. National Research Council (US). Diet and health: implications for reducing chronic disease risk. Washington, DC: National Academy Press 1989:665-710.

52. Food and Nutrition Board. Recommended Dietary Allowances (10 th ed.) Washington, DC: National Academy of Sciences 1989.
53. Altura BM, Altura BT. Cardiovascular risk factors and magnesium: relationships to atherosclerosis, ischemic heart disease and hypertension. *Magnes. Trace Elem* 1991; 10: 182-92.
54. USDA. Continuing survey of food intake by individuals 1989 and 1990 USDA Public Use Data Tape, Washington, USDA, DC, 1990.
55. Morgan K, Stampley G. Dietary intake levels and food sources of magnesium and calcium for select segments of the US population. *Magnesium* 1988; 7: 225-233.
56. Altura BM. Magnesium deficiency and hipertension: Correlation between magnesium deficient diets and microcirculatory changes in situ. *Science* 1984; 223:1315-7.
57. Saris NEL, Mervaala E, Karppanen H, Khawaja JÁ, Lewenstam A. Magnesium: an update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta* 2000; 294(1-2): 1-26.
58. Marx A, Neutra RR. Magnesium in drinking water and ischemic heart disease. *Epidemiol Rev* 1997; 19: 258-72.
59. Mathew R, Altura BM. The role of magnesium in lung diseases: asthma, allergy and pulmonary hipertension. *Magnes Trace Element* 1992; 10: 220-8.
60. Mathew R, Altura, B. Magnesium and the lungs. *Magnesium* 1988; 7:173-87.
61. Ascherio A, Rimm EB, Herman MA. Intake of potassium, magnesium, calcium, and fiber and risk of stroke among US men. *Circulation* 1998; 98: 1198-204.
62. Lucas LM, Leveno, K, Cunningham FG. A comparison of magnesium sulphate with phenytoin for the prevention of eclâmpsia. *N Engl J Med* 1995; 333: 201-5.
63. Sojka JK, Weaver CM. Magnesium supplementation and osteoporosis. *Nutr Rev* 1995; 53: 71-4.
64. Mauskop A, Altura BM. Role of Magnesium in the pathogenesis and treatment of migraines. *Clin Neurosci* 1998; 5: 24-7.
65. Gontijo-Amaral C, Ribeiro MAGO, Gontijo LSC, Condino-Neto A, Ribeiro JD. Oral magnesium supplementation in asthmatic children: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61: 54-60.
66. Britton J, Pavord I, Richards K, Wisniewski A, Knox A, Lewis S, Tattersfield A, Weiss S, . Dietary magnesium, lung function, wheezing and airway hyperreactivity in a random adult population sample. *Lancet* 1994; 344(8919): 357-62.
67. Hill J, Micklewright A, Lewis S, Britton J. Investigation of the effect of short-term change in dietary magnesium intake in asthma. *Eur Respir J* 1997; 10(10): 2225-9.
68. Hersh T, Siddiqui DA. Magnesium and the pancreas. *Am J Clin Nutr* 1973; 26:362-6.

69. Atsmon J, Dolev E. Drug-induced hypomagnesaemia: scope and management. *Drug Saf* 2005; 28:763-88.
70. Sanders NN, Franckx H, De Boeck K, Haustraete J, De Smedt SC, Demeester J. Role of magnesium in the failure of rhDNase therapy in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 2006; 61(11): 962-6.
71. Rosenecker J, Naundorf S, Rudolph C. Airway surface liquid contains endogenous DNase activity which can be activated by exogenous magnesium. *Eur J Med Res* 2009; 14:304-8.
72. Kelleher J, Goode HF, Field HP, Walker BE, Miller MG, Littlewood JM. Essential element nutrition status in cystic fibrosis. *Hum Nutr Appl Nutr* 1986 Apr; 40(2):79-84.
73. Arnaud MJ. Update on the assessment of magnesium status. *British Journal of Nutrition* 2008; 99(3): 24-36.
74. Sanders NN, Franckx H, De Boeck K, Haustraete J, De Smedt SC, Demeester J. Role of magnesium in the failure of rhDNase therapy in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 2006; 61(11): 962-6.
75. Rosenecker J, Naundorf S, Rudolph C. Airway surface liquid contains endogenous DNase activity which can be activated by exogenous magnesium. *Eur J Med Res* 2009; 14:304-8.
76. Rowe S, Miller S, Sarchers E. Mechanisms of disease Cystic Fibrosis. *New Eng J Med*, 2005; 352(19): 1992-9.
77. Giembycz MA, Diamond J. Partial characterization of cyclic AMP-dependent protein kinases in guinea-pig lung employing the synthetic heptapeptide substrate, kemptide. *Chem Pharm* 1990; 39: 1297-312.
78. Lukaski HC. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition* 2004; 20:632-44.
79. Rock E, Astier C, Lab X, et al. Dietary magnesium deficiency in rats enhances free radical production in skeletal muscle. *J Nutr* 1995; 125: 1205-10.
80. Gilbert AJ. Microscopic observations of pulmonary artery reactions. *J Pharm Exp Ther* 1938; 62: 228-35.
81. Del Castillo J, Engback L. The mechanism of neuromuscular block produced by magnesium. *J Physiol* 1954; 124: 370-84.
82. Bois P. Effect of magnesium deficiency on mast cells and urinary histamine in rats. *Br J Exp Path* 1963; 44: 151-5.
83. Durlach, J. Rapports experimentaux et cliniques entre magnesium et hypersensibilite. *Vev Fran Allergol* 1975; 15: 133-46.

84. Ripari P, Pieralisi G, Giamberardino MA, Vecchiet L. Effects of magnesium picolinate on some cardiorespiratory submaximal effort parameters. *Magnesium Res* 1989; 2: 70-4.
85. Lukaski HC. Magnesium, zinc and chromium nutriture and physical activity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 585-93.
86. Staab D. Cystic fibrosis -- therapeutic challenge in cystic fibrosis children. *Eur J Endocrinol* 2004; 151(8): 77-80.
87. Weglicki WB, Dickens BF, Wagner TL, Chemielinska JJ, Phillips TM. Immunoregulation by neuropeptides in magnesium deficiency: ex vivo effect of enhanced substance P production on circulation T lymphocytes from magnesium-deficient mice. *Magnes Res* 1996; 9: 3-11.
88. Kramer JH, Mak IT, Phillips TM, Weiglick WB. Dietary magnesium intake influences circulating pro-inflammatory neuropeptide levels and loss of myocardial tolerance to postischemic stress. *Exp Biol Med* 2003; 228: 665-73.
89. Pizzorno JJE, Murray MT. Asthma. In: Pizzorno JJE, Murray MT. *Textbook of natural medicine*. 2. ed. New York: Churchill Livingstone 1999; 2: 437-51.
90. Hammerman C; Kaplan M. Isquemia and reperfusion injury. *Clinics in Perinatology* 1998; 25 (3): 757-77.
91. Haber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc R Soc Surg A* 1934; 147:332-51.
92. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition* 1996; 12:274-7.
93. Wood LG, Fitzgerald DA, Collins CE, Gibson PG, Cooper DM, Garg ML. Oxidative stress in cystic fibrosis: dietary and metabolic factors. *J Am Coll Nutr* 2001; 20:157-65.
94. Mak IT, Boehme P, Weglicki WP. Antioxidant effects of calcium channel blockers against free radical injury in endothelial cells. Correlation of protection with preservation of glutathione levels. *Circ Res* 1992; 70: 1099-103.
95. Cairns CB, Kraft M. Magnesium attenuates the neutrophil respiratory burst in adult asthmatic patients. *Acad Emerg Med* 1996; 3: 1093-7.
96. Rodgers, A. Magnesium ions and structure of E. coli ribosomal ribonucleic acid. *Biochem J* 1966; 100: 102-9.
97. Kemp PA, Gardiner SM, March JE, Bennett T, Rubin PC. Effects of N-nitro-L arginine methyl ester on regional haemodynamic responses to MgSO<sub>4</sub> in conscious rats. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 325-31.
98. Nadler JL, Goodson S, Rude RK. Evidence that prostacyclin mediates the vascular action of magnesium in humans. *Hypertension* 1987; 9: 379-83.



## ***3 Objetivos***

---

---

### **3.1 Objetivo Primário**

Avaliar a eficácia da suplementação oral de Magnésio sobre os parâmetros da função pulmonar medidos pela espirometria nos escolares e adolescentes com Fibrose Cística atendidos no ambulatório da UFMG.

### **3.2 Objetivos Secundários**

- 1) Avaliar a eficácia da suplementação oral de Magnésio sobre a força muscular respiratória nos pacientes com FC medidos pela manuvacuometria.
- 2) Verificar se a suplementação oral de Magnésio melhora o estado clínico nos pacientes com FC avaliados pelo escore de Shwachman-Kulczycki.

## *4 Metodologia*

---

---

#### **4.1 Local e época do Estudo**

Para a realização do estudo foram utilizadas as dependências do Ambulatório Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG. Os pacientes foram selecionados do ambulatório de Fibrose Cística e o estudo foi realizado entre janeiro de 2008 e dezembro de 2010.

#### **4.2 Desenho do Estudo**

Ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado.

Os pacientes foram divididos em 2 grupos.

Grupo I: Pacientes com Fibrose Cística que receberam o tratamento convencional associado à suplementação oral de magnésio.

Grupo II: Pacientes com Fibrose Cística que receberam o tratamento convencional associado a placebo.

Numa segunda etapa, após um período de intervalo (“wash-out”) de 4 semanas, ocorreu o cruzamento. Assim, o grupo I recebeu placebo e o grupo II, magnésio.

#### **4.3 Critérios de Elegibilidade:**

##### **4.3.1 Critérios de Inclusão:**

- ✓ Pacientes de 7 a 19 anos, com diagnóstico de Fibrose Cística, realizado a partir de quadro clínico e comprovado por duas dosagens de cloretos no suor ( $\geq 60\text{mmol/l}$ ) de acordo com o método de Gibson e Cooke<sup>1</sup>;
- ✓ Consentimento prévio dos pais ou responsáveis legais, assim como dos escolares e adolescentes para participação no estudo por meio da assinatura do TCLE;
- ✓ Ser capaz de realizar os procedimentos de coleta estabelecidos previamente no projeto do estudo;
- ✓ Estar em condições de estabilidade clínica, ou seja, sem necessidade de uso de antibioticoterapia oral ou parenteral 4 semanas antes dos exames.

#### **4.3.2 Critérios de Exclusão:**

- ✓ Escolares e adolescentes com alteração da função renal;
- ✓ Escolares e adolescentes em uso de medicamentos que afetassem a absorção ou excreção do magnésio como diuréticos, digoxina e medicamentos contendo cálcio;
- ✓ Fumantes ativos e passivos;
- ✓ Baixa adesão ao tratamento, ou seja, uso menor que 80% da dose administrada.

#### **4.4 Variáveis:**

**4.4.1 Variável preditora (independente):** Suplementação com magnésio oral.

**4.4.2 Variáveis de desfecho (dependente):** Função pulmonar, força muscular respiratória avaliado pela manuvacuometria e avaliação clínica pelo escore de Shwachman-Kulczycki.

**4.4.3 Desfecho primário “primary outcome”:** função pulmonar (VEF1).

#### **4.5 Hipótese:**

A suplementação oral de magnésio nos escolares e adolescentes com FC proporciona melhora na função pulmonar, na força muscular respiratória e na avaliação clínica pelo escore de Shwachman-Kulczycki.

#### **4.6 Tamanho da Amostra**

Como não foi encontrado estudos semelhantes na revisão realizada, não havia dados que relacionassem a suplementação oral de magnésio com a avaliação da função pulmonar em crianças e adolescentes com fibrose cística. Assim, o tamanho da amostra foi calculado através de um estudo piloto realizado com os primeiros 20 pacientes incluídos. Uma amostra de 19 pacientes para cada grupo foi determinada, considerando os cálculos apropriados para ensaios clínicos randomizados e a possibilidade de um erro tipo II<sup>2</sup>. Considerando-se um desvio padrão de 4,34 unidades (% previsto para VEF1, usado como desfecho primário (“primary outcome”)),

encontrado no estudo piloto, calculou-se que 19 pacientes em cada grupo seriam necessários para um poder do teste de 85% com 5% de nível de significância (teste t de Student). Prevenindo uma possível evasão dos pacientes foi calculada uma taxa de 15% a mais, totalizando 22 pacientes em cada grupo.

#### **4.7 Randomização**

A aleatorização foi balanceada e estratificada, usando uma tabela gerada por computador com números aleatórios<sup>3</sup>. Os pacientes incluídos foram designados aleatoriamente para o grupo I ou grupo II. As variáveis utilizadas para a estratificação foram a idade, o peso e o sexo. Para evitar o viés de seleção, optou-se pela aleatorização cega; ou seja, os investigadores e os pacientes não sabiam se receberiam magnésio ou placebo. Para isto, a farmacêutica responsável preparava o magnésio, baseada em solicitação por contato telefônico com o médico. Os frascos com os medicamentos vinham codificados. Somente a farmacêutica sabia em que grupo cada paciente se encontrava. O método cego foi utilizado desde a aleatorização, administração e avaliação dos resultados.

#### **4.8 Delineamento e procedimento do estudo**

Após a confirmação diagnóstica com duas dosagens positivas de cloro no suor de acordo com o método de Gibson e Cooke<sup>1</sup>, os pacientes foram encaminhados para o preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido se houvesse interesse e disponibilidade para participar da pesquisa (Apêndice D). Em seguida foi preenchido o protocolo clínico dos escolares e adolescentes com idade entre 7 e 19 anos que foram incluídos no estudo. Este protocolo constou de interrogatório geral, exame físico e exames laboratoriais que fizeram parte da pesquisa (Apêndice A).

Foram realizados os seguintes exames laboratoriais antes do estudo: dosagem de cloro no suor, RX de tórax, hemograma, uréia, creatinina, sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo, magnésio, gordura fecal de 24 h em fezes de 72 h. A excreção urinária de magnésio foi avaliada antes e após cada etapa do tratamento em ambos os grupos. Os pacientes foram rotineiramente avaliados pela

equipe multiprofissional, composta por médicos, nutricionista, fisioterapeuta, psicóloga e assistente social.

A avaliação nutricional incluiu a história clínica, nutricional, exame físico e dados antropométricos como o peso, estatura e índice de massa corpórea (IMC). As medidas antropométricas foram comparadas com referenciais para sexo e idade, sendo utilizadas as tabelas e curvas da OMS<sup>4</sup> de 2007. Em seguida os pacientes foram agendados, 4 semanas depois da primeira consulta, para serem submetidos à avaliação da força muscular respiratória pela manuvacuômetria e avaliação da função pulmonar pela espirometria.

Os escolares e adolescentes incluídos no estudo foram divididos aleatoriamente em dois grupos e participaram de duas etapas. Na primeira etapa do estudo o grupo I recebeu magnésio quelado com glicina (“Magnesium-glycine Taste Free”, número do lote 251755) na dose de 300 mg por dia e o grupo II recebeu placebo (glicina). A aparência externa e sabor do magnésio quelado e do placebo foram semelhantes e ambos foram administrados por um período de 2 meses. A glicina foi escolhida como placebo para que pudesse ser avaliado exclusivamente o efeito do magnésio. A dose de magnésio/placebo foi administrada no domicílio, pela manhã e em jejum pelo próprio paciente e/ou responsável, conforme orientado previamente nas consultas ambulatoriais. Ambos os grupos continuaram com o tratamento habitual para a fibrose cística, incluindo suplementação com enzima pancreática – 5000 a 10000 UI/Kg/dia (500 a 1500 UI/Kg/refeição) de lipase; suplementação de vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis nas doses recomendadas pelo consenso europeu<sup>5</sup> e medicamentos respiratórios de acordo com o protocolo adotado pelo serviço<sup>6</sup> e pelo “Cystic Fibrosis Pulmonary Guidelines” de 2007<sup>7</sup>. Após os 2 meses de tratamento foi dado um intervalo de 1 mês e em seguida iniciado a segunda etapa do estudo onde os grupos foram cruzados. Assim o grupo I recebeu placebo e o grupo II magnésio, na mesma dose e tempo de tratamento utilizado na primeira etapa do estudo.

Durante as consultas foram investigados a administração das medicações em uso, mudanças no aspecto das evacuações, episódios de tosse, mudança no aspecto do escarro e internações. Neste período o retorno foi com 30 dias para avaliação clínica e para verificar a adesão ao tratamento. Se os pacientes utilizassem menos que 80% das doses de Mg ou placebo/mês eram excluídos. Ao final dos 2 meses foi então feita nova consulta clínica, escore SK, avaliação da força muscular respiratória pela manuvacuometria e novos testes de função pulmonar com a espirometria. Os resultados da avaliação clínica pelo escore SK,

manuvacuometria e função pulmonar foram, ao término do estudo, comparados nos dois grupos antes e após a administração de magnésio ou placebo.

Desta forma avaliou-se a eficácia do magnésio na melhora da função pulmonar, da força muscular respiratória e da avaliação clínica pelo escore SK de escolares e adolescentes com fibrose cística. O delineamento do estudo está sintetizado na FIGURA 3 e na TABELA 2.

