

João Araújo Barros Neto



Consumo alimentar, níveis séricos e eritrocitários de oligoelementos em pacientes com dor crônica miofascial

Salvador
2014

João Araújo Barros Neto

**Consumo alimentar, níveis séricos e eritrocitários de oligoelementos
em pacientes com dor crônica miofascial**

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Adelmir Souza-Machado

Co-Orientador: Prof. Dr. Durval Campos Kraychete

Salvador – Bahia
2014

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Saúde, SIBI - UFBA.

B277 Barros-Neto, João Araújo
Consumo alimentar, níveis séricos e eritrocitários de oligoelementos em pacientes com dor crônica miofascial / João Araújo Barros-Neto – Salvador, 2014.
152 f.

Orientador: Prof. Dr. Adelmir Souza-Machado.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia.
Instituto de Ciências da Saúde, 2014.

1. Alimentação. 2. Magnésio 3. Cálcio 4. Selênio 5. Zinco.
I. Souza-Machado, Adelmir. II. Universidade Federal da Bahia.
III. Título.

CDU 612.3

João Araújo Barros Neto

Consumo alimentar, níveis séricos e eritrocitários de oligoelementos em pacientes com dor crônica miofascial

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação – Doutorado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas – do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2014 pela Banca Examinadora.

Prof. Dr. Adelmir Souza-Machado (Orientador)
Doutor – Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Durval Campos Kraychete
Doutor – Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Rosangela Passos de Jesus
Doutora – Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Lin Tchia Yeng
Doutora – Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Ana Paula Grotti Clemente
Doutor – Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas

Salvador - Bahia, 20 de fevereiro de 2014

Dedicatória

“Tamanho esforço para a construção deste projeto será dedicado ao que tenho de mais precioso na vida – ‘minha família’ – fonte de inspiração para seguir nessa longa jornada”.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente a Deus, que nunca me abandonou e sempre esteve segurando em minhas mãos em todos os momentos.

À minha família, pelo apoio incondicional na minha vida, sempre me incentivando e me fortalecendo.

Aos amigos Daniel, Kleber, Priscila, Jacqueline e Judelita, pela torcida e incentivo diário. Agradecimento especial ao Alexandre, sempre me apoiando e me acompanhado na reta final de mais esta etapa da minha vida.

Aos pacientes e acompanhantes que mesmo nos momentos de muita dor, sempre estiveram disponíveis, permitindo a realização dessa pesquisa.

Aos companheiros: Katherine e Matheus que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

À Proessora Rosangela Passos, pela amizade, pelos ensinamentos, pela paciência e pelo estímulo para a construção desse trabalho.

Ao Professor Durval Kraychete por abrir as portas do ambulatório da dor e da pesquisa científica, pelos ensinamentos e pelas oportunidades que me foram oferecidas.

Ao Professor Adelmir Souza-Machado por aceitar dividir seus conhecimentos, orientando-me no processo de construção desta tese.

À Coordenação deste Programa de Pós Graduação pelo apoio e incentivo no desenvolvimento deste projeto.

Agradeço também ao imenso apoio recebido pelos integrantes do Laboratório de toxicologia Profº Antonio Menezes (coordenador), Técnico Sérgio Prado, ao Msc. Gustavo Viana e aos bolsistas de Iniciação Científica: Nathália, Juliana, Malu e Diego.

A todos vocês que, de uma forma ou de outra, foram peças fundamentais para a construção deste projeto.

MUITO OBRIGADO!

Barros Neto, J. **Consumo alimentar, níveis séricos e eritrocitários de oligoelementos em pacientes com dor crônica miofascial.** 2014. 152p. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA.

Resumo:

Introdução: Distúrbios nutricionais constituem-se importantes fatores de risco capazes de intensificar ou desencadear a resposta dolorosa. O objetivo desse estudo foi avaliar a ingestão habitual, níveis plasmáticos e eritrocitários de magnésio, cálcio, selênio e zinco em pacientes com dor crônica miofascial. **Metodologia:** Estudo caso-controle realizado com 31 pacientes com dor crônica miofascial (grupo I) e 31 indivíduos sem dor (grupo II). Foram aplicados dois questionários recordatórios de 24h e o Registro alimentar de três dias para avaliar o consumo alimentar. As concentrações plasmáticas e eritrocitárias de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Selenio total (Se_t) e Zn^{2+} foram realizadas por meio da espectrofotometria de absorção atômica. **Resultados:** Dor miofascial foi mais frequentemente observada em mulheres com média de idade de $45,83 \pm 7,59$ anos. O sedentarismo e o excesso de peso foram mais frequentes no grupo de pacientes com dor miofascial. O grupo I apresentou menores concentrações séricas de Ca^{2+} ($8,92 \pm 0,52$ mg/dL vs. $9,39 \pm 0,46$ mg/dL)($p < 0,001$), menores níveis eritrocitários de Mg^{2+} ($92,5 \pm 14,5$ $\mu gMg/gHb$ vs. $102,2 \pm 14,0$ $\mu gMg/gHb$)($p = 0,010$), de Se_t ($79,46 \pm 19,79$ $\mu g/L$ vs. $90,80 \pm 23,12$ $\mu g/L$)($p = 0,041$) e de Zn^{2+} ($30,56 \pm 7,74$ $\mu gZn/gHb$ vs. $38,48 \pm 14,86$ $\mu gZn/gHb$)($p = 0,004$), quando comparados ao grupo controle. Observou-se comprometimento da ingestão alimentar de cálcio, magnésio e zinco, mas não de selênio, em que 80% dos indivíduos apresentaram ingestão considerada segura. A ingestão de Mg, o Ca^{2+} sérico e o Zn eritrocitário associou-se com a presença da dor. **Conclusão:** No presente estudo, os pacientes com dor crônica miofascial mostraram maior demanda metabólica de Ca, Zn e Se. A ingestão de Mg apresentou-se como fator protetor para o desenvolvimento da dor crônica miofascial. A deficiência crônica desses micronutrientes pode estar associada à etiopatogenicidade da doença.

Palavras-chaves: Síndrome da dor miofascial. Magnésio. Cálcio. Selênio. Zinco.

BARROS-NETO, JA. **Intake food, serum and erythrocyte levels of trace elements in patients with myofascial pain syndrome**. 2014. 152p. Thesis. (Doctorate). Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA.

Abstract

Introduction: Nutritional disorders have been reported as important causal factors that can intensify or cause a painful response in individuals with chronic musculoskeletal pain.

The aim of this thesis was to assess the habitual intake and serum and erythrocyte levels of selenium, zinc, magnesium and calcium in patients with chronic myofascial pain.

Materials and methods: A case-control study with 31 patients with chronic myofascial pain (group I) and 31 subjects without pain (group II). Two 24-hour dietary recalls and a three-day dietary record to assess food intake were applied. Serum and erythrocyte concentration of selenium, zinc, magnesium and calcium were analyzed by atomic absorption spectrophotometry. Pain intensity was assessed using a visual analog scale.

Results: Most study subjects were adult women with a mean age of 45.83 ± 7.59 years.

The physical inactivity and overweight were more frequently observed in patients with chronic myofascial pain. Group I showed lower serum concentration of calcium ($8.92 \text{ mg/dL} \pm 0.52 \text{ SD}$ vs. $9.39 \text{ mg/dL} \pm 0.46$, respectively) and erythrocyte concentrations of magnesium ($92.5 \text{ } \mu\text{gMg/gHb} \pm 14.5$ vs. $102.2 \text{ } \mu\text{gMg/gHb} \pm 14.0$), Selenium ($79.46 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 19.79$ vs. $90.80 \text{ } \mu\text{g/L} \pm 23.12$) and Zinc ($30.56 \text{ } \mu\text{gZn/gHb} \pm 7.74$ vs. $38.48 \text{ } \mu\text{gZn/gHb} \pm 14.86$), when compared to the control group. A compromised food intake of calcium, magnesium and zinc was observed in the majority of the subjects of this study and 80% the participants showed security intake of selenium. The intake of magnesium, the serum calcium and the erythrocyte zinc were associated with the presence of pain. **Conclusion:** In the present study, patients with chronic myofascial pain showed increased metabolic demand of calcium, Mg, Zinc and Selenium. The intake of Mg presented as a protective factor against the development of chronic myofascial pain. Chronic and progressive deficiencies of these micronutrients may be associated with the disease patogenesis.

Keywords: Myofascial pain syndrome. Magnesium. Calcium. Selenium. Zinc.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Cálculo do tamanho da amostra para análise de diferença entre as médias das concentrações séricas de Mg, Ca, Se e Zn.....	47
Tabela 2. Valores da razão entre D/DPd e probabilidade de conclusão correta de que a ingestão habitual está adequada ou inadequada.....	55
Tabela 3. Estimativa da variação intrapessoal expressa em desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) de cálcio em adultos.....	55
Tabela 4. Valores selecionados de Z e o nível de confiança associado ao concluir que a ingestão individual habitual é maior que a ingestão adequada (AI)	55
Tabela 5. Valores da necessidade média estimada (EAR) e ingestão adequada (AI) conforme sexo e idade	58
Tabela 6. Concentrações normais de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Se_t e Zn^{2+}	66
Tabela 7. Associação de variáveis relacionadas ao estilo de vida e estado nutricional em indivíduos com e sem dor miofascial.....	71
Tabela 8. Frequência de baixas concentrações séricas, eritrocitárias e de inadequação da ingestão dietética de magnésio e cálcio em indivíduos com e sem dor crônica miofascial.....	73
Tabela 9. Modelo final de regressão logística para a presença de dor crônica miofascial tendo como variáveis a ingestão alimentar e as concentrações séricas e eritrocitárias de Mg^{2+} e Ca^{2+}	76
Tabela 10. Frequência de baixas concentrações séricas e eritrocitárias e de inadequação da ingestão dietética de selênio e zinco em indivíduos com e sem dor crônica miofascial.....	78
Tabela 11. Medidas de tendência central para ingestão de selênio e zinco por grupo de indivíduos com e sem dor crônica miofascial.....	79
Tabela 12. Modelo final de Regressão de Poisson para a presença de dor crônica miofascial.....	80

Lista de Figuras

Figura 1. Complexo do ponto gatilho.....	20
Figura 2. Etapas do protocolo da pesquisa.....	51
Figura 3. Concentrações de Ca^{2+} e Mg^{2+} em compartimentos orgânicos (soro e eritrócitos) de indivíduos com e sem dor crônica miofascial.....	72
Figura 4. Avaliação quantitativa intra e intergrupos da ingestão de magnésio e cálcio em pacientes com e sem dor crônica miofascial.....	74
Figura 5. Concentrações eritrocitárias e séricas de Se_t em indivíduos com e sem dor crônica miofascial.....	77
Figura 6. Concentrações eritrocitárias e séricas de Zn^{2+} em indivíduos com e sem dor crônica miofascial.....	78

Lista de Abreviações

ω -3 – Ácidos graxos ômega-3

ω -9 – Ácidos graxos ômega-9

5-HT – Serotonina

5-HTP – 5-hidroxitriptofano

AGPI - Ácidos graxos poliinsaturados

AI - *Adequate Intake* (ingestão adequada)

AINEs – Anti-inflamatórios não esteroides

ALA - Ácidos alfa-linolênicos

ATP – Adenosina trifosfato

BIP – Brief Inventory Pain (Inventário breve da dor)

Ca – Cálcio

Ca²⁺ - Íon cálcio

DHA – Ácido docosaheptaenóico

DRI - *Dietary Reference Intakes* (Ingestão dietética de referência)

DTM - Desordens dolorosas temporomandibulares

EAR - *Estimated Average Requirement* (Necessidade média estimada)

EPA – Ácido eicosapentaenóico

ERO's - Espécies reativas de oxigênio

EVA – Escala Visual Analógica

GABA – Ácido gama-aminobutírico

GCRP – Peptídeo relacionado com o gene da calcitonina

GLA – Ácido gama-linolênico

GPx - Glutathione Peroxidase

IL-1 β – Interleucina 1-beta

IL-6 – Interleucina - 6

IL-8 – Interleucina - 8

IMC – Índice de Massa Corporal

I κ -B – Inibidor molecular κ -B

K⁺ - Íon potássio

LEC - líquido extracelular

Mg - Magnésio

Mg²⁺ - Íon magnésio

Na⁺ - Íon sódio

NF κ -B – Fator nuclear kappa-B

NMDA – N-metil-D-aspartato

PCR - proteína C-reativa

PG – Pontos Gatilhos

RDA - Recommended Dietary Allowance (Recomendação de ingestão dietética)

SDM – Síndrome dolorosa miofascial

Se - Selênio

Se_t – Selênio total

Se₃²⁻ - Selenito

Se₄²⁻ - selenato

SNC – Sistema Nervoso Central

SOD - superóxido dismutase

SP – Substância P

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral – alfa

TrxR - tioredoxina redutase

Zn - Zinco

Zn²⁺ - Íon zinco

SUMÁRIO

1. Introdução	15
2. Fundamentação teórica: A revisão da literatura.....	18
<i>Síndrome dolorosa miofascial e a nocicepção dolorosa.....</i>	<i>19</i>
<i>Nutrientes envolvidos na transmissão do impulso nervoso e/ou na</i>	<i>24</i>
<i>nocicepção dolorosa.....</i>	<i>30</i>
Importância biológica do Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Se _t e Zn ²⁺ e associação com a dor	
crônica miofascial.....	
3. Problemas e Hipóteses.....	42
4. Objetivos.....	44
5. Casuística e Métodos.....	46
<i>Tipo de estudo.....</i>	<i>47</i>
<i>Plano de amostragem.....</i>	<i>47</i>
<i>Crterios de Não-inclusão, Inclusão e Exclusão.....</i>	<i>49</i>
<i>Planejamento do protocolo da pesquisa.....</i>	<i>49</i>
<i>Indicadores sócio demográficos, econômicos e relacionados ao</i>	<i>50</i>
<i>estilo de vida.....</i>	<i>52</i>
<i>Parâmetros Nutricionais.....</i>	<i>60</i>
<i>Avaliação clínica da dor.....</i>	<i>60</i>
<i>Dosagem sérica e eritrocitária.....</i>	<i>66</i>
<i>Testes estatísticos.....</i>	<i>68</i>
<i>Aspectos éticos.....</i>	<i>69</i>
6. Resultados.....	69
7. Discussão.....	81
8. Conclusão.....	91
9. Referências.....	93
Os Artigos.....	103
<i>Selenium and Zinc in myofascial chronic pain: serum and</i>	<i>104</i>
<i>erythrocytes concentrations and food intake</i>	
<i>Magnesium and calcium in myofascial chronic pain: serum and</i>	<i>123</i>
<i>erythrocytes concentrations and food intake</i>	
Anexos e Apêndices.....	144

Introdução

As síndromes dolorosas musculoesqueléticas crônicas são muito prevalentes no mundo moderno e podem representar uma das maiores causas de sofrimento humano, redução da produtividade e elevados gastos para a saúde pública. Estas síndromes são, geralmente, definidas por duração do quadro doloroso por período superior a três meses, uma abordagem que tem sido muitas vezes criticada por ser inútil em termos das atitudes dos pacientes e médicos sobre a dor crônica e as implicações que isso tem para o desenvolvimento do tratamento (VON KORFF e MIGLIORETI, 2005; RICHARDSON *et al.*, 2006; VON KORFF e DUN, 2008; SÁ *et al.*, 2009).

Estima-se que 7% a 40% da população mundial curse com dor crônica. Essa grande variabilidade na prevalência pode ser decorrente dos métodos adotados para a classificação da dor crônica, das condições onde foram desenvolvidos os estudos e do treinamento e habilidade do examinador para a definição diagnóstica (SÁ *et al.*, 2009).

A síndrome dolorosa miofascial é um quadro clínico de dor crônica de origem muscular localizada em um único músculo ou grupamentos musculares. Caracteriza-se por dor em uma zona muscular correspondente e dor referida à distância pela presença de uma banda tensa, encontrando-se no centro os chamados pontos gatilhos (PG) (HERNÁNDEZ, 2009) e tem maior prevalência entre os indivíduos que se apresentam com queixa de dor regional, sendo frequentemente encontrada na investigação diagnóstica da dor de cabeça, lombar, cervical e da dor de ombro. A prevalência mundial de dor crônica miofascial varia entre 30% a 95% dos pacientes atendidos em clínica médica geral (SEÓ *et al.*, 2007).

Fatores psicossociais como ansiedade, depressão, etilismo e tabagismo têm sido associados com a presença de dor crônica. Outros fatores tais como idade, peso corporal, gênero, condição socioeconômica, situação conjugal, prática de atividade física

e deficiência de vitaminas e oligoelementos também encontram associações com esta morbidade (SÁ *et al.*, 2009; ROCHA, MENDONÇA e ALENCAR JUNIOR *et al.*, 2007; HERNÁNDEZ, 2009).

Recentes estudos vêm demonstrando o papel de alguns oligoelementos na formação dos PG e no desenvolvimento ou propagação da dor crônica miofascial (KIM *et al.*, 2011; GISSEL, 2005). A ênfase tem sido dada as reservas corporais de magnésio, cálcio, selênio e zinco (OKUMUS *et al.*, 2010; SENDUR *et al.*, 2008), estando os dois primeiros frequentemente associados aos fenômenos de contração e relaxamento muscular, assim como na estimulação nervosa e transmissão neuromuscular (KIM *et al.*, 2011; WEYERBACHER *et al.*, 2010; BARBOSA *et al.*, 2010), enquanto que o zinco e o selênio têm sido relatados na literatura como participantes do processo fisiopatológico de enfermidades dolorosas por assumirem importante papel no processo de defesa antioxidante (POWELL, 2000; SENDUR *et al.*, 2008; ALTINDAG e CELIK, 2006).

Entretanto, poucas publicações analisaram os níveis séricos, intracelulares e o consumo alimentar de magnésio, cálcio, selênio e zinco em pacientes com dor crônica miofascial (STEIDL L *et al.*, 2001; WEISSBERG *et al.*, 1991). Variações importantes nos níveis séricos desses micronutrientes, possivelmente, são observadas em consequência das respostas neuroendócrinas causadas pela transmissão dolorosa ou podem estar associadas aos hábitos alimentares inadequados da população. Neste sentido, o presente estudo propõe realizar avaliação sobre aspectos nutricionais de pacientes com dor crônica miofascial atendidos no ambulatório da dor do Ambulatório Magalhães Neto – Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos/ UFBA (C-HUPES/UFBA), avaliando ingestão habitual, níveis séricos e intracelulares desses minerais, correlacionando essas variáveis com as características clínicas desses pacientes.

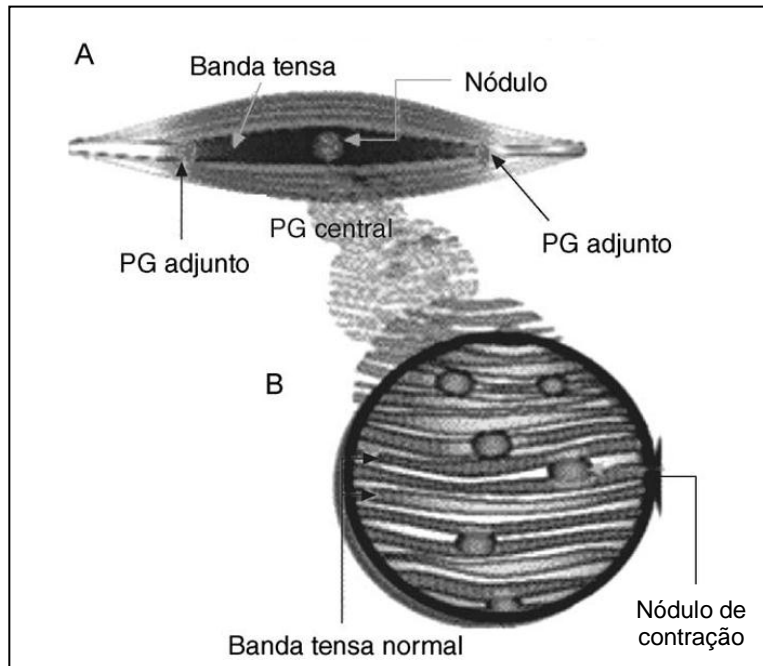
Fundamentação teórica: A revisão da literatura

Dor Crônica Miofascial

A síndrome dolorosa miofascial (SDM) é um quadro clínico de dor regional de origem muscular caracterizada por dor em uma zona muscular correspondente e dor referida à distância pela presença de uma “banda tensa” onde se localizam os pontos gatilhos (PG) e encontra-se associada a diferentes etiologias. Em geral, os PG são identificados em único músculo ou grupamentos musculares, porém podem também se apresentar em ligamentos, periósteo, tecidos cicatriciais, pele ou tendões (CHEN e NIZAR, 2011; LAVELLE, LAVELLE e SMITH, 2007).

A “banda palpável ou tensa” é um grupo de fibras que se estende ao longo do músculo e expressa um estado anormal de tensão na fibra muscular, decorrente da contração do nódulo palpável. Os PG são pequenas áreas focais de irritabilidade no músculo quando estes são submetidos a alguma pressão, estiramento ou contração que produz tanto um ponto de dor local como um padrão de dor referida. Ocorrem frequentemente no curso das síndromes miofasciais e estão associados a distúrbios psicológicos, estresse, privação do sono, doenças constitucionais e restrição significativa da atividade funcional. Em geral, os mesmos surgem após trauma ou sobrecarga muscular prolongada, que possui como fatores predisponentes a assimetria dos membros inferiores, presença de hemipelves pequena, imobilidade prolongada, anormalidades nutricionais, endócrinas, reumatológicas e infecções (GE, FERNÁNDEZ-DE-LAS-PEÑAS e YUE, 2011; HERNÁNDEZ, 2009; KRAYCHETE *et al.*, 2005).

A figura 1 representa a descrição de biopsia do PG, onde os tecidos continham “nódulos de contração”, referidos como fibras musculares grandes, redondas e diâmetro aumentado.



Fonte: Hernández, 2009.

Figura 1. Complexo do ponto gatilho

Diversos são os mecanismos propostos para explicar o desenvolvimento dos PG e o aparecimento da síndrome dolorosa miofascial, entre os quais se descrevem os traumatismos agudos, os microtraumatismos repetidos, o sedentarismo, as posturas inadequadas, a deficiência de vitaminas e de oligoelementos, as alterações do sono e problemas articulares (HERNÁNDEZ, 2009).

A formação dos PG e das bandas de tensão é resultante dos macro ou microtraumatismos localizados que causam ruptura do retículo sarcoplasmático com liberação e acúmulo de Ca^{2+} no sarcoplasma. O surgimento dos PG pode ser explicado, em partes, por um processo denominado crise energética muscular, decorrente da reação do Ca^{2+} com a adenosina trifosfato (ATP) causando deslizamento e interação da actina com a miosina e encurtamento do sarcômero, e conseqüente espasmo ou hipertonia muscular localizada e isquemia local (YENG, KAZIYAMA e TEIXEIRA, 2001). Essa atividade contrátil não controlada aumenta o consumo energético, de cálcio e outros nutrientes necessários para induzir um relaxamento muscular e satisfazer as

maiores demandas de energia local. O consumo energético aumentado, sob condições de isquemia, gera depleção localizada de ATP, que resulta em comprometimento da recaptção ativa de Ca^{2+} pela bomba do retículo sarcoplasmático. A manutenção das condições de contração muscular causa círculo vicioso autossustentado de contração muscular – isquemia - contração muscular. A contração persistente do sarcômero produz isquemia e, conseqüentemente, deficiência metabólica tecidual (DOMMERHOLT *et al.* 2006; KRAYCHETE *et al.*, 2005).

Alternativamente, a isquemia relativa, fator importante, senão o dominante no desenvolvimento da banda tensa, associada ao espasmo continuado da unidade contrátil pode causar importantes danos aos tecidos afetados. Os danos teciduais produzem a síntese e liberação de substâncias inflamatórias (Fator de necrose tumoral-alfa [TNF- α], histamina, cinina, substância P, interleucina 1 [IL-1], prostaglandinas, leucotrienos, somatostatina, peptídeo relacionado com o gene da calcitonina [GCRP]). Estas substâncias em ambiente ácido ativam os nociceptores musculares aumentando a atividade na placa motora, com conseqüente aparecimento da dor, levando a hipersensibilidade, alodinia e dor referida, características do PG ativo (SIMONIĆ-KOCIJAN *et al.*, 2013; DOMMERHOLT *et al.* 2006).

Elevações nas concentrações séricas de substância P (SP), bradicinina, TNF- α e interleucinas (IL-1 β , IL-6 e IL-8) foram identificadas em pacientes com dor crônica miofascial quando comparados a dois grupos sem dor, sugerindo que essas substâncias são capazes de aumentar a nocicepção e hiperalgesia nesses pacientes (SHAH *et al.*, 2008).

A nocicepção dolorosa

A percepção da dor ocorre primariamente da transformação dos estímulos ambientais em potenciais de ação, os quais são transferidos das fibras nervosas

periféricas para o sistema nervoso central (SNC). A percepção desses estímulos ocorre via nociceptores representados pelas terminações das fibras nervosas livres, as quais fazem a transdução e propagação do estímulo nocivo da periferia para o corno posterior da raiz dorsal da medula e daí para o cérebro. Os nociceptores detectam uma grande quantidade de estímulos ambientais sejam eles químicos, físicos ou mecânicos (WOOLF e MA, 2007; VERRI *et al.*, 2006).