**FIGURA 3:** Organograma com o delineamento do estudo.

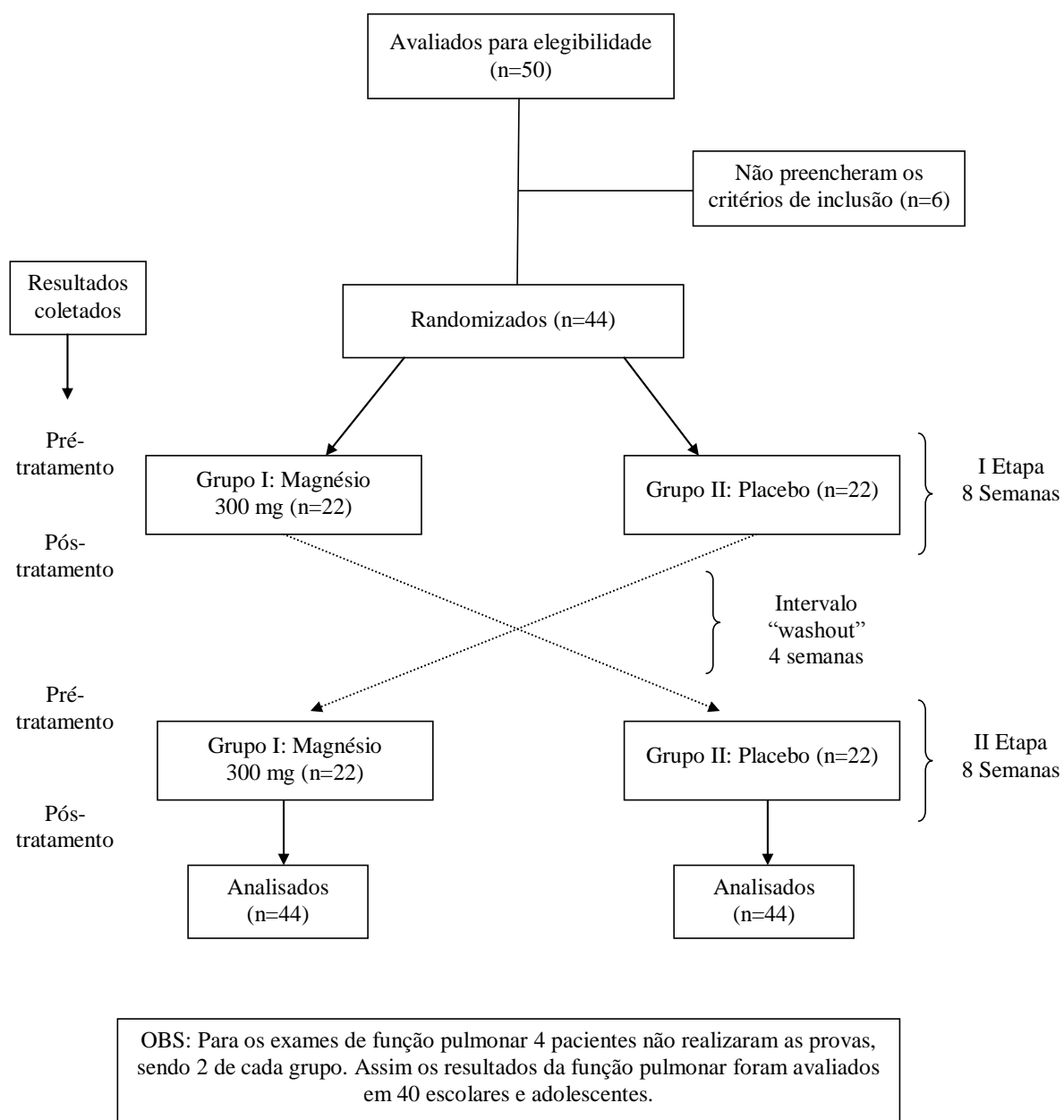




TABELA 2. Planilha do delineamento do estudo.

	Avaliação inicial	I Etapa		II Etapa	
		Pré-tratamento	Pós-tratamento	Pré-tratamento	Pós-tratamento
<b>Avaliação clínica</b>	X	X	X	X	X
<b>Diagnóstico</b>	X				
<b>Inclusão</b>	X				
<b>Mg urinário</b>		X	X	X	X
<b>Escore SK</b>		X	X	X	X
<b>T.C.L.E.</b>	X				
<b>Randomização</b>	X				
<b>Manuvacuometria</b>		X	X	X	X
<b>Função pulmonar</b>		X	X	X	X

T.C.L.E. = Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; Mg = Magnésio; Escore SK = Escore de Shwachman-Kulczycki

A dose de magnésio utilizada para os escolares e adolescentes variou de 5 a 12 mg/kg/dia de acordo com as recomendações da RDA. Na fase inicial do estudo foi avaliada a média de peso do grupo para proceder à randomização estratificada. Assim, foi escolhido a dose padronizada de 300 mg/dia com base nesta média de peso dos pacientes incluídos no estudo ( $40 \text{ kg} \times 7,5 \text{ mg/kg} = 300 \text{ mg/dia}$ ).

## 4.9 Instrumentos do estudo

### 4.9.1 Dosagem de Magnésio urinário

A dosagem de Magnésio na urina de 24 horas foi avaliada em todos os pacientes antes e depois de cada etapa do estudo. A concentração urinária de Magnésio foi determinada utilizando o Slides Mg VITROS e o kit de calibrador 1 VITROS “Chemistry Products” nos sistemas químicos VITROS 250/350/950/5, 1 FS e 4600 e no Sistema Integrado VITROS 5600 (Johnson & Johnson, São José dos Campos – SP, Brasil). O Slide Mg VITROS é constituído por um elemento analítico de múltiplas camadas revestido por um suporte de poliéster. É adicionada uma

gota da amostra do doente no Slide, sendo esta uniformemente distribuída pela camada de difusão para as camadas subjacentes. O Magnésio, tanto livre como o ligado às proteínas da amostra, reage depois com o derivado do corante Formazan na camada de reagente; a elevada afinidade do corante separa o Mg das proteínas de ligação. O complexo resultante de Magnésio-corante origina um desvio máximo de absorção do corante. A quantidade de complexo de corante formado é proporcional à concentração de Mg presente na amostra e é medida pela densidade do reflexo.

#### 4.9.2 Escore de Shwachman-Kulczycki

O escore de Shwachman-Kulczycki (SK) é um escore clássico elaborado exclusivamente para a doença fibrocística que avalia a gravidade da doença e seu prognóstico<sup>8</sup> (Apêndice B). O escore SK continua sendo uma avaliação simples e útil para monitorar a gravidade nos pacientes com fibrose cística<sup>9</sup>.

Aborda quatro parâmetros de avaliação: a atividade geral, o exame físico, o estado nutricional e os achados radiológicos. Cada um destes parâmetros tem 5 sub escores com base no grau de comprometimento (5, 10, 15, 20 ou 25 pontos). As pontuações dos 4 parâmetros foram somadas para obter a pontuação final, a partir do qual a condição clínica do paciente foi categorizada como grave, moderada, leve, bom e excelente de acordo com uma escala de 20 a 100 pontos, conforme a TABELA 3.

**TABELA 3.** Classificação do escore de Shwachman-Kulczycki.

Classificação	Pontuação do Escore SK
Excelente	86-100
Bom	71-85
Leve	56-70
Moderado	40-55
Grave	< 40

O escore SK foi aplicado pelo pesquisador no decorrer da rotina do ambulatório de Fibrose Cística. Os parâmetros avaliados pelo escore SK foram:

### **Atividade geral**

Foi aplicado um questionário (Apêndice C) cujas perguntas objetivas foram respondidas pela mãe ou responsável e pelos próprios adolescentes somente com "sim ou não". As perguntas foram relacionadas às atividades de vida diária, frequência escolar, comportamento, atividade física e exercícios.

### **Estado Nutricional**

Através dos valores das medidas de peso, estatura, relação de compatibilidade com padrão familiar, juntamente com a avaliação do tônus e massa muscular, além de informações referentes ao apetite, característica das fezes e dos hábitos alimentares, o pesquisador pontuou os parâmetros nutricionais.

### **Exame físico**

O exame físico foi realizado pela equipe médica através da observação da postura e do baqueteamento digital apresentado pelo paciente, ausculta pulmonar e avaliação das frequências respiratória e cardíaca, além de interrogatório aos responsáveis com relação à característica da tosse, vômitos e hemoptise.

### **Achados radiológicos**

As radiografias de tórax dos pacientes foram avaliadas pela equipe médica.

### **4.9.3 Avaliação Antropométrica**

Os dados antropométricos foram comparados a curvas padrões da OMS e foram os seguintes:

### **Peso (P)**

As crianças foram pesadas sem sapatos e com o mínimo de roupas (traje de prática de atividade física). Foi utilizada uma balança plataforma, marca Filizola, com capacidade de 150 Kg, sendo o peso anotado em gramas e sempre pelo mesmo profissional.

### **Altura (A)**

Para medir a altura, foi utilizado um antropômetro vertical anexado à balança, com comprimento de 200 cm. As crianças permaneceram com os pés juntos e a planta dos pés totalmente apoiados no chão, os calcanhares, glúteos, ombros e cabeça juntos ao antropômetro.

### **Peso/idade (P/I) e altura/idade (A/I)**

Com relação ao peso e altura a referência foi o *score Z*, baseado no número de desvios padrões acima ou abaixo da média. Assim, foram avaliadas as relações Peso/idade (P/I) e altura/idade (A/I).

### **Índice de Massa Corporal (IMC)**

O índice de massa corporal foi determinado pelo índice de Quetelet, sendo obtido pela equação da divisão do peso corporal pela estatura elevada ao quadrado:

IMC:  $\text{Peso Corporal (kg)} / \text{Estatura (m)}^2$ .

#### **4.9.4 Avaliação da força muscular respiratória:**

A força da musculatura respiratória foi avaliada pela mensuração da pressão inspiratória máxima ( $PI_{\text{máx}_{\text{vr}}}$ ) e da pressão expiratória máxima ( $PE_{\text{máx}_{\text{vr}}}$ ), medidas pelo mesmo médico pesquisador, treinado pela equipe de fisioterapia, utilizando o manuvacuômetro.

#### **Técnica de Mensuração:**

As medidas da  $PI_{\text{máx}_{\text{vr}}}$  e  $PE_{\text{máx}_{\text{vr}}}$  foram efetuadas usando um manuvacuômetro analógico (Imebrás TM, São Paulo, SP, Brasil), com intervalos operacional de 0-300 cm H<sub>2</sub>O (FIGURA 4). Todos os testes foram realizados de acordo com as diretrizes estabelecidas pela ATS/ERS<sup>10</sup> pelo mesmo pesquisador. O aparelho foi conectado a uma traqueia de plástico de 16

cm de comprimento e 1,5 cm de diâmetro interno. A extremidade da traqueia foi conectada a um bocal de plástico rígido que possuía um orifício de fuga de 2 mm para prevenir o fechamento da glote, conforme recomendação da ATS/ERS. Para a realização dos testes, as crianças e adolescentes ficaram na posição sentada, estando o tronco num ângulo de 90° com as coxas, utilizando pinça nasal para oclusão do nariz e mantendo um bocal firmemente entre os lábios.

A Pressão Inspiratória Máxima foi medida a partir da posição de expiração máxima, quando o volume de gás contido nos pulmões é o volume residual (PImáx.). A Pressão Expiratória Máxima foi medida a partir de inspiração máxima quando alcançada a capacidade pulmonar total.

A avaliação foi considerada completa quando o indivíduo realizava três medidas aceitáveis e, dentre essas, um número mínimo de duas reprodutíveis. Foram consideradas aceitáveis manobras sem vazamentos de ar e com sustentação da pressão por pelo menos um segundo, e reprodutíveis as medidas com variação igual ou inferior a 10% do maior valor. Houve um intervalo de um minuto entre as medidas, e o maior valor entre as manobras reprodutíveis foi o selecionado para análise, desde que esta não fosse a última manobra. Foram realizadas um máximo de 5 manobras para cada medida. Os valores das medidas foram expressos em cm H<sub>2</sub>O e comparados com os parâmetros de normalidade por meio de equações de predição de Wilson et al.<sup>11</sup>.

O aparelho foi calibrado anteriormente ao início do estudo segundo recomendações do INMETRO, por meio da aplicação crescente de pressão e vácuo até o limite estabelecido pelo fabricante do equipamento. Anteriormente a cada teste, foi realizada uma verificação da posição do ponteiro no ponto zero e, caso necessário, um simples ajuste do parafuso do ponteiro foi realizado.

**FIGURA 4:** Manuvacuômetro analógico *Imebrás TM, São Paulo, SP, Brasil.*



#### **4.9.5 Avaliação da função pulmonar:**

A espirometria foi realizada no Laboratório de Função Pulmonar do Serviço de Pneumologia e Cirurgia Torácica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, seguindo as recomendações da American Thoracic Society – ATS<sup>12</sup> e utilizando um espirômetro da marca Collins Pulmonary Testing System, Braintree, MA, EUA (FIGURA 5). O exame de espirometria foi utilizado para obtenção dos valores diretos de capacidade vital forçada (CVF) e o fluxo expiratório forçado no primeiro segundo (FEV1), além de valores estimados indiretamente como a capacidade pulmonar total (Apêndice A).

A prova de função pulmonar ou espirometria é a medida do ar que entra e sai dos pulmões. É um exame que auxilia na prevenção e permite o diagnóstico e a quantificação dos distúrbios ventilatórios. Além disso, sua aplicação regular permite o acompanhamento e resposta aos diferentes tratamentos, avaliação de incapacidade e condição do paciente.

O paciente foi medido, pesado, sendo anotado sexo, idade e raça e em seguida treinado para a realização correta da prova que foi conduzida sempre pelo mesmo profissional técnico do ambulatório. O paciente foi posicionado sentado em frente ao espirômetro, com os pés apoiados, o tronco a 90° em relação ao quadril, com o bucal e o pneumotacometro ajustados à sua boca e o clipe nasal ocluindo sua narina, impedindo dessa forma qualquer escape de ar. O paciente foi incentivado a realizar manobra expiratória vigorosa e prolongada (mínimo de 6 segundos de tempo expiratório), de maneira a atingir o critério de reprodutibilidade do software de

espirometria *BREEZE PF Versão 3.8 B for Windows 95/98/NT*. O exame espirométrico foi feito sempre pela manhã.

Foram obtidas, pelo menos três curvas de expiração máxima e forçada, tecnicamente adequadas, em cada ocasião de medida. A diferença de volume entre as mesmas foi de 5% no máximo, de acordo com a padronização. A curva escolhida para o cálculo foi a de melhor expiração forçada, ou seja, a que apresentava o maior VEF1, ou em caso de duas curvas semelhantes nesse aspecto, a de maior soma de CVF e VEF1, também conforme padronização. A aceitabilidade das curvas dependeu dos valores espirométricos da curva volume-tempo e da morfologia da curva fluxo-volume.

A calibração de volume foi feita diariamente, com seringa fornecida pelo fabricante. Os limites aceitáveis de variação foram de  $\pm 3,5\%$  ou  $\pm 0,100$  L, o que era maior, para volume. As tolerâncias permitidas incluíram os erros inerentes às seringas empregadas nos ensaios ( $\leq 0,5\%$ ).

**FIGURA 5:** Espirômetro volumétrico *Collins Pulmonary Testing System, Braintree, Ma, USA*.



As variáveis medidas foram:

**Capacidade Vital Forçada (CVF):** é a diferença de volume entre a inspiração máxima e a expiração completa, medidas ao nível da boca, realizada rapidamente e com esforço máximo. Foi

obtida solicitando-se que a criança realizasse uma inspiração máxima, até o nível da capacidade pulmonar total (CPT), seguida por uma expiração rápida e intensa, mas prolongando sua duração, até que todo o ar fosse expirado.

**Volume Expiratório Forçado no 1º segundo (VEF1):** é o volume de ar exalado no primeiro segundo da manobra de capacidade vital forçada.

**Fluxo Expiratório Forçado entre 25% e 75% da CVF (FEF25-75):** é o fluxo de ar eliminado durante a parte central da CVF.

**Pico de Fluxo Expiratório (PFE):** é um parâmetro expiratório esforço-dependente que reflete o calibre das vias aéreas proximais. É um índice interessante para avaliar a colaboração do paciente durante o teste.

**Saturação transcutânea de oxigênio da hemoglobina (oximetria de pulso):** a criança ou adolescente ficou sentada com a mão espalmada em repouso sobre uma superfície plana, com a extremidade do dedo indicador esquerdo previamente esterilizado por álcool, onde foi colocado o eletrodo e, após um minuto, o valor numérico mais frequente e estável no mostrador digital do aparelho foi registrado. Estes valores foram avaliados em cada consulta.

Os valores de função pulmonar obtidos foram comparados com os parâmetros de normalidade por meio das equações de predição de Polgar-Promadhat<sup>13</sup>.

#### **4.10 Análise estatística**

Por se tratar de um estudo cruzado a análise estatística baseou-se na comparação do consolidado dos grupos nas duas etapas avaliadas. As variáveis categóricas foram descritas com o valor absoluto e frequência. As variáveis contínuas foram descritas como média e desvio padrão ou mediana, mínimo, máximo e intervalo de confiança de 95% conforme a análise de normalidade dos dados. Em todos os testes estatísticos que foram utilizados, a diferença entre os grupos foi considerada significativa quando o p-valor do teste aplicado foi  $< 0,05$ . O teste t de Student foi utilizado para comparar a idade, o peso e o índice de massa corporal (IMC) em ambos



os grupos. O Mann Whitney U-test foi utilizado para comparar altura. O teste Qui-quadrado e o teste exato de Fisher foram utilizados para analisar o gênero e cor, respectivamente. Por se tratar de um estudo cruzado foi verificado o efeito de carreamento (“carry over”) para todas as variáveis avaliadas<sup>14</sup> (ANOVA). Uma vez que os resultados das concentrações urinárias de magnésio tiveram distribuição normal, o teste t de Student pareado foi utilizado. O teste de normalidade foi realizado para todas as variáveis avaliadas. Como foi utilizado o desenho cruzado e os resultados não tiveram distribuição normal, o teste Wilcoxon foi utilizado. Os dados foram analisados utilizando o “Statistical Package for Social Sciences” (SPSS, versão 17 para Windows, Chicago, IL)<sup>15</sup>.

#### **4.11 Aspectos éticos**

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP) e aprovado conforme parecer ETHIC nº 559 de 2007 (ANEXO A). O registro do estudo pelo COEP é CAAEO 559.0.203.000-07. Endereço eletrônico: [http://portal2.saude.gov.br/sisnep/Projetos\\_Aprovados.cfm?uf=MG&inicio=01/01/2008&fim=01/01/2009](http://portal2.saude.gov.br/sisnep/Projetos_Aprovados.cfm?uf=MG&inicio=01/01/2008&fim=01/01/2009).

Todo o levantamento de dados foi precedido da garantia da clara compreensão do conteúdo do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e da sua assinatura em triplicata pelos pais ou responsáveis legais e pelo escolar ou adolescente. Após assinado, uma via do TCLE foi entregue para cada um deles e uma via ficou em poder dos pesquisadores (Apêndice D).

Foram respeitadas as condições éticas pertinentes ao protocolo seguidos rigorosamente os princípios enunciados na Declaração de Helsink II, de 1975 e revisada em 1983 e do Ministério da Saúde do Brasil/Comitê Nacional Brasileiro de Ética em Pesquisa, da resolução 196/1996 para pesquisa em seres-humanos.

## REFERENCIAS

1. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by ionophoresis. *Pediatrics* 1959; 23:545-9.
2. Turner RM, White IR, Croudace T. Analysis of Cluster randomized cross-over trial data: a comparison of methods. *Statistics in Medicine* 2007; 26: 274-89.
3. Hulley SB, Cummings SR. 1988. *Designing Clinical Research: an epidemiological approach*. Baltimore: Williams & Wilkins. 247p.
4. World Health Organization. *Physical Status: the use and interpretation of anthropometry*. Technical Report Series 854, Geneva: Switzerland 1995.
5. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG, Robberecht E, Döring G. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cyst Fibros* 2002; 1(2): 51-75.
6. Guimarães EV, et. al. *Fibrose Cística: Protocolo dos Centros de Referência do Estado de Minas Gerais*. Secretária do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil 2008.
7. Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, Goss CH, Mogayzel PJ, Willey-Courand DB, Bujan J, Finder J, Lester M, Quittell L et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: Chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 957-69.
8. Shwachman H, Kulczycki LL. Long term study of one hundred five patients with cystic fibrosis. *Am J Dis Child* 1958; 96: 6-15.
9. Stollar F, Adde FV, Cunha MT, Leone C, Rodrigues JC. Shwachman-Kulczycki score still useful to monitor cystic fibrosis severity. *Clinics* 2011; 66(6): 979-83.
10. Society AT, Society ER. ATS/ERS statement on respiratory muscle testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 528-42.
11. Wilson SH, Cooke N, Edwards R, Spiro S. Predicted normal values for maximal respiratory pressures in Caucasian adults and children. *Thorax* 1984; 39: 535-8.
12. American Thoracic Society. Standardization of spirometry. 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:1107-36.
13. Polgar G, Promadhat V. *Pulmonary function testing in children: techniques and standards*, Philadelphia: Saunders 1971.
14. Hedayat AS, Yang M. Optimal and efficient crossover designs for comparing test treatments with a control treatment. *The Annals of Statistics* 2005; 33(2): 915-43.
15. Peto R, Pike MC, Armitage P. Design and analysis of randomized clinical trials requiring prolonged observation of each patient. *Br J Cancer* 1976; 34: 585-612.

## ***5 Resultados***

---

---

## 5.1 ARTIGO I: Oral magnesium supplementation in children with cystic fibrosis improves lung function parameters: a double-blind randomized placebo-controlled crossover trial

### ABSTRACT

**Background:** Magnesium (Mg) has been reported as an effective medical therapy in an expanding array of conditions. The role of Mg in cystic fibrosis (CF) disease needs more investigation. **Objective:** We prospectively investigated the long-term effect of oral Mg supplementation on lung function and Shwachman-Kulczycki's (SK) score of schoolchildren and adolescents with CF. **Design:** This double-blind randomized placebo-controlled crossover study included 40 CF patients (age, 7-19 years; 20 males) who were randomized to receive Mg (n=20, 300mg/day) or placebo (n=20) for 8 weeks with a 4-week washout period between trials. All were undergoing conventional treatment for CF. SK score, urinary dosage of Mg and spirometry were evaluated. The primary outcome was the forced expiratory volume at first second (FEV1) measured with spirometry. **Results:** Urinary Mg increased after Mg administration (change: 37.12 mg/day after Mg versus 0.64 mg/day after placebo,  $p<0.001$ ). In spirometry measurements FEV1, the forced vital capacity (FVC) and the FEV1/FVC ratio has augmented significantly in the Mg period only (change in FEV1: 4 % predicted after Mg versus 1 % predicted after placebo,  $p=0.002$ ; change in FVC: 4.5 % predicted after Mg versus 0 % predicted after placebo,  $p=0.02$ ; change in FEV1/FVC: 1 % predicted after Mg versus -1 % predicted after placebo,  $p=0.002$ ). Moreover, Mg administration had a beneficial effect on SK score (change: 5 points after magnesium versus 0 points after placebo,  $p<0.001$ ). **Conclusions:** Oral Mg supplementation helped improve SK score and spirometry in schoolchildren and adolescent patients with CF.

**Key Words:** magnesium, cystic fibrosis, nutrition, lung function and children.

## INTRODUCTION

Magnesium (Mg) is essential in a wide variety of cellular activities and metabolic pathways, acting as a cofactor in hundreds of enzymatic reactions in the human body. Current dietary surveys show that the average Mg intake in Western countries is often below the Recommended Dietary Allowance (1) which has raised concern about the health effects of Mg deficiency. Mg depletion has been associated with atherosclerosis, cardiovascular disorders, diabetes mellitus, metabolic syndrome and asthma (2-5).

Patients with cystic fibrosis (CF) may have Mg deficiency (6, 7), even though a previous study did not find any reduction in serum Mg concentrations in these patients (8). Mg is an intracellular ion, and there is only a small correlation between serum and intracellular concentrations of Mg, probably because only 1% of the body's Mg store is found in blood (9).

In the last decade, there have been increasing concerns with biochemical studies of Mg, its nutritional relevance, its potential participation in human diseases, and particularly with the pathogenesis of pulmonary disorders (10). For instance, Mg deficiency has been associated with airway hyperactivity and impairment of lung function (5). Moreover, it has been shown that inhaling, intravenous or an oral use of Mg improves lung function and lessens disease severity (11, 12). Whether it enhances lung function in patients with CF is not known.

A promising new strategy in patients with CF could be increasing the Mg concentration in the airway surface liquid by aerosolisation of Mg solutions or by oral intake of Mg supplements, which may facilitate the removal of highly viscous mucus in chronic lung disease by activating endogenous DNase activity (13, 14). Furthermore, there is evidence that the use of oral magnesium in children and adolescents with CF is associated with improvement in clinical and functional variables (15).

The mechanism for a beneficial effect of Mg in CF patients is not completely clear. Mg has a variety of functions, including acting as a co-factor for sodium, potassium-ATPase, which is responsible for maintaining muscle membrane potential and action potential propagation. Deficiencies can result in muscle weakness and cramping. It is also a co-factor in over 300 enzymatic reactions and deficiency is linked with oxidative stress (16).

We hypothesized that CF patients have low body Mg storage and that Mg supplementation could improve lung function and SK Score. This study aimed to evaluate the

effects of oral Mg supplementation on spirometry parameters and clinical data in CF children and adolescents.

## **SUBJECTS AND METHODS**

Enrollment and follow-up for this crossover study were performed between January 2008 and December 2010. Forty schoolchildren and adolescents from a single center were included. The patients were recruited and followed-up at the University Hospital Cystic Fibrosis Pediatric Clinic, Federal University of Minas Gerais, Brazil. Inclusion criteria were as follows: age, 7-19 years; 2 positive sweat tests ( $\geq 60$  mmol/l) according to the Gibson and Cooke method (17); and stable clinical condition (*i.e.*, no need for oral or IV antibiotic treatment in the 4 weeks before testing).

Smokers and patients receiving any treatment likely to affect Mg absorption or excretion, such as diuretics, digoxin, or calcium-containing medications, were excluded from the study.

All children were undergoing conventional treatment for cystic fibrosis, including respiratory medications, pancreatic enzyme, and supplementation of water-soluble and fat-soluble vitamins according to the European Consensus (18).

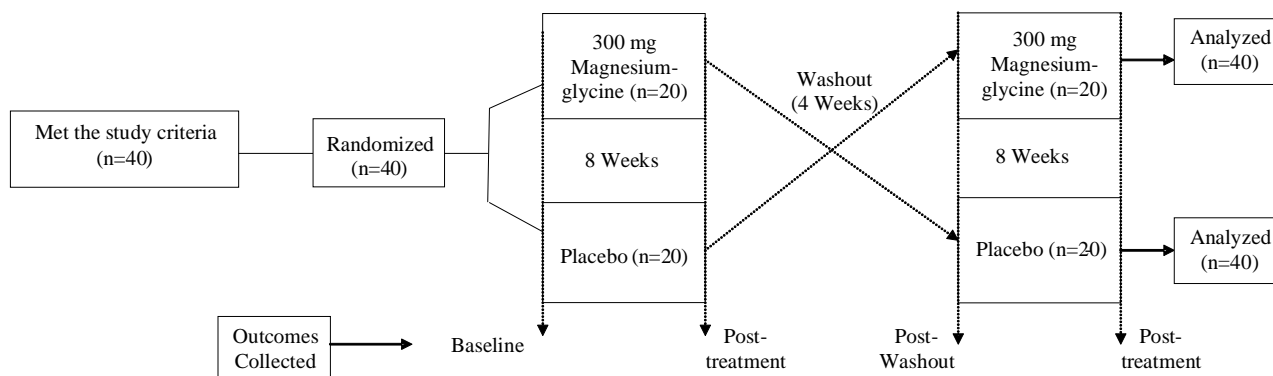
After an initial screening and run-in period of 4 weeks, the 40 patients were randomly assigned to the study treatments. Each participant received 300 mg of oral magnesium-glycine (MG,  $n = 20$ ) or placebo control (PC,  $n = 20$ ) once daily for 8 weeks, with a wash-out period of 4 weeks between trials (**Figure 1**). Magnesium amino acid chelate (taste free; lot number 251755) from Albion Laboratory (São Paulo, Brazil) was used. The magnesium's dose used for each participant ranged from 5 to 12 mg/Kg/day according to the RDA recommendations. In the initial phase of the study we have evaluated the average weight of the group to perform a stratified randomization. Thus, we arbitrarily choose the dose of 300 mg/day based on the median weight of the children and adolescents included at the study ( $40 \text{ Kg} \times 7.5 \text{ mg/Kg} = 300 \text{ mg/day}$ ). Patient compliance to the prescribed Mg therapeutic regimen was assessed in a monthly follow-up with a questionnaire.

Investigators and patients were blinded to the randomization, drug manipulation, and dispensing, which were performed independently from the recruitment and assessment of participants. The Mg and placebo powders were similar in appearance and were pre-packaged by a pharmacist in identical containers that were coded according to a randomized sequence.

Stratified randomization was performed using a computer-generated table of random numbers, and participants were randomly assigned to the interventional or placebo group. The randomization code was revealed at the end of the study (19). The magnesium powder was provided in a single dose packet. The same researcher provided the packages containing either Mg or placebo in each appointment to ensure the accuracy. Glycine was used as placebo, so the difference between the two groups was only the presence or absence of magnesium. The magnesium and placebo had a similar taste and appearance. Participant adherence was evaluated at each appointment, checking the empty used packages brought in by the parents or legally member of the family. If the patients used less than 80% of the monthly doses of magnesium or placebo, they were excluded.

The experimental protocol included clinical evaluation, assessment of urinary Mg and spirometry. All of these assessments were performed at the beginning of the trial as well as after 60 d of Mg or placebo administration during both trial periods.

**FIGURE 1.** Flow chart of study enrollment and design.



### **Pulmonary function test**

Spirometry was performed at the pulmonary function laboratory of Clinical Hospital of Federal University of Minas Gerais, following the recommendations of the American Thoracic Society – ATS (20) by using a Collins Pulmonary Testing System (Braintree, Ma, USA).

Spirometric calibrations and room temperatures (controlled at 23-25°C) were measured just before, during, and just after each testing session and lung function measurements were corrected for changes in calibration or internal temperature. Spirometry was performed with the patient in a seated upright position by using nasal clamp. Each subject was asked to perform three satisfactory maneuvers, and no more than eight maneuvers were attempted during any test session. The best of  $\geq 3$  acceptable measurements, of which 2 were reproducible according to the ATS criteria (20), was accepted for inclusion in the analysis. The following spirometric parameters were evaluated: forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume at first second (FEV1), mid-expiratory flow at 25-75% of vital capacity (FEF25-75) and FEV1/FVC ratio. The pulmonary function values were described and analyzed as percent predicted values for the study subjects. The predicted values were based on the Polgar-Promadhat normal values (21).

### **Clinical assessment**

The SK score was calculated by 2 pediatric pulmonologists with expertise in CF. The pediatric pulmonologists were blinded to each other and to subject treatment and order of treatment. The SK score is divided into 4 domains: general activity, physical examination, nutrition, and radiological findings. Each of these domains has 5 possible subscores based on the degree of impairment. The scores of the 4 domains are summed to obtain the final score, from which the condition of the patient is categorized as excellent (86–100 points), good (71–85 points), average (56–70 points), poor (41–55 points), or severe ( $\leq 40$  points) (22).

### **Anthropometry**

Anthropometric measurements included weight, height and BMI. They were performed according to the WHO recommendations (23) by the same member of the research team. Weight (in Kg) was measured by using an anthropometric platform scale (Filizola SA), and height (in cm) was measured by using a stadiometer attached to the same scale. BMI was calculated as weight divided by height squared. Values of weight, height, and BMI were standardized by age and sex according to the WHO Growth Curve (24) and expressed as z scores.



### **Urinary dosage of Mg**

Urinary dosage of magnesium was assessed in all patients before and after each study period. Urinary Mg concentration was determined through the VITROS Mg slide method with Mg Slides and Chemistry Products Calibrator Kit 1 in VITROS 250/350/950/5, 1 FS and 4600 chemistry systems, and the 5600 Integrated System (Johnson & Johnson, São José dos Campos – SP, Brazil).

### **Outcomes measures**

The primary outcome was FEV1 and the secondary outcomes were FVC, FEF25-75, FEV1/FVC and respiratory disease severity assessed by SK score.

### **ETHICS**

Written informed consent was obtained from each participant and/or their parents before the study. The Research Committee approved both the informed consent and the experimental protocol in accordance with the Brazilian Ministry of Health/Brazilian National Committee on Ethics in Research, Resolution No. 196/1996. All procedures were conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975 as revised in 1983.

### **STATISTICAL ANALYSIS**

On the basis of a previous pilot study (data not published), a sample size of 19 patients was determined for each group, considering appropriate calculations for randomized clinical trials and the possibility of a type II error. With an SD of 4.34 base units of FEV1 (percent predicted), used as the primary outcome, we calculated that 19 subjects in each group would be required for 85% power at the 5% level of significance (single paired Student *t*-test). Descriptive statistics were assessed accordingly. The results are represented as bar graphs and tables showing the mean and standard deviation if normally distributed or median, minimum, maximum and 95% CI if not normally distributed.

Student's *t* test was used to compare age, weight, BMI and FEV1 in both groups. The Mann Whitney *U* test was used to compare height, and the *z* score for weight, height and BMI. Chi-square test was used to analyze sex and pancreatic insufficiency and Fisher's exact test was used to analyze race. Because the urinary concentrations of Mg were normally distributed, a single paired Student *t* test was used.

Normality was tested for all outcomes. Because a crossover design was used and the results were not normally distributed, the Wilcoxon Signed-Rank test was used. All data were entered before the treatment codes were revealed and were analyzed by using Statistical Package for Social Sciences (version 17 for Windows; SPSS);  $p$  values  $< 0.05$  were considered significant (25).

## RESULTS

Forty patients screened to participate in this study, met the study criteria. There were no dropouts. The effects of sequence and period-by-treatment interaction, which are possible indicators of a carryover effect, were not significant for any outcomes ( $p > 0.05$  for all outcomes, ANOVA). Thus, no carry-over effect was seen in the groups starting with either magnesium or placebo. No adverse effects were reported from patients in either group.

Randomization resulted in a well-balanced equivalent distribution of patients regarding age, sex, race, weight, height and body mass index (BMI) at baseline. These results are shown in **Table 1**. Both groups presented appropriate compliance.

**Figure 2** shows the urinary concentration of Mg at baseline and at the end of follow-up for both groups.

**Table 2** shows outcomes measures: SK score and lung function tests data at baseline and at the end of the follow up in both groups.

**TABLE 1.** Demographic characteristics of cystic fibrosis patients enrolled in a randomized crossover trial of magnesium supplementation compared with placebo at baseline (n = 40)

Characteristics	All (n = 40)	Magnesium group (n = 20)	Placebo Control group (n = 20)	p value
Age (y)	13.10 ± 3.62 <sup>2</sup>	12.70 ± 3.64	13.50 ± 3.64	0.4 <sup>4</sup>
Sex (M:F)	20 : 20	10 : 10	10 : 10	1.00 <sup>5</sup>
Race (White:black)	39:5	17:3	18:2	1.00 <sup>6</sup>
Weight (kg)	40.48 ± 12.82 <sup>2</sup>	39.64 ± 13.07	41.31 ± 12.85	0.68 <sup>4</sup>
z Score	-1.20 (-3.0, 2.5) <sup>3</sup>	-1.2 (-2.8, 2.5)	-1.2 (-3.0, 2.5)	0.62 <sup>7</sup>
Height (m)	1.51(1.1-1.76) <sup>3</sup>	1.49 (1.10, 1.76)	1.52 (1.15, 1.66)	0.96 <sup>7</sup>
z Score	-1.40 (-2.8, 2.4) <sup>3</sup>	-1.2 (-2.7, 2.3)	-1.75 (-2.8, 2.4)	0.45 <sup>7</sup>
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	18.21 ± 2.44 <sup>2</sup>	17.79 ± 2.25	18.61 ± 2.60	0.30 <sup>4</sup>
z Score	1.45 (-2.7, 2.5) <sup>3</sup>	-1.2 (-2.6, 2.5)	-1.7 (-2.7, 2.4)	0.56 <sup>7</sup>
FEV <sub>1</sub> (% predicted)	80.15±11.06 <sup>2</sup>	79.15±12.87	81.15±9.12	0.57 <sup>4</sup>
PI [n (%)]	7/40 (17.5)	3/17 (17.6)	4/17 (23.5)	1.00 <sup>5</sup>

<sup>1</sup> FEV<sub>1</sub>, forced expiratory volume in 1 s; PI, children and adolescents with pancreatic insufficiency.

<sup>2</sup> Mean ± SD

<sup>3</sup> Median, minimum and maximum in parentheses.