Na dor crônica miofascial, a manutenção da estimulação dos nociceptores resulta em hipersensibilidade no local da dor e nas regiões adjacentes, aumentando a responsividade do SNC. Esta sensibilização central é mediada pela estimulação dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) que se tornam altamente responsivos ao aspartato e glutamato, resultando em despolarização de canais iônicos com consequente influxo de íons Ca^{2+} para o meio intracelular, ativação de proteínas cinases, aumento da excitabilidade neuronal e mudança no limiar de nocicepção do estímulo doloroso (WEYERBACHER *et al.*, 2010; FERREIRA, 2008).

Os neurotransmissores envolvidos na transmissão do impulso doloroso são muitos, mas merecem destaque a bradicinina, a serotonina e a prostaglandina E2, já que a ligação dessas substâncias a receptores específicos causa fluxo iônico nos canais da membrana, favorecendo a fosforilação de proteínas e a ativação de cinases intracelulares. Há aumento da excitabilidade da terminação nervosa, com sensibilização dos receptores mecânicos de alto limiar que então respondem à deformação da fibra muscular (GE, FERNÁNDEZ-DE-LAS-PEÑAS e YUE, 2011; HERNÁNDEZ, 2009).

Na terminação nervosa livre muscular, neurotransmissores como a SP, o CGRP, polipeptídeo vasoativo intestinal e fator de crescimento nervoso também têm sido identificados. Em modelos de isquemia muscular experimental em humanos, a dor não se origina exclusivamente do músculo, mas de outras estruturas como pele, periósteo e tecido conjuntivo. Observa-se uma resposta neurogênica reflexa, com liberação de SP e

CGRP em terminações nervosas próximas à lesão, capaz de induzir vasodilatação e edema. Há atração de células do sistema imune e conseqüentemente produção de bradicinina e sensibilização de nociceptores (KRAYCHETE *et al.*, 2005; DOMMERHOLT *et al.*, 2006; HERNÁNDEZ, 2009).

Outro importante neurotransmissor associado ao processo de transmissão dolorosa é a serotonina (5-HT), amina biogênica que tem sua taxa de síntese dependente da disponibilidade de triptofano livre no plasma. A 5-HT é secretada por diversos neurônios no núcleo da rafe e atua como inibidora das vias de transmissão dolorosa na medula, estando relacionada com as alterações de comportamento, de humor, ansiedade, depressão, sono, fadiga e supressão do apetite (CAMILLERI, 2006; LYCHKOVA, 2009; RAIMUNDO *et al.*, 2009).

Estudos *in vivo* revelaram que alterações no metabolismo da 5-HT, com a diminuição na sua síntese e liberação, implicam na redução da atividade do sistema inibidor de dor, com uma conseqüente elevação da resposta dolorosa a estímulos algogênicos (LYCHKOVA, 2009; RAIMUNDO *et al.*, 2009).

Evidências provenientes de estudos em modelos animais sugerem que as citocinas poderiam induzir a dor por mecanismos como a ativação das terminações nervosas periféricas, aumento da sensibilidade de nociceptores aumentando a atividade na placa motora, estimulação de células da glia e indução da síntese de importantes mediadores da dor, como prostaglandinas e aminas simpaticomiméticas, por ação da cascata de citocinas próinflamatórias, além de outros compostos como fator transformador de crescimento (TGF), fator de crescimento epidermoide (EGF) e de crescimento do nervo (NGF) (TOPAL *et al.*, 2011; DINA *et al.*, 2011; KRAYCHETTE *et al.*, 2006; FERREIRA, 2008).

“Nutrientes envolvidos na transmissão do impulso nervoso e/ou na nocicepção dolorosa”

Na síndrome dolorosa miofascial, muitos fatores são precipitantes, como traumas (macro e micro), infecção ou inflamação devido a uma doença de base e deficiência de alguns nutrientes. Estudos sugerem que muitas disfunções musculoesqueléticas podem ser atenuadas e seguramente tratadas com medidas nutricionais, as quais podem oferecer estratégias úteis para auxiliar no tratamento coadjuvante da dor musculoesquelética e inflamatória, possibilitando abordagem multidimensional e maior eficácia terapêutica (BRIOSCHI *et al.*, 2006; BRIOSCHI *et.al.*, 2009).

A discussão sobre o consumo alimentar de nutrientes que influenciam o processo de transmissão dolorosa encontra-se diretamente associada a fatores nutricionais capazes de desencadear um processo inflamatório com estímulo à liberação e atividade de citocinas e substâncias proinflamatórias. Nutrientes com atividade antioxidante ou que são capazes de estimular a síntese e a liberação de neurotransmissores estão diretamente envolvidos no controle do estímulo doloroso (BRIOSCHI *et.al.*, 2009).

Triptofano

O papel dos principais metabólitos do triptofano e do 5-hidroxitriptofano (a serotonina e melatonina) nos processos de nocicepção da dor, já é conhecimento consolidado. A serotonina é o neurotransmissor responsável pela sensação de bem-estar e assume efeito conhecido no controle da dor, humor, ansiedade, desejo sexual, funções neuroendócrinas, além de ser um potente vasoconstritor. Baixos níveis de serotonina foram associados a elevados níveis de substância P, potente neurotransmissor nociceptivo responsável pela modulação e sensação dolorosa (BRIOSCHI *et al.*, 2009), como discutido anteriormente.

Baixos níveis de serotonina podem ser encontrados na deficiência de triptofano e estão consistentemente associados com depressão, ansiedade, distúrbios do apetite e hipersensibilidade a dor aguda e crônica. As vias serotoninérgicas são bloqueadas devido ao estresse crônico para aumentar a utilização da serotonina, como na liberação de cortisol serotonina-dependente, bem como aumentar a degradação hepática de triptofano pela pirolase triptofano estimulada pelo cortisol. A suplementação com 5-HTP aumenta a síntese de serotonina e melatonina, minimizando os sintomas da depressão especialmente nas síndromes dolorosas (TURNER *et al.*, 2006; BIRDSALL, 1998).

Além do baixo consumo de alimentos fontes de triptofano, outro fator que pode desencadear a deficiência desse nutriente é o desenvolvimento de eventos estressantes com consequente ativação da cascata neurohormonal resultando na acelerada utilização metabólica do triptofano. A depleção deste aminoácido diminui o limiar da dor pela deficiência de serotonina e pode aumentar a inflamação devido à deficiência na produção endógena de cortisol anti-inflamatório e liberação adrenal serotonina-dependente (BRIOSCHI *et al.*, 2009).

Ácidos graxos

O consumo excessivo de ácidos graxos saturados, ácido araquidônico associado ao consumo deficiente dos ácidos alfa-linolênicos (ALA), gama-linolênico (GLA), eicosapentanóico (EPA), docosahexaenóico (DHA) e oleico é capaz de favorecer a modificações em diversos aspectos da inflamação sistêmica. Entre estes, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's), quimiotaxia, estimulação na liberação de citocinas pró-inflamatórias e inibição da capacidade fagocítica de macrófagos e neutrófilos. Enquanto que a correção desse desequilíbrio, associado ao consumo de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) ω -3 e ω -9 tem sido consistentemente provada

como de valor significativo no controle das doenças inflamatórias crônicas (CORTES *et al.*, 2013; MAROON e BOST, 2006).

O processo inflamatório é regulado especificamente por prostaglandinas e leucotrienos, os quais são determinados pela composição dos lipídeos de membrana, que por sua vez são diretamente influenciados pelos lipídeos da dieta. O consumo alimentar normal ou a suplementação dos ácidos graxos DHA e EPA podem ser capazes de inibir a produção endógena do ácido araquidônico com conseqüente redução na produção de eicosanoides pró-inflamatórios (MESQUITA *et al.*, 2011).

Vitaminas

Outros nutrientes importantes no estudo da dor musculoesquelética crônica são as vitaminas por assumirem funções essenciais para a manutenção da homeostase orgânica. Embora de ocorrência muito rara e nem sempre seja notada em seus estágios iniciais, a deficiência de vitamina D inclui sintomas de fraqueza e dor crônica (STRAUBE *et al.*, 2010; OLIVEIRA, MORAES e SANTOS, 2013). Recente estudo evidenciou associação entre esta vitamina e a etiopatogenicidade das dores crônicas (McBETH *et al.*, 2010).

No entanto, vale ressaltar a existência de algumas dificuldades para elucidar esta relação, pois os baixos níveis de atividade física, depressão em idosos e tabagismo também estão associados a níveis baixos de vitamina D e ao mesmo tempo, são frequentemente encontrados nesse grupo de pacientes (McBETH *et al.*, 2010).

A vitamina B₆ também tem sido amplamente estudada em pacientes com dor crônica reumatológica. Estudo recente do tipo cego, randomizado, mostrou que a suplementação de vitamina B₆ reduziu os níveis plasmáticos de citocinas proinflamatórias, como interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa),

em pacientes com artrite reumatóide e que a concentração sérica do principal metabólito desta vitamina (piridoxal-5-fosfato) e os níveis plasmáticos de IL-6 apresentavam-se inversamente proporcionais nos pacientes com esse tipo de dor crônica (HUANG *et al.*, 2010).

O mecanismo pelo qual a piridoxina atua em processos dolorosos ainda não está bem definido. Sabe-se que vitamina B₆ e ácido fólico favorecem a ação do triptofano auxiliando na sua conversão à serotonina, sendo esse um segundo possível mecanismo na redução da nocicepção da dor (HUANG *et al.*, 2010).

Oligoelementos

Estudos sugerem possíveis deficiências nutricionais na população de pacientes com dor crônica musculoesquelética (SAKARYA *et al.*, 2011; SENDUR *et al.*, 2008; KIM *et al.*, 2011; OKUMUS *et al.*, 2010). Entre os principais oligoelementos discutidos estão o Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Selênio (Se) e Zinco (Zn).

Cálcio e Magnésio têm sido investigados no processo fisiopatológico das dores crônicas musculoesqueléticas. Estes dois cátions competem na modulação da contração muscular, bem como na regulação de muitas reações enzimáticas envolvidas no metabolismo da energia, transdução de sinal e na atividade do Sistema Nervoso Central (SNC) (JAMESON, 2008).

Além do seu papel no processo de relaxamento muscular e síntese de ATP, o magnésio assume importante papel nos fenômenos de estimulação nervosa e transmissão neuromuscular, sugerindo que este mineral seja capaz de provocar analgesia da dor miofascial, por conta da ação antagonista do mesmo nos receptores ionotrópicos (N-metil-D-aspartato) para os neurotransmissores evitando a ativação de segundos mensageiros que promovem a excitação neuronal relacionada à transmissão

dolorosa (JI *et al.*, 2003).

O Selênio é um elemento traço essencial para a atividade da enzima Glutathione Peroxidase (GPx), importante agente antioxidante nos processos de detoxificação de peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos. Alguns estudos têm avaliado concentrações séricas desse elemento nas dores musculoesqueléticas (REINHARD *et al.*, 1998; SENDUR *et al.*, 2008).

A deficiência de zinco e selênio prejudica mediadores celulares da imunidade inata por reduzirem atividade da GPx e da superóxido dismutase (SOD), favorecendo ativação do fator nuclear kappa B (NF-κB), aumentando a suscetibilidade orgânica ao estresse oxidativo e consequente inflamação crônica e dor. Esses minerais assumem importante papel nas morbidades clínicas e suas deficiências têm sido relatadas na literatura como participantes do processo fisiopatológico de algumas enfermidades dolorosas além de contribuírem para a manifestação clínica dos sintomas dessas doenças (SANDSTEAD, 1995; ROSENSTEIN e CALDWELL, 1999; SENDUR *et al.*, 2008).

É possível que a variação nos níveis séricos desses micronutrientes seja uma consequência das respostas neuroendócrinas causadas pela transmissão dolorosa ou possa estar associada aos hábitos alimentares inadequados da população, como baixo consumo de verduras, frutas oleaginosas, peixes, mariscos e cereais integrais, fontes destes minerais (SENDUR *et al.*, 2008).

Segundo Brioschi *et al.* (2009), baixas concentrações séricas de Mg²⁺ têm sido associadas com aumento da resposta inflamatória sistêmica devido a elevação de TNF-α, proteína C-reativa (PCR) e consequente aumento do cálcio intracelular. Evidências científicas demonstram a importância deste nutriente na síntese de energia (ATP), assim as manifestações clínicas da hipomagnesemia como a fadiga muscular, parestesia,

irritabilidade e fragilidade muscular podem estar associadas a etiopatia de algumas síndromes dolorosas como a fibromialgia e a dor crônica miofascial.

Ensaio clínico realizado em pacientes com dor crônica musculoesquelética encontrou baixos níveis séricos de Mg^{2+} e Zn^{2+} no grupo de pacientes com essa síndrome dolorosa quando comparados com indivíduos normais sugerindo uma associação desses dois micronutrientes na fisiopatologia da dor (SENDUR *et al.*, 2008).

No presente estudo, ênfase foi dada ao Cálcio (Ca^{2+}), Magnésio (Mg^{2+}), Selênio total (Se_t) e Zinco (Zn^{2+}). Os dois primeiros por estarem envolvidos diretamente no processo de contração e relaxamento celular, estando o Ca^{2+} associado principalmente à sinalização celular e ativação do processo de contração e relaxamento das fibras musculares e o Mg^{2+} pela sua participação no processo de síntese e liberação de energia para a contração muscular e por estabelecer potenciais de membranas responsáveis pela captação de Ca^{2+} para meio intracelular, assim como por apresentar importante papel na estimulação nervosa e transmissão neuronal. Se_t e Zn^{2+} foram estudados, principalmente, pelo seu potencial antioxidante e inibição da atividade próinflamatória de algumas citocinas já evidenciadas na dor crônica miofascial. Por este motivo, apresentaremos nos próximos capítulos as atividades biológicas de cada um desses nutrientes, seguido da relevância do seu estudo no desenvolvimento, manutenção ou gravidade da dor crônica miofascial.

“Importância biológica do Ca^{2+} , Mg^{2+} , Se_T e Zn^{2+} e associação com a dor crônica miofascial”

Cálcio (Ca^{2+})

O cálcio é o mineral mais abundante no organismo humano e a sua grande maioria (99%) está localizada nos ossos e dentes, sendo responsável em média por 1% a 2% do peso corporal. O restante encontra-se distribuído por todas as células e participa ativamente em vários processos metabólicos como, por exemplo, na contração muscular, na coagulação sanguínea (formação de fibrina), estabilizador de membranas celulares excitáveis como nos músculos e sistema nervoso, no equilíbrio com o fósforo, além de, em inúmeras células, participar como o segundo mensageiro ao mediar efeito de sinalização de membranas para a liberação de substâncias e hormônios (GRÜDTNER, WEINGRILL e FERNANDES, 1997; COBAYASHI *et al.*, 2004).

Íons Ca^{2+} podem ser absorvidos por meio do transporte ativo ou passivo. O primeiro funciona em baixas concentrações laminais e o segundo funciona em altas concentrações laminais desses íons. O mecanismo de transporte ativo (no duodeno e jejuno proximal) possui capacidade limitada e é controlado pela ação da 1,25-diidroxivitamina D (ou vitamina D). O transporte passivo de Ca^{2+} ocorre independente da vitamina D e ao longo de toda extensão do intestino delgado (COBAYASHI *et al.*, 2004; PEREIRA *et al.*, 2009).

O Ca^{2+} é capaz de formar ligações com um grande número de proteínas celulares, resultando na ativação de suas funções exclusivas que vão desde aquelas envolvidas com o movimento celular e contração muscular até a transmissão nervosa, secreção glandular e mesmo a divisão celular. Na maioria dessas situações, este íon atua tanto como transmissor de sinais de fora para o interior da célula, quanto como um ativador das proteínas funcionais envolvidas (SIMONETTI *et al.*, 2013).

Uma das principais funções de interesse do Ca^{2+} no estudo das dores crônicas musculoesqueléticas está no processo de contração muscular e excitabilidade neuronal. Quando uma célula muscular é ativada, o primeiro estímulo é para abertura dos canais de cálcio na membrana plasmática para o influxo de Ca^{2+} para o citossol. Esses se ligam imediatamente a uma ampla variedade de proteínas ativadoras intracelulares, as quais por sua vez favorecem a abertura das vesículas de armazenamento intracelular de Ca^{2+} (retículo sarcoplasmático), aumentando a concentração deste íon no citossol, iniciando a ativação do complexo de contração (GISSEL e CLAUSEN, 2001; COBAYASHI *et al.*, 2004).

No processo de contração muscular, duas proteínas ligadoras de cálcio são de interesse no nosso estudo: a) a troponina c, que depois de ligada ao cálcio inicia uma série de etapas que levam a contração muscular propriamente dita; e b) a calmodulina, que ativa enzimas que favorecem a glicogenólise, liberando substrato energético necessário para a contração. Desta forma, o Ca^{2+} tanto desencadeia a contração muscular como abastece este processo (WEAVER e HEANEY, 2003).

A concentração de Ca^{2+} livre no citossol em estado de repouso é mantida a aproximadamente 50nM, enquanto que no líquido extracelular (LEC) a concentração é cerca de 1mM, criando assim um enorme gradiente de concentração através da membrana celular. Apesar de uma permeabilidade muito baixa do sarcolema de Ca^{2+} há difusão passiva contínua de Ca^{2+} nas células do músculo, devido ao grande gradiente eletroquímico por meio da membrana, entretanto, uma bomba de Ca^{2+} - Mg^{2+} - ATPase, ativada pela presença de calmodulina, bombeia Ca^{2+} para fora do citossol celular de volta ao LEC (WEAVER e HEANEY, 2003).

Modelo proposto para explicar a etiologia da dor muscular crônica está focado no metabolismo do cálcio e mecanismo de contração muscular, em que forças mecânicas

elevadas são capazes de causar distúrbios nas proteínas estruturais encontradas nas fibras musculares. Associados a estes fatores, os danos estruturais no sarcolema são acompanhados por um influxo de íons cálcio para o citoplasma das fibras musculares, resultando em níveis elevados de cálcio intracelular. No citoplasma das fibras musculares, elevadas concentrações de cálcio ocasionam acúmulo desse íon na mitocôndria inibindo o processo de respiração celular e redução na síntese energética, favorecendo a crise energética, frequentemente relatada na etiologia da dor crônica miofascial e descrita anteriormente (ARMSTRONG, WARREN e WARREN, 1991; TRICOLI, 2001).

Magnésio (Mg^{2+})

O magnésio (Mg^{2+}) é o segundo cátion mais abundante no meio intracelular e o quarto cátion no organismo humano, assumindo importantes atividades fisiológicas essenciais à garantia da homeostase orgânica (MARTIN, GONZÁLEZ e SLATOPOLSKY, 2008). O Mg^{2+} é distribuído em compartimentos de trocas rápidas (coração, fígado, intestino, pele e outros tecidos conectivos) e de trocas lentas (ossos e musculatura esquelética), onde aproximadamente 60% estão presentes nos ossos em combinação com fosfatos e bicarbonatos, 27% no músculo, 6 a 7% noutras células e somente 1% se encontra no fluido extracelular (AMORIM e TIRAPEGUI, 2008).

Na maioria dos compartimentos orgânicos, o Mg^{2+} encontra-se ligado às proteínas, complexado com ânions ou livre. Esta última fração é a mais importante para a compreensão do metabolismo deste íon, uma vez que é a fração fisiologicamente ativa (LOURENÇO e CAMILO, 2000). A concentração deste cátion nos eritrócitos é aproximadamente 2,5mmol/L e os valores de Mg^{2+} eritrocitário podem estar alterados em determinadas condições como: hipertireoidismo, leucemia linfática crônica, tensão pré-

menstrual, doença renal crônica, talassemia e anemia falciforme (GIBSON, 2005; LOURENÇO e CAMILO, 2000).

A concentração de Mg^{2+} nos eritrócitos reflete preferencialmente uma situação crônica de deficiência deste cátion, devido ao longo tempo de vida dos eritrócitos. A diminuição da concentração do Mg^{2+} neste compartimento orgânico só é observada após longos períodos de ingestão alimentar insuficiente (GIBSON, 2005). Apesar de representar pequena parcela dos níveis de Mg^{2+} no organismo humano, a dosagem intraeritrocitária, por meio da espectrofotometria de absorção atômica, tem sido considerada um método seguro e eficaz para detectar deficiência crônica deste mineral (TONG e RUDE, 2005; DEUSTER *et al.*, 1987).

A aferição do magnésio sérico, plasmático ou eritrocitário é o indicador do estado nutricional mais utilizado. A determinação do conteúdo deste mineral nos ossos e nos músculos podem refletir eficazmente suas reservas corporais, pois estes tecidos apresentam a maior concentração de magnésio no organismo. Entretanto, as técnicas de obtenção de amostras de tecido muscular e ósseo são altamente invasivas e limitantes na pesquisa em humanos (TONG e RUDE, 2005; BOHL e VOLPE, 2000).

Dentre suas várias funções, o papel de cofator enzimático em mais de 300 enzimas é considerado uma de suas principais funções, atuando na síntese proteica, no metabolismo de ácidos nucleicos e nas reações metabólicas envolvendo a produção energética (BARBOSA *et al.*, 2010).

Nas reações enzimáticas do organismo humano, principalmente nas que refletem o metabolismo energético, este cátion atua tanto na produção de adenosina trifosfato (ATP) a partir de adenosina difosfato (ADP), como na sua utilização, formando o complexo ATP-Mg, favorecendo a reação de transferência do grupamento fosfato para o substrato, permitindo assim que a reação ocorra. Dessa forma, o magnésio é importante

tanto na geração de energia aeróbia quanto anaeróbia, como complexo ATP-Mg ou diretamente, como um cofator enzimático (AMORIM e TIRAPEGUI, 2008).

Outra função igualmente importante deste íon é a da regulação da permeabilidade de membrana celular e auxílio na manutenção da integridade funcional e estrutural das células. A deficiência de Mg^{2+} está associada à alteração da permeabilidade para os íons K^+ , Na^+ e Ca^{2+} (AMORIM e TIRAPEGUI, 2008; LORENÇO e CAMILO, 2000).

O magnésio e o cálcio formam complexos estáveis com os fosfolipídios que fazem parte das membranas celulares. Dependendo da concentração de ambos, eles podem agir sinergicamente ou antagonicamente (AMORIM e TIRAPEGUI, 2008). As suas propriedades de antagonismo ao Ca^{2+} , aplicadas ao nível das fibras musculares arteriais, caracterizam o papel protetor atribuído a este íon nas cardiopatias isquêmicas e na hipertensão arterial sistêmica (MAZUR *et al.*, 2007).

No processo de contração muscular, o Mg^{2+} atua, competindo com o Ca^{2+} nos sítios da troponina, miosina e calmodulina, favorecendo o relaxamento do músculo e estimulando a entrada de Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático, o que mantém as baixas concentrações intracelulares de Ca^{2+} , importante para muitas funções celulares (AMORIM e TIRAPEGUI, 2008). Assim, o magnésio é denominado "bloqueador natural do canal de cálcio".

Na depleção de magnésio, o cálcio intracelular eleva-se devido ao aumento da liberação deste íon dos estoques, assim como o aumento da sua permeabilidade de membrana. Considerando que o cálcio exerce importante papel na contração tanto da musculatura lisa como da esquelética, um quadro de depleção de Mg^{2+} pode resultar em câimbras, microlesões musculares favorecendo o desenvolvimento dos PG e o surgimento das dores crônicas musculoesqueléticas como fibromialgia e dor crônica miofascial (BRILLA e LOMBARDI, 1995).

Assim, reduzidas concentrações séricas e intracelulares de Mg^{2+} podem favorecer o desenvolvimento da dor crônica miofascial por potencializar a crise energética muscular, reduzindo a síntese e o fornecimento de moléculas de ATP fundamentais para o relaxamento das fibras musculares ou por aumentar a permeabilidade de membrana dos íons cálcio para o meio intracelular, estimulando a contração actina-miosina (BRILLA e LOMBARDI, 1995; YENG, KAZIYAMA e TEIXEIRA, 2001).

Além do seu efeito no processo de relaxamento muscular, no sistema nervoso central, o Mg^{2+} também tem demonstrado importante participação nos fenômenos de estimulação nervosa e transmissão neuromuscular, sugerindo que este mineral seja capaz de provocar analgesia da dor neuropática musculoesquelética, devido à ação antagonista desempenhada nos receptores ionotrópicos da N-metil-D-aspartato (NMDA) para neurotransmissores, evitando a ativação de segundos mensageiros que promovem a excitação neuronal relacionada à transmissão dolorosa (CLARKE; GLASGOW; JOHNSON, 2013; RONDÓN *et al.*, 2010; JI *et al.*, 2003). Dessa forma, deficiência crônica de Mg^{2+} pode aumentar a atividade da NMDA e contribuir para o desenvolvimento ou hipersensibilidade da dor neuropática. A suplementação deste nutriente pode reduzir a hiperalgesia e alodinia táctil na dor neuropática devido ao efeito de bloqueio deste íon sobre os receptores NMDA na medula espinhal (NOBREGA e SAKATA, 2013; RONDÓN *et al.*, 2010).

Selênio

O Selênio é um mineral fundamental para manutenção da homeostase orgânica, estando presente em aproximadamente 10mg Se/60kg de peso corporal. Pode apresentar-se naturalmente na sua forma inorgânica, metálica (Se^0), oxianions (selenito – Se_3^{2-} , ou selenato – Se_4^{2-}) ou em compostos orgânicos, selenocisteína (Sec) e

selenometionina (SeMet), análogos aos aminoácidos sulfurados cisteína e metionina (SUZUKI, 2005; BURK e LEVANDER, 2003).