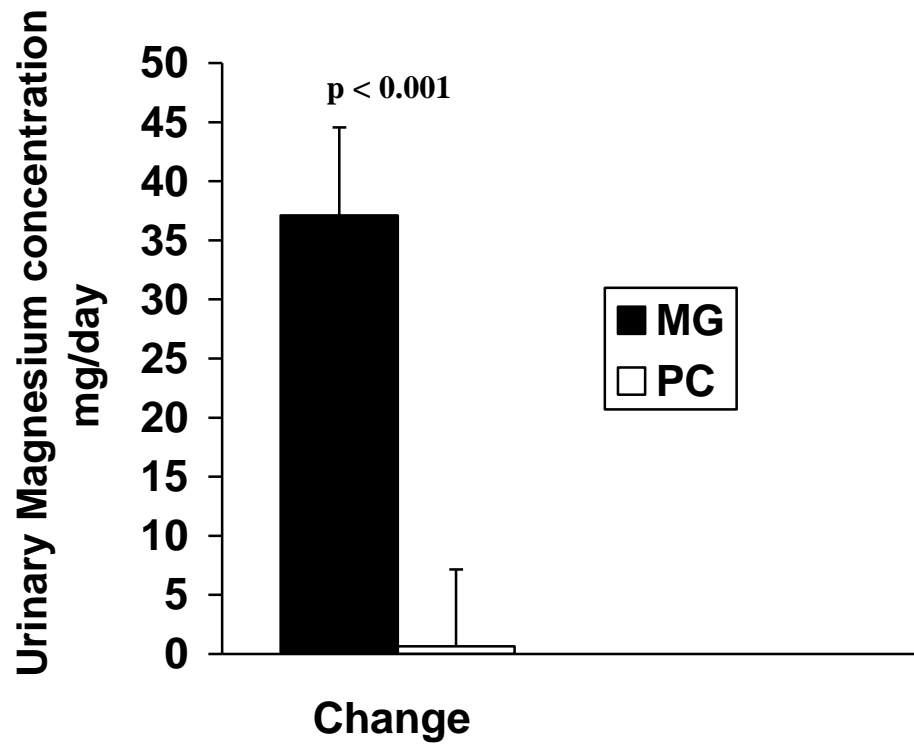
<sup>4</sup> Student's t test.

<sup>5</sup> Chi-square test.

<sup>6</sup> Fisher's exact test

<sup>7</sup> Mann-Whitney *U* test.

**FIGURE 2.** Change in urinary Magnesium's concentration at baseline and post treatment in both groups (n=40).



MG = Magnesium group, PC = Placebo control group

**TABLE 2.** SK score and lung function tests data of cystic fibrosis patients during magnesium or placebo.

Outcomes	Magnesium group (n=40)			Placebo-control group (n=40)			p value
	Baseline	Post	Change	Baseline	Post	Change	
SK (points)	80 (57,100)	85 (65,100)	5 (2.6,6.3)	80 (60,100)	77 (60,100)	0 (-2.1,0)	<b>&lt; 0.001</b>
FEV1 (%)	80 (60,100)	84.5 (64,116)	4 (3.0,5.3)	81 (57,101)	80 (41,112)	1 (-0.8, 2.3)	<b>0.002</b>
FVC (%)	86 (71,109)	89 (75,112)	4.5 (1.9,5.8)	85.5 (75,111)	88.5 (53,112)	0 (-2.0,2.5)	<b>0.02</b>
FEF 25-75%	67.5 (32,106)	68 (29,125)	2 (-0.4,4.1)	73 (32,113)	71.5 (26,115)	0 (-2.7,1.13)	0.09
FEV1/ FVC(%)	82 (55,93)	83.5 (60,96)	1 (0.6,2.8)	83 (58,93)	83 (55,94)	- 1 (-1.8,-0.1)	<b>0.002</b>

Wilcoxon Signed Ranks Test for all outcomes

Median; minimum, maximum and 95% CI for changes (in parentheses)

SK, Schachman-Kulczycki score; FEV1, forced expiratory volume at first second; FVC, forced vital capacity; FEF 25-75%, mid-expiratory flow at 25-75% of vital capacity.

## DISCUSSION

In this randomized crossover trial in cystic fibrosis schoolchildren and adolescents, magnesium supplementation for 8 weeks significantly improved both pulmonary function and clinical data assessed by means of SK Score.

These findings lend support to the hypothesis that hypomagnesaemia in children with cystic fibrosis is under-recognized (6, 7) and that magnesium plays a beneficial role in lung function. However, on the basis of our trial it was not possible to clarify whether the effect of magnesium was given by nutrition or pharmacological action.

Many factors may be responsible for Mg deficiency in CF patients. First, current dietary surveys show that the average Mg intake in western countries is often below the RDA recommendations (280 and 350 mg/day for female and male adults, respectively) (1). Second, gastrointestinal malabsorption, a common symptom of CF, may cause hypomagnesaemia (26). Third, certain antibiotics and chemotherapeutic agents used by CF patients also induce hypomagnesaemia (27). Mg supplementation is therefore a promising strategy for improving clinical symptoms and respiratory musculature strength in CF patients, as was shown by this trial.

The assessment of serum Mg concentrations is not an accurate reflection of the Mg status of muscle, bone, and other tissues. There is a poor correlation between serum and intracellular Mg concentrations, most probably because only 1% of total body Mg reserves can be found in the whole blood (6). We therefore decided to check the urinary concentration of Mg before and after each period of Mg or placebo administration (9). Our results showed statistically significant differences with the use of Mg ( $p < 0.001$ ), corroborating patient adherence to Mg supplementation.

We observed statistical significant improvements in FEV1, FVC and FEV1/FVC ratio with Mg supplementation only. The findings reported here show that Mg enhances lung function in CF children and adolescents. Low Mg intake was associated with decreased lung function in asthmatic children (28). Mg is essential for maintenance of electrical potential across cell membranes and therefore modulates bronchial tone and diameter (29).

The proposed action of Mg in CF patients is not completely understood. At least 3 mechanisms may explain our findings: 1) the role of Mg in energetic metabolism, 2) the proinflammatory effect of Mg depletion and 3) the increased reactive oxygen species production in Mg deficiency.

In young volunteers, Mg status affects muscle performance, probably due to Mg's Key role in energetic metabolism, transmembrane transport, and muscle contraction and relaxation (30). Mg depletion causes structural damage to muscle cells through increased oxidative stress and impaired intracellular calcium homeostasis (31).

Mg is a co-factor in over 300 enzymatic reactions, and its deficiency is linked to inflammation and oxidative stress (16). For example, it is a cofactor for glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase, 2 pentose-cycle enzymes catalyzing the production of NADPH from NADP<sup>+</sup>. Thus, a deficiency of dietary Mg reduces glutathione reductase activity and results in radical-induced protein oxidation and marked lesions in tissues like the skeletal muscles, brain, kidneys, and lungs (31). Furthermore, magnesium may itself possess antioxidant properties, scavenging oxygen radicals, possibly by affecting the rate of spontaneous dismutation of the superoxide ion (32). Chronic hypomagnesemia results in excessive production of oxygen-derived free radicals (33) which supports a role for magnesium in altering the threshold antioxidant Capacity.

Finally, we observed better clinical results in those patients who received oral magnesium assessed by SK score. Evaluating further the SK score it was possible to verify that the improvement occurred specifically in the domains general activity and physical examination. Dorlöchte et al performing spirometry (FEV<sub>1</sub>), assessing indirect calorimetry and correlating them with SK score in cystic fibrosis patients demonstrated a close connection between disease severity, caloric requirement and lung damage (34).

In conclusion our double-blind randomized crossover study shows that schoolchildren and adolescents with CF who received conventional treatment in combination with oral Mg supplementation presented significant improvement in lung function and better clinical results. Further studies should assess other clinical outcomes such as need for antibiotics, hospitalization rates, and quality of life and survival. Besides it's important to include established methods to evaluate the Mg's antioxidant effect in CF patients.

## **CONFLICT OF INTEREST**

The authors had no personal or financial conflict of interest.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors wish to thank the statistical advice of Fernando Henrique Pereira, Albion Laboratory for providing magnesium, and Amphora for drug manipulation. We also thank the 40 study participants and their families for their dedication and contribution to the research.

The authors' responsibilities were as follows – Gontijo-Amaral C, Camargos P and Guimarães EV designed the research (ie, project conception, development of overall research plan and study oversight); Gontijo-Amaral C: undertook data collection, wrote and took primary responsibility for the final content of the manuscript; Guimarães EV: supervised the research. Carneiro GHG undertook data collection. All authors assisted in the interpretation of analyses and revision of the manuscript and read and approved the final manuscript.



## REFERENCES

1. National Research Council (US). Recommended dietary allowances (10<sup>th</sup> ed.), National Academy Press, Washington, DC; 1989.
2. Paolisso G, Barbagallo M. Hypertension, diabetes mellitus, and insulin resistance: the role of intracellular magnesium. *Am J Hypertens* 1997; 10:346-55.
3. Chacko SA, Sul J, Song Y, Li X, LeBlanc J, You Y, Butch A, Liu S. Magnesium supplementation, metabolic and inflammatory markers, and global genomic and proteomic profiling: a randomized, double-blind, controlled, crossover trial in overweight individuals. *Am J Clin Nutr* 2011; 93:463-73. doi: 10.3945/ajcn.110.002949.
4. Saris NEL, Mervaala E, Karppanen H, Khawaja JÁ, Lewenstam A. Magnesium: an update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta* 2000; 294(1-2): 1-26. doi: 10.1016/S0009-8981(99)00258-2.
5. Gilliland FD, Berhane KT, Li YF, Kim DH, Margolis HG. Dietary magnesium, potassium, sodium, and children's lung function. *Am J Epidemiol* 2002; 155 (2): 125-31.
6. Foucard T, Gebre-Medhin M, Gustavson KH, Lindh U. Low concentrations of sodium and magnesium in erythrocytes from cystic fibrosis heterozygotes. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80(1): 57-61.
7. Gupta A, Eastham KM, Wrightson N, Spencer DA. Hypomagnesaemia in cystic fibrosis patients referred for lung transplant assessment. *Journal of Cystic Fibrosis* 2007; 6: 360-2. doi: 10.1016/j.jcf.2007.01.004.
8. Kelleher J, Goode HF, Field HP, Walker BE, Miller MG, Littlewood JM. Essential element nutrition status in cystic fibrosis. *Hum Nutr Appl Nutr* 1986; 40(2):79-84.
9. Arnaud MJ. Update on the assessment of magnesium status. *British Journal of Nutrition* 2008; 99(3): 24-36. doi: 10.1017/S000711450800682X.
10. Lands LC. Nutrition in pediatric lung disease. *Paediatr Respir Rev*, 2007; 8: 305-12. doi: 10.1016/j.prrv.2007.08.005.
11. Mohammed S, Goodacre S. Intravenous and nebulised magnesium sulfate for acute asthma: systematic review and meta-analysis. *Emerg Med J* 2007; 24:823-30. doi: 10.1136/emj.2007.052050.
12. Gontijo-Amaral C, Ribeiro MAGO, Gontijo LSC, Condino-Neto A, Ribeiro JD. Oral magnesium supplementation in asthmatic children: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr*, 2007; 61: 54-60. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602475.
13. Sanders NN, Franckx H, De Boeck K, Haustraete J, De Smedt SC, Demeester J. Role of magnesium in the failure of rhDNase therapy in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 2006; 61(11): 962-6. doi: 10.1136/thx.2006.060814.

14. Rosenecker J, Naundorf S, Rudolph C. Airway surface liquid contains endogenous DNase activity which can be activated by exogenous magnesium. *Eur J Med Res* 2009; 14:304-8.
15. Gontijo-Amaral C, Guimarães EV, Camargos P. Oral magnesium supplementation in children with cystic fibrosis improves clinical and functional variables: a double-blind, randomized, placebo-controlled crossover trial. *Am J Clin Nutr* 2012; 96: in press .doi: 10.3945/ajcn.112.034207.
16. Blache D, Devaux S, Joubert O, Loreau N, Schneider M, Durand P, Prost M, Gaume V, Adrian M, Laurant P, Berthelot A. Long-term moderate magnesium-deficient diet shows relationships between blood pressure, inflammation and oxidant stress defense in aging rats. *J Free Radic Biol Med* 2006; 41:277-84.
17. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by ionophoresis. *Pediatrics* 1959; 23:545-9.
18. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG, Robberecht E, Döring G. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cyst Fibros*, 2002; 1(2):51-75.
19. Turner RM, White IR, Croudace T. Analysis of Cluster randomized cross-over trial data: a comparison of methods. *Statistics in Medicine* 2007; 26:274-89. doi: 10.1002/sim.2537.
20. American Thoracic Society. Standardization of spirometry. 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 152:1107-36.
21. Polgar G, Promeghat V. Pulmonary function testing in children: techniques and standards, Philadelphia: Saunders, 1971.
22. Shwachman H, Kulczycki LL. Long term study of one hundred five patients with cystic fibrosis. *Am J Dis Child*. 1958; 96:6-15.
23. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: Switzerland; 1995.
24. World Health Organization. De Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged and adolescents. *Bulletin of the World Health Organization*. 2007;85:660-7.
25. Hedayat AS, Yang M. Optimal and efficient crossover designs for comparing test treatments with a control treatment. *The Annals of Statistics*, 2005; 33(2): 915-43. doi: 10.1214/009053604000000887.
26. Hersh T, Siddiqui DA. Magnesium and the pancreas. *Am J Clin Nutr* 1973; 26:362-6.
27. Atsmon J, Dolev E. Drug-induced hypomagnesaemia: scope and management. *Drug Saf* 2005; 28:763-88.

28. Gilliland FD, Berhane KT, Li Yf, Kim DH, Margolis HG. Dietary magnesium, potassium, sodium, and children's lung function. *Am J Epidemiol*, 2002; 155:125-31.
29. Rude RK. Magnesium deficiency: a cause of heterogeneous disease in humans. *J Bone Miner Res* 1998; 13:749-58.
30. Lukaski HC. Magnesium, zinc and chromium nutriture and physical activity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 585-93.
31. Rock E, Astier C, Lab X, et al. Dietary magnesium deficiency in rats enhances free radical production in skeletal muscle. *J Nutr*, 1995; 125: 1205-10.
32. Weglicki WB, Bloom S, Cassidy MM, Freedman AM, Atrackchi AH, Dickens BF. Antioxidant and the cardiomyopathy of Mg-deficiency. *Am J Cardiovasc Pathol*. 1992; 4: 210-15.
33. Afanas'ev IB, Suslova TB, Cheremisina ZP, Abramova NE, Korkina LG. Study of antioxidant properties of metal aspartates. *Analyst* 1995; 120: 859-62.
34. Dorlöchter L, Helgheim V, Roksund OD, Rosendahl K, Fluge G. Shwachman-Kulczycki score and resting energy expenditure in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2003; 2(3):148-51. doi: 10.1016/S1569-1993(03)00060-2.

## 5.2 ARTIGO II: Oral magnesium supplementation in children with cystic fibrosis improves clinical and respiratory muscle strength parameters: A double-blind randomized placebo-controlled crossover trial

### ABSTRACT

**Background:** Magnesium (Mg) is one of the most important ions in the body. Although some studies report that patients with cystic fibrosis (CF) lack Mg, no international study has assessed the impact of oral Mg supplementation in CF patients. **Objective:** We prospectively investigated the long-term effect of oral Mg supplementation on respiratory muscle strength by manuvacuometry and Shwachman-Kulczycki's (SK) score among children and adolescents with CF. **Design:** This double-blind randomized placebo-controlled crossover study included 44 CF patients (age, 7–19 years; 20 males) who were randomized to receive Mg (n = 22, 300 mg/day) or placebo (n = 22) for 8 weeks with a 4-week washout period between trials. All were undergoing conventional treatment for CF. The experimental protocol included clinical evaluation, assessment of urinary concentration of Mg, and manuvacuometry (maximal inspiratory and expiratory pressures: MIP and MEP). MIP was the primary outcome. **Results:** Urinary Mg increased after Mg administration (change: 36.38 mg/day after Mg versus 0.72 mg/day after placebo,  $p < 0.001$ ). Moreover, MIP and MEP significantly improved only after Mg administration (change in MIP: 11.02% predicted after Mg versus 0.45% predicted after placebo; change in MEP: 11.93% predicted after Mg versus 0.79% predicted after placebo;  $p < 0.001$  for both). Mg administration had a beneficial effect on clinical parameters assessed by SK score (change: 5 points after Mg versus 0 points after placebo,  $p < 0.001$ ). **Conclusions:** Oral Mg supplementation helped improve both the SK score and respiratory muscle strength in pediatric and adolescent patients with CF.

**Key Words:** magnesium, cystic fibrosis, nutrition, respiratory muscle strength, children.

## INTRODUCTION

Cystic fibrosis (CF) is a recessively inherited condition caused by mutation of the CF transmembrane conductance regulator (CFTR) gene regulatory and results in higher mortality in the Caucasian population. Pulmonary and gastrointestinal manifestations influence the nutritional condition of patients, with the reverse also being true. Nutrition-based treatments can contribute to reducing the mortality and morbidity of CF (1, 2).

Patients with CF may have magnesium (Mg) deficiency (3, 4), even though a previous study did not find any reduction in serum Mg concentrations in these patients (5). Mg is an intracellular ion, and there is only a small correlation between serum and intracellular concentrations of Mg, probably because only 1% of the body's Mg store is found in the blood (6). Serum Mg tests measure short-term intake variations, but they do not reflect the body's Mg store. Even the Mg concentration in erythrocytes, mononuclear cells, and granulocytes cannot reflect the body's Mg store since it is primarily concentrated in muscles and bones (6, 7).

A promising new strategy in patients with CF could be increasing the Mg concentration in the airway surface liquid by aerosolisation of Mg solutions or by oral intake of Mg supplements, which may facilitate the removal of highly viscous mucus in chronic lung disease by activating endogenous DNase activity (8, 9).

Moderately trained adults given Mg supplements showed improved cardiorespiratory function during a 30-min submaximal exercise test (10). These findings suggest a potentially beneficial effect of Mg supplementation on muscle metabolism. Supplemental Mg improves strength and muscle metabolism in health subjects. However, it is unclear whether these observations are related to impaired nutritional status or to a pharmacologic effect (11).

Although the mechanism of action of Mg in respiratory disease is not fully understood, inhalation and intravenous as well as oral administration of Mg has proven effective in its treatment in both children and adults (12, 13, 14, 15).

Over the last decade, interest in Mg has increased with biochemical studies on Mg, its nutritional relevance, its potential roles in human diseases, and particularly its association with the pathogenesis of pulmonary disorders (16, 17).

Moreover, Mg is a low-cost mineral, and no serious side effects have been found after Mg supplementation in several studies.

We hypothesized that oral Mg supplementation in CF patients could improve respiratory muscle strength. This study aimed to evaluate the effects of oral Mg supplementation on the respiratory musculature.

## SUBJECTS AND METHODS

Enrollment and follow-up for this crossover study were performed between January 2008 and December 2010. Forty-four children and adolescents from a single center were included. The patients were recruited and followed-up at the University Hospital CF Pediatric Clinic, Federal University of Minas Gerais, Brazil. Inclusion criteria were as follows: age, 7–19 years; 2 positive sweat tests ( $\geq 60$  mmol/l) according to the Gibson and Cooke method (18); and stable clinical condition (*i.e.*, no need for oral or IV antibiotic treatment in the 4 weeks before testing).

Smokers and patients receiving any treatment likely to affect Mg absorption or excretion, such as diuretics, digoxin, or calcium-containing medications, were excluded from the study.

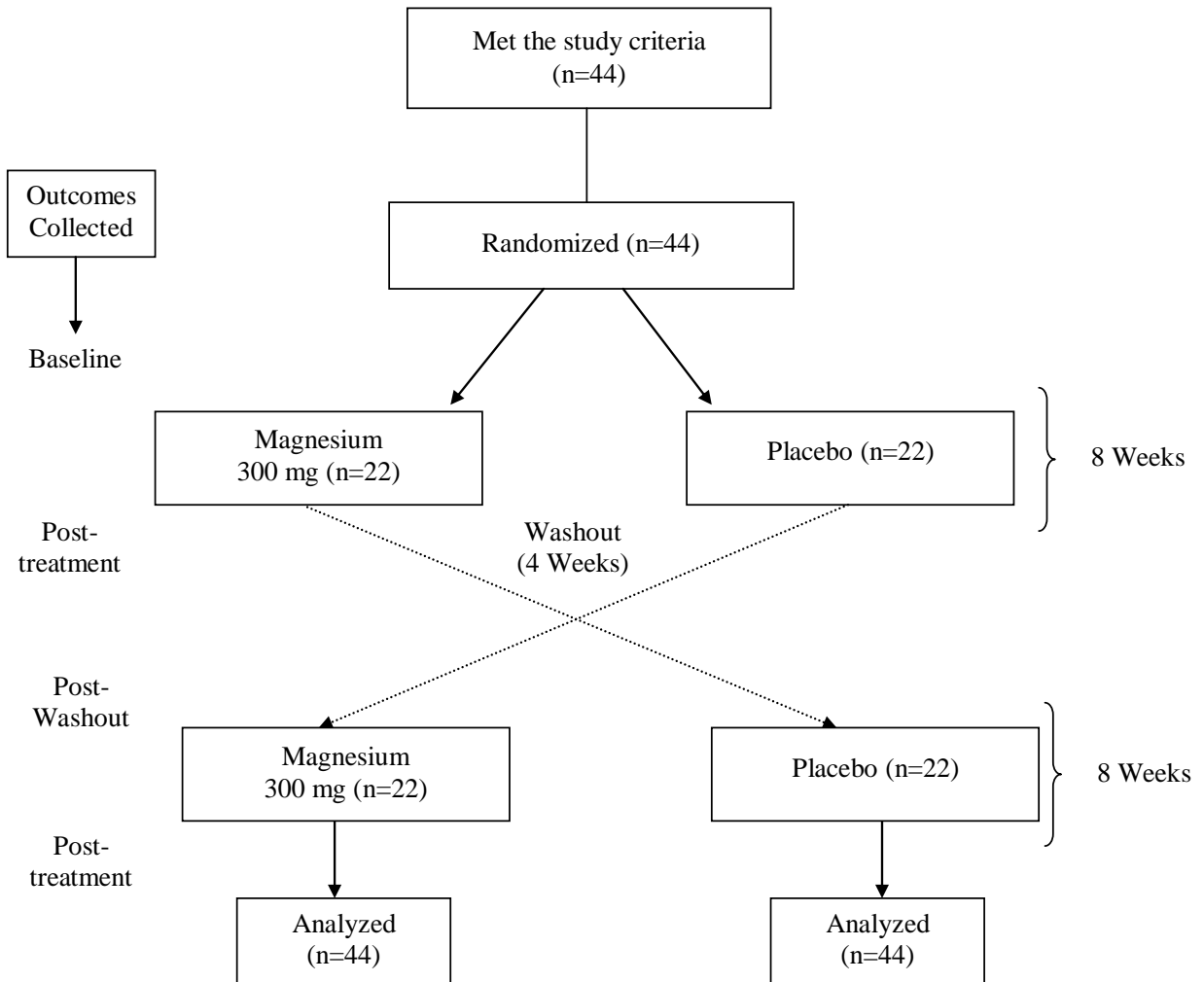
All children were undergoing conventional treatment for CF, including respiratory medications, pancreatic enzyme, and supplementation of water-soluble and fat-soluble vitamins according to the European Consensus (2, 19).

After an initial screening and run-in period of 4 weeks, the 44 patients were randomly assigned to the study treatments. Each participant received 300 mg of oral magnesium-glycine (MG,  $n = 22$ ) or placebo control (PC,  $n = 22$ ) once daily for 8 weeks, with a wash-out period of 4 weeks between trials (**Figure 1**). Magnesium amino acid chelate Taste Free (lot number 251755) from Albion Laboratory (São Paulo, Brazil) was used. The magnesium's dose used for each participant ranged from 5 to 12 mg/Kg/day according to the RDA recommendations. In the initial phase of the study we have evaluated the average weight of the group to perform a stratified randomization. Thus, we arbitrarily choose the dose of 300 mg/day based on the median weight of the children and adolescents included at the study ( $40 \text{ Kg} \times 7.5 \text{ mg/Kg} = 300 \text{ mg/day}$ ). Patient compliance to the prescribed Mg therapeutic regimen was assessed in a monthly follow-up with a questionnaire.

Investigators and patients were blinded to the randomization, drug manipulation, and dispensing, which were performed independently from the recruitment and assessment of participants. The Mg and placebo powders were similar in appearance and were pre-packaged by a pharmacist in identical containers that were coded according to a randomized sequence.

Stratified randomization was performed using a computer-generated table of random numbers, and participants were randomly assigned to the interventional or placebo group. The randomization code was broken at the end of the study (20). The magnesium powder was provided in a single dose packet. The same researcher provided the packages containing either Mg or placebo in each appointment to ensure the accuracy. Glycine was used as placebo, so the difference between the two groups was only the presence or absence of magnesium. The magnesium or placebo presented a similar taste and appearance. The adherences were evaluated in each appointment, checking the empty used packages brought by the parents or legal responsible family. If the patients used less than 80% of the doses/month of Mg/placebo, they were excluded.

The experimental protocol included clinical evaluation and assessment of urinary Mg and strength of respiratory musculature. All of these assessments were performed at the beginning of the trial as well as after 60 days of Mg or placebo administration during both trial periods. Maximal inspiratory and expiratory pressures (MIP and MEP, respectively) were measured as indices of respiratory muscle strength. The primary outcome was MIP, and the secondary outcomes were MEP and respiratory disease severity assessed by the Shwachman-Kulczycki (SK) score.

**FIGURE 1.** Flow chart of study enrollment and design.



### **Maximal respiratory pressures**

MIP and MEP were measured using an analogical manuvacuometer (Imebrás<sup>TM</sup>, São Paulo, SP, Brazil), with operating intervals of 0–300 cm H<sub>2</sub>O. All the tests were performed according to ATS/ERS statements (21) by the same member of the research team. Inspiratory and expiratory muscle strength were measured before and immediately after each treatment period using maximal static pressures produced at the mouth. MIP was measured at residual volume and MEP was measured at total lung capacity with the subject seated in a hard backed chair. Each pressure was measured at 1 minute intervals, a minimum of three times until there was less than 10% difference between the two highest values. The maximal MIP and MEP respiratory pressure values were described and analyzed as percent predicted values for the study subjects. The predicted values were based on those reported by Wilson et al. (22).

### **Clinical assessment**

The SK score was calculated by a pediatric pulmonologist with expertise in CF. The SK score is divided into 4 domains: general activity, physical examination, nutrition, and radiological findings. Each of these domains has 5 possible sub-scores based on the degree of impairment. The scores of the 4 domains are summed to obtain the final score, from which the condition of the patient is categorized as excellent (86–100 points), good (71–85 points), average (56–70 points), poor (41–55 points), or severe ( $\leq 40$  points) (23).

### **Anthropometry**

Anthropometric measurements included weight, height and body mass index (BMI). Weight (in Kg) was measured using an anthropometric platform scale (Filizola S.A., São Paulo, Brazil), and height (in cm) was measured using a stadiometer attached to the same scale. BMI was calculated as  $\text{weight}/\text{height}^2$ . Values were expressed as z scores and anthropometric measurements followed the European Consensus (19).

### **Urinary concentration of Mg**

Urinary concentration of Mg was assessed in all patients before and after each study period. Urinary Mg concentration was determined through the VITROS Mg slide method with

Mg Slides and Chemistry Products Calibrator Kit 1 in VITROS 250/350/950/5, 1 FS and 4600 chemistry systems, and the 5600 Integrated System (Johnson & Johnson, São José dos Campos – SP, Brazil).

## **ETHICS**

Written informed consent was obtained from each participant and/or their parents before the study. The Research Committee approved both the informed consent and the experimental protocol in accordance with the Brazilian Ministry of Health/Brazilian National Committee on Ethics in Research, Resolution No. 196/1996. All procedures were conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1975 as revised in 1983.

## **STATISTICAL ANALYSES**

On the basis of our previous pilot study (data not published), a sample size of 19 patients was determined for each group, considering appropriate calculations for randomized clinical trials and the possibility of a type II error. Considering a standard deviation of 6.46 base units of MIP (% predicted) used as the primary outcome, we calculated that 19 subjects in each group would be required for 85% power at the 5% level of significance (single paired Student t-test). On the expectation of a 15% withdrawal rate, we recruited subjects until a total of 22 in each group. Descriptive statistics were assessed accordingly. Categorical variables were described with the absolute value and frequency and continuous variables were described as mean and standard deviation or median, according to the analysis of data normality. The results are represented as box plot and tables showing the mean and standard deviation or median, minimum and maximum as appropriate.

Student's t-test was used to compare age, weight, and body mass index (BMI) in both groups. The Mann Whitney U-test was used to compare height. Chi-square and Fisher's exact tests were used to analyze gender and race, respectively. Since the urinary concentrations of Mg were normally distributed, a single paired Student t-test was used.

Normality was tested for all outcomes. Since a crossover design was used and the results were not normally distributed, the Wilcoxon Signed-Rank test was used. All data were entered before the treatment codes were broken, and were analyzed using Statistical Package for Social Sciences (SPSS, version 17 for Windows, Chicago, IL);  $p < 0.05$  was considered significant (24).

## RESULTS

Forty-four patients screened for participation in this study met the study criteria. There were no dropouts. No carry-over effect was seen in the groups starting with either Mg or placebo. Although it is impossible to accurately test for the presence of a “carryover” effect (i.e., whether the effect of treatment “carries over” and impacts results while on placebo) in a traditional 2 X 2 crossover design (two groups, two periods) such as this one, we have tested the effects of sequence and period-by-treatment interaction, which are possible indicators of a carryover effect. The effects of sequence and period-by-treatment interaction were not significant for any outcomes ( $p > 0.05$  for all outcomes, ANOVA).

No adverse effects of Mg toxicity such as vomiting, double vision, feeling of warmth, flushing and hypotension were reported from patients in either group.

Randomization resulted in a well-balanced equivalent distribution of patients with respect to age, gender, race (self-reported), weight, height, BMI, forced expiratory volume in 1 s (FEV1) and pancreatic insufficiency (PI) at baseline. These results are shown in **Table 1**. Both groups showed appropriate compliance.

**Table 2** shows the urinary concentration of Mg and SK score data at baseline and at the end of follow-up for both groups.

**Figure 2** shows that after the intervention period, MIP showed an 10% (0%, 30%) predicted increase; from 97.5% (60%, 150%) to 100% predicted (65%, 160%) in the Mg group with no increase 0% predicted (-10%, 20%); from 100% predicted (60%, 150%) to 100% (60%, 160%) in the placebo group. MEP also showed a 10% (0%, 50%) predicted increase; from 90% predicted (60%, 150%) to 100% predicted (70%, 170%) after Mg administration with no increase 0% predicted; from 92.5% predicted (60%, 150%) to 90% predicted (60%, 150%) after placebo administration. The differences between the intervention and placebo periods were statistically significant ( $p < 0.001$  for both MIP and MEP).

**TABLE 1.** Characteristics of the cystic fibrosis enrolled patients.

<b>Characteristics</b>	<b>All (n = 44)</b>	<b>MG (n = 22)</b>	<b>PC (n = 22)</b>	<b>p value</b>
Age (y)	12.86 ± 3.72	12.68 ± 3.73	13.05 ± 3.79	0.75 <sup>1</sup>
Gender (M:F)	20 : 24	10 : 12	10 : 12	1.00 <sup>2</sup>
Race (C:B)	39:5	19:3	20:2	1.00 <sup>3</sup>
Weight (kg)	39.63 ±12.81	39.22 ± 12.86	40.04 ± 13.04	0.83 <sup>1</sup>
z escore	-1.13 ± 1.37	-1.08 ± 1.3	-1.18 ± 1.47	0.60 <sup>4</sup>
Height (m)	1.46 ± 0.17	1.46 ± 0.18	1.47 ± 0.18	0.94 <sup>4</sup>
z escore	-1.10 ± 1.34	-1.0 ± 1.25	-1.20 ± 1.44	0.29 <sup>4</sup>
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	17.95 ± 2.52	17.68 ± 2.24	18.21 ± 2.69	0.49 <sup>1</sup>
z escore	-1.15 ± 1.37	-1.09 ± 1.31	-1.20 ± 1.46	0.43 <sup>4</sup>
FEV1 (%)	75 ± 23	69 ± 25	80 ± 18	0.26 <sup>4</sup>
PI	7/44 (15.9%)	3/22 (13.6%)	4/22 (18.2%)	1.00 <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Student's t test, <sup>2</sup> Chi-Square test, <sup>3</sup> Fisher's test, <sup>4</sup> Mann Whitney test  
 MG = magnesium group, PC = placebo control group, C = Caucasian, B = Black;  
 FEV1 = forced expiratory volume in 1 s expressed as % predicted;  
 PI = pancreatic insufficiency

**TABLE 2.** Urinary concentration of magnesium and SK score data at baseline and at the end of the follow up for both groups.

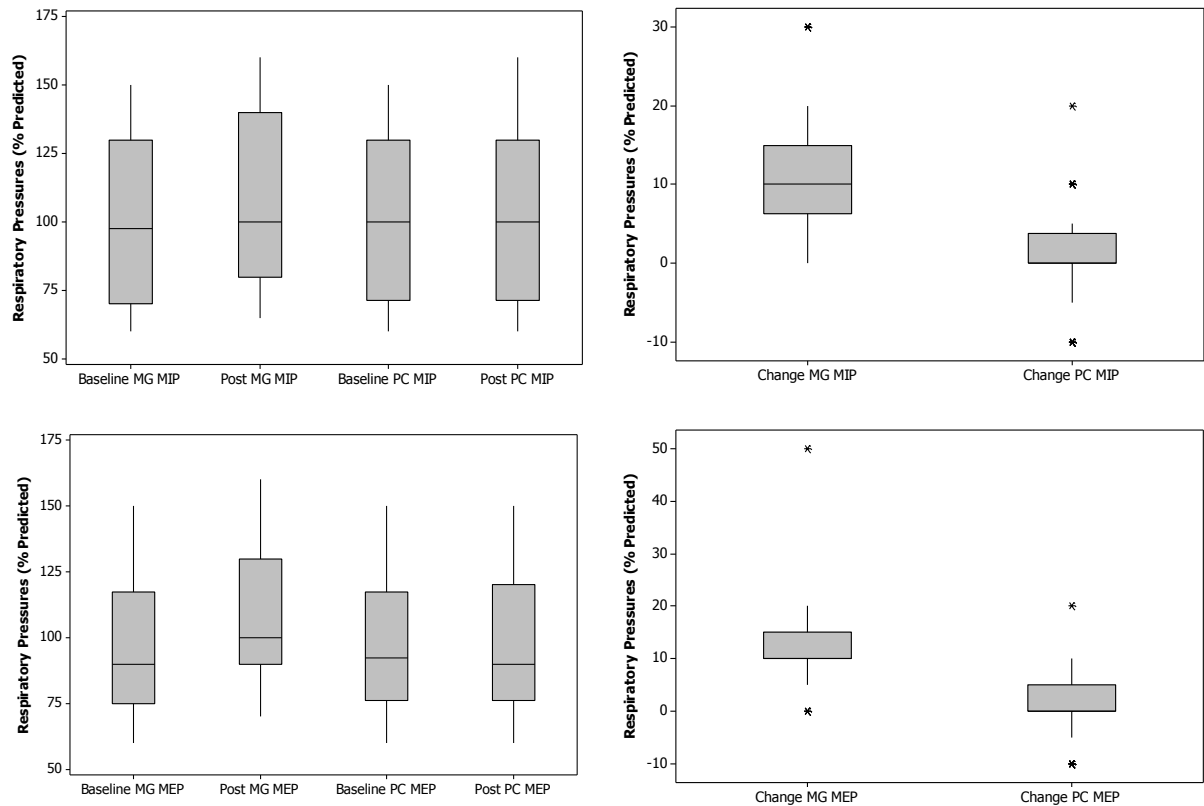
	Magnesium group (n=44)			Placebo-control group (n=44)			p value*
	Baseline	Post	Change	Baseline	Post	Change	
Ur Mg	39.69±9.46	76.08±16.09	36.38±11.29	39.94±9.89	40.66±9.92	0.72±3.21	<0.001
SK score	80 (57,100)	85 (60,100)	5 (2.8, 6)	79 (60,100)	77 (60,100)	0 (-2.4, -0.19)	<0.001

\* Student`s t test for Ur Mg and Wilcoxon Signed Ranks Test for SK score

Ur Mg - Urinary magnesium concentration – mg/day – Mean ± SD

SK score - Shwachmann-Kulczycki score – Median (minimum, maximum and 95% CI for change)

**FIGURE 2.** Respiratory muscle strength assessment: Baseline, post treatment and change comparison in maximal respiratory pressure values (MIP and MEP) assessed by manuvacuometry in both groups (n=44).



MIP = maximal inspiratory pressure, MEP = maximal expiratory pressure

MG = magnesium group, PC = placebo control group

p values for change comparison in MIP and MEP between magnesium and placebo treatments were calculated by using Wilcoxon Signed Ranks test ( $p < 0.001$  for both).

## DISCUSSION

Our results showed that after 2 months, children and adolescents with CF who were receiving conventional therapy for CF and oral Mg supplementation achieved a significant improvement in the functional status of the respiratory musculature, as assessed by manuvacuometry. Significant clinical improvements, shown by means of the SK score, were also observed.