Em condições normais, este mineral é facilmente absorvido e armazenado em músculos, eritrócitos, pâncreas, fígado, rins, cérebro e pele. Quando na forma de selenometionina, o selênio pode ser metabolizado nos processos de síntese e degradação da metionina, independente da necessidade orgânica de selênio ou pode ser armazenado sob as formas de selenoproteínas, glutathione peroxidase (GPx) e Selenoproteína P (WEEKS, HANNA e COOPERSTEIN *et al.*, 2012; CASTRO, 2007). A primeira é estocada no fígado e, diferente da selenometionina, a deficiência na ingestão de selênio pode predispor redução em sua síntese, comprometendo a resposta imunológica antioxidante. A selenoproteína P é encontrada principalmente no plasma. Neste compartimento corporal podemos encontrar ainda 20 a 30% do selênio orgânico sob a forma de GPx ou ligado a lipoproteínas de baixa densidade e de muito baixa densidade (ARTHUR, MCKENZIE, BECKETT, 2003; BURK e LEVANDER, 2003).

Quando compostos inorgânicos de selênio são reconhecidos no organismo humano, estes são transformados em selenido (HSe^-) nos eritrócitos pela glutathione, transportados para o fígado. Por outro lado, as formas orgânicas de Selênio são transformadas em selenido por meio de clivagem reduzida da ligação C-Se por uma reação enzimática de liase. Uma vez formado o selenido, metabólito intermediário comum, este composto segue para a síntese de selenoproteínas ou serão excretados após serem gradualmente metilados (SUZUKI, 2005; ALMONDES *et al.*, 2010).

As funções do selênio estão comumente voltadas a sua participação em processos do sistema antioxidante, ligados a selenoproteínas, especialmente a GPx, à tioredoxina redutase (TrxR) e à selenoproteína P, atuando diretamente na proteção celular contra os danos provocados pela atividade dos radicais livres (HOFFMANN e

BERRY, 2008; ALMONDES *et al.*, 2010).

Atualmente, já foram descritas oito isoenzimas GPx no organismo humano, destas, cinco (GPx1, GPx2, GPx3, GPx4 e GPX6) são selenoproteínas, as quais apresentam especificidades a substratos diferentes e com expressões tecido-específicas (KRYUKOV *et al.*, 2003; WEEKS, HANNA e COOPERSTEIN *et al.*, 2012). A capacidade antioxidante dessas isoenzimas está na redução de peróxidos de hidrogênio, hidroperóxidos orgânicos e fosfolípido hidroperóxido (BRIGELIUS-FLOHÉ, 1999).

As selenoenzimas da TrxR, semelhantes a GPx, são também capazes de reduzir peróxidos de hidrogênio e hidroperóxidos de lipídeos e tem como principal função não somente catalisar a redução da tioredoxina, mas também reduzir outros substratos como a Vitamina C (GROMADZINSKA *et al.*, 2008). A selenoproteína P é a maior forma de selênio no plasma e atua como antioxidante reduzindo peroxinitritos e hidroperóxidos de fosfolipídeos ou formam complexos com mercúrio e cádmio (SAITO *et al.*, 1999; SUZUKI, 2005).

Dentre as principais funções do selênio no organismo humano, podemos citar sua importante atuação no sistema imunológico auxiliando na manutenção da integridade de membrana das células do sistema imune; proliferação de linfócitos T e síntese de imunoglobulinas; e inibição da transcrição do fator nuclear kappa B (NFκ-B) limitando assim a resposta inflamatória (CASTRO, 2007; HOFFMANN e BERRY, 2008).

Este oligoelemento tem sido relacionado com diversas doenças crônicas não transmissíveis devido a sua importante função nos diversos compartimentos corporais e na manutenção da homeostasia orgânica. Dentre as atividades deste essencial nutriente da alimentação humana podemos citar a redução do estresse oxidativo, redução da inflamação, detoxificação, melhora da resposta imune, inativação da proteína C reativa, dentre diversas outras funções (HOLBEN e SMITH, 1999; ALARCÓN-NAVARRO e

MARTINEZ, 2000; THOMAS, GEIGER e GIROTTI, 1993; SCHRAUZER, 2000).

No âmbito das dores crônicas musculoesqueléticas, estudos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de identificar as concentrações desse nutriente nos diversos compartimentos orgânicos e os resultados obtidos são bastante controversos. Tais pesquisas têm também investigado possíveis associações entre concentrações orgânicas de selênio e a etiopatogenicidade das dores crônicas musculoesqueléticas. A hipótese é que baixas concentrações de selênio estão associadas com a presença da dor e que maiores concentrações deste agente antioxidante limitam a resposta inflamatória e o estresse oxidativo nesse grupo de pacientes, sendo, portanto, fator protetor. Entretanto, as evidências científicas para essa afirmativa ainda são insuficientes e contraditórias (SENDUR *et al.*, 2008; TURKI, AL-OSAMI e NAJI, 2012, EISINGER, 1997; REINHARD *et al.*, 1998).

Zinco (Zn²⁺)

O zinco é considerado um dos micronutrientes intracelulares mais abundantes no organismo. Encontrado em todos os tecidos corpóreos, seu conteúdo total no organismo pode variar de 1,5 a 2g, sendo que, aproximadamente 85% desse mineral está concentrado nos músculos e ossos, e aproximadamente 80% presente no sangue encontra-se nos eritrócitos (HENRIQUES, HIRATA e COZZOLINO, 2003; McCALL, HUANG e FIERKE, 2000).

Nos últimos anos, estudos sobre as funções do zinco no organismo humano têm avançado. Estimou-se, recentemente, que o zinco participa como elemento de mais de 2700 enzimas, incluindo transferases, hidrolases, oxido-redutases, isomerases, ligases e liases, sendo inclusive, cofator importante de enzimas fundamentais para a síntese de DNA, imunidade, funções neurosensoriais e antioxidantes. Atua como componente

estrutural e funcional de várias metaloenzimas e metaloproteínas, participa de reações do metabolismo celular, além de processos celulares importantes para o crescimento e desenvolvimento (ANDREINI; BERTINI, 2012; FRASSINETTI *et al.*, 2006; SZCKUREK, BJORNSSON e TAYLOR, 2001).

A absorção do zinco ocorre via processo mediado por transportadores de membranas ou por difusão simples, que variam em sua importância, conforme a quantidade deste mineral presente na dieta. O mecanismo mediado por carreador predomina em situação de baixa concentração do mineral na dieta, enquanto a absorção por difusão simples é predominante quando o seu consumo está elevado (COUSINS; McMAHON, 2000; LEE *et al.*, 1989; SALGUEIRO *et al.*, 2000).

Após absorção, este mineral passa para os capilares mesentéricos e é transportado no sangue portal, sendo captado pelo fígado e posteriormente distribuído para os demais tecidos. No plasma, o zinco é carreado por proteínas como a albumina, $\alpha 2$ macroglobulina e aminoácidos (MAFRA; COZZOLINO, 2004; McMAHON; COUSINS, 1998).

O crescente avanço em estudos moleculares, como exemplo, a influência da metalotioneína e da proteína rica em cisteína na absorção desse mineral e a expressão de proteínas transportadoras de Zn^{2+} , tem possibilitado um melhor entendimento do metabolismo e das manifestações de deficiência desse mineral (HENRIQUES, HIRATA e COZZOLINO, 2003).

O Zn^{2+} desempenha funções importantes em diversos processos biológicos do organismo, uma das suas principais funções é a atuação enzimática, seja na estrutura da enzima ou em sua ação regulatória ou catalítica no organismo (SALGUEIRO *et al.*, 2000). Dentre as metaloenzimas que necessitam de zinco para sua atividade, podemos citar a anidrase carbônica, fosfatase alcalina, carboxipeptidases, álcool desidrogenase,

proteína C quinase, ácido ribonucleico polimerase, transcriptase reversa e a superóxido dismutase, a qual apresenta ação antirradicais livres (McCALL; HUANG; FIERKE, 2000).

A estabilização de membranas estruturais e a proteção celular são também importantes funções deste mineral capaz de prevenir a peroxidação lipídica. As propriedades antioxidantes do zinco são explicadas pelo seu efeito na estrutura da enzima superóxido dismutase, na regulação da síntese da metalotioneína e na proteção de grupamentos sulfidríla de proteínas de membranas celulares. Estudos têm demonstrado que a fragilidade osmótica de eritrócitos está relacionada à função do mineral na membrana celular (POWELL, 2000; KOURY, DONANGELO, 2003).

O zinco estimula o sistema imune por meio de diferentes mecanismos, dentre eles está a sua função sobre a estabilidade da membrana dos linfócitos, assim como sobre diferentes enzimas. Atuando diretamente sobre as células imunes, este mineral aumenta a atividade das enzimas DNA e RNA polimerase, que são requeridas para replicação e transcrição de DNA, além da timidina quinase e ornitina descarboxilase (OTEIZA, 2012).

Na membrana dos linfócitos também existem enzimas dependentes de Zn^{2+} , tais como nucleosídeo fosforilase e proteína C quinase. O zinco mantém a estabilidade da membranas celulares, competindo com os grupamentos tiol, prevenindo a lesão peroxidativa, protegendo as células do estresse oxidativo induzido pelas citocinas no processo pró-inflamatório (MOCCHIGIANI *et al.*, 2000; KOURY e DONANGELO, 2003).

De modo geral, os mecanismos que participam das alterações no metabolismo do zinco têm sido atribuídos às concentrações aumentadas de interleucinas plasmáticas, sendo evidenciadas no processo inflamatório, no dano tissular e no exercício intenso. As interleucinas estimulam a captação deste íon do plasma para o fígado e eritrócitos e favorecem a síntese de metalotioneína e possivelmente de superóxido dismutase e

outras zinco-proteínas, enzimas necessárias para a resposta de fase aguda (LUKASKI, 1995).

A avaliação do estado nutricional relativo a este nutriente tem sido realizada por meio de vários marcadores bioquímicos. O Zn^{2+} plasmático é atualmente o biomarcador bastante utilizado, apesar de sua baixa sensibilidade (HAMBIDGE, 2003). Já a medida da concentração deste mineral nos eritrócitos não reflete mudanças recentes desse mineral no organismo, por isso é considerado um parâmetro mais sensível (DAVIS; MILNE; NIELSEN, 2000; MAFRA; COZOLLINO, 2004).

Assim como o selênio, este oligoelemento assume um importante papel sobre mediadores da resposta imune, tais como enzimas, peptídeos do timo e citocinas, explicando a atividade primordial do *status* de Zn^{2+} sobre a ativação da célula linfocitária, proliferação e apoptose.

Recentemente, estudo verificou que indivíduos com dor crônica miofascial apresentam baixos níveis séricos de Zn^{2+} quando comparados a indivíduos sem dor (OKUMUS *et al.*, 2010). Além disso, alguns estudos encontraram importante desequilíbrio de enzimas antioxidantes em pacientes com dores crônicas musculoesqueléticas, sugerindo que este mineral pode estar associado com a etiopatogenia dessas doenças e que esses indivíduos podem apresentar capacidade antioxidante menor que indivíduos sem dor crônica (SENDUR, 2008; TURKI; AL-OSAMI; NAJI, 2012; OKUMUS *et al.*, 2010).

Problemas e Hipóteses

Questão problema 1

Existe diferença da concentração sérica e eritrocitária de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Selenio total (Se_t) e Zn^{2+} em indivíduos com e sem dor crônica miofascial?

Hipóteses:

H0 = Não existe diferença nas concentrações séricas e eritrocitárias desses nutrientes em pacientes com dor crônica miofascial quando comparados a um grupo sem diagnóstico clínico de dor.

H1 = As concentrações séricas e eritrocitárias desses nutrientes diferem em pacientes com dor crônica miofascial quando comparados a um grupo sem diagnóstico clínico de dor.

Questão problema 2

Existe diferença entre a ingestão alimentar de magnésio, cálcio, selênio e zinco em indivíduos com e sem dor crônica miofascial?

Hipóteses:

H0 = A ingestão alimentar desses nutrientes não difere entre os indivíduos com ou sem diagnóstico clínico de dor crônica miofascial.

H1 = Indivíduos com diagnóstico clínico de dor crônica miofascial apresentam ingestão alimentar desses nutrientes diferente dos indivíduos sem o diagnóstico de dor.

Objetivos

Objetivo Geral:

Avaliar a ingestão habitual, níveis séricos e eritrocitários de magnésio, cálcio, selênio e zinco em pacientes com dor crônica miofascial.

Objetivos Específicos:

- Comparar o consumo alimentar de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Se_t e Zn^{2+} em pacientes com dor crônica miofascial vs. grupo de indivíduos sem dor crônica;
- Determinar os níveis séricos e eritrocitários desses oligoelementos em ambos os grupos;
- Comparar os coeficientes de correlação dos níveis séricos e eritrocitários desses oligoelementos com a ingestão alimentar em ambos os grupos.

Casuística e Métodos

→ Tipo de Estudo

Trata-se de estudo exploratório e observacional do tipo caso-controle.

→ Plano de Amostragem e população do estudo

Para composição da amostra foram considerados os valores médios das concentrações eritrocitárias de Mg^{2+} , Se_T e Zn^{2+} e concentrações séricas de Ca^{2+} e os desvios padrões encontrados a partir de informações obtidas do projeto piloto. Foi também considerada a média da diferença a ser detectada como relevante baseando-se em estudos originais publicados que avaliaram pacientes com dores crônicas musculoesqueléticas.

O projeto piloto foi realizado no período de Março a Maio de 2010. Neste período foi aplicado o protocolo da pesquisa para 10 pacientes com diagnóstico clínico de dor crônica miofascial atendidos no ambulatório de Dor do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos (C-HUPES/UFBA). Após realização do projeto piloto, ajustes foram realizados no protocolo da pesquisa e em seguida prosseguiu-se com a coleta de dados.

Considerando ainda um nível de significância de 5% e um poder da amostra de 90%, procedeu-se à análise do tamanho amostral esperado para cada oligoelemento a ser estudado (variáveis independentes). A tabela 1 apresenta os valores de desvios padrões encontrados no estudo piloto, os quais serviram como base para o cálculo do tamanho amostral.

Tabela 1. Cálculo do tamanho da amostra para análise de diferença entre as médias das concentrações eritrocitárias de Mg^{2+} , Se_T e Zn^{2+} e séricas de Ca^{2+}

	Poder do teste	Desvio padrão observado	Diferença a ser detectada	Tamanho da amostra esperado
Mg	90%	14,2	10	33
Ca	90%	0,56	0,48	29
Zn	90%	9,1	8,0	27
Se	90%	14,2	12,2	33

Adotou-se a média aritmética dos valores encontrados para definição do tamanho da amostra desta pesquisa. Assim, o tamanho da amostra calculada foi de 31 pacientes. Após análise dos resultados o poder dos testes obtidos para a comparação das médias de magnésio, cálcio, zinco e selênio foi de 84%, 98%, 97% e 74%.

População do estudo

A população desse estudo foi composta por indivíduos com diagnóstico estabelecido de dor crônica miofascial em atendimento de primeira consulta no ambulatório de Dor do Complexo Hospitalar Universitário Professor Edgar Santos (C-HUPES/UFBA).

Foram identificados todos os casos de dor crônica miofascial admitidos no ambulatório no período de junho a dezembro de 2010. Após aplicação dos critérios de inclusão e não inclusão, todos os indivíduos restantes compuseram o (Grupo I). Os resultados obtidos desse estudo foram comparados a um grupo controle, formado por indivíduos saudáveis, pareados por faixa etária e nível social semelhante à população estudada, composta preferencialmente pelos acompanhantes dos pacientes, na mesma proporção dos casos (Grupo II).

- Grupo caso (grupo I): todos os casos de dor crônica miofascial atendidos na Clínica de Dor do Hospital (HUPES) que satisfizeram os critérios de inclusão e não-inclusão do estudo ($n = 31$). Os resultados obtidos nesse estudo foram comparados a um grupo controle.
- Grupo controle (grupo II): grupo formado por indivíduos saudáveis, pareados por faixa etária, sexo e nível social semelhante à população estudada, composta por familiares dos pacientes ($n = 31$) ou por pessoas residentes na mesma região geográfica, de modo a reduzir possíveis

vieses de influência socioambiental. Todos os indivíduos deste grupo foram indicados pelo pacientes identificados para compor o grupo I.

→ **Critérios de Inclusão e Não-inclusão**

O grupo I (caso) foi constituído por indivíduos com diagnóstico de dor crônica miofascial, associado à presença de ponto gatilho muscular e escore de dor > 4 aferido pela escala de dor, de ambos os gêneros, com idade entre 18-60 anos. O grupo II (controle) foi formado por familiares e acompanhantes dos pacientes, provenientes da mesma área ou distrito e condições sociais, sem diagnóstico de dor.

Antes de serem inseridos na amostra desse estudo, todos os indivíduos foram submetidos a exames físicos e bioquímicos para identificar doenças sistêmicas e metabólicas que pudessem comprometer a homeostase orgânica de magnésio, cálcio, selênio ou zinco. Não foram incluídos indivíduos com diagnóstico de radiculopatias, disfunções articulares degenerativas ou inflamatórias, neuropatias periféricas e centrais, síndromes de compressão de nervo, esclerose múltipla, miastenia gravis e polimiosites; doenças sistêmicas tais como o hipotireoidismo e doenças metabólicas graves ou infecciosas (herpes vírus, picornavírus, *Trichinella spiralis*, cisticercose e toxoplasmos, Hepatite B, C, HTLV ou HIV), síndrome da fadiga crônica e fibromialgia. Não foram incluídos também indivíduos com distúrbios hidroeletrólíticos ou uso em de diuréticos.

→ **Planejamento do Protocolo da pesquisa:**

A figura 2 mostra as etapas do planejamento do protocolo desta pesquisa. Após seleção do paciente para o estudo foi preenchido protocolo de atendimento para

obtenção dos dados sócio-demográficos, estilo de vida, hábitos alimentares, características clínicas da dor como localização, início e duração, intensidade, fatores de melhora ou piora, estado nutricional. A intensidade da dor foi avaliada por meio da escala numérica da dor. Além de dados coletados via questionários foi também coletado, com o paciente em jejum, sangue no laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Professor Edgar Santos para dosagem de hemograma, velocidade de hemossedimentação (VHS), perfil lipídico, magnésio sérico e eritrocitário, cálcio sérico total, selênio sérico e eritrocitário e zinco sérico e eritrocitário, função hepática e renal, proteínas totais e frações, T3, T4, TSH ultrassensível, PCR, Anti-HIV I e II, Anti VHC e Anti HBS-Ag.

Os resultados dos exames bioquímicos foram utilizados para identificação de possíveis critérios de não inclusão. Entre os pacientes do Grupo Comparação (Grupo II) não foram aplicados os parâmetros para avaliação da dor, pois nenhum deles queixava-se de dor.

→ **Indicadores sócio demográficos, econômicos e relacionados ao estilo de vida**

Foram coletadas informações referentes a sexo, idade, situação conjugal, saneamento ambiental (abastecimento de água, esgoto e coleta pública de lixo, etc.), renda familiar mensal, escolaridade do paciente.

A avaliação do estilo de vida foi realizada por meio da identificação do consumo de bebida alcoólica, hábito de fumar e relato da prática de atividade física, sendo considerados consumidores de bebida alcoólica todos os que afirmaram fazer uso dela,

ainda que raramente (< 1 vez/mês), assim como se consideraram como não consumidores aqueles que relataram nunca beber e, ex-consumidores, aqueles que referiram ter suspensa a utilização de bebida alcoólica havia pelo menos um mês. Com relação ao tabagismo foram classificados como fumantes os que relataram uso do fumo, independente da frequência; ex-fumante: o que deixou de fumar há pelo menos um mês e não fumantes os que nunca fizeram uso de qualquer tipo de fumo.

Foram considerados fisicamente ativos os indivíduos que referiam prática de atividade aeróbia de intensidade moderada pelo menos 30min/dia durante 5dias da semana, ou atividades intensas por pelo menos 20min/dia, três vezes por semana, seguindo critérios do American College of Sports Medicine e da American Heart Association (HASKELL *et al.*, 2007).

→ **Avaliação Clínica da dor**

Os pacientes foram avaliados quanto à dor espontânea por meio da escala numérica da dor que mensurou a intensidade da dor referida pelo paciente naquele momento. Escala numérica da dor é uma escala de números inteiros que variam de 0 a 10, onde zero é ausência de dor e 10 é a maior dor possível. Os pontos de cortes estabelecidos pela escala numérica da dor são: 0 – 2 dor leve; 3 – 7 dor moderada e ≥ 8 dor intensa.

O diagnóstico da síndrome miofascial foi estabelecido com base em pelo menos um dos critérios: a) sensibilidade aumentada sobre um ponto de espessamento muscular; b) resposta muscular local à manipulação do ponto-gatilho; c) dor referida; d) reprodução da dor usual; e) restrição de amplitude de movimento; f) fraqueza sem

atrofia; ou g) sintomas autonômicos associados (GERWIN, 2001).

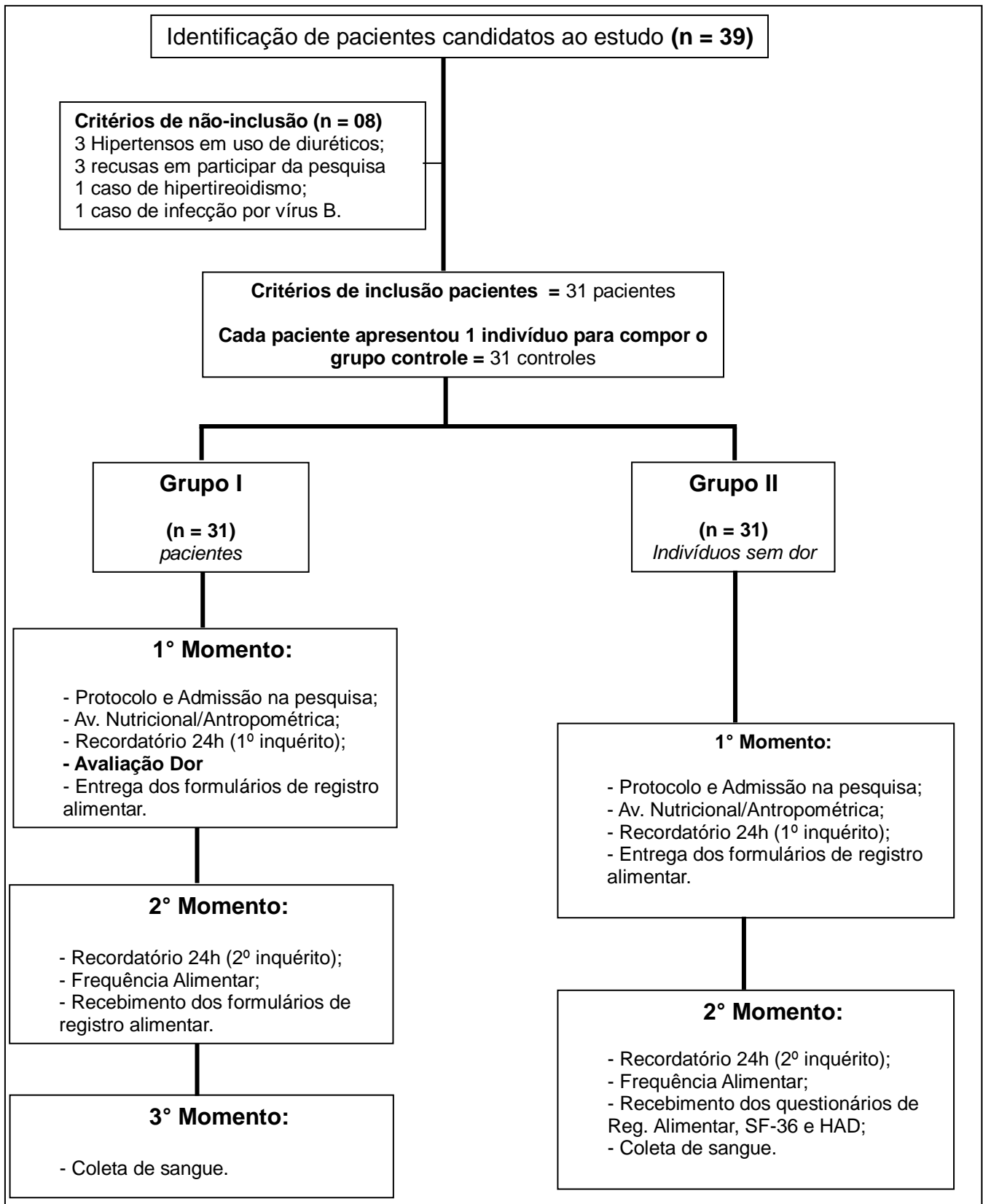


Figura 2. Etapas do protocolo da pesquisa

→ Parâmetros Nutricionais

Inquérito alimentar

As informações referentes ao consumo alimentar foram coletadas, a partir da admissão do paciente no estudo, por meio da aplicação de inquérito recordatório de 24 horas durante dois dias, em consultas diferentes. O monitoramento da ingestão do paciente foi realizado por meio do método do registro alimentar diário de três dias. No registro alimentar diário, devem ser anotados todos os alimentos e bebidas consumidos em dias da semana a ser estabelecido aleatoriamente (BIRÓ *et al.*, 2002).

Para o cálculo do teor de energia, macro e micronutrientes foi utilizado o programa de apoio a nutrição AVANUTRI versão 3.09 (2008), Avanutri Informática Ltda., complementado com a tabela de composição de alimentos do Estudo Nacional de Despesa Familiar - ENDEF (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1985) para alimentos regionais. A avaliação do consumo médio de energia, nutrientes, fibras e ingestão hídrica foi realizada por meio de registro nos questionários de registro alimentar de 3 dias e questionário recordatório 24h.

Avaliação Dietética dos micronutrientes: Para avaliação da ingestão dos minerais Ca, Mg, Se e Zn utilizou-se a metodologia descrita nas recomendações para minimizar os erros potenciais, considerando a ingestão individualmente e em grupo (DRI, 2000). As análises foram realizadas com 30 indivíduos em cada grupo, pois 1 paciente do grupo I não entregou os formulários de registro alimentar e 1 indivíduo do grupo II realizou preenchimento indevido do registro alimentar.

Avaliação da ingestão individual

Mg e Se

Para avaliação da adequação de ingestão individual seguiu-se a metodologia recomendada pela Ingestão dietética de referência (*Dietary Reference Intakes* - DRI), utilizando a necessidade média estimada (*Estimated Average Requirement* - EAR) como ponto de corte para estimativa das necessidades de Mg e Se.

Assim, para a verificação da adequação de ingestão de Mg e Se, iniciou-se com o cálculo da diferença entre a média da ingestão diária do nutriente (Id) pelo indivíduo e a EAR para o nutriente. A análise do Mg foi realizada por sexo, respeitando o método proposto pela DRI, onde a EAR assume valores diferentes para homens e mulheres.

Assim, seguiu-se a equação:

$$D = Id - EAR$$

Onde: D = Diferença; Id = Média de ingestão individual; EAR = Necessidade média estimada.

Posteriormente foi encontrado o desvio padrão das diferenças (DPd) e, em seguida, calculado a razão entre a diferença individual e o desvio padrão das diferenças (D / DPd). O resultado desta razão nos forneceu a probabilidade de adequação da ingestão individual, conforme tabela 2.

Zn

Considerando que a distribuição das necessidades de zinco tende a ser assimétrica na população, a avaliação da ingestão deste nutriente pelo método da EAR

não é aplicável. Para avaliação deste mineral, adotamos a seguinte classificação proposta pela DRI, 2000:

- < EAR = Inadequado
- > EAR e < RDA = Incerteza de adequação ou inadequação
- > RDA = Adequação

A análise de Zn, assim como a de Mg, foi realizada por sexo, respeitando o método proposto pela DRI.

Ca

Por não existir EAR conhecida para o Ca, a avaliação da ingestão individual se deu pelo método do teste Z, considerando os valores de ingestão adequada (*Adequate Intake* - AI) conforme faixa etária.

Para análise da ingestão do cálcio, procedeu-se o teste Z, que trata de um teste estatístico cujo objetivo é testar igualdade entre uma média conhecida numa população, neste caso a Ingestão Adequada (AI) e uma média calculada pelo pesquisador (numa amostra). O teste supõe que a ingestão diária de um indivíduo tem uma distribuição normal em torno da ingestão habitual do indivíduo. Sendo, portanto, calculado por meio da seguinte equação:

$$Z = (I_g - AI) / (DP_i / \sqrt{n})$$

Onde: Z = teste Z; I_g = Ingestão média observada; AI = Ingestão Adequada (*Adequate Intake*) do nutriente em avaliação; DP_i = Desvio padrão da ingestão do nutriente em avaliação, obtido em estudos populacionais (tabela 3); n = número de inquéritos realizados.

Com o valor encontrado no teste Z, seguiu-se a interpretação com o auxílio da tabela 4. A análise do cálcio foi realizada por faixa etária, respeitando o método

proposto pela DRI, onde a AI assume valores diferentes para indivíduos com idade menor que 50 anos ou \geq a 50 anos.

Tabela 2. Valores da razão entre D/DPd e probabilidade de conclusão correta de que a ingestão habitual está adequada ou inadequada.

Razão D/DPd	Conclusão	Probabilidade de conclusão correta
> 2,00	Ingestão habitual é adequada	0,98
> 1,65	Ingestão habitual é adequada	0,95
> 1,50	Ingestão habitual é adequada	0,93
> 1,00	Ingestão habitual é adequada	0,85
> 0,50	Ingestão habitual é adequada	0,70
> 0,00	Ingestão habitual é adequada/inadequada	0,50
< - 0,50	Ingestão habitual é inadequada	0,70
< - 1,00	Ingestão habitual é inadequada	0,85
< - 1,50	Ingestão habitual é inadequada	0,93
< - 1,65	Ingestão habitual é inadequada	0,95
< - 2,00	Ingestão habitual é inadequada	0,98

Fonte: Institute of medicine, 2001.

Tabela 3. Estimativa da variação intrapessoal expressa em desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) de cálcio em adultos.

	Adultos Idade 19 – 50 ^a				Adultos idade > 51 ^a			
	Mulheres		Homens		Mulheres		Homens	
	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Cálcio	325	39	492	54	256	44	339	44

Fonte: Institute of medicine, 2001.

Tabela 4. Valores selecionados de Z e o nível de confiança associado ao concluir que a ingestão individual habitual é maior que a ingestão adequada (AI).

Critério (Z)	Conclusão	Probabilidade de conclusão
>2,00	Ingestão habitual é adequada	0,98
>1,65	Ingestão habitual é adequada	0,95
>1,50	Ingestão habitual é adequada	0,93
>1,25	Ingestão habitual é adequada	0,90
>1,00	Ingestão habitual é adequada	0,85
>0,85	Ingestão habitual é adequada	0,80
>0,68	Ingestão habitual é adequada	0,75
>0,50	Ingestão habitual é adequada	0,70
>0,00	Ingestão habitual é adequada	0,50
>-0,50	Ingestão habitual é adequada	0,30
>-0,85	Ingestão habitual é adequada	0,20
>-1,00	Ingestão habitual é adequada	0,15

Avaliação da ingestão em grupo

Mg e Se

Os valores da ingestão alimentar de Mg e Se obtidos pelos Recordatórios 24h e Registro Alimentar de 3 dias foram analisados pelo métodos EAR como ponto de corte com o objetivo de estimar a prevalência de inadequação na ingestão por grupo. Este método, por meio da aplicação de modelos estatísticos, aumenta a confiabilidade dos valores encontrados, pois ajusta a distribuição das ingestões de nutrientes observadas e elimina ou, pelo menos, atenua o impacto das variações diárias, inter e intrapessoais. Entretanto, para aplicação deste método é necessário conhecer a EAR do nutriente.

Assim, os valores obtidos de ingestão desses nutrientes foram corrigidos pela variabilidade intra e interpessoal seguindo os seguintes passos:

- 1) Realizou-se análise de variância One-Way ANOVA para se obter o coeficiente de correlação corrigido pela variação intra e interpessoal. Por meio da média quadrática intrapessoal fornecida pela ANOVA, tem-se o valor da variância intra e interpessoal para os consumos desses nutrientes;
- 2) Calculou-se o valor do desvio padrão interpessoal (S_b – *standart deviation between*) que foi realizado por meio da raiz quadrada da variância interpessoal;
- 3) Procedeu-se ao cálculo do desvio padrão observado que foi realizado por meio da raiz quadrada da variância observada (S^2_{obs}), calculada a partir da seguinte equação:

$$S^2_{obs} = [S^2_b + (S^2_w/2)]$$

Onde: S^2_{obs} = variância observada; S^2_b – variância interpessoal; e S^2_w = variância intrapessoal.

- 4) Em seguida, calculou-se o fator de ajuste (λ), que é definido como a razão entre o desvio padrão interpessoal e o desvio padrão observado.

Posteriormente, realizou-se o ajuste de cada nutriente individualmente, seguindo a equação proposta pelo *US National Academic of Science Subcomitte on Criteria for Dietary Evaluation*:

$$\text{Valor Ajustado do Nutriente} = \text{Mip} (ii - \text{Mip}) \times (\lambda)$$

Onde: Mip = média de ingestão do grupo; ii = ingestão individual; (λ) = fator ajuste.

Assim foi realizada a distribuição do Mg e do Se ajustado do grupo de pacientes com dor e sem dor, separadamente.

Por fim, considerando a ingestão média desses dois nutrientes de acordo com a EAR por grupo, foi realizado o cálculo para obtenção do escore Z por meio da diferença entre a EAR e a média de ingestão do nutriente por grupo, dividido pelo desvio padrão, conforme equação:

$$Z = \frac{\text{EAR} - \text{média ingestão do grupo}}{DP}$$

A partir do valor de Z obtido, determinou-se o % de inadequação alimentar dos grupos para esses nutrientes.

Zn

A abordagem para análise do consumo alimentar de zinco por grupo utilizando o método da EAR não é indicada por considerar que a distribuição da ingestão diária

desse mineral tende a ser assimétrica, segundo dados apresentados pela DRI. Assim, para avaliação desse mineral adotou-se a classificação com base nas definições proposta pela própria DRI, comparando a mediana da ingestão com a EAR, inferindo se o consumo do nutriente está acima ou abaixo da recomendação.

Ca

Por não existir valores de RDA para o cálcio, a EAR não pode ser estabelecida pela DRI, motivo pelo qual a avaliação do consumo alimentar deste nutriente por grupo com o objetivo de avaliar a probabilidade de inadequação do consumo não foi possível de ser realizada, mantendo-se exclusivamente a avaliação individual e comparados os valores com o AI.

Necessidade média de ingestão ou ingestão adequada

Os valores da EAR e do AI propostos pelo *US National Academic of Science Subcomitte on Criteria for Dietary Evaluation* e utilizados para avaliação do consumo alimentar da população desse estudo estão apresentados abaixo:

Tabela 5. Valores da necessidade média estimada (EAR) e ingestão adequada (AI).

	Magnésio EAR (mg/dia)	Selênio EAR (µg/dia)	Zinco EAR (mg/dia)	Cálcio AI (mg/dia)
Homens				
31 – 50 anos	350	45	9,4	1000
51 – 70 anos	350	45	9,4	1200
Mulheres				
31 – 50 anos	265	45	6,8	1000
51 – 70 anos	265	45	6,8	1200

Dados Antropométricos

Peso: Para a obtenção do peso foi utilizada uma balança digital, com capacidade para 200 kg e precisão de 50 g. O procedimento de pesagem foi realizado com balança calibrada em zero, o paciente trajando roupas leves, descalço, e com a bexiga vazia. Para a pesagem, ele permaneceu em pé sobre a plataforma da balança com o peso do corpo igualmente distribuído entre os pés. Foram realizadas duas medidas, sendo considerada a média das duas. A variação permitida entre as duas medidas foi de 0,1 kg (LOHMAN, 1993).

Altura: A estatura foi obtida por meio do estadiômetro portátil (Seca[®]), graduado em décimos de centímetros, afixado a uma superfície plana. O paciente foi medido descalço, vestindo o uniforme padrão do hospital, sem chapéu, adereços ou gorro. O paciente foi posicionado verticalmente com braços estendidos ao longo do corpo, ombros relaxados com os calcanhares juntos, e a cabeça posicionada no plano de Frankfurt. Calcanhares, nádegas omoplatas e dorso da cabeça em contato com a superfície vertical do instrumento. Antes da leitura da medida, o paciente foi posicionado firmemente, enquanto a haste móvel do estadiômetro foi deslocada até a parte superior da cabeça. A medida foi registrada com aproximação de 0,5 cm. Foram realizadas duas medidas. A altura registrada na ficha de avaliação do estado nutricional correspondeu à média das duas medidas (LOHMAN, ROACHE, MARTORELL *et al.*, 1992).

Índice de Massa Corporal (IMC): O Índice de Massa corporal ou Índice de Quetelet – P/E^2 (WHO 1995), obtido pela relação entre o peso (kg) e o quadrado da altura(m) foi adotado como indicador antropométrico. Consideraram-se os pontos de corte da OMS (1998) para eutrofia (18.5 - 24.9 kg/m) e excesso de peso (25kg/m).

→ Dosagem sérica e eritrocitária

Para as dosagens dos oligoelementos foram coletados 20mL de sangue no laboratório de análises do HUPES/UFBA, com os participantes em jejum de no mínimo 8h. Utilizados tubos com anticoagulante (citrato de sódio a 30 %) para obtenção do soro. O sangue foi separado por centrifugação (SORVALL) a 3.000 rpm durante 15min para obtenção do soro e transferido para tubos de polipropileno (eppendorf). Após a retirada do soro foi obtida a massa eritrocitária que foi lavada com solução salina a 9% e centrifugada em 10.000 rpm por 10min (procedimento repetido por 3 vezes). Em seguida a massa eritrocitária foi extraída e armazenada a -20°C para realização das seguintes análises:

Análises de Magnésio

As determinações de Magnésio foram realizadas em amostras de soro e eritrócitos. Os diferentes tipos de amostra foram tratados de formas específicas e, ao final, as concentrações foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica utilizando equipamento da marca VARIAN[®], nas seguintes condições:

- Lâmpada de cátodo oco específica para Mg;
- comprimento de onda (λ): 285,2nm;
- Fenda: 0,7nm;
- chama: oxidante ar/acetileno.

Para determinação da curva de calibração foram preparadas soluções padrão de Mg nas concentrações de 2,5; 5,0; 12,5; 25 e 37,5mg/L em meio ácido a partir da solução padrão estoque de Mg (1g/L). Essas soluções foram diluídas na proporção 1:50 com solução de cloreto de lantânio 1g/L, resultando na curva de calibração

(concentrações 550, 100, 250, 500 e 750µg/L). Como branco da curva foi utilizado cloreto de lantânio (1g/L).

Determinação de Magnésio sérico

A determinação de magnésio no soro foi realizada de maneira que a concentração de Mg se ajustasse ao intervalo da curva de padrão de 0,05 a 0,75µgMg/mL. Considerando metodologia proposta por Deuster (1987). O Valor de referência adotado foi o de 0,57 a 0,91 mmol/L.

Determinação de magnésio eritrocitário

A determinação de Mg nos eritrócitos foi realizada na papa de hemácias após separação do soro. Para análise, 500µL da massa de eritrócitos foram diluídos em solução de HNO₃ concentrado (2mL) e H₂O₂ (500µL) para digestão, após 30 minutos a solução foi aquecida na chapa de aquecimento em temperatura de aproximadamente 100°C por duas horas. Ao final, as amostras foram avolumadas para 5mL com água de MilliQ®, obtendo solução final em diluição de 1:10.

Após resfriamento em temperatura ambiente, 500µL da solução foi diluído em 9,5mL com cloreto de lantânio 1g/L, obtendo uma diluição final de 1:200. O magnésio eritrocitário foi determinado a partir da adaptação feita do método descrito por Whitehouse *et al.* (1982), considerando o estudo de Deuster *et al.* (1987). O padrão de magnésio utilizado foi o titrisol Merck (MgCl₂), considerando os seguintes pontos para a curva de calibração: 0,05; 0,075; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 µg/ml e determinado por espectrofotometria de absorção atômica.

Análise de Cálcio

A análise das concentrações de cálcio só foi possível ser realizada no soro. Por

falhas no planejamento e administração das amostras para análises de sangue, não foi possível sua análise eritrocitária.

Determinação de Cálcio total sérico

A determinação do cálcio sérico total foi realizada pelo laboratório do Hospital Universitário Professor Edgar Santos por meio de método calorimétrico automatizado, sendo considerado como valores normais o intervalo de referência de 8,6 a 10,3 mg/dL

Análise de selênio

Determinação de Selênio total (Se_t) sérico

As concentrações plasmáticas de Se_t foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica em forno grafite, com correção Zeeman em um aparelho da marca VARIAN®. As condições de calibração do aparelho para análise selênio foram:

- Lâmpada de cátodo oco para selênio;
- Comprimento de onda (λ): 196,0nm;
- Corrente da lâmpada: 290 mA;
- Fenda: 2,0 nm;

Foi utilizado como modificador de matriz o *Paladium*. O limite de detecção do método foi de inferior a 10 mg/L, a precisão (11%) e imprecisão (1%). As amostras foram diluídas na proporção de 1:4 com HNO₃ a 0,2% + 0,2% de TRITON. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

Determinação de selênio total (Se_t) eritrocitário

A determinação de selênio consistiu na digestão da massa de eritrócitos. Para isso, foram adicionados 2mL de HNO₃ concentrado e 500 μ L de H₂O₂ às alíquotas de

soro e de eritrócitos previamente colocadas em beakers de vidro. Esses tubos foram mantidos em repouso durante a noite e, no dia seguinte, colocados em chapa de aquecimento cuja temperatura foi aumentada gradativamente de 50°C para 110°C por um período médio de duas horas. Após a volatilização completa do material orgânico, as soluções foram avolumadas para 5mL com água deionizada e submetidas à leitura diretamente no GTA 120, utilizando-se o *Paladium* (Pd) e o $Mg(NO_3)_2$ como modificador de matriz (200 µL de Pd e 125 µL do $Mg(NO_3)_2$, diluídos em 400µL de HNO_3 a 0,2%). Os resultados foram expressos em µg/L.

As condições de trabalho e calibração do espectrofotômetro foram as mesmas utilizadas para análise de selênio no soro.

Análises de Zinco

A determinação da concentração de zinco foi realizada no soro e nos eritrócitos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro de absorção atômica, marca VARIAN, equipado com lâmpada de cátodo oco, calibrado nas seguintes condições de trabalho:

- comprimento de onda: 213,9 nm;
- fenda: 0,7 nm;
- chama: oxidante acetileno/ar com fluxo de 2,5: 15l/min, respectivamente;
- sistema de atomização-queimador com cabeça de uma fenda de 10 cm de largura e nebulizador, munido de pérola de impacto e três leituras com tempo de integração de 3 segundos.

Determinação de zinco sérico

No soro a concentração de zinco foi realizada segundo o método proposto por

Rodriguez *et al.* (1989). Duas alíquotas de cada amostra foram preparadas, diluindo-se em água MilliQ® na proporção de 1:4 e aspirada diretamente na chama do aparelho.

O equipamento foi calibrado com soluções aquosas de glicerol a 3% e ácido nítrico a 1%, preparadas por diluição de padrão de zinco titrisol® (MERCK), nas concentrações de 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1,0 µg/mL. Os resultados foram calculados a partir das absorbâncias obtidas e expressas em µgZn/dL, representando a média das concentrações das amostras preparadas em duplicatas.

Determinação de zinco eritrocitário

A determinação de Zn²⁺ nos eritrócitos foi realizada na papa de hemácias após separação do soro. Para análise, 500µL da massa de eritrócitos foram diluídos em solução de HNO₃ concentrado (2mL) e H₂O₂ (500µL) para digestão, após 30 minutos a solução foi aquecida na chapa de aquecimento em temperatura de aproximadamente 100°C por duas horas. Ao final, as amostras foram avolumadas para 5mL com água de MilliQ®, obtendo solução final em diluição de 1:10.

Após resfriamento em temperatura ambiente, 500µL da solução foi diluído em 9,5mL com HNO₃ a 0,2%, obtendo uma diluição final de 1:200.

O zinco eritrocitário foi determinado pelo método descrito por Whitehouse *et al.* (1982), com curva padrão diluída em solução de glicerol 3% e ácido nítrico 1%. O padrão de zinco que foi utilizado foi o titrisol – 1g/L (Merck), considerando os seguintes pontos para a curva de calibração: 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 e 1,0 µg/mL e determinado por espectrofotometria de absorção atômica.

Análise da hemoglobina na massa eritrocitária

Para expressar os resultados, em termos de massa de Mg e Zn/massa de hemoglobina, foram preparadas paralelamente, as amostras para análise da

concentração de hemoglobina. Uma alíquota de 20 µL de eritrócito lisado foi utilizada para determinação desta concentração segundo o método da cianometahemoglobina do kit Labtest Diagnóstica (VAN ASSENDELFT, 1972).

A partir dos valores das concentrações desses oligoelementos e da hemoglobina, foi calculada a concentração expressa em µgZn/g Hb.

Essas análises foram realizadas no laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário Professor Edgar Santos.

Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos para avaliação do estado nutricional relativo a alguns oligoelementos ainda não estão bem estabelecidos. Segue abaixo os pontos de corte utilizados para avaliação dos níveis séricos de Mg²⁺, Ca²⁺, Se_t e Zn²⁺.

Tabela 6. Concentrações normais de Mg²⁺, Ca²⁺, Se_t e Zn²⁺.

	Magnésio	Cálcio	Zinco	Selênio
Soro	1,56 – 2,52 (µg/dL)	8,8 (mg/dL)	70 – 150 (µg/dL)	46 – 143 (µg/dL)
Eritrócitos	Não identificado consenso	Não avaliado	42 ±6 (µgZn/gHb)	Não identificado consenso

Por ainda não existir consenso sobre os pontos de cortes para magnésio e selênio eritrocitários, a análise de frequência desta variável foi realizada agrupando os valores encontrados para a concentração deste oligoelemento no compartimento intracelular, em quartis. Para o magnésio os resultados foram expressos em µgMg/gHb conforme proposto por Deuster *et al.*, 1987. Os valores do 1º quartil para este mineral foi de 83,75 µgMg/gHb. Os resultados das concentrações eritrocitárias de selênio foram

expressos em µg/L e os valores do 1º quartil para este mineral foi de 65,08 µg/L.

→ **Testes Estatísticos**

As análises estatísticas foram realizadas considerando os resultados obtidos utilizando-se testes paramétricos ou não paramétricos, levando-se em consideração a natureza de distribuição das variáveis estudadas. Foi fixado em 5% o nível de rejeição da hipótese de nulidade, ou seja, a possibilidade de apenas 5% da nossa hipótese H1 ser falsa. Para o processamento dos dados foi utilizado o software *Statistical Package for Social Science* (SPSS) na versão 17.0.

Realizou-se análise descritiva para caracterizar a distribuição dos eventos estudados, para as variáveis categóricas foram encontradas as frequências absolutas simples e, para as variáveis contínuas as medidas de tendência central (média ou mediana) e de dispersão (desvio-padrão [DP] ou intervalo interquartil [IQ]). Antes de prosseguir com as análises foi verificado o comportamento das variáveis quanto a normalidade, com a aplicação do teste Shapiro-Wilk. Proporções foram comparadas utilizando-se o teste Qui-Quadrado ou teste Exato de Fischer. A magnitude da associação entre X e Y foi avaliada pelo *odds ratio*. Para a comparação de médias entre os grupos, utilizou-se o teste T de Student e o teste não paramétrico Mann-Whitney U, adotando-se como significativo $p < 0,05$.

As análises de correlação entre variáveis contínuas foram realizadas por meio do teste de correlação de Pearson para variáveis paramétricas e Spearman para variáveis não paramétricas.

A seleção das potenciais variáveis para a associação entre a ocorrência de dor crônica miofascial e as variáveis explanatórias referentes ao consumo alimentar e as

reservas corporais dos oligoelementos estudados foi realizada por meio de análises bivariadas (teste qui-quadrado simples ou de tendência), utilizando-se como ponto de corte para seleção $p < 0,2$. Estas variáveis, juntamente com aquelas que mostraram potencial de confundimento, foram incluídas no modelo como covariáveis, mesmo que o valor de p fosse maior do que 20%.

Para modelar a prevalência de dor crônica miofascial em função dos valores de ingestão alimentar e reservas corporais (concentrações séricas e eritrocitárias), realizou-se a regressão múltipla de Poisson, que integra a família dos Modelos Lineares Generalizados (GLM), utilizando como estimador a razão de prevalência (RP), que compara a prevalência do desfecho nos indivíduos expostos com a prevalência nos indivíduos não expostos (HOSMER e LEMESHOW, 2000).

O processo de modelagem foi realizado pelo método *backward selection*, ou seja, partiu-se de um modelo mais complexo para um mais simples, excluindo as variáveis de confundimento de acordo com valores de p obtidos.

→ **Aspectos éticos**

O referido trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Escola de Nutrição da UFBA – Parecer nº 03/08. Os pacientes elegíveis para participarem do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido descrito em anexo.

Todos os pacientes tiveram o direito de desistir de participar deste protocolo de pesquisa, em qualquer etapa do mesmo.

Resultados

Características gerais e antropométricas

A maioria dos indivíduos envolvidos no estudo eram mulheres, adultas (n = 45; 72,6%). A média da idade dos pacientes com dor crônica miofascial (grupo I) foi de 45,83 ± 7,59 anos enquanto que no grupo II essa média foi de 41,2 ± 10,2 anos (com mínima igual a 31anos e máxima igual a 60anos, em ambos os grupos). O peso médio dos grupos I e II foi de 71,4 ± 9,9 kg vs. 74,0 ± 16,1 kg, respectivamente.

A média do IMC foi de 26,99 ± 3,94 kg/m² vs. 25,06 ± 5,31 kg/m², respectivamente. As análises demonstraram que não houve diferenças de idade, nem nas variáveis antropométricas de peso, altura e IMC (P = não significativo [NS]).

A tabela 7 apresenta a frequência de variáveis relacionadas ao estilo de vida e estado nutricional, assim como a associação entre os grupos com e sem dor miofascial. Indivíduos com dor miofascial crônica relataram ser mais sedentários em comparação a indivíduos controles sem dor (n = 22; 78,6% vs. n = 13; 50%) (p = 0,028). Entretanto, a prática de atividade física ou sua ausência não apresentou associação com a intensidade da dor referida (NS).

Indivíduos com dor crônica miofascial (grupo I) apresentaram maior frequência de excesso de peso (n = 23; 74,2% vs. n = 14; 45,2%; p = 0,020).