To the best of our knowledge, the current study is the first performed in pediatric CF subjects to investigate the effects of oral Mg administered on a regular basis. Up to the time of the study outline, there was lack of data that could be used as parameters for improved planning in CF pediatric subjects in terms of effective doses of Mg, length of treatment period, and possible side effects. Some of the available data were based on studies performed in adult patients and those with other respiratory diseases (10, 14). Other data were obtained from updated reviews of the physiological, clinical, and analytical aspects of the use of Mg in different diseases (6).

Assessment of age, weight, height, race, and gender indicated that our population was homogeneous. Moreover, the characteristics of our population were similar to those of CF children in other studies. Even after randomization, the 2 groups retained similar demographic characteristics without any statistically significant differences.

The assessment of serum Mg concentrations is not an accurate reflection of the Mg status of muscle, bone, and other tissues. There is a poor correlation between serum and intracellular Mg concentrations, most probably because only 1% of total body Mg reserves can be found in the whole blood (6). We therefore decided to check the urinary concentration of Mg before and after each period of Mg or placebo administration (25).

Many factors may be responsible for Mg deficiency in CF patients. First, current dietary surveys show that the average Mg intake in western countries is often below the RDA recommendations (280 and 350 mg/day for female and male adults, respectively) (26). Second, gastrointestinal malabsorption, a common symptom of CF, may cause hypomagnesaemia (27). Third, certain antibiotics and chemotherapeutic agents used by CF patients also induce hypomagnesaemia agents such as amphotericin B, cyclosporine, aminoglycosides and tobramycin (28). Mg supplementation is therefore a promising strategy for improving clinical symptoms and respiratory musculature strength in CF patients, as was shown by this trial.

The Mg's dose used was standardized for all children and adolescents to facilitate the pharmacological preparation and the blinding. Although, we don't believe that the standardized dose could have affected the trial since the group was stratified. Besides, in our sample we had only 4 children aged 7-8 years (stratified 2 in each group), which used a higher dose of magnesium (10-12 mg/kg/day). None of them had side effects during the supplementation for 8 weeks.

Interestingly, only those patients who received oral Mg in the study period presented with better clinical symptoms as assessed by SK score. In a study by Stollar et al., the SK score was reported to be a useful and simple tool for monitoring the severity of CF (29). In the analysis of SK score, the improvement occurred more specifically in the domains general activity and physical examination.

The proposed action of Mg in CF patients is not completely understood. ATP regulates opening and closing of the CFTR Cl channel, and Mg plays a role in many crucial enzyme systems, especially those involving ATP metabolism (30).

Moreover, Mg acts as a cofactor in the enzymatic degradation of DNA by rhDNase-I, so a minimum concentration of Mg is required to obtain optimal rhDNase-I activity (31). Addition of Mg to sputum samples that cannot be degraded by rhDNase I enables these samples to be degraded by that enzyme (31). Sanders et al. have shown that the effect of Mg on rhDNase I is mediated through actin and that oral intake of Mg enhances its concentration in the sputum of CF patients (8). Failure of rhDNase I may therefore be overcome by combining rhDNase with oral Mg supplements.

In the analyses of the functional status of the respiratory musculature, our findings were similar to those reported using the SK score because at the end of the follow-up period, we observed significant improvement in MIP and MEP values. MIP reflects the strength of the diaphragm and other inspiratory muscles, while MEP reflects the strength of the abdominal muscles and other expiratory muscles (21). Mg plays an important role in muscle tissue. The skeletal muscle cells contain long complex fibers made up of the proteins actin and myosin. These proteins work together to promote contraction and relaxation of muscle fibers. Mg helps to provide these contractile fibers the energy they require to function (6).

Besides, maximal voluntary ventilation is a test of the overall function of the respiratory system. The respiratory system exists in an oxygenated milieu and is continuously exposed to



both endogenous and exogenous oxidants and irritants. A variety of dietary-dependent defenses have evolved to protect the lungs. These comprise vitamins, proteins, polyphenols, fatty acids, and co-factors (16). Mg has a variety of functions, including acting as a co-factor for sodium and potassium-ATPase, which is responsible for maintaining muscle membrane potential and action potential propagation. Mg deficiencies can result in muscle weakness and cramping (6).

Inflammation is a major pathophysiological feature of the lung disease in CF, and the abnormal CFTR function is probably also involved in this inflammatory process (32). Recently, oxidative stress has been increasingly recognized as one of the major factors contributing to the chronic inflammatory process in CF (33).

Mg is closely related to the immune system, both nonspecific and specific immune responses (i.e., innate and acquired immune responses) (34). Furthermore, Mg is also a co-factor in over 300 enzymatic reactions, and its deficiency is linked to inflammation and oxidative stress (35). For example, it is a cofactor for glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase, 2 pentose-cycle enzymes catalyzing the production of NADPH from NADP<sup>+</sup>. Thus, a deficiency of dietary Mg reduces glutathione reductase activity and results in radical-induced protein oxidation and marked lesions in tissues like the skeletal muscles, brain, kidneys, and lungs (36).

In conclusion, our double-blind randomized crossover study showed that children and adolescents with CF who receive conventional treatment in combination with oral Mg supplementation achieve significant improvement in functional status of the respiratory musculature and better clinical results. Further large-scale studies should include other well-established pulmonary function tests to further assess the potential role of Mg supplementation in the management of CF in children and adolescents.

### **CONFLICT OF INTEREST**

The authors had no personal or financial conflict of interest.

### **ACKNOWLEDGMENTS**

The authors wish to thank the statistical advice of Fernando Henrique Pereira, Albion Laboratory for providing magnesium, and Amphora for drug manipulation. We also thank the 44 study participants and their families for their dedication and contribution to the research.

The authors' responsibilities were as follows – Gontijo-Amaral C, Camargos P and Guimarães EV designed the research (ie, project conception, development of overall research plan and study oversight); Gontijo-Amaral C: undertook data collection, wrote and took primary responsibility for the final content of the manuscript; Guimarães EV: supervised the research. All authors assisted in the interpretation of analyses and revision of the manuscript and read and approved the final manuscript

## REFERENCES

1. Staab D. Cystic fibrosis – therapeutic challenge in cystic fibrosis children. *Eur J Endocrinol* 2004; 151(8): 77-80.
2. Flume PA, O’Sullivan BP, Robinson KA, Goss CH, Mogayzel PJ, Willey-Courand DB, Bujan J, Finder J, Lester M, Quittell L et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: Chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 957-69.
3. Foucard T, Gebre-Medhin M, Gustavson KH, Lindh U. Low concentrations of sodium and magnesium in erythrocytes from cystic fibrosis heterozygotes. *Acta Paediatr Scand* 1991; 80(1): 57-61.
4. Gupta A, Eastham KM, Wrightson N, Spencer DA. Hypomagnesaemia in cystic fibrosis patients referred for lung transplant assessment. *J Cyst Fibros* 2007; 6: 360-2.
5. Kelleher J, Goode HF, Field HP, Walker BE, Miller MG, Littlewood JM. Essential element nutrition status in cystic fibrosis. *Hum Nutr Appl Nutr* 1986 Apr; 40(2):79-84.
6. Saris NEL, Mervaala E, Karppanen H, Khawaja JÁ, Lewenstam A. Magnesium: an update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta* 2000; 294 (1-2): 1-26.
7. Arnaud MJ. Update on the assessment of magnesium status. *British Journal of Nutrition* 2008; 99 (3): 24-36.
8. Sanders NN, Franckx H, De Boeck K, Haustraete J, De Smedt SC, Demeester J. Role of magnesium in the failure of rhDNase therapy in patients with cystic fibrosis. *Thorax* 2006; 61(11): 962-6.
9. Rosenecker J, Naundorf S, Rudolph C. Airway surface liquid contains endogenous DNase activity which can be activated by exogenous magnesium. *Eur J Med Res* 2009; 14: 304-8.
10. Ripari P, Pieralisi G, Giamberardino MA, Vecchiet L. Effects of magnesium picolinate on some cardiorespiratory submaximal effort parameters. *Magnesium Res* 1989; 2: 70-4.
11. Lukaski HC. Magnesium, zinc and chromium nutriture and physical activity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 585-93.
12. Mohammed S, Goodacre S. Intravenous and nebulised magnesium sulfate for acute asthma: systematic review and meta-analysis. *Emerg Med J* 2007; 24: 823-30.
13. Gilliland FD, Berhane KT, Li YF, Kim DH, Margolis HG. Dietary magnesium, potassium, sodium, and children’s lung function. *Am J Epidemiol* 2002; 155 (2): 125-31.
14. Gontijo-Amaral C, Ribeiro MAGO, Gontijo LSC, Condino-Neto A, Ribeiro JD. Oral magnesium supplementation in asthmatic children: a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61: 54-60.

15. Alter HJ, Koepsell TD, Hilty WM. Intravenous magnesium as an adjuvant in acute bronchospasm: a meta-analysis. *Ann Emerg Med* 2000; 36: 191-7.
16. Lands LC. Nutrition in pediatric lung disease. *Paediatr Respir Rev* 2007; 8: 305-12.
17. Chacko SA, Sul J, Song Y, Li X, LeBlanc J, You Y, Butch A, Liu S. Magnesium supplementation, metabolic and inflammatory markers, and global genomic and proteomic profiling: a randomized, double-blind, controlled trial in overweight individuals. *Am J Clin Nutr* 2011; 93: 463-73.
18. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by ionophoresis. *Pediatrics* 1959; 23: 545-9.
19. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG, Robberecht E, Döring G. Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus. *J Cyst Fibros* 2002; 1(2): 51-75.
20. Turner RM, White IR, Croudace T. Analysis of Cluster randomized cross-over trial data: a comparison of methods. *Statistics in Medicine* 2007; 26: 274-89.
21. Society AT, Society ER. ATS/ERS statement on respiratory muscle testing. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 528-42.
22. Wilson SH, Cooke N, Edwards R, Spiro S. Predicted normal values for maximal respiratory pressures in Caucasian adults and children. *Thorax* 1984; 39: 535-8.
23. Shwachman H, Kulczycki LL. Long term study of one hundred five patients with cystic fibrosis. *Am J Dis Child* 1958; 96: 6-15.
24. Hedayat AS, Yang M. Optimal and efficient crossover designs for comparing test treatments with a control treatment. *The Annals of Statistics*, 2005; 33(2): 915-43.
25. Bede O, Surányi A, Pintér K, Szlávik M, Gyurkovits K. Urinary magnesium excretion in asthmatic children receiving magnesium supplementation: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Magnesium Res* 2003;16(4):262-70.
26. National Research Council (US). Recommended dietary allowances (10<sup>th</sup> ed.), National Academy Press, Washington, DC; 1989.
27. Hersh T, Siddiqui DA. Magnesium and the pancreas. *Am J Clin Nutr* 1973; 26: 362-6.
28. Atsmon J, Dolev E. Drug-induced hypomagnesaemia: scope and management. *Drug Saf* 2005; 28: 763-88.
29. Stollar F, Adde FV, Cunha MT, Leone C, Rodrigues JC. Shwachman-Kulczycki score still useful to monitor cystic fibrosis severity. *Clinics* 2011; 66 (6): 979-83.
30. Romani A, Scarpa A. Regulation of cell magnesium. *Arch Biochem Biophys* 1992; 298: 1-12.

31. Sanders NN, De Smedt SC, Demeester J. Acoxyribonucle I. In: Mcgrath BM, Walsh G, eds. Directory of therapeutic enzymes. Boca Raton, FL: Taylor & Francis 2006: 97-116.
32. Khan TZ, Wagener JS, Bost T, Martinez J, Accurso FJ, Riches DW. Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:1075-82.
33. Brown RK, Kelly FJ. Role of free radicals in the pathogenesis of cystic fibrosis. *Thorax* 1994; 49: 738-42.
34. Tam M, Gómez S, González-Gross M, Marcos A. Possible roles of magnesium on immune system. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(10): 1193-7.
35. Blache D, Devaux S, Joubert O, Loreau N, Schneider M, Durand P, Prost M, Gaume V, Adrian M, Laurant P, Berthelot A. Long-term moderate magnesium-deficient diet shows relationships between blood pressure, inflammation and oxidant stress defense in aging rats. *J Free Radic Biol Med* 2006; 41: 277-84.
36. Rock E, Astier C, Lab C, Vignon X, Gueux E, Motta C, Rayssiquier Y. Dietary magnesium deficiency in rats enhance free radical production in skeletal muscle. *J Nutr* 1995; 125: 1205-10.

## ***6 Conclusões***

---

---

A avaliação dos resultados obtidos do estudo clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado, permite concluir que a suplementação oral de magnésio, na forma quelado com glicina, em escolares e adolescentes, com fibrose cística proporcionou:

- a) melhora nos valores da função pulmonar medidos: CVF, VEF1 e VEF1/CVF;
- b) melhora da força muscular respiratória com melhora nas pressões respiratórias máximas (PI<sub>max</sub> e PE<sub>max</sub>) avaliado pela manuvacuometria.
- c) melhora clínica da fibrose cística, avaliado pelo escore de Shwachman-Kulczycki.

## *7 Considerações finais*

---

---



Antes de iniciar o estudo foi realizada uma investigação bibliográfica extensa relacionando o uso de magnésio em pacientes com doenças pulmonares. Foi verificado que existem muitos estudos avaliando o uso do magnésio na asma, doença pulmonar obstrutiva crônica e outras doenças respiratórias; entretanto, até onde pudemos investigar, o seu uso na fibrose cística não havia sido avaliado até o momento. Neste sentido, por se tratar de um estudo inédito, faltavam dados de referência importantes para nos direcionar no planejamento do estudo como a dose efetiva de magnésio que poderia ser utilizada nos escolares e adolescentes com fibrose cística, a duração do tratamento, o período de intervalo (“wash out”) para o cruzamento e os possíveis efeitos adversos. Alguns destes dados foram obtidos a partir de uma extensa revisão dos aspectos fisiológicos, clínicos e analíticos do uso do magnésio em diferentes doenças tanto em adultos quanto em crianças.

Os resultados deste estudo nos permitem fazer algumas considerações que podem ser importantes para direcionar novas pesquisas neste sentido:

- 1- A dose de magnésio foi padronizada em 300 mg/dia para todos os escolares e adolescentes com o objetivo de facilitar a administração e o duplo cego, ou seja, dos pacientes e dos pesquisadores. Ao término do estudo, verificamos que a dose foi eficaz em proporcionar melhora clínica, espirométrica e manuvacuométrica do grupo como um todo, entretanto novos estudos poderiam avaliar a dose efetiva por faixa etária e peso. Será que as crianças com menor peso corporal poderiam ter uma resposta dos mesmos parâmetros avaliados com uma dose menor de magnésio?
- 2- A duração do tratamento avaliado (2 meses) foi suficiente para mostrar melhora clínica, espirométrica e manuvacuométrica do grupo. Entretanto, esta melhora foi observada durante o período estudado. Como, após o período de dois meses de suplementação não foi verificado o efeito de carreamento, ou seja, não houve efeito residual após o intervalo de uso (“wash out”), isto nos permite inferir que possivelmente os efeitos benéficos constatados permanecerão enquanto os pacientes estiverem em uso do magnésio. Será que o fato de não ter ocorrido o efeito de carreamento do magnésio não poderia indicar uma ação do magnésio no defeito iônico básico da fibrose cística?
- 3- Novos estudos podem ser conduzidos com o uso do magnésio em longo prazo. Todavia, como o magnésio tem uma relação bioquímica com outros minerais como o cálcio, seria importante investigar se o uso contínuo do magnésio não alteraria o equilíbrio iônico de outros minerais.

- 4- Não foram verificados eventos adversos com o uso de 300 mg/dia de magnésio oral por dois meses no grupo estudado. Porém, para novos estudos com o uso de magnésio em longo prazo seria importante observar a possibilidade de ocorrência de eventos adversos.
- 5- Este estudo permitiu verificar o efeito benéfico do magnésio oral em crianças e adolescentes com fibrose cística. Como existem controvérsias nos métodos de avaliação das dosagens de magnésio que indicam as reais reservas corporais, não foi possível avaliar se os pacientes com deficiência de magnésio por algum desequilíbrio nutricional se beneficiaram mais do seu uso comparado com aqueles com nível de magnésio corporal adequado. Não foi possível avaliar se a melhora foi pelo efeito nutricional ou farmacológico do magnésio. Novos estudos podem ser planejados com este objetivo.
- 6- A fibrose cística é uma doença que tem uma expectativa de diminuição do VEF1 (cerca de 1% ao ano). Com a suplementação de magnésio oral houve um aumento no VEF1 de 4%, podendo indicar uma ação benéfica do magnésio na evolução natural da doença.
- 7- Neste estudo foi avaliado a espirometria, a manuvacuometria e o escore clínico SK, porém novos estudos poderiam avaliar desfechos clínicos como necessidade de uso de antibióticos, taxa de hospitalização, melhora na qualidade de vida e sobrevida.

Como primeiro estudo realizado em crianças e adolescentes com fibrose cística, com a administração oral de magnésio quelado com glicina não foi verificado nenhum efeito adverso. Verificou-se que a dose de 300 mg/dia foi suficiente para melhora clínica, avaliado pelo escore de Shwachman-Kulczycki, da função pulmonar e da avaliação funcional da musculatura respiratória medido pela manuvacuometria. Os resultados do presente estudo, realizado em crianças e adolescentes, evidenciam um efeito benéfico do magnésio na fibrose cística. Outros estudos são necessários para estabelecer a eficácia e efetividade do magnésio administrado por via oral na fibrose cística, bem como para descobrir o seu mecanismo de ação.

## *8 Apêndices e Anexos*

---

---

### APÊNDICE A - Ficha de controle do paciente

Identificação							
Nome:				Grupo: ____/ ____			
HC:		Data de nascimento:		Idade:			
Sexo:		Raça:		Fone:			
Dosagens séricas e urinária							
Exame	Antes do estudo		Exame	Antes do estudo			
Uréia			Cálcio				
Creatinina			Magnésio				
Sódio			Gordura fecal				
Potássio							
Cloro				Tempo 1		Tempo 2	
IgE				Antes	Após	Antes	Após
Fósforo			Mg urina				
Avaliação Nutricional							
Variáveis		Tempo 1		Tempo 2			
		Antes	Após	Antes	Após		
Peso (Kg)							
Altura (cm)							
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )							

<b>Avaliação Respiratória</b>				
<b>Parâmetros</b>	<b>Tempo 1</b>		<b>Tempo 2</b>	
	<b>Antes</b>	<b>Após</b>	<b>Antes</b>	<b>Após</b>
<b>VEF1</b>				
<b>CVF</b>				
<b>VEF1/CVF</b>				
<b>FEV 25-75%</b>				
<b>PFE</b>				
<b>Saturação de O<sub>2</sub></b>				
<b>FR</b>				
<b>FC</b>				
<b>Exame Funcional da musculatura esquelética</b>				
<b>Parâmetros</b>	<b>Tempo 1</b>		<b>Tempo 2</b>	
	<b>Antes</b>	<b>Após</b>	<b>Antes</b>	<b>Após</b>
<b>PI<sub>máx<sub>vr</sub></sub></b>				
<b>PE<sub>máx<sub>vr</sub></sub></b>				
<b>Outros Parâmetros</b>				
	<b>Tempo 1</b>		<b>Tempo 2</b>	
	<b>Antes</b>	<b>Após</b>	<b>Antes</b>	<b>Após</b>
<b>Escore de Shwachman</b>				
<b>Atividade Geral</b>				
<b>Exame Físico</b>				
<b>Nutrição</b>				
<b>TOTAL</b>				

## **APÊNDICE B - Escore de Shwachman-Kulczycki**

### **Classificação do Escore de Shwachman-Kulczycki**

**grave:** < 40

**moderado:** 55 - 40

**leve:** 70 - 56

**bom:** 85 - 71

**excelente:** 100 - 86

<b>Pontuação</b>	<b>ATIVIDADE GERAL</b>	<b>EXAME FÍSICO</b>
25	Atividade plena; tolerância ao exercício normal; boa disposição; desenvolvimento motor normal; frequência escolar normal	S/ tosse; FC e FR normais; s/ evidências de enfisema; pulmões limpos à ausculta; boa postura; s/ baqueteamento
20	Leve limitação a atividade intensa, cansa ao final do dia ou após exercício prolongado; menos energético; limite inferior do desenvolvimento motor normal; ocasionalmente irritado ou apático; boa frequência escolar	Tosse seca ocasional; FC e FR normais no repouso; enfisema leve; MV rude, roncos e TE prolongado ocasionais; boa postura; baqueteamento leve
15	Descansa voluntariamente; cansa após exercício; moderadamente inativo; leve retardo motor; falta espontaneidade; passivo ou irritável; frequência escolar regular	Tosse leve e crônica matinal após exercício/choro e ocasionalmente durante o dia; s/tosse noturna; FC e FR levemente ↑; ↑ diâmetro AP e diafragma rebaixado; MV rude, creptantes, roncos/sibilos; baqueteamento 1/2
10	Atividade física e tolerância ao exercício limitadas; dispnéico após exercícios; retardo motor moderado; agitado ou irritado; preguiçoso ou abatido; frequência escolar baixa; pode requerer professor particular	Tosse crônica, freqüente, repetitiva, produtiva, raramente paroxística; FC e FR ↑ moderado; enfisema moderado a grave, frequentemente c/ deformidade ao RX; creptantes, roncos e sibilos usualmente presentes e disseminados, baqueteamento 2/3
05	Limitação grave da atividade; dispnéia e ortopnéia; inativo ou confinado a cama/cadeira; marcado retardo motor; apático ou irritado; não pode assistir às aulas	Tosse severa paroxística, freqüente, produtiva, frequentemente c/ vômitos e hemoptise; tosse noturna; taquipnéia e taquicardia; enfisema grave; creptantes, roncos e sibilos generalizados; expiração audível; Má postura; 3/4 baqueteamento; cianose freq
<b>Pontuação</b>	<b>NUTRIÇÃO</b>	<b>ACHADOS RADIOLÓGICOS</b>
25	Peso e altura acima do %25 ou compatível c/ padrão familiar; tônus e massa muscular normais; gordura subcutânea normal; maturação sexual normal; fezes quase normais; bom apetite	S/ evidências de enfisema; s/ aumento na trama broncovascular; s/ infiltrações ou atelectasias
20	Peso e altura acima do %10 ou levemente abaixo do padrão familiar; tônus e massa muscular bons; tecido subcutâneo levemente diminuído; maturação sexual levemente retardada; apetite normal e fezes + frequentemente e leve alteração	Evidências mínima de enfisema; leve aumento da trama broncovascular; s/ infiltrados ou atelectasias
15	Peso e altura acima do %3 ou moderadamente abaixo do padrão familiar; peso usualmente deficiente para altura; tônus e massa muscular regulares; gordura subcutânea deficiente, abdome levemente distendido; maturação sexual retardada; apetite regular; fezes volumosas, mau cheiro, flutuantes formadas	Enfisema moderado; diâmetro AP aumentado; campos pulmonares mais radiolucentes, diafragma moderadamente rebaixado; trama broncovascular aumentada; atelectasias localizadas ou irregulares; infiltrado ocasional transitório
10	Peso e altura acima do %3 e deficiente para altura; tônus e massa muscular pobres; deficiência marcada de gordura subcutânea; distensão abdominal moderada; maturação sexual insuficiente, sem estirão; mau apetite; fezes pouco formadas, volumosas, mau cheiro, gordurosas	Enfisema marcado; aumento do diâmetro AP marcado; marcado rebaixamento do diafragma; silhueta cardíaca estreita; áreas de atelectasias disseminadas; atelectasias segmentares ou lobares ocasionais; focos persistentes de infiltrações; cistos localizados; aumento marcado da trama
05	Mal-nutrido e baixo; músculos fracos, flácidos e pequenos; s/ gordura subcutânea; perda de peso freqüente; fezes freqüentes, volumosas, mau cheiro e gordurosas; prolapso retal freqüente	Alterações extensivas; hiperinsuflação grave; infiltrado e atelectasias disseminadas; formação disseminada de cistos; formação de bronquiectasias e abscessos; atelectasias lobares persistentes

**APÊNDICE C - Questionário para avaliar o estado geral do Escore SK**

<b>Atividade Geral</b>		
25	Atividade plena Tolerância ao exercício normal Boa disposição Frequência escolar normal	S() N() S() N() S() N() S() N()
20	Leve limitação atividade intensa Cansa fim no dia/pós-exercício Menos disposto Ocasionalmente irritado/apático Boa frequência escolar	S() N() S() N() S() N() S() N() S() N()
15	Descansa voluntariamente Cansa após exercício Moderadamente inativo Leve retardo motor Falta espontaneidade Passivo ou irritado Frequência escolar regular	S() N() S() N() S() N() S() N() S() N() S() N() S() N()
10	Atividade física/tolerância ao exercício limitado Dispneico após exercícios Retardo motor moderado Agitado ou irritado Preguiçoso ou abatido Frequência escolar baixa Requer professor particular	S() N() S() N() S() N() S() N() S() N() S() N() S() N()
05	Limitação grave da atividade Sipnéia e ortopnéia Inativo/confinado cama/cadeira Marcado retardo motor Apático ou irritado; Não pode assistir às aulas	S() N() S() N() S() N() S() N() S() N() S() N()



**APÊNDICE D - Consentimento livre e esclarecido****CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR NA PESQUISA**

**TÍTULO DA PESQUISA: “Magnésio oral em crianças com Fibrose Cística: estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado”**

**ACIMA DE 18 ANOS**

**PESQUISADORES:** Clésio Gontijo do Amaral  
Elizabet Vilar Guimarães

**INSTITUIÇÃO RESPONSÁVEL:** Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

**PATROCÍNIO:** Esta pesquisa terá o apoio do NUPAD (Núcleo de Apoio e Pesquisa em Ações Diagnósticas) e o magnésio será fornecido pela Albion.

**INTRODUÇÃO:**

Antes de aceitar participar desta pesquisa, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve os objetivos, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Também descreve seus direitos inclusive o de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

**OBJETIVO**

Verificar se o magnésio pode melhorar as crianças com fibrose cística, tanto na parte respiratória como nutricional.

**RESUMO**

Os pacientes serão selecionados do ambulatório Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG. O diagnóstico de Fibrose Cística será comprovado por duas dosagens de eletrólitos no suor. Serão

excluídos os pacientes com alteração na função renal e aqueles que estiverem em uso de algum medicamento que afete a absorção ou excreção do magnésio como diuréticos e digoxina. Será um estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado, onde os pacientes serão divididos em dois grupos. Todos os pacientes receberão tratamento convencional para Fibrose Cística com enzima pancreática e orientação nutricional. Um primeiro grupo de pacientes receberão Magnésio-glicina oral na dose de 300 mg, durante 2 meses, além do tratamento convencional. Um segundo grupo receberá placebo. Numa segunda etapa os grupos serão cruzados, ou seja, o grupo que recebeu magnésio passará a receber placebo e vice-versa. Em associação aos dados clínicos, de estado nutricional, funcional da musculatura respiratória e espirométricos, será aplicado o escore de Shwachman para avaliar a gravidade da doença respiratória; em ambos os grupos, antes e após a suplementação nas duas etapas.

## **PROCEDIMENTOS**

Sua participação neste estudo se iniciará com a colheita de duas amostras de suor para o diagnóstico de Fibrose Cística. Se o teste for positivo você será informado e convidado a participar do estudo. Em seguida serão realizados os seguintes exames laboratoriais, antes e após o término do estudo: RX de tórax, hemograma, albumina, gordura fecal de 24h em fezes de 72h, dosagem de Cloro no suor, excreção urinária de magnésio, dosagem sérica de IgE, uréia, creatinina, sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo e magnésio. Na primeira consulta, você será avaliado pela equipe multiprofissional, composta pela equipe médica dos setores de nutrologia (médico responsável pela pesquisa), gastroenterologia e pneumologia pediátrica, além da equipe de nutrição, fisioterapia, psicologia e assistência social.

A avaliação nutricional incluirá a história clínica, nutricional, exame físico e dados antropométricos como o peso, estatura, índice de massa corpórea (IMC), circunferência braquial e pregas cutâneas – tricipital, subescapular e suprailíaca. Para estes exames somente usamos balança, régua e paquímetro (aparelho que mede a dobra de pele) e nenhum deles envolve qualquer risco para você.

A seguir, 15 dias depois da primeira consulta, você será submetido à avaliação funcional da musculatura respiratória pelo manuvacuômetro e avaliação da função pulmonar pela espirometria. Nestes exames você irá assoprar em um aparelho para verificar a força respiratória e não tem nenhum risco.

Numa segunda etapa todos os pacientes incluídos no estudo serão divididos em dois grupos. Metade deles receberá magnésio quelado com glicina na dose de 300 mg por dia e outra metade receberá placebo por 2 meses. Ambos os grupos continuarão com o tratamento habitual para a fibrose cística, incluindo suplementação com enzima pancreática. Após os dois meses de tratamento inicial será dado um mês de intervalo e numa segunda etapa os grupos serão cruzados, ou seja, quem recebeu magnésio passará a receber placebo e vice-versa. Conforme outros estudos já realizados com o uso do magnésio não ocorreram efeitos colaterais. O placebo não apresenta nenhum efeito colateral.

Durante o período do estudo você será orientado a assinalar num diário a administração das medicações em uso, mudanças no aspecto das evacuações, número de crises de desconforto respiratório apresentados, bem como, a gravidade das crises, episódios de tosse, mudança no aspecto do escarro. Neste período o retorno será com 30 dias para avaliação clínica e nutricional.

Ao final dos 2 meses será então feito nova consulta clínica, avaliação nutricional, avaliação funcional da musculatura respiratória e novos testes de função pulmonar com espirometria.

Assim, durante a pesquisa você será acompanhado por um período de 5 meses com a segunda consulta dentro de 15 dias e as demais a cada 30 dias. No total serão 5 consultas.

Os resultados da avaliação clínica, nutricional e pulmonar serão ao término do estudo comparado nos dois grupos, antes e após a administração de magnésio ou placebo.

Desta forma pode-se avaliar a eficácia do magnésio quelado com glicina na melhora clínica, nutricional, funcional da musculatura respiratória e da função pulmonar; de escolares e adolescentes com fibrose cística.

## **DESCONFORTOS**

A retirada de sangue poderá resultar em sensação de tontura, inflamação da veia ou dor, ferimento ou sangramento no local da punção. Há também a remota possibilidade de ocorrer infecção. Os exames serão coletados por profissionais devidamente treinados diminuindo estes riscos. Os exames de fezes e suor não têm nenhum risco. Os exames que avaliam a parte respiratória também são isentos de riscos.

**DANOS**

Na remota possibilidade de você apresentar alguma reação adversa durante e/ou resultante dos procedimentos do estudo, você deverá entrar em contato com a equipe responsável nos seguintes telefones: Clésio Gontijo do Amaral (031-3248-9536 ou 31- 9827-4807), Elizabet Vilar Guimarães (31-3409-9769). Você não abrirá mão de seus direitos legais após você assinar o consentimento informado.

**BENEFÍCIOS**

Um benefício da sua participação neste estudo é a contribuição para o conhecimento científico e médico. Você poderá se beneficiar dos exames que serão realizados e de um melhor seguimento clínico e laboratorial. Também poderá se beneficiar com novas alternativas para o tratamento da Fibrose Cística.

**CONFIDENCIALIDADE**

Os registros da sua participação neste estudo serão mantidos confidencialmente até onde é permitido por lei. No entanto, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG poderá verificar e ter acesso aos dados confidenciais que o identifique pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza o pesquisador a fornecer as suas informações para o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. Não haverá armazenamento de materiais biológicos como sangue, suor ou fezes.

**DESLIGAMENTO E AFASTAMENTO**

Sua participação neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento não envolverá penalidades. Você poderá cessar sua participação a qualquer momento.

**COMPENSAÇÃO**

Você não receberá qualquer compensação financeira pela participação neste estudo.

Durante o estudo, se você tiver qualquer dúvida sobre a pesquisa, por favor, contate também o Comitê de ética em Pesquisas da UFMG no telefone 3409-4592

**CONSENTIMENTO**

Li e entendi todas as informações. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas satisfatoriamente. Este formulário esta sendo assinado voluntariamente por mim, indicando meu consentimento para participar neste estudo, até que eu decida o contrário.

---

Assinatura da Participante / Data

---

Assinatura da Testemunha / Data

---

Assinatura do Pesquisador / Data

**COEP – COMITÊ DE ETICA EM PESQUISA**

**Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Unidade Administrativo II, 2º andar, sala 2005. CEP: 31.270-901 – BH – MG / TEL: 3499-4592 / coep@prpq.ufmg.br.**

**CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR NA PESQUISA**

**TÍTULO DA PESQUISA: “Magnésio oral em crianças com Fibrose Cística: estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado”**

**DE 7 A 12 ANOS**

**PESQUISADORES:** Clésio Gontijo do Amaral  
Elizabet Vilar Guimarães

**INSTITUIÇÃO RESPONSÁVEL:** Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

**PATROCÍNIO:** Esta pesquisa terá o apoio do NUPAD (Núcleo de Apoio e Pesquisa em Ações Diagnósticas) e o magnésio será fornecido pela Albion.

**INTRODUÇÃO:**

Antes de aceitar participar desta pesquisa, é importante que você e seu filho leiam e compreendam a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve os objetivos, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Também descreve seus direitos inclusive o de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

**OBJETIVO**

Verificar se o magnésio pode melhorar as crianças com fibrose cística, tanto na parte respiratória como nutricional.

**RESUMO**

Os pacientes serão selecionados do ambulatório Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG. O diagnóstico de Fibrose Cística será comprovado por duas dosagens de eletrólitos no suor. Serão excluídos os pacientes com alteração na função renal e aqueles que estiverem em uso de algum medicamento que afete a absorção ou excreção do magnésio como diuréticos e digoxina. Será um

estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado, onde os pacientes serão divididos em dois grupos. Todos os pacientes receberão tratamento convencional para Fibrose Cística com enzima pancreática e orientação nutricional. Um primeiro grupo de pacientes receberão Magnésio-glicina oral na dose de 300 mg, durante 2 meses, além do tratamento convencional. Um segundo grupo receberá placebo. Numa segunda etapa os grupos serão cruzados, ou seja, o grupo que recebeu magnésio passará a receber placebo e vice-versa. Em associação aos dados clínicos, de estado nutricional, funcional da musculatura respiratória e espirométricos, será aplicado o escore de Shwachman para avaliar a gravidade da doença respiratória; em ambos os grupos, antes e após a suplementação nas duas etapas.

## **PROCEDIMENTOS**

Sua participação neste estudo se iniciará com a colheita de duas amostras de suor para o diagnóstico de Fibrose Cística. Se o teste for positivo você será informado e convidado a participar do estudo. Em seguida serão realizados os seguintes exames laboratoriais, antes e após o término do estudo: RX de tórax, hemograma, albumina, gordura fecal de 24h em fezes de 72h, dosagem de Cloro no suor, excreção urinária de magnésio, dosagem sérica de IgE, uréia, creatinina, sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo e magnésio. Na primeira consulta, você será avaliado pela equipe multiprofissional, composta pela equipe médica dos setores de nutrologia (médico responsável pela pesquisa), gastroenterologia e pneumologia pediátrica, além da equipe de nutrição, fisioterapia, psicologia e assistência social.

A avaliação nutricional incluirá a história clínica, nutricional, exame físico e dados antropométricos como o peso, estatura, índice de massa corpórea (IMC), circunferência braquial e pregas cutâneas – tricipital, subescapular e suprailíaca. Para estes exames somente usamos balança, régua e paquímetro (aparelho que mede a dobra de pele) e nenhum deles envolve qualquer risco para você.

A seguir, 15 dias depois da primeira consulta, você será submetido à avaliação funcional da musculatura respiratória pelo manuvacuômetro e avaliação da função pulmonar pela espirometria. Nestes exames você irá assoprar em um aparelho para verificar a força respiratória e não tem nenhum risco.

Numa segunda etapa todos os pacientes incluídos no estudo serão divididos em dois grupos. Metade deles receberá magnésio quelado com glicina na dose de 300 mg por dia e outra

metade receberá placebo por 2 meses. Ambos os grupos continuarão com o tratamento habitual para a fibrose cística, incluindo suplementação com enzima pancreática. Após os dois meses de tratamento inicial será dado um mês de intervalo e numa segunda etapa os grupos serão cruzados, ou seja, quem recebeu magnésio passará a receber placebo e vice-versa. Conforme outros estudos já realizados com o uso do magnésio não ocorreram efeitos colaterais. O placebo não apresenta nenhum efeito colateral.

Durante o período do estudo você será orientado a assinalar num diário a administração das medicações em uso, mudanças no aspecto das evacuações, número de crises de desconforto respiratório apresentados, bem como, a gravidade das crises, episódios de tosse, mudança no aspecto do escarro. Neste período o retorno será com 30 dias para avaliação clínica e nutricional.

Ao final dos 2 meses será então feito nova consulta clínica, avaliação nutricional, avaliação funcional da musculatura respiratória e novos testes de função pulmonar com espirometria.