Avaliação da dor

Quanto à etiologia da dor miofascial referida pelos pacientes (grupo I), a maioria era de causa desconhecida ou idiopática (n = 20; 64,51%) ou apresentou início relatado após acidente de trabalho (n = 8; 25,81%). Outras causas como as de origem emocional ou pós-cirúrgica foram referidas por um pequeno número de pacientes (n = 3; 9,68%). A intensidade da dor referida por meio da Escala numérica da dor apresentou valor mínimo igual a 5 e máximo igual a 10 pontos, com média igual a 7,5 ± 1,4 pontos.

A maioria dos indivíduos com diagnóstico de dor crônica miofascial (n = 18;

58,1%) relataram intensidade ≥ 8 pontos (dor intensa). A intensidade da dor relatada não apresentou associação com as variáveis relacionadas à ingestão alimentar ou às concentrações séricas dos oligoelementos estudados ($p = NS$).

Análises de correlação foram realizadas para identificar possíveis correlações entre a intensidade da dor e a ingestão de magnésio ($r = -0,030$; $p = 0,438$), de cálcio ($r = 0,058$; $p = 0,380$), de selênio ($r = 0,367$; $p = 0,046$) e de zinco ($r = 0,121$; $p = 0,358$), porém nenhum dos achados foi considerado estatisticamente relevante. Também não foi observada correlação entre a intensidade da dor com os níveis séricos e eritrocitários de Mg^{2+} , Ca^{2+} , Se_T e Zn^{2+} ($p=NS$).

Tabela 7. Associação de variáveis relacionadas ao estilo de vida e estado nutricional em pessoas com e sem dor miofascial.

	Grupo I		Grupo II		P
	N	%	N	%	
Gênero					
Homens	07	22,6	10	32,3	0,393 [†]
Mulheres	24	77,4	21	67,7	
Tabagismo					
Sim	01	3,3	0	0	-
Não	30	96,7	31	100	
Etilismo					
Sim	04	12,9	13	41,9	0,011 [#]
Não	27	87,1	18	58,1	
Atividade física					
Sim	06	19,3	16	51,7	0,008 [†]
Não	25	80,7	15	48,3	
IMC					
Eutrofia	08	25,8	17	54,8	0,020 [†]
Excesso de peso	23	74,2	14	45,2	

[†] Pearson's chi-square test; [#] Fisher's exact test; IC (Intervalo de Confiança) 95%. IMC = Índice de Massa Corporal. Grupo I = indivíduos com dor crônica miofascial; Grupo II = indivíduos sem dor crônica.

Concentrações séricas e eritrocitárias de magnésio e cálcio

Avaliando as concentrações séricas de Ca^{2+} e Mg^{2+} , observou-se maior frequência de hipocalcemia no grupo I (tabela 8). A média dos valores de Ca^{2+} sérico encontrados nos grupos I e II foi de $8,92 \pm 0,52$ mg/dL vs. $9,39 \pm 0,46$ mg/dL, respectivamente ($p < 0,001$) (figura 3).

A média dos níveis eritrocitários de Mg^{2+} nos indivíduos com dor foi de $92,5 \pm 14,5$ $\mu\text{gMg/gHb}$, sendo portanto menor que as concentrações encontradas no grupo controle que apresentou média igual a $102,2 \pm 14,0$ $\mu\text{gMg/gHb}$ ($p = 0,010$) (figura 3). Entretanto, nem a frequência de hipomagnesemia e nem a média das concentrações de Mg^{2+} no soro apresentaram diferença entre os grupos.

Nesta análise percebe-se que a maioria dos indivíduos com dor crônica miofascial apresenta menores concentrações de Mg^{2+} eritrocitário e encontram-se agrupados no 1º quartil ($n = 20$; 64,5%), dados apresentados na tabela 8 ($p = 0,037$).

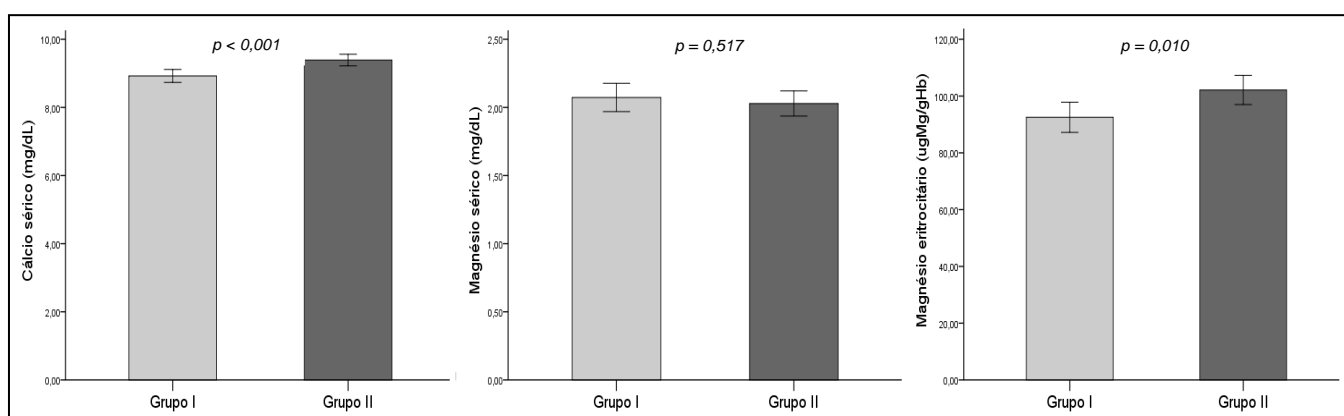


Figura 3. Concentrações de Ca^{2+} e Mg^{2+} em compartimentos orgânicos (soro e eritrócitos) de indivíduos com e sem dor crônica miofascial. *Student t-test*.

Legenda: Grupo I = indivíduos com dor crônica miofascial; Grupo II = indivíduos sem dor crônica.

Tabela 8. Frequência de concentrações séricas, eritrocitárias e de inadequação da ingestão dietética de magnésio, cálcio, selênio e zinco em indivíduos com e sem dor crônica miofascial.

	Grupo I		Grupo II		P
	N	%	N	%	
Mg eritrócitos^a					
1º quartil	20	64,5	04	12,9	0,037 [#]
2º, 3º e 4º quartil	11	35,5	27	80,7	
Mg sérico					
< 1,8 mg/dL	04	12,9	06	19,3	0,366 [#]
≥ 1,8 mg/dL	27	80,7	25	80,7	
Ca Sérico					
< 8,8 mg/dL	10	32,3	02	6,4	0,011 [#]
≥ 8,8 mg/Dl	21	67,7	29	93,6	
Ingestão Ca^b					
Z score ≤ -1	29	96,7	29	96,7	1,000 [#]
Z score > -1	01	3,3	01	3,3	
Ingestão Mg^c					
Z score ≤ -1	30	100	21	70	0,002 [#]
Z score > -1	0	0	09	30	

[†] Pearson's chi-square test; [#] Fisher's exact test; IC (Intervalo de Confiança) 95%. IMC = Índice de Massa Corporal. ^a1º quartil = 83,75 µgMg/gHb; ^bAI como referência de ingestão adequada; ^cEAR como referência de necessidade média de ingestão. Grupo I = indivíduos com dor crônica miofascial; Grupo II = indivíduos sem dor crônica.

Ingestão dietética de magnésio e cálcio

A análise da ingestão por grupos, os valores médios da ingestão de Mg, após serem ajustados e corrigidos pela variabilidade foram menores que a necessidade média estimada (EAR) em ambos os grupos, com percentual de inadequação próximo a 100% nos dois grupos. A avaliação da ingestão de cálcio por grupo pelo método da EAR como ponto de corte não foi possível por não existir valores predefinidos de EAR para este nutriente. A figura 4 mostra a média dos resultados obtidos para a ingestão de magnésio e cálcio após aplicação dos inquéritos alimentares.

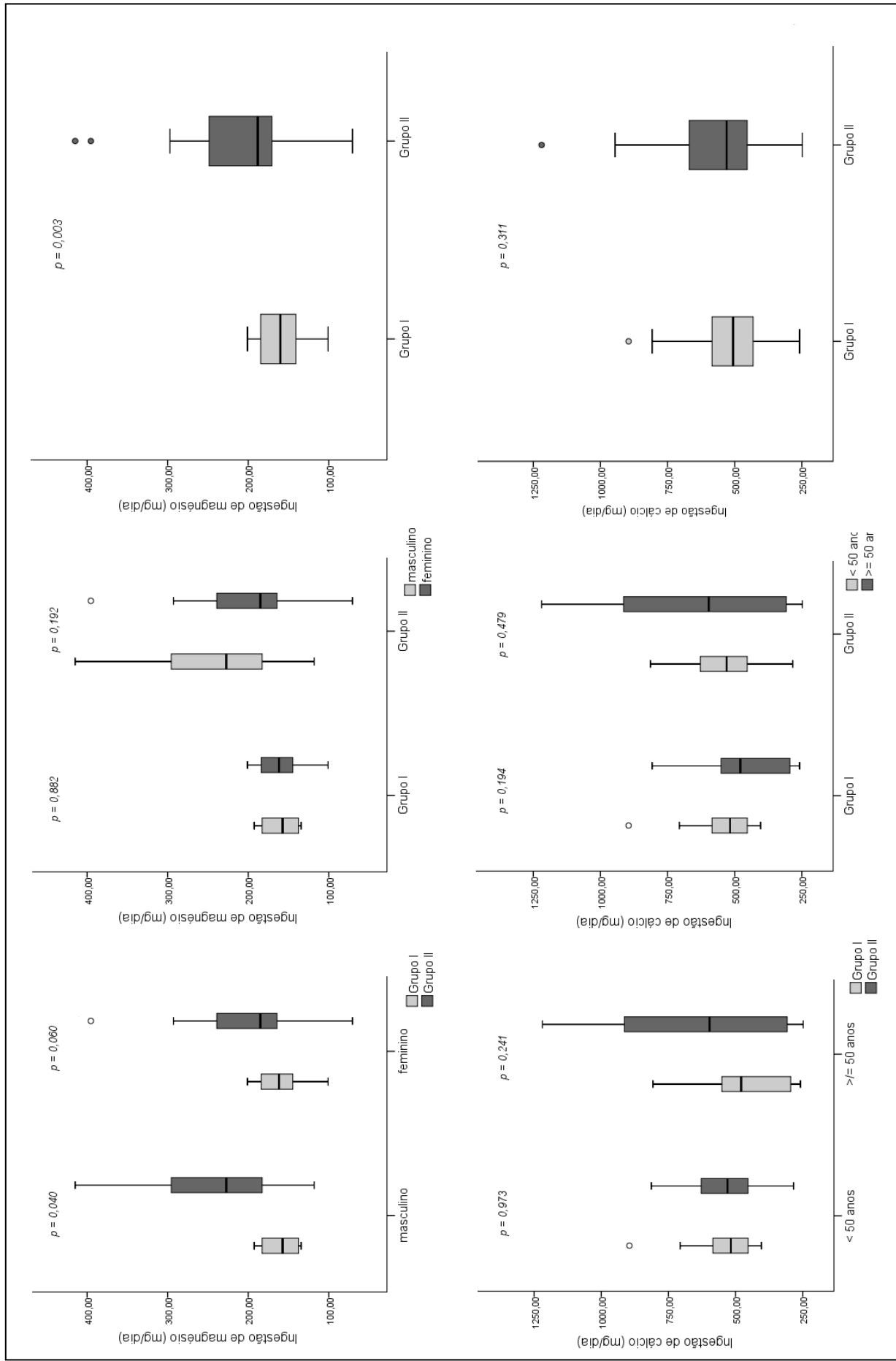


Figura 4. Avaliação quantitativa intra e intergrupos da ingestão de magnésio e cálcio em pacientes com e sem dor crônica miofascial.

Legenda: Grupo I = *Indivíduos com dor crônica miofascial*; Grupo II = *Indivíduos sem dor*.

A análise de ingestão individualizada de magnésio foi realizada inicialmente por gênero, respeitando a EAR proposta pela DRI. Nesta análise, percebeu-se que a média de ingestão de magnésio foi menor no grupo de pacientes com dor, comparados ao controle para ambos os gêneros, porém com resultado estatisticamente significativo apenas para o gênero masculino. A ingestão de magnésio não apresentou diferença entre homens e mulheres do mesmo grupo (figura 4).

Considerando a inexistência de diferença para a ingestão de magnésio por sexo em indivíduos do mesmo grupo, procederam-se as análises para diferença de médias de ingestão entre os grupos, independente do sexo dos participantes, sendo a menor média observada no grupo dos pacientes com dor crônica miofascial ($p = 0,003$). Este grupo também apresentou maior frequência de indivíduos com ingestão inadequada ($p = 0,002$) (tabela 8).

Na avaliação individual da ingestão de magnésio e cálcio pode-se perceber que no grupo I, a frequência indivíduos com ingestão inadequada de magnésio definida como superior a 85% de inadequação foi igual a 100% ($n = 30$) e de aproximadamente 68,6% ($n = 21$) dos indivíduos do grupo II ($p = 0,001$). Não foi observada diferença estatisticamente significativa na frequência de indivíduos com ingestão inadequada para o cálcio entre os grupos (tabela 8), onde 96,7% ($n = 29$) dos indivíduos com dor crônica miofascial e 96,7% ($n = 29$) dos indivíduos do grupo II apresentaram baixa probabilidade de adequação para a ingestão deste mineral (probabilidade de adequação $< 15\%$) (NS).

Mg²⁺ e Ca²⁺ vs. Dor Crônica Miofascial

Um modelo de regressão de Poisson foi proposto para identificar a associação dos achados desse estudo com a presença de dor crônica miofascial (tabela 9). A variável índice de massa corporal (IMC) foi mantida como ajuste do modelo devido a diferença detectada na frequência de indivíduos com excesso de peso entre os grupos.

Com 95% de confiança, pode-se perceber que a cada acréscimo de 1mg na ingestão de Mg²⁺ reduz-se em 0,01% a prevalência de dor crônica miofascial, quando calculado o incremento associado ao aumento de 15mg na ingestão de Mg (equivalente a aproximadamente 3 castanhas de caju ou 2 castanhas-do-pará), tem-se que a prevalência de dor crônica miofascial reduz em 12,8% (RP = 0,872) para cada ingestão de 15mg/dia.

O Ca²⁺ sérico também apresentou associação com a presença de dor, no modelo proposto, observou-se que para cada aumento de 1mg/dL do Ca²⁺ sérico reduz-se em aproximadamente 58% a prevalência de dor crônica miofascial.

Tabela 9. Modelo final de Regressão de Poisson para a presença de dor crônica miofascial.

Variáveis	B	Exp (B)	Erro padrão	Z (Wald)	p valor
Ca ²⁺ sérico (mg/dL)	-0,864	0,421	0,3979	4,717	0,030
Ingestão de Mg (mg/dia)	-0,009	0,990	0,0042	4,432	0,035
IMC (kg/m ²)	0,053	1,054	0,0405	1,699	0,192

Concentrações séricas e eritrocitárias de Selênio e Zinco

No grupo dos indivíduos com dor miofascial a média das concentrações de selênio eritrocitário foi de 79,46 ± 19,79 µg/L, sendo portanto menor que as concentrações encontradas no grupo controle que apresentou média igual a 90,80 ± 23,12 µg/L ($p = 0,041$). As concentrações intraeritrocitárias de zinco diferiram entre os grupos: o grupo I apresentou mediana igual a 30,56 µgZn/gHb (IQ = 7,74 µgZn/gHb) e o grupo II apresentou mediana de 38,48 µgZn/gHb (IQ = 14,86 µgZn/gHb) ($p = 0,004$) (figuras 5 e 6).

Avaliando as concentrações séricas de Se_t e Zn²⁺, não foram observadas

diferenças entre os grupos em relação à frequência de indivíduos com baixos níveis séricos desses oligoelementos (*NS*, em ambas as análises) (tabela 10). Também não foram encontradas diferenças nas medidas de tendência central para as concentrações séricas de Se_t e Zn^{2+} (tabela 11).

Nesta análise percebe-se que 41,9% ($n = 13$) dos indivíduos com dor crônica miofascial encontram-se agrupados no 1º quartil, dados apresentados na tabela 10 ($p = 0,040$).

A frequência de indivíduos com concentrações intraeritrocitárias de Zn^{2+} abaixo do ponto de corte estabelecido também foi maior no grupo de pacientes com dor crônica ($n = 29$; 93,6%) que no grupo controle ($n = 16$; 51,6%) ($p = 0,000$) (tabela 10).

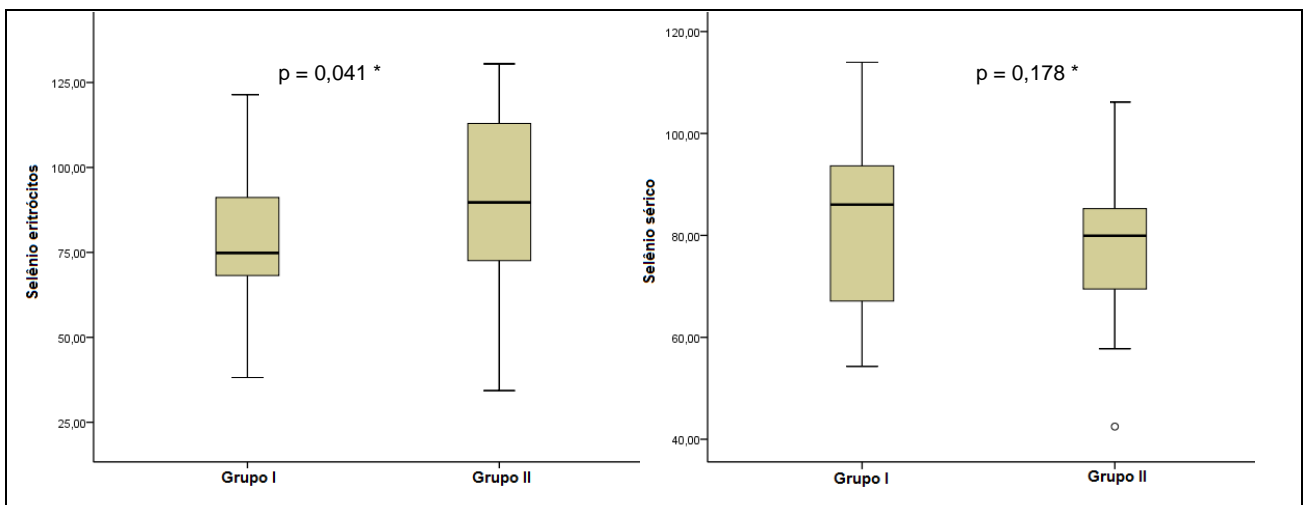


Figura 5. Concentrações eritrocitárias e séricas de Se_t em indivíduos com e sem dor crônica miofascial.

Legenda: * StatisticT-test; *Grupo I* = indivíduos com dor crônica miofascial; *Grupo II* = indivíduos sem dor crônica.

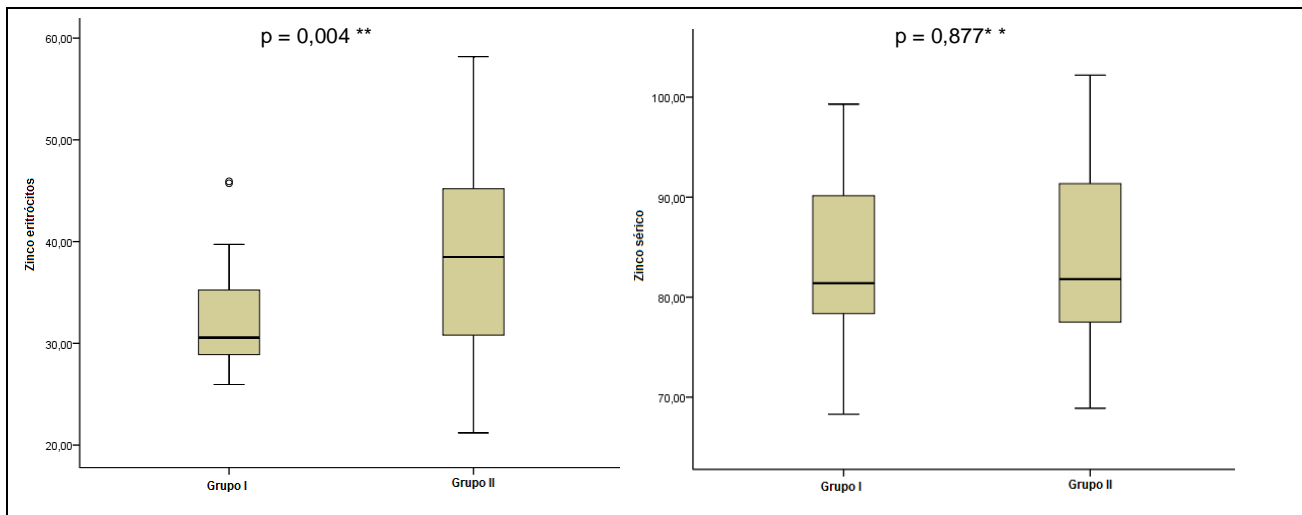


Figura 6. Concentrações eritrocitárias e séricas de Zn^{2+} em indivíduos com e sem dor crônica miofascial.

Legenda: ** Mann-Whitney test; Grupo I = indivíduos com dor crônica miofascial; Grupo II = indivíduos sem dor crônica.

Tabela 10. Frequência de baixas concentrações séricas e eritrocitárias e de inadequação da ingestão dietética de selênio e zinco.

	Grupo I		Grupo II		P
	N	%	N	%	
Se eritrócitos^a					
1º quartil	13	41,9	03	9,7	0,040 [#]
2º, 3º e 4º quartil	18	58,1	28	90,3	
Se sérico					
< 46 µg/L	01	3,2	01	3,2	1,000 [#]
≥ 46 µg/L	30	96,8	30	96,8	
Zn eritrócitos					
< 40 µgZn/gHb	29	93,6	15	48,4	0,000 [#]
≥ 40 µgZn/gHb	02	6,4	16	51,6	
Zn sérico					
< 75 µg/DI	5	16,1	5	16,1	1,000 [†]
≥ 75 µg/DI	26	83,9	26	83,9	
Ingestão Se^b					
Z score ≤ -1	6	20,0	6	20,0	1,000 [†]
Z score > -1	24	80,0	24	80,0	
Ingestão Zn^b					
< EAR	21	70,0	16	53,3	0,184 [†]
≥ EAR	9	30,0	14	46,7	

[†] Pearson's chi-square test; [#] Fisher's exact test; IC (Intervalo de Confiança) 95%. IMC = Índice de Massa Corporal; ^a1º quartil = 65,08 µg/L; ^bEAR como referência de necessidade média de ingestão. Grupo I = indivíduos com dor crônica miofascial; Grupo II = indivíduos sem dor crônica.

Ingestão dietética de selênio e zinco

Na avaliação da ingestão de selênio por grupo, após ajuste e correção pela variabilidade, observamos que a média da ingestão de ambos os grupos foi pouco superior a EAR (tabela 11), porém com um percentual de inadequação de aproximadamente 49,5% no grupo de pacientes com diagnóstico de dor crônica miofascial e de 24,4% de inadequação no grupo controle. Na avaliação individual da ingestão deste micronutriente, foi observada uma frequência de 80% dos indivíduos, em ambos os grupos, apresentando ingestão considerada segura para este mineral ($p = 1,000$) (tabela 10).

Tabela 11. Medidas de tendência central para ingestão de selênio e zinco por grupo de indivíduos com e sem dor crônica miofascial.

	Grupo I		Grupo II		<i>P</i>	EAR
	Média/Mediana	DP / IQ	Média/Mediana	DP / IQ		
Selênio*	45,17	34,63	56,88	44,64	0,261	45
Zinco**						
Homens	6,37	3,82	8,51	3,84	0,060	9,4
Mulheres	5,46	5,54	6,39	11,39	0,789	6,8

* Dado apresentado em média \pm desvio padrão (DP); *Statistic t-test*.

** Dado apresentado em mediana \pm Intervalo interquartil (IQ); *Mann-Whitney test*.

Grupo I = indivíduos com dor crônica miofascial; Grupo II = indivíduos sem dor crônica.

A avaliação da ingestão de zinco por grupos procedeu-se com a comparação da mediana apresentada para este nutriente com os valores estabelecidos para EAR. Assim, os homens e as mulheres de ambos os grupos apresentaram mediana de ingestão para o zinco inferior a EAR e não foi observada diferença na ingestão por sexo deste mineral entre os grupos (tabela 11). Também não foi observada diferença na ingestão por grupos independente do sexo ($p = 0,162$). Na avaliação individual de zinco percebeu-se que 67,7% ($n = 21$) dos indivíduos com dor crônica miofascial apresentam ingestão menor que a EAR e, portanto, com ingestão inadequada. No grupo controle, a ingestão inadequada de Zn também esteve presente em mais da metade dos indivíduos

(n = 16; 51,6%). Os demais indivíduos de ambos os grupos apresentavam ingestão considerada adequada ou encontravam-se na área de incerteza quanto à adequação da sua ingestão. Não foi observada diferença estatisticamente significativa na frequência de inadequação para a ingestão de zinco entre os dois grupos ($p = 0,184$).

Se_t e Zn²⁺ vs. Dor crônica miofascial.