Assim, durante a pesquisa você será acompanhado por um período de 5 meses com a segunda consulta dentro de 15 dias e as demais a cada 30 dias. No total serão 5 consultas.

Os resultados da avaliação clínica, nutricional e pulmonar serão ao término do estudo comparado nos dois grupos, antes e após a administração de magnésio ou placebo.

Desta forma pode-se avaliar a eficácia do magnésio quelado com glicina na melhora clínica, nutricional, funcional da musculatura respiratória e da função pulmonar; de escolares e adolescentes com fibrose cística.

## **DESCONFORTOS**

A retirada de sangue poderá resultar em sensação de tontura, inflamação da veia ou dor, ferimento ou sangramento no local da punção. Há também a remota possibilidade de ocorrer infecção. Os exames serão coletados por profissionais devidamente treinados diminuindo estes riscos. Os exames de fezes e suor não têm nenhum risco. Os exames que avaliam a parte respiratória também são isentos de riscos.



**DANOS**

Na remota possibilidade de seu filho apresentar alguma reação adversa durante e/ou resultante dos procedimentos do estudo, você deverá entrar em contato com a equipe responsável nos seguintes telefones: Clésio Gontijo do Amaral (031-3248-9536 ou 31- 9827-4807), Elizabet Vilar Guimarães (31-3409-9769). Você não abrirá mão de seus direitos legais após você assinar o consentimento informado.

**BENEFÍCIOS**

Um benefício da sua participação neste estudo é a contribuição para o conhecimento científico e médico. Seu filho poderá se beneficiar dos exames que serão realizados e de um melhor seguimento clínico e laboratorial. Também poderá se beneficiar com novas alternativas para o tratamento da Fibrose Cística.

**CONFIDENCIALIDADE**

Os registros da participação de seu filho neste estudo serão mantidos confidencialmente até onde é permitido por lei. No entanto, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG poderá verificar e ter acesso aos dados confidenciais que o identifique pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza o pesquisador a fornecer as suas informações para o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. Não haverá armazenamento de materiais biológicos como sangue, suor ou fezes.

**DESLIGAMENTO E AFASTAMENTO**

A participação de seu filho neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento não envolverá penalidades. Você poderá cessar sua participação a qualquer momento.

**COMPENSAÇÃO**

Você não receberá qualquer compensação financeira pela participação neste estudo.

Durante o estudo, se você tiver qualquer dúvida sobre a pesquisa, por favor, contate também o Comitê de ética em Pesquisas da UFMG no telefone 3409-4592

**CONSENTIMENTO**

Li e entendi todas as informações. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas satisfatoriamente. Este formulário esta sendo assinado voluntariamente por mim, representante legal desta criança, indicando meu consentimento para meu filho participar neste estudo, até que eu decida o contrário.

---

Nome da criança participante / Data

---

Assinatura do Representante Legal da Criança / Data

---

Assinatura da Testemunha / Data

---

Assinatura do Pesquisador / Data

**COEP – COMITÊ DE ETICA EM PESQUISA**

**Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Unidade Administrativo II, 2º andar, sala 2005. CEP: 31.270-901 – BH – MG / TEL: 3499-4592 / coep@prpq.ufmg.br.**

**CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR NA PESQUISA**

**TÍTULO DA PESQUISA: “Magnésio oral em crianças com Fibrose Cística: estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado”**

**DE 13 A 17 ANOS - REPRESENTANTE LEGAL**

**PESQUISADORES:** Clésio Gontijo do Amaral  
Elizabet Vilar Guimarães

**INSTITUIÇÃO RESPONSÁVEL:** Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

**PATROCÍNIO:** Esta pesquisa terá o apoio do NUPAD (Núcleo de Apoio e Pesquisa em Ações Diagnósticas) e o magnésio será fornecido pela Albion.

**INTRODUÇÃO:**

Antes de aceitar participar desta pesquisa, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve os objetivos, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Também descreve seus direitos inclusive o de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

**OBJETIVO**

Verificar se o magnésio pode melhorar as crianças com fibrose cística, tanto na parte respiratória como nutricional.

**RESUMO**

Os pacientes serão selecionados do ambulatório Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG. O diagnóstico de Fibrose Cística será comprovado por duas dosagens de eletrólitos no suor. Serão excluídos os pacientes com alteração na função renal e aqueles que estiverem em uso de algum medicamento que afete a absorção ou excreção do magnésio como diuréticos e digoxina. Será um

estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado, onde os pacientes serão divididos em dois grupos. Todos os pacientes receberão tratamento convencional para Fibrose Cística com enzima pancreática e orientação nutricional. Um primeiro grupo de pacientes receberão Magnésio-glicina oral na dose de 300 mg, durante 2 meses, além do tratamento convencional. Um segundo grupo receberá placebo. Numa segunda etapa os grupos serão cruzados, ou seja, o grupo que recebeu magnésio passará a receber placebo e vice-versa. Em associação aos dados clínicos, de estado nutricional, funcional da musculatura respiratória e espirométricos, será aplicado o escore de Shwachman para avaliar a gravidade da doença respiratória; em ambos os grupos, antes e após a suplementação nas duas etapas.

## **PROCEDIMENTOS**

Sua participação neste estudo se iniciará com a colheita de duas amostras de suor para o diagnóstico de Fibrose Cística. Se o teste for positivo você será informado e convidado a participar do estudo. Em seguida serão realizados os seguintes exames laboratoriais, antes e após o término do estudo: RX de tórax, hemograma, albumina, gordura fecal de 24h em fezes de 72h, dosagem de Cloro no suor, excreção urinária de magnésio, dosagem sérica de IgE, uréia, creatinina, sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo e magnésio. Na primeira consulta, você será avaliado pela equipe multiprofissional, composta pela equipe médica dos setores de nutrologia (médico responsável pela pesquisa), gastroenterologia e pneumologia pediátrica, além da equipe de nutrição, fisioterapia, psicologia e assistência social.

A avaliação nutricional incluirá a história clínica, nutricional, exame físico e dados antropométricos como o peso, estatura, índice de massa corpórea (IMC), circunferência braquial e pregas cutâneas – tricipital, subescapular e suprailíaca. Para estes exames somente usamos balança, régua e paquímetro (aparelho que mede a dobra de pele) e nenhum deles envolve qualquer risco para você.

A seguir, 15 dias depois da primeira consulta, você será submetido à avaliação funcional da musculatura respiratória pelo manuvacuômetro e avaliação da função pulmonar pela espirometria. Nestes exames você irá assoprar em um aparelho para verificar a força respiratória e não tem nenhum risco.

Numa segunda etapa todos os pacientes incluídos no estudo serão divididos em dois grupos. Metade deles receberá magnésio quelado com glicina na dose de 300 mg por dia e outra

metade receberá placebo por 2 meses. Ambos os grupos continuarão com o tratamento habitual para a fibrose cística, incluindo suplementação com enzima pancreática. Após os dois meses de tratamento inicial será dado um mês de intervalo e numa segunda etapa os grupos serão cruzados, ou seja, quem recebeu magnésio passará a receber placebo e vice-versa. Conforme outros estudos já realizados com o uso do magnésio não ocorreram efeitos colaterais. O placebo não apresenta nenhum efeito colateral.

Durante o período do estudo você será orientado a assinalar num diário a administração das medicações em uso, mudanças no aspecto das evacuações, número de crises de desconforto respiratório apresentados, bem como, a gravidade das crises, episódios de tosse, mudança no aspecto do escarro. Neste período o retorno será com 30 dias para avaliação clínica e nutricional.

Ao final dos 2 meses será então feito nova consulta clínica, avaliação nutricional, avaliação funcional da musculatura respiratória e novos testes de função pulmonar com espirometria.

Assim, durante a pesquisa você será acompanhado por um período de 5 meses com a segunda consulta dentro de 15 dias e as demais a cada 30 dias. No total serão 5 consultas.

Os resultados da avaliação clínica, nutricional e pulmonar serão ao término do estudo comparado nos dois grupos, antes e após a administração de magnésio ou placebo.

Desta forma pode-se avaliar a eficácia do magnésio quelado com glicina na melhora clínica, nutricional, funcional da musculatura respiratória e da função pulmonar; de escolares e adolescentes com fibrose cística.

## **DESCONFORTOS**

A retirada de sangue poderá resultar em sensação de tontura, inflamação da veia ou dor, ferimento ou sangramento no local da punção. Há também a remota possibilidade de ocorrer infecção. Os exames serão coletados por profissionais devidamente treinados diminuindo estes riscos. Os exames de fezes e suor não têm nenhum risco. Os exames que avaliam a parte respiratória também são isentos de riscos.

**DANOS**

Na remota possibilidade de você apresentar alguma reação adversa durante e/ou resultante dos procedimentos do estudo, você deverá entrar em contato com a equipe responsável nos seguintes telefones: Clésio Gontijo do Amaral (031-3248-9536 ou 31- 9827-4807), Elizabet Vilar Guimarães (31-3409-9769). Você não abrirá mão de seus direitos legais após você assinar o consentimento informado.

**BENEFÍCIOS**

Um benefício da sua participação neste estudo é a contribuição para o conhecimento científico e médico. Você poderá se beneficiar dos exames que serão realizados e de um melhor seguimento clínico e laboratorial. Também poderá se beneficiar com novas alternativas para o tratamento da Fibrose Cística.

**CONFIDENCIALIDADE**

Os registros da sua participação neste estudo serão mantidos confidencialmente até onde é permitido por lei. No entanto, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG poderá verificar e ter acesso aos dados confidenciais que o identifique pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza o pesquisador a fornecer as suas informações para o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. Não haverá armazenamento de materiais biológicos como sangue, suor ou fezes.

**DESLIGAMENTO E AFASTAMENTO**

Sua participação neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento não envolverá penalidades. Você poderá cessar sua participação a qualquer momento.

**COMPENSAÇÃO**

Você não receberá qualquer compensação financeira pela participação neste estudo.

Durante o estudo, se você tiver qualquer dúvida sobre a pesquisa, por favor, contate também o Comitê de ética em Pesquisas da UFMG no telefone 3409-4592

**CONSENTIMENTO**

Li e entendi todas as informações. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas satisfatoriamente. Este formulário esta sendo assinado voluntariamente por mim, representante legal desta criança, indicando meu consentimento para meu filho participar neste estudo, até que eu decida o contrário.

---

Assinatura do Representante Legal da Criança / Data

---

Assinatura da Testemunha / Data

---

Assinatura do Pesquisador / Data

**COEP – COMITÊ DE ETICA EM PESQUISA**

**Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Unidade Administrativo II, 2º andar, sala 2005. CEP: 31.270-901 – BH – MG / TEL: 3499-4592 / coep@prpq.ufmg.br.**

**CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR NA PESQUISA**

**TÍTULO DA PESQUISA: “Magnésio oral em crianças com Fibrose Cística: estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado”**

**DE 13 A 17 ANOS – ADOLESCENTE**

**PESQUISADORES:** Clésio Gontijo do Amaral  
Elizabet Vilar Guimarães

**INSTITUIÇÃO RESPONSÁVEL:** Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

**PATROCÍNIO:** Esta pesquisa terá o apoio do NUPAD (Núcleo de Apoio e Pesquisa em Ações Diagnósticas) e o magnésio será fornecido pela Albion.

**INTRODUÇÃO:**

Antes de aceitar participar desta pesquisa, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve os objetivos, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Também descreve seus direitos inclusive o de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

**OBJETIVO**

Verificar se o magnésio pode melhorar as crianças com fibrose cística, tanto na parte respiratória como nutricional.

**RESUMO**

Os pacientes serão selecionados do ambulatório Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG. O diagnóstico de Fibrose Cística será comprovado por duas dosagens de eletrólitos no suor. Serão excluídos os pacientes com alteração na função renal e aqueles que estiverem em uso de algum medicamento que afete a absorção ou excreção do magnésio como diuréticos e digoxina. Será um



estudo randomizado, duplo-cego, controlado com placebo e cruzado, onde os pacientes serão divididos em dois grupos. Todos os pacientes receberão tratamento convencional para Fibrose Cística com enzima pancreática e orientação nutricional. Um primeiro grupo de pacientes receberão Magnésio-glicina oral na dose de 300 mg, durante 2 meses, além do tratamento convencional. Um segundo grupo receberá placebo. Numa segunda etapa os grupos serão cruzados, ou seja, o grupo que recebeu magnésio passará a receber placebo e vice-versa. Em associação aos dados clínicos, de estado nutricional, funcional da musculatura respiratória e espirométricos, será aplicado o escore de Shwachman para avaliar a gravidade da doença respiratória; em ambos os grupos, antes e após a suplementação nas duas etapas.

## **PROCEDIMENTOS**

Sua participação neste estudo se iniciará com a colheita de duas amostras de suor para o diagnóstico de Fibrose Cística. Se o teste for positivo você será informado e convidado a participar do estudo. Em seguida serão realizados os seguintes exames laboratoriais, antes e após o término do estudo: RX de tórax, hemograma, albumina, gordura fecal de 24h em fezes de 72h, dosagem de Cloro no suor, excreção urinária de magnésio, dosagem sérica de IgE, uréia, creatinina, sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo e magnésio. Na primeira consulta, você será avaliado pela equipe multiprofissional, composta pela equipe médica dos setores de nutrologia (médico responsável pela pesquisa), gastroenterologia e pneumologia pediátrica, além da equipe de nutrição, fisioterapia, psicologia e assistência social.

A avaliação nutricional incluirá a história clínica, nutricional, exame físico e dados antropométricos como o peso, estatura, índice de massa corpórea (IMC), circunferência braquial e pregas cutâneas – tricipital, subescapular e suprailíaca. Para estes exames somente usamos balança, régua e paquímetro (aparelho que mede a dobra de pele) e nenhum deles envolve qualquer risco para você.

A seguir, 15 dias depois da primeira consulta, você será submetido à avaliação funcional da musculatura respiratória pelo manuvacuômetro e avaliação da função pulmonar pela espirometria. Nestes exames você irá assoprar em um aparelho para verificar a força respiratória e não tem nenhum risco.

Numa segunda etapa todos os pacientes incluídos no estudo serão divididos em dois grupos. Metade deles receberá magnésio quelado com glicina na dose de 300 mg por dia e outra

metade receberá placebo por 2 meses. Ambos os grupos continuarão com o tratamento habitual para a fibrose cística, incluindo suplementação com enzima pancreática. Após os dois meses de tratamento inicial será dado um mês de intervalo e numa segunda etapa os grupos serão cruzados, ou seja, quem recebeu magnésio passará a receber placebo e vice-versa. Conforme outros estudos já realizados com o uso do magnésio não ocorreram efeitos colaterais. O placebo não apresenta nenhum efeito colateral.

Durante o período do estudo você será orientado a assinalar num diário a administração das medicações em uso, mudanças no aspecto das evacuações, número de crises de desconforto respiratório apresentados, bem como, a gravidade das crises, episódios de tosse, mudança no aspecto do escarro. Neste período o retorno será com 30 dias para avaliação clínica e nutricional.

Ao final dos 2 meses será então feito nova consulta clínica, avaliação nutricional, avaliação funcional da musculatura respiratória e novos testes de função pulmonar com espirometria.

Assim, durante a pesquisa você será acompanhado por um período de 5 meses com a segunda consulta dentro de 15 dias e as demais a cada 30 dias. No total serão 5 consultas.

Os resultados da avaliação clínica, nutricional e pulmonar serão ao término do estudo comparado nos dois grupos, antes e após a administração de magnésio ou placebo.

Desta forma pode-se avaliar a eficácia do magnésio quelado com glicina na melhora clínica, nutricional, funcional da musculatura respiratória e da função pulmonar; de escolares e adolescentes com fibrose cística.

## **DESCONFORTOS**

A retirada de sangue poderá resultar em sensação de tontura, inflamação da veia ou dor, ferimento ou sangramento no local da punção. Há também a remota possibilidade de ocorrer infecção. Os exames serão coletados por profissionais devidamente treinados diminuindo estes riscos. Os exames de fezes e suor não têm nenhum risco. Os exames que avaliam a parte respiratória também são isentos de riscos.

**DANOS**

Na remota possibilidade de você apresentar alguma reação adversa durante e/ou resultante dos procedimentos do estudo, você deverá entrar em contato com a equipe responsável nos seguintes telefones: Clésio Gontijo do Amaral (031-3248-9536 ou 31- 9827-4807), Elizabet Vilar Guimarães (31-3409-9769). Você não abrirá mão de seus direitos legais após você assinar o consentimento informado.

**BENEFÍCIOS**

Um benefício da sua participação neste estudo é a contribuição para o conhecimento científico e médico. Você poderá se beneficiar dos exames que serão realizados e de um melhor seguimento clínico e laboratorial. Também poderá se beneficiar com novas alternativas para o tratamento da Fibrose Cística.

**CONFIDENCIALIDADE**

Os registros da sua participação neste estudo serão mantidos confidencialmente até onde é permitido por lei. No entanto, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG poderá verificar e ter acesso aos dados confidenciais que o identifique pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza o pesquisador a fornecer as suas informações para o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. Não haverá armazenamento de materiais biológicos como sangue, suor ou fezes.

**DESLIGAMENTO E AFASTAMENTO**

Sua participação neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento não envolverá penalidades. Você poderá cessar sua participação a qualquer momento.

**COMPENSAÇÃO**

Você não receberá qualquer compensação financeira pela participação neste estudo.

Durante o estudo, se você tiver qualquer dúvida sobre a pesquisa, por favor, contate também o Comitê de ética em Pesquisas da UFMG no telefone 3409-4592

**CONSENTIMENTO**

Li e entendi todas as informações. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas satisfatoriamente. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando meu consentimento em participar deste estudo, até que eu decida o contrário.

---

Assinatura do Participante / Data

---

Assinatura da Testemunha / Data

---

Assinatura do Pesquisador / Data

**COEP – COMITÊ DE ETICA EM PESQUISA**

**Av. Presidente Antônio Carlos 6627, Unidade Administrativo II, 2º andar, sala 2005. CEP: 31.270-901 – BH – MG / TEL: 3499-4592 / coep@prpq.ufmg.br.**

**ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

**Parecer nº. ETIC 559/07**

**Interessado(a): Profa. Elisabet Vilar Guimarães  
Departamento de Pediatria  
Faculdade de Medicina - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 24 de março de 2008, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Magnésio oral em crianças com fibrose cística: estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG**

**Obs.: colocar no TCLE o telefone do COEP (novo prefixo): 3409-4592**