Modelo de regressão de Poisson foi proposto para identificar possíveis influências da ingestão de selênio e zinco e as concentrações desses minerais no soro e eritrócitos sobre a prevalência de dor crônica miofascial. Após exclusão de Se_t sérico e eritrocitário, Zn²⁺ sérico e ingestão de selênio e zinco, com o modelo final apresentado pode-se inferir que, com 95% de confiança, a concentração de Zn intraeritrocitária, tendo a variável IMC como ajuste do modelo, apresentou associação importante com a dor, onde cada aumento de 1µg de Zn²⁺ por grama de hemoglobina reduz em 5,5% a prevalência de dor crônica miofascial. Quando calculado o incremento para 5µgZn/gHb, observa-se que o aumento de 5µg de Zn por grama de hemoglobina reduz 24,4% a prevalência de dor miofascial (RP = 0,756).

Tabela 12. Modelo final de Regressão de Poisson para a presença de dor crônica miofascial.

Variáveis	B	Exp (B)	Erro padrão	Z (Wald)	p valor
Zn eritrócitos (µgZn/gHb)	-0,056	0,945	0,0280	4,059	0,044
IMC (kg/m ²)	0,021	1,021	0,0359	0,348	0,555

Discussão

O presente estudo avaliou os níveis séricos e eritrocitários de cálcio, magnésio, selênio e zinco, assim como o consumo alimentar desses nutrientes em pacientes com dor crônica miofascial comparados a um grupo sem dor e demonstrou importantes diferenças entre os dois grupos para algumas das variáveis pesquisadas. Vale ressaltar que poucos estudos disponíveis na literatura avaliaram o estado nutricional relativo a estes nutrientes em pacientes com diagnóstico clínico de dor crônica miofascial.

As baixas concentrações séricas de cálcio observadas nos indivíduos com dor crônica miofascial desse estudo podem estar associadas ao aumento da excitabilidade neuromuscular e comprometimento do metabolismo energético, reduzindo a capacidade de relaxamento muscular ATP-dependente e favorecendo ao espasmo contínuo do músculo esquelético (ARIOLI; CÔRREA, 1999; BAZZICHI *et al.*, 2008). Além disso, a concentração sérica de cálcio correlacionou-se com a de magnésio, em consonância com dados disponíveis na literatura, em que a hipocalcemia tem sido evidenciada na presença de hipomagnesemia (JAMESON, 2008).

A concentração sérica e intracelular do cálcio sofre pouca influência da ingestão alimentar desse nutriente, exceto em casos de restrições crônicas, pois redução nos níveis séricos e intracelulares deste mineral está relacionada com alterações hormonais importantes e metabólicas crônicas, exigindo avaliação de fatores endócrinos e exócrinos para identificação da sua causa (GRÜDTNER; WEINGRIL e FERNANDES, 1997). Em contrapartida, evidências científicas sugerem que microlesões musculares, principalmente associadas à sobrecarga muscular, elevam a concentração intracelular de cálcio, provavelmente por danos estruturais do retículo sarcoplasmático ou pelo aumento do influxo de íons Ca^{2+} do meio extracelular para o citossol que, por sua vez, pode diminuir as concentrações deste cátion no meio extracelular (BRON; DOMMERHOLT, 2012; GISSEL; CLAUSEN, 2001).

Apesar de não ter sido observada hipomagnesemia nos pacientes estudados, baixa concentração de magnésio intracelular foi evidenciada nesse grupo e a maioria dos pacientes com o diagnóstico clínico de dor crônica miofascial encontravam-se agrupados no primeiro quartil de concentração de magnésio eritrocitário, evidenciando uma possível associação deste mineral com a etiopatogenia deste tipo de dor.

Possivelmente, essa baixa concentração de magnésio intracelular evidenciada seja capaz de potencializar a crise energética muscular, reduzindo a síntese e o fornecimento de moléculas de ATP, fundamentais para o relaxamento das fibras musculares favorecendo a manutenção da contração sustentada e a formação dos PG. Tais achados podem ainda aumentar a permeabilidade de membrana dos íons cálcio favorecendo o influxo destes para o meio intracelular.

Outra hipótese para a associação da deficiência intracelular do magnésio com a dor crônica miofascial está no bloqueio do impulso nervoso responsável pela transmissão dolorosa. No sistema nervoso central, este oligoelemento também tem demonstrado importante efeito nos fenômenos de estimulação nervosa e transmissão neuromuscular devido a ação antagonista do mesmo nos receptores ionotrópicos da N-metil-D-aspartato (NMDA) para neurotransmissores evitando a ativação de segundos mensageiros que promovem a excitação neuronal relacionada à transmissão dolorosa (WEYERBACHER *et al.*, 2010; RONDÓN *et al.*, 2010; JI *et al.*, 2003).

Okumus *et al.*, (2010), em pesquisa realizada com pacientes com dor crônica miofascial, assim como no nosso estudo, não encontrou diferença estatisticamente significativa na média das concentrações de magnésio no soro desses pacientes. Entretanto, resultados como estes já são esperados, pois deficiências de magnésio dificilmente são observadas por meio da avaliação sérica. Apesar dos nossos e de outros achados, os resultados de pesquisas dos níveis de cálcio e de magnésio sérico

nos pacientes com dores crônicas musculoesqueléticas são, em certa medida, controversos (BAZZICHI *et al.*, 2008). Outros compartimentos corporais necessitam ser investigados para uma melhor avaliação da carência deste mineral (KIM *et al.*, 2011), a exemplo dos eritrócitos.

Segundo alguns pesquisadores, distúrbios no metabolismo de cálcio e magnésio são frequentemente observados em pacientes com dor crônica miofascial e fibromialgia e podem estar associados com a etiopatogenese das dores crônicas musculoesqueléticas, incluindo a dor miofascial (BAZZICHI *et al.*, 2008; SAKARYA *et al.*, 2012; OKUMUS *et al.*, 2010; ROMANO e STILLER, 1994; ROMANO, 1994; SENDUR *et al.*, 2008).

Recentes pesquisas com oligoelementos envolvidos em atividades antioxidantes em pacientes com dores crônica musculoesquelética também foram realizadas (TURKI; AL-OSAMI e NAJI, 2012; OKUMUS *et al.*, 2010; SENDUR *et al.* 2008). No nosso estudo, avaliamos as concentrações de zinco e selênio no soro e nos eritrócitos dos indivíduos desse estudo, identificamos diferenças importantes na reserva intracelular destes nutrientes entre os grupos. Os pacientes com dor crônica miofascial apresentaram menores concentrações intraeritrocitárias desses minerais quando comparados aos indivíduos sem dor. Entretanto, não foram detectadas diferenças nas concentrações séricas entre os grupos, resultado já esperado pelos pesquisadores desse estudo uma vez que o Zn^{2+} e o Se_i sérico apresentam baixa sensibilidade para deficiências destes nutrientes, refletindo exclusivamente demandas ou carências nutricionais agudas (HAMBIDGE, 2000). Por outro lado, as concentrações eritrocitárias desses oligoelementos não refletem mudanças recentes, por isso é considerado um parâmetro mais sensível a demandas metabólicas aumentadas ou carência nutricional crônica (DAVIS; MILNE; NIELSEN, 2000; MAFRA; COZOLLINO, 2004). Assim, considerando o

elevado tempo médio de dor relatado pelos indivíduos do nosso estudo e a inadequação da ingestão identificada, é possível que esses achados se justifiquem pela cronicidade tanto da demanda metabólica desses elementos em resposta ao estresse oxidativo, como da inadequada ingestão alimentar habitual.

Estudo realizado em indivíduos com dor crônica miofascial demonstrou menores concentrações séricas de Zn^{2+} no grupo de pacientes com dor quando comparados ao grupo sem diagnóstico clínico de dor (OKUMUS *et al.*, 2010). Em outros dois estudos, agora envolvendo pacientes com fibromialgia, baixas concentrações de zinco também foram identificadas no sangue de pacientes com esse subtipo de dor crônica musculoesquelética (TURKI; AL-OSAMI e NAJI, 2012; SENDUR *et al.* 2008). Entretanto, não foram identificados outros estudos investigando reservas corporais de selênio em pacientes com dor crônica miofascial, porém alguns artigos envolvendo pacientes com fibromialgia e avaliando exclusivamente os níveis séricos desse nutriente têm sido desenvolvidos e os resultados encontrados são ainda controversos (SENDUR *et al.*, 2008; REINHARD *et al.*, 1998; EISINGER *et al.*, 1994).

Pesquisa envolvendo 68 mulheres com fibromialgia e 97 controles demonstrou níveis séricos de selênio significativamente mais baixos nos grupo de pacientes com dor quando comparados ao grupo controle, nesse estudo os autores sugerem que a ingestão alimentar possa refletir as concentrações séricas deste mineral, porém a avaliação da ingestão alimentar não foi realizada (REINHARD *et al.*, 1998). Essa diferença também foi identificada em estudo realizado por Eisinger *et al.* (1994). Entretanto, na nossa pesquisa a diferença nas concentrações de selênio só foi identificada nos eritrócitos, onde a concentração deste mineral reflete melhor o estado nutricional relativa ao selênio e à deficiência crônica.

Apesar dos resultados encontrados nos estudos anteriormente citados,

corroborando com nossos dados, Sendur *et al.* não demonstraram diferenças nas concentrações séricas de selênio em pacientes com dor crônica miofascial (SENDUR *et al.*, 2008). Possivelmente, essa diferença de resultados pode estar associada a diferenças de metodologias utilizadas para a dosagem de selênio.

Os danos teciduais encontrados nesses pacientes produzem a síntese e liberação de substâncias inflamatórias (TNF- α , histamina, cinina, noradrenalina, substância P, interleucina-1 [IL-1], prostaglandinas, leucotrienos, somatostatina, peptídeo relacionado com o gene da calcitonina [GCRP]), as quais em ambiente ácido ativam os nociceptores musculares aumentando a atividade na placa motora, com conseqüente aparecimento da dor (DOMMERHOLT; BRON e FRANSSEN, 2006; SHAH *et al.*, 2008), além de induzir o estresse oxidativo por estimularem a produção de radicais livres pelos monócitos, macrófagos e leucócitos aumentando a demanda de maneira crônica e progressiva por estes agentes antioxidantes (MASTALOUDIS *et al.*, 2004), possivelmente justificando as baixas concentrações eritrocitárias desses oligoelementos antioxidantes nos indivíduos com dor crônica miofascial desse estudo.

Em nosso estudo, quantificamos também o consumo dietético atual desses nutrientes. É importante destacar que nenhum outro estudo quantificando a ingestão desses micronutrientes em pacientes com dor crônica miofascial foi encontrado nos bancos de dados analisados.

Avaliando individualmente a ingestão de cálcio nos indivíduos desse estudo, podemos perceber que quase todos os participantes, independentes do grupo, apresentam ingestão inferior a AI para este nutriente.

O baixo consumo dietético de cálcio tem sido observado na população brasileira, nas diversas faixas etárias, gêneros e etnias, refletindo o pouco hábito de consumo de alimentos ricos em cálcio como leite, derivados e vegetais verdes escuros (SILVA;

CABRAL JUNIOR e VASCONCELOS, 2010; SANTOS *et al.*, 2007). Entretanto, a despeito do baixo consumo apresentado observaram-se menores níveis séricos de Ca^{2+} nos pacientes com dor crônica miofascial, sugerindo que a demanda por este mineral parece estar aumentada na presença da dor ou que o potencial de membrana estabelecido na deficiência de magnésio possa facilitar a permeabilidade de membrana do cálcio e o influxo deste para o citoplasma celular, onde há maior demanda deste mineral para a contração e relaxamento muscular. No nosso estudo este compartimento orgânico não foi avaliado.

Quanto ao consumo de magnésio, percebeu-se baixo consumo desse mineral em ambos os grupos, uma vez que a média de ingestão foi inferior a EAR e a frequência de indivíduos que apresentou probabilidade de ingestão inadequada foi elevada, sendo maior no grupo de pacientes com dor crônica miofascial. Esses resultados são relevantes, uma vez que este nutriente é comumente encontrado em grande variedade de alimentos como vegetais verdes escuros, alimentos integrais e oleaginosos. Dessa forma, este achado reflete o hábito alimentar da população em geral, sendo o consumo desses alimentos pouco frequente e a preferência está para o consumo de alimentos industrializados e refinados, geralmente deficientes em oligoelementos.

Não foram observadas correlações estatisticamente significantes entre a ingestão e as reservas corporais, entretanto, sabemos que a baixa ingestão deste mineral é percebida mais eficazmente nas concentrações eritrocitárias, podendo ser este achado um reflexo de baixa ingestão em longo prazo, resultado melhor avaliado por meio de inquéritos alimentares que reflitam uma avaliação qualitativa e temporal, como questionários de frequência alimentar, instrumentos não utilizados nesse estudo que se propôs a realizar uma avaliação quantitativa do consumo alimentar desses pacientes.

Independente da necessidade média estimada para esse nutriente e da avaliação

qualitativa de ingestão capaz de refletir a temporalidade da carência alimentar (aguda ou crônica), o consumo de magnésio apresentou-se como fator protetor para o desenvolvimento de dor crônica miofascial no nosso estudo. Não encontramos dados de outros estudos avaliando a ingestão alimentar deste mineral em indivíduos com dor crônica miofascial para que pudéssemos confrontar nossos resultados.

Na avaliação sobre a ingestão dietética de zinco e selênio nos indivíduos desse estudo, a despeito da maior frequência de indivíduos do grupo I com ingestão inferior a EAR para estes nutrientes, esses achados não apresentaram diferenças estatísticas. Por não existir diferença entre os grupos e não terem sido encontrados estudos que quantificassem a ingestão alimentar de selênio e zinco em pacientes com dor crônica miofascial, os achados desse estudo permitem-nos comparação com a ingestão habitual da população brasileira.

Estudos de base populacional e realizados em diversos estados brasileiros demonstraram que a ingestão média de zinco e de selênio foi de 7,7mg/dia e 51,1mcg/dia, respectivamente e que a frequência de inadequação da ingestão desses minerais também apresenta valores muito próximos aos encontrados em nossa pesquisa. Portanto, podemos inferir que há uma inadequação nos hábitos alimentares da população brasileira, onde o consumo de alimentos considerados como importantes fontes desses nutrientes parece não suprir a necessidade média de ingestão (LOPES *et al.*, 2008; MARTINS *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2012).

Nesse sentido, acredita-se que a demanda orgânica e metabólica destes minerais seja maior nos pacientes com dor crônica miofascial, fato que reflete menores concentrações intracelulares deste nutriente. Evidencia-se ainda que a ingestão alimentar da nossa população provavelmente não seja suficiente para suprir a demanda metabólica imposta pelo estresse oxidativo presente nos pacientes com dor crônica

miofascial.

Além dos achados relacionados às concentrações orgânicas e ingestão alimentar de oligoelementos estudados, observamos ainda que a dor miofascial crônica foi mais frequente em mulheres jovens, com sobrepeso e sedentárias corroborando com dados de estudos epidemiológicos, onde o sexo feminino, o excesso de peso e o sedentarismo são apresentados como importantes fatores de risco para o desenvolvimento da dor crônica miofascial (HERNÁNDEZ, 2009; GAMERO *et al.* 2005; SÁ *et al.*, 2009; TRICOLLI, 2001; MACIEL *et al.*, 2006; WRIGHT *et al.*, 2010; CALDWELL *et al.*, 2009; MCCARTHY *et al.*, 2009; RAY *et al.*, 2011).

A associação entre excesso de peso e dor crônica é provavelmente devida, em parte, a uma maior carga mecânica nas articulações que suportam peso. Além disso, a obesidade é um estado pró-inflamatório associado com a síntese e liberação de substâncias inflamatórias, como proteína C reativa (PCR), IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF α), que em ambientes ácidos ativam os nociceptores musculares, aumentando a atividade na placa motora, com conseqüente aparecimento da dor. Por outro lado, a dor crônica miofascial induz ao absenteísmo do trabalho e a inatividade física, sendo, portanto fator de risco para o desenvolvimento da obesidade (DOMMERHOLT *et al.*, 2006; MCCARTHY *et al.*, 2009).

Adicionalmente, estudo sugere que o exercício físico orientado é capaz de modular a nocicepção dolorosa (GAM *et al.*, 1998), além de favorecer a perda de peso. Essa associação pode ser parcialmente explicada pela ativação dos receptores de tensão do músculo durante contrações musculares fortes, cujas aferências provocam liberação de opióides endógenos os quais estimulam a liberação de endorfina pela glândula pituitária, reduzindo a nocicepção da dor central e periférica (COURY *et al.*, 2009). Walling *et al.*, (2000) relacionam a prática de exercícios físicos à estimulação de

crescimento dos capilares sanguíneos, favorecendo a oferta de oxigênio, remoção de resíduos metabólicos algogênicos e redução da dor. Ressalta-se que os efeitos benéficos obtidos com a prática de exercícios físicos dependem diretamente da característica do programa de treinamento, do acompanhamento contínuo por profissional especializado e principalmente da intensidade da dor.

As evidências apresentadas neste estudo reafirmam a importância do cuidado nutricional, considerando a individualidade clínica e metabólica de cada paciente, como coadjuvante importante no tratamento da dor crônica miofascial. Além disso, acreditamos que uma alimentação adequada, que forneça micronutrientes em quantidades recomendadas, seja capaz de proteger indivíduos do desenvolvimento desta síndrome dolorosa. Dessa forma, reforçamos a necessidade da atenção multidisciplinar no cuidado desses pacientes.

Vale ressaltar que a alimentação é um dos aspectos importantes no tratamento da dor e que precisa ser minuciosamente avaliada e considerada no cuidado de pacientes com dor crônica miofascial, tendo como objetivo principal manter o organismo humano em equilíbrio metabólico e homeostático capaz de melhor enfrentar os efeitos secundários provenientes da dor.

Uma das limitações desse estudo foi a falta de informações de fatores capazes de melhor esclarecer o metabolismo do cálcio e o real estado nutricional relativo a este nutriente como a dosagem de cálcio iônico livre, calcitonina, cálcio urinário, dentre outras, sendo utilizada exclusivamente a dosagem de cálcio sérico total. Informações sobre os hábitos e consumo alimentar prévio, por meio de instrumentos que avaliem a frequência de ingestão como o questionário de frequência alimentar (QFA) trariam informações relevantes ao desenho do estudo visto que os resultados das concentrações intracelulares identificadas são, em geral, observados em restrições

alimentares crônicas ou são consequências de demandas metabólicas crônicas, processos também decorrentes da dor crônica miofascial.

Conclusão

Diante das condições de realização do presente trabalho e dos resultados encontrados, podem-se estabelecer as seguintes conclusões para a amostra desse estudo:

- Indivíduos com dor crônica miofascial apresentam menores concentrações séricas de Ca^{2+} apesar de não ocorrer diferença de ingestão desse nutriente entre os indivíduos com e sem dor crônica miofascial.
- Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nas concentrações séricas de Mg^{2+} , entretanto, pacientes com dor crônica miofascial apresentam menores concentrações intraeritrocitárias de magnésio, assim como também apresentam menor ingestão desse nutriente quando comparado aos indivíduos sem dor crônica.
- Não há diferença nos níveis séricos de Se_t e Zn^{2+} , porém esses mesmos elementos apresentam menor média de concentrações nos eritrócitos de pacientes com dor quando comparados ao grupo controle.
- Observou-se maior frequência de indivíduos com baixa ingestão de zinco, assim como maior percentual de inadequação da ingestão de selênio no grupo de pacientes com dor, entretanto este resultado não apresentou significância estatística.
- A intensidade da dor não apresentou correlação com as concentrações orgânicas e nem com a ingestão desses nutrientes, sugerindo que possivelmente estes micronutrientes não apresentam influencia sobre intensidade da dor referida.

Referências

- ALARCÓN-NAVARRO, M.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, M.C.L. Essentiality of selenium in the human body: relationships with different disease. **Sci. Total. Environ.**, Granada, v. 249, n. 1-3, p. 347-371, Apr. 2000.
- ALMONDES, K.G.S. *et al.* O papel das selenoproteínas no câncer. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 56, n. 4, p. 484-488, Jul./Ago. 2010.
- ALTINDAG, O.; CELIK, H. Total antioxidant capacity and the severity of the pain in patients with fibromyalgia. **Redox Rep.**, Sanliurfa, v. 11, n. 3, p. 131–135, Jun. 2006.
- AMORIM, A.G., TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 21, n. 5, Oct. 2008 .
- ANDREINI, C.; BERTINI, I. A bioinformatics view of zinc enzymes. **J. Inorg. Biochem.**, Sesto Fiorentino, v. 111, p. 150–156, Jun. 2012.
- ARIOLI, E.L.; CORRÊA, P.H.S. Hipocalcemia. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v. 43, n.6, p. 467-471, Nov./Dez. 1999.
- ARMSTRONG, R.B.; WARREN, G.L.; WARREN, J.A. Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury. **Sports Med.**, Athens, v. 12, n. 13, p. 184-207, Sep. 1991.
- ARTHUR, J.R.; McKENZIE, R.C.; BECKETT, G.J. Selenium in the immune system. **J. Nutr.**, v. 133, n. 5, p. 1457S-1459S, May. 2003.
- BARBOSA, F.T. *et al.* Applications of magnesium sulfate in obstetrics and anesthesia. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, Maceió, v. 60, n. 1, p. 104-110, Jan./Fev. 2010.
- BAZZICHI, L. *et al.* ATP, calcium and magnesium levels in platelets of patients with primary fibromyalgia. **Clin. Biochem.**, Pisa, v. 41, n. 13, p. 1084–1090, Sep. 2008.
- BIRDSALL, T.C. 5-Hydroxytryptophan: a clinically-effective serotonin precursor. **Altern. Med. Rev.**, Sandpoint, v. 3, n. 4, p. 271-280, Aug. 1998.
- BOHL, C.H; VOLPE, S.L. Magnesium and exercise. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Amherst, v. 42, n. 6, p. 533-563, Nov. 2002.
- BRIGELIUS-FLOHÉ, R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. **Free Radic. Biol. Med.**, Potsdam-Rehbrücke, v. 27, n. 9-10, p. 951-965, Nov. 1999.
- BRILLA, L.R.; LOMBARDI, V.P. Magnesium in sports physiology and performance. In: WOLINSKI, I.; DRISKELL A. **Sports nutrition: minerals and electrolytes**. Boca Raton: CRC Press; 1995.
- BRIOSCHI, E. F. C. *et al.* Nutrição e dor miofascial. **Rev. Dor**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 785-798, abr./mai./jun. 2006.
- BRIOSCHI, E. F. C. *et al.* Nutrição funcional no paciente com dor crônica. **Rev. Dor**, São Paulo, v. 10, n. 3, p. 276-285, jul./ago./set. 2009.
- BRON, C.; DOMMERHOLT, J.D. Etiology of myofascial trigger points. **Curr. Pain Headache Rep.**, Nijmegen, v. 16, n. 5, p. 439–444, Oct. 2012.

BURK, R.F.; LEVANDER, O.A. Selenium. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de Nutrição moderna na Saúde e na Doença**. Barueri: Ed. Manole, 2003. p. 285-296.

CALDWELL, J.; HART-JOHNSON, T.; GREEN, C.R. Body mass index and quality of life: examining blacks and whites with chronic pain; **J. Pain**, Michigan, v. 10, n. 1, p. 60-67, Jan. 2009.

CAMMILERI, M. Probiotics and irritable bowel syndrome: rationale, putative mechanism and evidence of clinical efficacy. **J. Clin. Gastroenterol.**, Rochester, v. 100, n. 3, p. 264-269, Mar. 2006.

CASTRO, M.W. Selenio em los pacientes críticos com resposta inflamatória sistêmica: revisión. **Nutr. Hosp.**, Madrid, v. 22, n. 3, p. 295-306, May./Jun. 2007.

CHEN, K.C.; NIZAR, A.J. Myofascial pain syndrome in chronic back pain patients. **Korean J. Pain.**, Kuching, v. 24, N. 2, p. 100-104, Jun. 2011.

CLARKE, R.J.; GLASGOW, N.G.; JOHNSON, J.W. Mechanistic and structural determinants of NMDA receptor voltage-dependent gating and slow Mg²⁺ unblock. **J Neurosci.**, Pittsburgh, v. 33, n. 9, p. 4140-4150. Feb. 2013.

COBAYASHI, C. Calcio: Seu papel na nutrição e saúde. **Compacta Nutr.**, São Paulo, v. 5, n. 2, p. 3-18. 2004.

CORTES, M.L. *et al.* Uso de terapêutica com ácidos graxos ômega-3 em pacientes com dor crônica e sintomas ansiosos e depressivos. **Rev. dor**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 48-51, Jan./Mar. 2013.

COURY, H.J.C.G., MOREIRA, R.F.C., DIAS, N.B. Efetividade do exercício físico em ambiente ocupacional para controle da dor cervical, lombar e do ombro: Uma revisão sistemática. **Rev. Bras. Fisioter.**, São Carlos, v. 13, n. 6, p. 461-479, Nov./Dez. 2009.

COUSINS, R.J.; McMAHON, R.J. Integrative aspects of zinc transporters. **J Nutr.**, Gainesville, v. 130, n. 5S Suppl, p. 1384S-1387S, May. 2000.

DAVIS, C. D.; MILNE, D. B.; NIELSEN, F. H. Changes in dietary zinc and copper affect zinc-status indicators of postmenopausal women, notably, extracellular superoxide dismutase and amyloid precursor proteins. **Am J Clin Nutr.**, Grand Forks, v. 71, n. 3, p. 781-8, Mar. 2000.

DEUSTER, P.A. *et al.* Indirect vs direct measurement of magnesium and zinc in erythrocytes. **Clin. Chem.** Bethesda, v. 33, n. 4, p. 529-532, Apr. 1987.

DINA, O. A.; LEVINE, J. D.; GREEN, P. G. Enhanced cytokine-induced mechanical hyperalgesia in skeletal muscle produced by a novel mechanism in rats exposed to unpredictable sound stress. **Eur. J. Pain**, San Francisco, v. 15, n. 8, p. 796-800. Mar. 2011.

DOMMERHOLT J, BRON C, FRANSSEN J. Myofascial trigger points: an evidence-informed review. **J. Man. Manip. Ther.**, Hillsboro, v. 14, n. 4, p. 203-221; Oct. 2006.

EISINGER, J. *et al.* Protein peroxidation, magnesium deficiency and fibromyalgia.

Magnes. Res., Toulon/La Seyne, v. 9, n. 4, p. 313-316, Dec. 1996.

EISINGER, J. *et al.* Reactive Oxygen Species, antioxidant status and fibromyalgia. **J. Musculoskeletal Pain**, Toulon/La Seyne, v. 5, n. 4, p. 5-15, Jan. 1997.

FERREIRA, K. A. S. L. **Dor e qualidade de vida relacionada a saúde de pacientes com câncer: Influência das citocinas próinflamatórias TNF- α , IL-6, IL-8, IL-1 β** . 2008. 253f. Tese (Doutorado em Enfermagem) Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

FRASSINETTI, S. *et al.* The role of zinc in life: a review. **J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.**, Pisa, v. 25, n. 3, p. 597–610, 2006.

GAM, N.A. Treatment of myofascial trigger points with ultrasound combined with massage and exercise – a randomized controlled trial. **Pain, Vanløse**, v. 77, n. 1, p. 73-79, Jul. 1998.

GAMERO, F. *et al.* Pain in Spanish rheumatology outpatient offices: EPIDOR epidemiological study. **Rev. Clin. Esp.**, Madrid, v. 205, n. 4, p. 157–63, Apr. 2005.

GE, H.Y., FERNÁNDEZ-DE-LAS-PEÑAS, C., YUE, S.W. Myofascial trigger points: spontaneous electrical activity and its consequences for pain induction and propagation. **Chin. Med.**, Alborg, v. 25, n. 6, p.13, Mar. 2011. Disponível em: <http://www.cmjournal.org/content/6/1/13>. Acessado em: 14 nov 2013.

GERWIN, R.D. Classification, epidemiology, and natural history of myofascial pain syndrome. **Curr. Pain Headache Rep.**, Bethesda, v. 5, n. 5, p. 412-20, Oct. 2001.

GIBSON, R. S. Assessment of calcium, phosphorus, and magnesium status. In: _____. **Principles of nutritional assessment**. New York: Oxford University Press, 2005. p. 641 – 682.

GISSEL, H. The role of Ca²⁺ in muscle cell damage. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, Arhus C, v. 1066, p. 166–180, Dec. 2005.

GISSEL, H.; CLAUSEN, T. Excitation-induced Ca²⁺ influx and skeletal muscle cell damage. **Acta Physiol. Scand.**, Arhus C, v. 171, n. 3, p. 327-334, Mar. 2001.

GROMADZINSKA, J. *et al.* Selenium and cancer: biomarkers of selenium status and molecular action of selenium supplements. **Eur J Nutr**, Łódź, v. 47, n. 2S Suppl, p. 29-50, May. 2008.

GRÜDTNER, V.S.; WEINGRILL P.; FERNANDES, A.L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Rev. Bras. Reumatol.**, Joinvile, v. 37, n. 3, Mai./Jun. 1997.

HAMBIDGE, M. Human zinc deficiency. **J. Nutr.**, Bethesda, v.130, n. 5, p. 1344S-1349S, May. 2000.

HENRIQUES, G.S.; HIRATA, M.H.; COZZOLINO, S.N.F. Aspectos recentes da absorção e biodisponibilidade do zinco e suas correlações com a fisiologia da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.16, n. 3, p.333-345, Jul./Set. 2003.

HERNÁNDEZ, F.M.F. Síndromes miofasciales. **Reumathol. Clín.**, Las Palmas de Gran Canaria, v. 5, n. 2S, p. 36-39, Ago. 2009.

HASKELL, W.L. et al. A Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. **Med and sci in sports and exerc**, Madison, v. 39, n. 8, p. 1423-1434, Aug. 2007.

HOLBEN, D.H.; SMITH, A.M. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. **J. Am. Diet. Assoc.**, Columbus, v. 99, n. 7, p. 836-843, Jul. 1999.

HOSMER, D.; LEMESHOW, S. Applied Logistic Regression. 2nd ed. New York: John Wiley, 2000.

HUANG, S.C. et al. Vitamin B₆ supplementation improves pro-inflammatory responses in patients with rheumatoid arthritis. **Eur. J. Clin. Nutr.** London, v. 64, p. 1007-1013, Sep. 2010.

INSTITUTE OF MEDICINE. FOOD AND NUTRITION BOARD. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and carotenoids. Washington, DC: National Academy Press: 2000.

INSTITUTE OF MEDICINE/FOOD AND NUTRITION BOARD. Dietary Reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, cooper, iodine, iron, manganese, molybdenun, nickel, silicon, vanadium, and zinc. National Academy Press; 2001. 650p.

INSTITUTE OF MEDICINE/FOOD AND NUTRITION BOARD. Dietary Reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and Fluorid. National Academy Press; p. 190 – 299. 1997.

JAMESON, J.L. Endocrinology and metabolism. In: FAUCI , A.S.; BRAUNWALD, E.; KASPER, D.L.; HAUSER, S.L.; LONGO, D.L.; JAMESON J.L. **Harrison's principles of internal medicine**. New York: McGraw-Hill Medical, 2008. P.2372-2373.

Jl, R.R. et al. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? **Trends Neurosci.**, Boston, v. 26, n. 12, p. 696 – 705, Dec. 2003.

KIM, Y.S. et al. Women with fibromyalgia have lower levels of calcium, magnesium, iron and manganese in hair mineral analysis. **J. Korean Med. Sci.**, Suwon, v. 26, n. 10, p. 1253 – 1257, Oct. 2011.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 433-441, Out./Dez. 2003.

KRAYCHETE, D. C.; ROCHA, A. P. C. Avaliação e tratamento da síndrome dolorosa miofascial. **R. Dor**, São Paulo, v. 6, n. 4, p. 672-79, out./nov./dez. 2005.

KRAYCHETE, D.C., CALASANS, M.T.A., VALENTE C.M. Citocinas pró-inflamatórias e dor. **Rev. Bras. Reumatol.**, Salvador, v. 46, n. 3, p. 199-206, Mai./Jun. 2006.

KRYUKOV, G.V. et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. **Science.**, Lioncoln, v. 300, n. 5624, p. 1439 – 1443, May. 2003.

LAVELLE, E. D.; LAVELLE, W.; SMITH, H. S. Myofascial Trigger Points. **Anest. Clin.**, Albany, v.25, n.4, p. 841 – 851, dec. 2007.

LEE, M. *et al.* Effect of overexpression of wild-type and mutant Cu/Zn-superoxide dismutases on oxidative damage and antioxidant defenses: relevance to Down's syndrome and familial amyotrophic lateral sclerosis. **J. Neurochem.**, London, v. 76, n. 4, p. 957 - 965, Feb. 2001.

LOPES, A.C.S. *et al.* Estado nutricional: antropometria, consumo alimentar e dosagens bioquímicas de adultos e idosos – projeto bambuí um estudo de base populacional. **Rev. Min. Enferm.** Belo Horizonte, v. 12, n. 4, p. 483-493, out./dez. 2008.

LOURENÇO, R.; CAMILO, M.E. Magnésio: Relevância na fisiologia e clínica. **ActMed Portuguesa.** Lisboa, v. 13, n. 4, p. 211-220, jul./ago. 2000.

LUKASKI, H. C. Micronutrients (Mg, Zn, Cu): are mineral supplements needed for athletes?. **Int. J. Sport. Nutr.**, Florida, v. 5, p. 574-83, Jun. 1995.

LYCHKOVA, A.E. Role of serotonin in systemic impairment of motor function of the digestive tract. **Bull. Exp. Biol. Med.**, Moscow, v. 147, n. 4, p. 444 – 447, Apr. 2009.

MACIEL, A.C.C.; FERNANDES, M.B., MEDEIROS, L.S. Prevalência e fatores associados à sintomatologia dolorosa entre profissionais da indústria têxtil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, São Paulo, v. 9 , n.1, p. 94-102, Mar. 2006.

MAFRA, D.; COZZOLINO, S. M. F. Importância do zinco na nutrição humana. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n.1, p.79-87, Jan./Mar. 2004.

MAROON, J.C.; BOST, J.W. Omega-3 fattyacids (fish oil) as an anti-inflammatory: an alternative to nonsteroidal anti-inflammatory drugs for discogenic pain. **Surg. Neurol.**, Pittsburg, v. 65, n. 4, p. 326 - 331.

MARTIN, K.J.; GONZÁLEZ, E.A.; SLATOPOLSKY, E. Clinical consequences and management o hypomagnesemia. **J. Am. Soc. Nephrol.**, St Louis, v. 19, n. 11, p. 2291 – 2295. Nov. 2008.

MARTINS, C.M. *et al.* Avaliação do consumo de micronutrientes em adultos residentes no município de São Paulo. **Nutrire**, São Paulo, v. 36, n. Supl., p. 82-82, jun. 2011.

MASTALLOUDIS, A. *et al.* Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultra marathon runners. **Free Radic. Biol. Med.**, Corvallis, v. 36, n. 10, p. 1329 – 1341, May 2004.

MAZUR, A. *et al.* Magnesium and the inflammatory response: potential physiopathological implications. **Arch. Biochem. Biophys.**, Theix, v. 458, n. 1, p. 48 – 56, Feb. 2007.

MCBETH, J. *et al.* Musculoskeletal pain is associated with very low levels of vitamin D in men: results from the European Male Ageing Study. **Ann. Rheum. Dis.** London, v. 69, n. 8, p. 1448-1452, Aug. 2010.

McCALL, K.A.; HUANG, C.; FIERKE, C.A. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. **J. Nutr.**, Durham, v. 130, n. 5S Suppl, p. 1437S – 1446S, May. 2000.

MCCARTHY, L. H. *et al.*; Chronic pain and obesity in elderly people: results from the einsten aging study; **Am. J. Geriatr. Soc.**, Bronx, v. 57, n. 1, p. 115 – 119, Jan. 2009.

MESQUITA, T. R. *et al.* . Anti-inflammatory effect of dietary supplementation with omega-3 fatty acids in rats. **Rev. dor**, São Paulo , v. 12, n. 4, p. 337-341, Oct./Dec. 2011.

MOCHEGANI, E.; MUZZIOLI, M.; GIACCONI, R. Zinc and immunoresistance to infection in aging: new biological tools. **Trends Pharmacol. Sci.**, Ancona, v. 21, n. 6, p. 205-8, Jun. 2000.

NÓBREGA, R.B.; SAKATA, R.K. Efeito do magnésio para dor intra e pós-operatória. **Rev. Bras. Med.**, São Paulo, v. 67, p. 26-29 Out. 2010. Disponível: www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=4448&fase=imprime. Acessado em: 11 nov 2013.

OKUMUS, M. *et al.*, The relationship between serum trace elements, vitamin B12, folic acid and clinical parameters in patients with myofascial pain syndrome. **J. Back Musculoskelet Rehabil.**, Ankara, v. 23, n. 4, p. 187 – 191, Nov. 2010.

OLIVEIRA, W.S.; MORAES, N.; SANTOS, F.C. Vitamina D e dor crônica em idosos. **Rev. dor**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 223 – 225, sept. 2013.

OTEIZA, P.I. Zinc and the modulation of redox homeostasis. **Free Radic. Biol. Med.**, Davis, v. 53, n. 9, p. 1748 – 1759, Nov. 2012.

PEREIRA, G.A.P. *et al.* Cálcio dietético – estratégias para otimizar o consumo. **Rev. Bras. Reumatol.** São Paulo , v. 49, n. 2 , p. 164-171, Mar./Abr. 2009.

POWELL, S.R. The antioxidant properties of zinc. **J. Nutr.**, Mineola, v. 130, n. 5S Suppl, p. 1447 - 1454, May. 2000.

RAIMUNDO, A.K.S. *et al.* Dosagem de serotonina sistêmica após aplicação da eletroestimulação nervosa transcutânea (TENS). **Rev. Fisioter. Mov**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 365 - 374, Jul./Set. 2009.

RAY, L. *et al.* Mechanisms of association between obesity and chronic pain in the elderly. **Pain**, Bronx, v. 152, n. 1, p. 53 – 59, Jan. 2011.

REINHARD, P. *et al.* Selenium status in fibromyalgia. **Toxicol. Lett.**, Tübingen, v. 96, n.97, p. 177-180, Aug. 1998.

RICHARDSON, J.C.; ONG, B.N.; SIM, J. Remaking the future: contemplating a life with chronic widespread pain. **Chronic Illn.**, Keele, v. 2, n. 3, p. 209–18, Sep. 2006.

ROCHA, S. S.; MENDONÇA, J. F.; ALENCAR Jr, F. G. P. Estudo da prevalência de fatores etiológicos em pacientes com dor miofascial orofascial. **R. Odontol. UNESP**, Marília, v. 36, n. 1, p. 41-46, jan./mar. 2007.

ROMANO, T. J. Magnesium deficiency in patients with myofascial pain. **J. Myofascial Ther.**, v. 1, p. 11-12, 1994.

ROMANO, T.J.; STILLER, J.W. Magnesium deficiency in fibromyalgia syndrome. **J. Nutr. Med.**, Wheeling, v. 4, n. 2, p. 165 - 167, Jan. 1994.

- RONDÓN, L.J. *et al.* Magnesium attenuates chronic hypersensitivity and spinalcord NMDA receptor phosphorylation in a rat model of diabetic neuropathic pain. **J. Physiol.**, Clermont-Ferrand, v. 588, n. 21, p. 4205–4215, Nov. 2010.
- ROSENSTEIN, E.D.; CALDWELL, J.R. Trace elements in the treatment of rheumatic conditions. **Rheum Dis Clin North Am.** Philadelphia, v. 25, n. 4, p. 929-935, Nov. 1999.
- SÁ, K. *et al.* Prevalência de dor crônica e fatores associados na população de Salvador, Bahia. **R. Saúde Pública**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 622-630, ago. 2009.
- SAITO, Y. *et al.* Selenoprotein P in human plasma as an extracellular phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. Isolation and enzymatic characterization of human selenoprotein P. **J. Biol. Chem.**, Kita Ku, v. 274, n. 5, p. 2866-2871, Jan. 1999.
- SAKARYA *et al.* The relationship between serum antioxidant vitamins, magnesium levels, and clinical parameters in patients with primary fibromyalgia syndrome. **Clin. Rheumatol.**, Samsun, v. 30, n. 8, p. 1039 – 1043, Aug. 2011.
- SALGUEIRO, M.J. *et al.* Zinc as an essential micronutrient: a review. **Nutr. Res.**, Buenos Aires, v. 20, n. 5, p. 737 - 55, May. 2000.
- SANDSTEAD, H.H. Is zinc deficiency a public health problem? **Nutrition**, Galveston, v. 11, n. 1 Suppl, p. 87–92, 1995.
- SANTOS, L.C. *et al.* Ingestão de cálcio e indicadores antropométricos entre adolescentes. **Rev. Nutr.**, Ouro Preto, v. 20, n. 3, p. 275 – 283, Mai./Jun. 2007.
- SCHRAUZER, G.N. Anticarcinogenic effects of selenium. **Cell. Mol. Life Sci.**, San Diego, v. 57, n. 13-14, p. 1864-1873, Dec. 2000.
- SENDUR, O.F. *et al.* The relationship between serum trace elemento levels and clinical parameters in patients with fibromyalgia. **Rheumatol. Int.**, Aydin, v. 28, n. 11, p. 1117 – 1121, Sep. 2008.
- SEÓ, R.S. *et al.* Dor miofascial e fibromialgia: de mecanismos etiológicos a modalidades terapêuticas. **Rev. Ci. Biol. Saúde**; Ponta Grossa, v. 13, n. 2, p. 39-51, Mar./Jun. 2007.
- SHAH, J.P. *et al.* Biochemicals associated with pain and inflammation are elevated in sites near to and remote from active myofascial trigger points. **Arch. Phys. Med. Rehabil.**, Bethesda, v. 89, n. 1, p. 16-23, Jan. 2008.
- SILVA, J.V.F.P. *et al.* Avaliação do consumo de nutrientes antioxidantes por mulheres fisicamente ativas. **Braz. J. Sports Nutr.**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 30 - 36, Mar. 2012.
- SILVA, P.M.C.; CABRAL JUNIOR, C.R.; VASCONCELOS, S.M.L. Ingestão do cálcio na obesidade de mulheres atendidas pelo sistema único de saúde. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 357 – 367, Mai./Jun. 2010.
- SIMONETTI, M. *et al.* Nuclear Calcium Signaling in Spinal Neurons Drives a Genomic Program Required for Persistent Inflammatory Pain. **Neuron.**, Heidelberg, v. 77, n. 1, p. 43–57, Jan. 2013.
- SIMONIĆ-KOCIJAN, S. *et al.* Involvement of ion channels in temporomandibular

disorders. **Med. Flum.**, Rijeka, v. 49, n. 1, p. 57 – 61, sep. 2013.

STRAUBE, S. *et al.* Vitamin D for the treatment of chronic painful conditions in adults. **Cochrane Database Syst. Rev.** Oxford, v. 20, n. 1, CD007771, Jan. 2010.

SUZUKI, K.T. Metabolomics of selenium: Se metabolites based on speciation studies. **J Health Sci.**, Chiba, v. 51, n. 2, p. 107-44, Apr. 2005.

SZCKUREK, E.I.; BJORNSSON, C.S.; TAYLOR, C.G. Dietary zinc deficiency and repletion modulate metallothionein immunolocalization and concentration in small intestine and liver of rats. **J. Nutr.**, Winnipeg, v. 131, n. 8, p. 2132 - 2138, Aug. 2001.

THOMAS, J.P.; GEIGER, P.G.; GIROTTI, A.W. Lethal damage to endothelial cells by oxidized low density lipoprotein. **J. Lipid. Res.**, Milwaukee, v. 34, n. p. 479 - 490, Mar. 1993.

TONG, G.M.; RUDE, R.K. Magnesium deficiency in critical illness. **J. Intensive Care Med.**, Los Angeles, v. 20, n. 3, Jan./Feb. 2005.

TOPAL, G. *et al.* Asymmetric dimethyl arginine (ADMA) levels are increased in patients with fibromyalgia: correlation with tumor necrosis factor- α (TNF- α) and 8-iso-prostaglandin F(2 α) (8-iso-PGF(2 α)). **Clin. Biochem.**, Toronto, v. 44, n. 5-6, p. 364-367, Apr. 2011.

TRICOLI, V. Mecanismos envolvidos na etiologia da dor muscular tardia. **Rev. Bras. Ciên. Mov.** Brasília. v. 9, n. 2, p. 39-44. Abr/ 2001.

TURKI, K.M.; AL-OSAMI, M.H.; NAJI, R.I. Zinc and selenium status in iraqi patients with fibromyalgia syndrome. **Int. J. Advan. Eng. Tech.**, Baghdad, v. 3, n. 2, p. 105 - 107, Apr./Jun. 2012.

TURNER, E.H.; LOFTIS, J.M., BLACKWELL, A.D. Serotonin a la carte: supplementation with the serotonin precursor 5-hydroxytryptophan. **Pharmacol Ther.** Oxford, v. 109, n.3, p. 325-338, Mar. 2006.

VERRI, W. J. *et al.* Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development? **Pharmacol. Ther.**, Oxford, v. 112, n. 1, p. 116 - 138, Oct. 2006.

VON KORFF, M.; DUNN, K.M. Chronic pain reconsidered. **Pain**, Seattle, v. 138, n. 2, p. 267 – 276, Aug. 2008.

VON KORFF, M.; MIGLIORETTI, D.L. A prognostic approach to defining chronic pain. **Pain**, Seattle, v. 117, n. 3, p. 304 – 313, Oct. 2005.

WALLING, K. *et al.* Perceived pain before and after there exercise programs - a controlled clinical trial of women with work-related trapezius myalgia. **Pain**, Umeå, v. 85, n. 1-2, p. 201 - 207, Mar. 2000.

WEAVER, C.M.; HEANEY R.P. Cálcio. In: Shils, M.E.; Olson, J.A.; Shike, M.; Ross, A.C. **Tratado de Nutrição moderna na Saúde e na Doença**. Barueri: Ed. Manole, 2003. p.285-296.

WEEKS, B.S.; HANNA, M.S.; COOPERSTEIN, D. Dietary selenium and selenoprotein function. *Med. Sci. Monit.*, Garden city, v. 18, n. 8, p. 127-132, Aug. 2012.

WEYERBACHER, A.R. *et al.* N-Methyl-D-Aspartate receptor (NMDAR) independent maintenance of inflammatory pain. **Pain**, New York, v. 148, n. 2, p. 237 – 246, Feb. 2010.

WOOLF, C. J.; MA, Q. Nociceptors-Noxious stimulus detectors. *Neuron.*, Massachusetts, v. 55, n. 3, p. 353 – 364, aug., 2007.

WRIGHT, L. J. *et al.* Chronic Pain, Overweight, and Obesity: Findings from a Community-Based Twin Registry; **J. Pain**, San Diego, v. 11, n. 7, p. 628-635, Jul. 2010.

YENG, L. T.; KAZIYAMA; H. H. S.; TEIXEIRA, M. J. Síndrome dolorosa miofascial. **JBA: J. Bras. Oclusão, ATM e Dor Orofacial**, Curitiba, v. 3, n. 9, p. 27-43, Jan/Mar. 2001.

Os Artigos

Paper 1

Selenium and Zinc in myofascial chronic pain: serum and erythrocytes concentrations and food intake

Send to *Plos One*

Selenium and zinc in chronic myofascial pain: serum and erythrocytes concentrations and food intake

ABSTRACT

Nutritional disorders have been reported as important causal factors that can intensify or cause a painful response in individuals with chronic musculoskeletal pain.

Aim: To assess the habitual intake and serum and erythrocyte levels of selenium and zinc in patients with chronic myofascial pain.

Materials and methods: A case-control study with 31 patients with chronic myofascial pain (group I) and 31 subjects without pain (group II). Two 24-hour dietary recalls and a three days dietary record to assess food intake were applied. Serum and erythrocyte concentrations of selenium and zinc were analyzed by atomic absorption spectrophotometry. Pain intensity was assessed using a visual analog scale. A Poisson regression model was built for each outcome variable, according to the main exposure variables and prevalence ratio (PR) was used as association measure.

Results: The group of patients with chronic myofascial pain showed lower erythrocyte concentration of selenium ($79.46 \pm 19.79 \mu\text{g/l}$ vs. $90.80 \pm 23.12 \mu\text{g/l}$, respectively) and zinc ($30.56 \mu\text{gZn/gHb}$ [IQ range = $7.74 \mu\text{gZn/gHb}$] vs. $38.48 \mu\text{gZn/gHb}$ [IQ range = $14.86 \mu\text{gZn/gHb}$], respectively) when compared to the control group. A compromised food intake of zinc was observed in the majority of the subjects of this study, in both groups. The selenium intake was considered safe in 80% of the subjects in both groups; however the probability of inadequate intake of this mineral was twice higher in patients with myofascial pain (49.5% vs. 24.4%, respectively). In the Poisson regression models, the erythrocyte zinc was associated with the presence of pain. Physical inactivity and overweight were more frequent in group I in comparison to the control group.

Conclusion: In this study, patients with chronic myofascial pain showed lower intracellular stores of zinc and selenium, which may be a consequence of the increase of chronic metabolic demand and oxidative stress, common in this population, and intensified by inadequate food intake observed.

Keywords: Selenium. Zinc. Myofascial pain.

INTRODUCTION

Myofascial pain syndrome (MPS) is characterized by a regional pain of muscular origin in a corresponding muscle area, and referred pain due to the presence of a "taut band" where one can find the "trigger points" (TrP) [1][2].

There are several mechanisms proposed to explain the development of TrP and the appearance of MPS. Among the factors that may predispose the development of TrP are acute trauma, repeated micro trauma, lifestyle, posture, the lack of vitamins and trace elements, sleep disorders and joint problems that predispose micro traumas [3] or the maintenance of conditions of persistent and self-sustaining muscle contraction that produce tissue ischemia and metabolic impairment [2][4].

The relative ischemia associated with muscle spasm can cause significant damage to the affected tissues producing the synthesis and release of proinflammatory substances (TNF- α , histamine, kinin, substance P, IL-1, prostaglandins, leukotrienes, somatostatin, calcitonin gene related peptide [CGRP]) which, in an acid environment, activate muscle nociceptors, promote oxidative stress and free radical formation [5]; contributing to increased activity in the motor end-plate, the onset of pain, hypersensitivity, allodynia and referred pain, all characteristics of active TrP [4,6].

The influence of antioxidants on painful nociception and the reduction of damage caused by free radicals in patients with chronic musculoskeletal pain are still controversial [7][8][9][10].

It has been documented that the deficiency of selenium (Se) and zinc (Zn) participate in the pathophysiological process of painful musculoskeletal diseases, associating the presence of pain and other clinical manifestations [9-13]. Thus, this research proposes to study the nutritional aspects of patients with chronic myofascial pain; assessing habitual intake, serum and intracellular levels of selenium and zinc, correlating them to the clinical characteristics of these patients.

MATERIALS AND METHODS

Ethics Statement

This study was approved by the Ethics and Research Committee of the School of Nutrition of the Federal University of Bahia – number: 03/08. The patients eligible to participate in the study signed an informed consent form prior to the investigations.

Design of the study and sampling

This is an exploratory and observational case-control study in adults with chronic myofascial pain.

To calculate the sample mean values of serum concentrations and standard deviations found for magnesium and calcium in the pilot project were considered. The mean difference to be detected as significant based itself on original published studies on patients with chronic musculoskeletal pain was also considered. Considering a significance level of 5% and a power of 90%, we proceeded to the analysis of the expected sample size for each trace element to be studied. The arithmetic mean of the results of tests conducted to define the size of the sample was used.

The subjects of this study were divided into two groups: group I consisted of patients diagnosed with chronic myofascial pain, and group II consisting of healthy subjects paired by age and socio-economic status.

Criteria for inclusion and non-inclusion

Group I (case) consisted of individuals diagnosed with chronic myofascial pain, associated with the presence of TrP and muscle pain score > 4 gauged by the scale of pain, of both genders, aged 18-60 years. Group II (control) was formed by family members and companions of patients from the same area or district and social conditions, with undiagnosed pain.

Individuals diagnosed with radiculopathy, degenerative or inflammatory joint disorder, central and peripheral neuropathies, nerve compression syndromes, multiple sclerosis, myasthenia gravis and polymiosites; systemic diseases such as hypothyroidism and severe metabolic or infectious diseases (herpes viruses, picornavirus, Trichinella spiralis, cysticercosis and toxoplasmos, Hepatitis B, C, HTLV or HIV), chronic fatigue syndrome and fibromyalgia were not included in this study. Individuals with electrolyte disturbances or users of diuretics were also not included.

Sociodemographic and economic indicators and lifestyle

Information regarding gender, age, marital status, socioeconomic and

environmental conditions was collected.

For the assessment of lifestyle, information was collected on alcohol consumption, smoking and physical activity. Consumers of alcohol who reported drinking alcohol at least 1 or more times a month; former consumers or individuals with an intake interruption of >30 days before the start of the study and individuals who reported never having consumed alcohol were all considered. Smokers were classified as individuals who reported using tobacco in any frequency; former smokers as individuals who had quit smoking at least one month before the study and nonsmokers as those who had never smoked. For statistical analysis purposes, former smokers were grouped with nonsmokers.

Individuals who reported the practice of moderate aerobic activity for least 30 minutes/day, 5 days a week, or strenuous activity for at least 20 minutes/day, 3 days a week were considered physically active. Individuals who reported aerobic activity lower than the parameters mentioned above were considered sedentary, according to criteria of the American College of Sports Medicine and the American Heart Association [14].

Nutritional parameters

Food survey: A 24-hour dietary recall was applied for two days, at different appointments. Monitoring the food intake of the patient was performed by the means of the daily food record for three days method. To calculate the intake of micronutrients the AVANUTRI ® version 3.09 (2008) software was used. To assess the intake of zinc and selenium, the calculated values in the food surveys were adjusted and corrected for the variability of the consumption among individuals of the same group, using the methodology described in the Dietary Reference Intakes (DRI) using the Estimated Average Requirement (EAR) and Recommended Dietary Allowance (RDA) as the cut-off point for the estimation of the needs of these nutrients [15][16]. Whereas the distribution of zinc requirements tends to be asymmetric in the population, the evaluation of the intake of this nutrient by the EAR method may not be applicable. Thus, we adopted the classification proposed by DRI consumption (< EAR: inadequate; > EAR and < RDA: Uncertain adequacy or inadequacy; > RDA: Adequacy).

Measurement of weight, height and Body Mass Index (BMI): To obtain the weight measurement, a digital weight scale with a capacity of 200 kg and an accuracy of 50 g was used. Height was obtained by means of a portable stadiometer graduated in

tenths of centimeters, fixed to a flat surface. The measurements of weight and height were taken and duplicated by different evaluators [17][18]. In the case of divergent of values, a third measurement was performed, and the average of the three was calculated. The height recorded was the mean of the two measurements. The BMI was obtained by the ratio between weight (kg) and squared height (m²). We considered the cut-off points of the WHO (1995) for eutrophic (18.5 and 24.9 kg/m²) and overweight (> 25 kg/m²) [19].

Clinical evaluation of pain

Patients were evaluated for spontaneous pain using the numerical pain scale that measured the intensity of pain reported by the patient at that time. The diagnosis of MPS was established using at least one of the following criteria as a base: a) increased sensitivity over a section of muscle thickening, b) local muscle response to manipulation of the TrP, c) referred pain, d) Reproduction of usual pain e) restriction of the range of movement, f) weakness without atrophy, or g) associated autonomic symptoms [20].

Blood collection

It was collected 10 ml of blood in tubes used for trace mineral analysis with participants who had previously fasted for at least 8 hours. The aliquot was centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes to obtain the serum, which was transferred to polypropylene tubes citrated to 30% (Eppendorf). After the removal of the serum, the erythrocyte mass was washed with 9% saline and centrifuged at 10000 rpm for 10 minutes in triplicate. Serum aliquoted and stored at -22°C until analysis and determination of selenium and zinc.

Determination of total selenium (Se_T) and Zn²⁺

The concentrations of Zn²⁺ and Se_T in serum and erythrocytes were determined by a atomic absorption spectroscopy in a graphite furnace, with Zeeman background correction, using Spectra AA 240Z (VARIAN®). The working conditions for the dosage of selenium were: wavelength (λ) 196.0 nm, gap: 2.0 nm; flame: acetylene oxidant/air. For the determination of zinc the following conditions were used: wavelength (λ): 213.9 nm, gap: 0.7 nm, flame: acetylene oxidant/air. Both measurements were performed on three

readings with an integration time of 3 seconds.

For the determination of selenium the red cell mass and serum samples were submitted to digestion with 2 ml of concentrated ultra-pure HNO₃ (Merck®) and 500 µl of H₂O₂ on a heating plate at 50°C to 110°C for two hours. After the complete mineralization of the organic material, the solutions were transferred to 5 mL volumetric flask, rinsing with type I pure water (Milli-Q, Millipore®) and subjected to a reading on the GTA 120 using paladium (Pd) and Mg(NO₃) as a matrix modifier (200 µl of Pd and 125 µl of Mg(NO₃) diluted in 400 µl of HNO₃ 0.2%). The results were shown in µg/l. For quality control assurance, in each batch the reference material human serum from Seronorm® Trace Elements Serum was analyzed. All samples were analyzed in duplicate.

The zinc serum concentration was performed according to the method proposed by Rodriguez *et al.* [21], whereas for erythrocytes the determination of the concentration of erythrocytes was performed after the serum separation and determined by the method described by Whitehouse *et al.* [22], with a standard curve diluted in a solution of 3% glycerol and 1% nitric acid. The zinc standard which was used was Titrisol - 1g/l (Merck). The concentrations of Zn²⁺ were expressed in µgZn/gHb.

The Analysis of hemoglobin in the red cell mass

To express the results, in terms of mass of Zn/hemoglobin mass, an aliquot of 20 µl of erythrocyte lysate was used to determine the concentration of hemoglobin, using the cyanmethaemoglobin method from the Labtest Diagnostica kit [23].

Statistics

The normal distribution of the variables was assessed using the Shapiro-Wilk test. The proportions were compared using the chi-squared test or Fisher's exact test. The magnitude of the association between X and Y was assessed by the odds ratio (OR). For the analysis of the differences in means between groups, we used the Student 'T' test and the nonparametric Mann-Whitney U test. The correlation between continuous variables analysis was performed using Pearson's correlation test. A Poisson regression model was built for each outcome variable, according to the main exposure variables and prevalence ratio (PR) was used as association measure.. A 5% level was used to reject the null hypothesis. The analyses were performed using the program Statistical software

Package for Social Science (SPSS) version 17.0 software.

RESULTS

General and anthropometric characteristics

In both groups (I and II) female subjects predominated (72.6%, n=45); the highest frequency in women was observed in the group of patients with chronic pain (77.4% vs. 67.7%) (Table 1). No difference between groups in relation to the mean age (45.83 ± 7.59 years vs. 41.2 ± 12.2 years), weight (71.4 ± 9.9 kg vs. 74.0 ± 16.1 kg, $p=0.606$) and BMI (26.9 ± 3.9 kg/m² vs. 25.1 ± 5.3 kg/m², $p=0.109$) were noted.

Pain evaluation

In group I, myofascial pain was classified as idiopathic or as having an unknown cause by 64.3% of patients and 25% reported that the pain began after a work accident. Other causes such as emotional origin or post-surgery were reported in only 3.6% of patients, for each cause. The intensity of pain reported by the numerical pain scale showed a minimum value equal to five and a maximum equal to 10 points, with a mean of 7.5 ± 1.4 points.

The presence of chronic myofascial pain was associated with physical inactivity ($p=0.028$) and obesity ($p=0.020$) (Table 1), but not with the intensity of referred pain ($p=0.521$).

Serum and erythrocyte concentrations of Se_T and Zn²⁺

Group I showed lower erythrocyte Se_T (79.46 ± 19.79 µg/l vs. 90.80 ± 23.12 µg/l, respectively) ($p=0.041$) and Zn²⁺ (30.56 µgZn/gHb [IQ range = 7.74 µgZn/gHb] vs. 38.48 µgZn/gHb [IQ range = 14.86 µgZn/gHb]) ($p=0.004$) when compared to the control group (Figure 1).

The frequency of individuals with erythrocyte Zn²⁺ below the 1st quartile in this assessment was higher in the group of patients with chronic pain (93.6%, n=29) than the control group (51.6%, n=16) ($p<0.001$) (Table 2). No differences were observed between the groups regarding the frequency of individuals with low serum levels of Se_T and Zn²⁺ (both $p>0.05$) (Table 2).

Dietary intake

The assessment of the group intakes showed that the probability of inadequate intake of selenium was twice higher in the group with chronic myofascial pain when compared to the control (49.5% vs. 24.4%, respectively). No significant difference in the average selenium intake between groups ($45.17 \pm 34.63 \mu\text{g/day}$ vs. $56.88 \pm 44.64 \mu\text{g/day}$, respectively) ($p=0.261$) was observed. The group intake assessment of zinc proceeded with the comparison of the median presented for this nutrient with the values established for by EAR. Thus, men and women in both groups had a median intake of zinc lower than EAR and no difference in the median intake of this nutrient between groups ($p=0.162$) was observed.

In the individual assessment, 80.0% of the subjects in both groups showed a selenium intake considered safe, while in regards to the intake of zinc, it showed that 70.0% ($n=21$) of subjects with chronic myofascial pain and 53.3% ($n=16$) of the individuals of the control group have inadequate zinc intake (Table 2).

Selenium and zinc vs. Chronic myofascial pain

The influence of the selenium and zinc intake and the concentrations of these minerals in serum and erythrocytes on the prevalence of chronic myofascial pain were analyzed by Poisson regression. The model was adjusted for Body Mass Index (BMI). After the exclusion of serum and erythrocyte Se_T , serum Zn^{2+} and zinc and selenium intake, an association was observed between the concentration of Zn^{2+} in erythrocytes and pain. Thus, in each additional 1mg of Zn^{2+} per gram of hemoglobin, a reduction of 12.5% was observed in the prevalence of the chronic myofascial pain ($B=-0.056$; adjusted $PR=0.945$, $Wald=4.059$, $standard\ error=0.028$, $p=0.044$). When the increment of erythrocyte Zn^{2+} ($5\mu\text{gZn/gHb}$) was calculated, there was a 48.6% reduction in the risk of myofascial pain ($PR=0.756$).

DISCUSSION

The concentrations in human organism of some trace elements with antioxidant activities have, recently, been explored a great deal in the study of chronic myofascial pain. In this study, the intracellular concentration (erythrocytes) of Se_T and Zn^{2+} showed a significant difference between the groups and the concentration of Zn^{2+} in this

compartment of the organism was associated with the presence of pain. The frequency of individuals with inadequate zinc intake was also higher among patients with chronic myofascial pain than the control group.

Chronic myofascial pain was more common in young and overweight women; thus presenting the female gender is an important risk factor for the development of this condition. Epidemiological studies show that 45 - 55% of people with chronic myofascial pain are women in the corresponding age group of young adults [3][24][25].

When assessing the concentrations of Zn^{2+} and Se_T in the serum and erythrocytes of the individuals in this study, we identified significant differences in the intracellular reserve, but not serum reserve, between the groups. Patients with chronic myofascial pain had lower erythrocyte selenium concentrations when compared to individuals without pain.

Taking into account that the evaluation of the concentration of these trace elements in erythrocytes is a parameter which sensitive to the increased metabolic demand or chronic nutritional deficiency, not reflecting recent changes in the organism [26][27] and considering the high average time of pain reported by subjects in this study, it is possible that our results are justified by the chronicity of both the increased metabolic demand in response to oxidative stress and the high inadequacy of the intake of these nutrients, particularly zinc, identified in this population.

Tissue damage found in patients with chronic pain induces the synthesis and release of inflammatory substances that increase the activity of the muscle motor endplate favoring the onset of pain [4][6], and also induces oxidative stress by stimulating the production of free radicals by monocytes, macrophages and leukocytes; increasing the demand for antioxidants [5].

Recent research on trace elements involved in antioxidant activities were identified in patients with chronic musculoskeletal pain [8][9][10]. In these studies, low concentrations of Zn^{2+} are well documented.

Selenium deficiency has been associated with the presence of chronic pain in various studies, however these results are still controversial and should be clarified [9][10][12][13]. The different results observed may be due to different methods used for the determination of this element. Sendur *et al.* [9], found no differences in serum selenium concentrations in patients with chronic musculoskeletal pain. However, the concentration of this trace element in serum does not represent the nutritional status of

this nutrient. Results like that suggest that selenium deficiency in these patients appears to be associated with a metabolic demand which is chronic in nature; progressive, noticeable only in parts of the organism that reflect a deficiency in the organism's reserves of this element, such as in erythrocytes.

This is the first study, to the authors' knowledge, that has quantitatively evaluated the dietary intake of zinc and selenium in patients with chronic myofascial pain. We observed that the group I had a higher percentage of inadequate intake of selenium and increased frequency of individuals with a zinc intake lower than the estimated average requirement.

Our results allow comparison with the usual intake of the Brazilian population. Population-based studies in different Brazilian states showed that the mean intake of zinc and selenium was 7.7 mg/day and 51.1 µg/day, respectively, and that the frequency of inadequate intake of these minerals also have values very close to those found in both groups of this study. It strongly suggests that within the Brazilian population there is inadequate eating habits, in which the ingestion of food considered as important sources of these nutrients does not appear to meet the EAR [28][29][30].

Based on our results and the results published concerning the serum and erythrocyte Se_T and Zn^{2+} concentrations, it is believed that the organic and metabolic demand of these minerals are greater in patients with chronic myofascial pain, a fact that reflects low intracellular concentrations of these nutrients. It seems possible to interpret that the values established as EAR by the DRI are not enough to meet the metabolic demands imposed by the oxidative stress on patients with chronic myofascial pain, and therefore not applicable to this group of patients, being a parameter only for healthy people.

Other important factors associated with the presence of chronic musculoskeletal pain and also observed in our study are related to the practice of physical activity and obesity. In this study, physical inactivity was observed more frequently in patients with chronic myofascial pain, which is a risk factor associated with painful symptoms also reported in another study [31]. The practice of regular and guided physical activity has been suggested as adjunctive treatment of pain because it activates muscle tension receptors during muscle contractions, causing the release of endogenous opioids, stimulating the release of endorphins from the pituitary gland, reducing the nociception of the central and peripheral pain [32], or because it stimulates the growth of blood

capillaries, increasing the oxygen supply, the removal of algogenic metabolic waste and the reduction in pain [33].

We observed that myofascial pain was associated with the excess weight in the studied sample, which may be a risk factor for the development of pain or a consequence of the chronicity of the disease. Despite the fact that the relationship between obesity and chronic musculoskeletal pain has not been clearly elucidated, the frequency of obesity has been identified in 37% to 65% of patients with chronic musculoskeletal pain [34][35][36]. The association between obesity and chronic pain is probably attributed to the increased mechanical load on weight-bearing joints. On the other hand, chronic myofascial pain leads to absenteeism from work and physical inactivity, therefore becoming a risk factor for the development of obesity [4][36].

Studies about the concentrations of these elements in other body compartments are needed to better define the nutritional status of these minerals, representing a major constraint to claim the existence of deficiencies and their temporality (acute or chronic) in this study. Another important limitation is on the assessment of pain intensity, because although the visual analogue scale is a valid and internationally accepted method for identifying the intensity of referred pain in patients with chronic musculoskeletal pain, this assessment is affected by the strong influences of other variables (such as emotional state, motivation for treatment, drug therapy, etc.) and by being a subjective method, the results can be unreliable.

CONCLUSION

In this study, individuals with chronic myofascial pain showed low concentrations of Zn^{2+} and Se_T . This group of patients also had a greater likelihood of inadequate intake of selenium, as well as a higher frequency of individuals with an intake of zinc lower than EAR. The intracellular concentrations observed could be attributed to chronic secondary disability, possibly, due to the increased metabolic demand and the oxidative stress common in this population, intensified by the inadequate intake of this nutrient.

REFERENCE

1. Chen KC, Nizar AJ (2011) Myofascial pain syndrome in chronic back pain patients. Korean J Pain 24: 100-104. doi: 10.3344/kjp.2011.24.2.100.

2. Kraychete DC, Rocha APC (2005) Avaliação e tratamento da síndrome dolorosa miofascial. Rev DOR 6: 672-79.
3. Hernández FMF (2009) Síndromes miofasciales. Reumatol Clín 5:36-39. doi: 10.1016/j.reuma.2009.04.004.
4. Dommerholt J, Bron C, Franssen J (2006) Myofascial trigger points: An Evidence-Informed Review. J Man Manip Ther 14: 203-221. doi: <http://dx.doi.org/10.1179/106698106790819991>.
5. Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S, Traber MG (2004) Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultra marathon runners. Free Radic Biol Med 36:1329-1341. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.02.069.
6. Shah JP, Danoff JV, Desai MJ, Parikh S, Nakamura LY *et al.* (2008) Biochemicals associated with pain and inflammation are elevated in sites near to and remote from active myofascial trigger points. Arch Phys Med Rehabil 89: 16-23. doi:10.1016/j.apmr.2007.10.018.
7. Rokyta R, Holecek V, Pekárková I, Krejcová J, Racek J, *et al* (2003) Free radicals after painful stimulation are influenced by antioxidants and analgesics. Neuroendocrinol Lett 24: 304-309.
8. Okumus M, Ceceli E, Tuncay F, Kocaoglu S, Palulu N, *et al.* (2010) The relationship between serum trace elements, vitamin B12, folic acid and clinical parameters in patients with myofascial pain syndrome. Jour of Back and Musc Rehabil 23: 187–191. doi: 10.3233/BMR20100264.
9. Sendur OF, Tastaban E, Turan Y, Ulman C (2008) The relationship between serum trace element levels and clinical parameters in patients with fibromyalgia. Rheumatol Int 28: 1117–1121. doi: 10.1007/s00296-008-0593-9.
10. Turki KM, Al-Osami MH, Najji RI (2012) Zinc and selenium status in iraqi patients with fibromyalgia syndrome. I Jour Adv Eng Tech 3: 105-107.
11. Powell SR (2000) The antioxidant properties of zinc. J Nutr 130: 1447-54.
12. Reinhard P, Schweinsberg F, Wernet D, Kötter I (1998) Selenium status in fibromyalgia. Toxicol Lett 96: 177-180.
13. Eisinger J (1997) Reactive Oxygen species, antioxidant status and fibromyalgia. J Musculoskeletal Pain 5: 5-15. doi: 10.1300/J094v05n04_02.
14. Haskell WL, Lee I, Pate RR, Powell KE, Blair SN, *et al.* (2007) A Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of

- Sports Medicine and the American Heart Association. *Med and sci in sports and exerc*, 39: 1423.
15. Institute of Medicine (US). Panel on dietary antioxidants, & related compounds (2000) dietary reference intakes for vitamin c, vitamin e, selenium, and carotenoids: a report of the panel on dietary antioxidants and related compounds, subcommittees on upper reference levels of nutrients and of interpretation and use of dietary reference intakes, and the standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes, food and nutrition board, institute of medicine. National Academies Press.
 16. Institute of Medicine (US). Panel on micronutrients, institute of medicine (us). food, & nutrition board (2001) dietary reference intakes for vitamin a, vitamin k, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc: a report of the panel on micronutrients...[*et al.*], food and nutrition board, institute of medicine. National Academies Press.
 17. Lohman TJ, Roache AF, Martorell R (1992) Anthropometric standardization reference manual. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 24:952.
 18. Lohman TG (1993) Advances in body composition assessment. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 25: 762.
 19. World Health Organization (1995) Physical status: the use of and interpretation of anthropometry, Report of a WHO Expert Committee.
 20. Gerwin RD (2001) Classification, epidemiology, and natural history of myofascial pain syndrome. *Curr Pain Headache Rep* 5: 412-420. doi: 10.1007/s11916-001-0052-8.
 21. Rodriguez MP, Narizano A, Demczyklo V, Cid A (1989) A simpler method for the determination of zinc human-plasma levels by flame atomic-absorption spectrophotometry. *Atomic Spectroscopy*, 10: 68-70.
 22. Whitehouse RC, Prasad AS, Rabbani PI, Cossack ZT (1982) Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Clin. Chem.*, v. 28, n. 3, p. 475-80, 1982.
 23. Van Assendelft OW (1972) The measurement of hemoglobin. In: Izak G, Lewis SM, editors. *Modern concepts in hematology*. New York, U. S. A.: Academic press. pp. 14-25.
 24. Gamero F, Gabriel R, Carbonell J, Tornero J, Sánchez-Magro I (2005) Pain in spanish rheumatology outpatient offices: EPIDOR epidemiological study. *Rev Clin Esp* 205: 157-63.

25. Sá K, Baptista AF, Matos MA, Lessa I (2009) Prevalência de dor crônica e fatores associados na população de Salvador, Bahia. *Rev Saúde Pública* 43: 622-630.
26. Davis CD, Milne DB, Nielsen FH (2000) Changes in dietary zinc and copper affect zinc-status indicators of postmenopausal women, notably, extracellular superoxide dismutase and amyloid precursor proteins. *Am J Clin Nutr* 71: 781-788.
27. Mafrá D, Cozzolino SMF (2004) Importância do zinco na nutrição humana. *Rev Nutr* 17: 79-87. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732004000100009>.
28. Lopes ACS, Caiáffa WT, Sichieri R, Mingoti SA, Lima-Costa FF (2008) Estado nutricional: antropometria, consumo alimentar e dosagens bioquímicas de adultos e idosos – projeto bambuí um estudo de base populacional. *REME Rev Min Enferm* 12: 483-493.
29. Martins CM, Kato JT, Barbosa JR, Carvalho CA, Machado VA, *et al.* (2011) Avaliação do consumo de micronutrientes em adultos residentes no município de São Paulo. *Nutrire* 36: 82-82.
30. Silva JVFP, Moreira SLN, Oliveira DC, Satnos TR, Padilha HG, *et al.* (2012) Avaliação do consumo de nutrientes antioxidantes por mulheres fisicamente ativas. *Braz Jour Sports Nutri* 1: 30–36.
31. Maciel ACC, Fernandes MB, Medeiros LS (2006) Prevalência e fatores associados à sintomatologia dolorosa entre profissionais da indústria têxtil. *Rev Bras Epidemiol* 9: 94-102. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2006000100012>.
32. Coury HJCG, Moreira RFC, Dias NB (2009) Efetividade do exercício físico em ambiente ocupacional para controle da dor cervical, lombar e do ombro: Uma revisão sistemática. *Rev Bras Fisioter* 13: 461-479.
33. Waling K, Sundelin G, Ahlgren C, Järvholm B (2000) Perceived pain before and after there exercise programs - a controlled clinical trial of women with work-related trapezius myalgia. *Pain* 85: 201-207.
34. Wright LJ, Schur E, Noonan C, Ahumada S, Buchwald D *et al.* (2010) Chronic pain, overweight, and obesity: findings from a community-based twin registry; *The Journal of Pain* 7: 628:635. doi:10.1016/j.jpain.2009.10.004.
35. Caldwell J, Hart-Johnson T, Green CR (2009) Body mass index and quality of life: examining blacks and whites with chronic pain. *The Journal of Pain* 10: 60-67. doi:10.1016/j.jpain.2008.07.005.

36. McCarthy LH, Bigal ME, Katz M, Derby C, Lipton RB (2009) Chronic Pain and Obesity in Elderly People: Results from the Einstein Aging Study. *J Am Geriatrics Society* 57: 115-119. doi: 10.1111/j.1532-5415.2008.02089.x.

Table 1. Association of variables related to lifestyle and nutritional status in people with and without myofascial pain.

	Group I		Group II		p
	n	%	N	%	
Gender					
Men	07	22.6	10	32.3	0.393 [†]
Women	24	77.4	21	67.7	
Smoking					
Yes	01	3.3	0	0	-
No	30	96.7	31	100.0	
Alcoholism					
Yes	04	12.9	13	41.9	0.011 [#]
No	27	87.1	18	58.1	
Physical Activity					
Yes	06	19.3	16	51.7	0.008 [†]
No	25	80.7	15	48.3	
BMI					
Eutrophic	08	25.8	17	54.8	0.020 [†]
Overweight	23	74.2	14	45.2	

Legends:

[†] Pearson's chi-square test; [#] Fisher's exact test; CI (Confidence Interval) 95%. BMI = Body mass index.

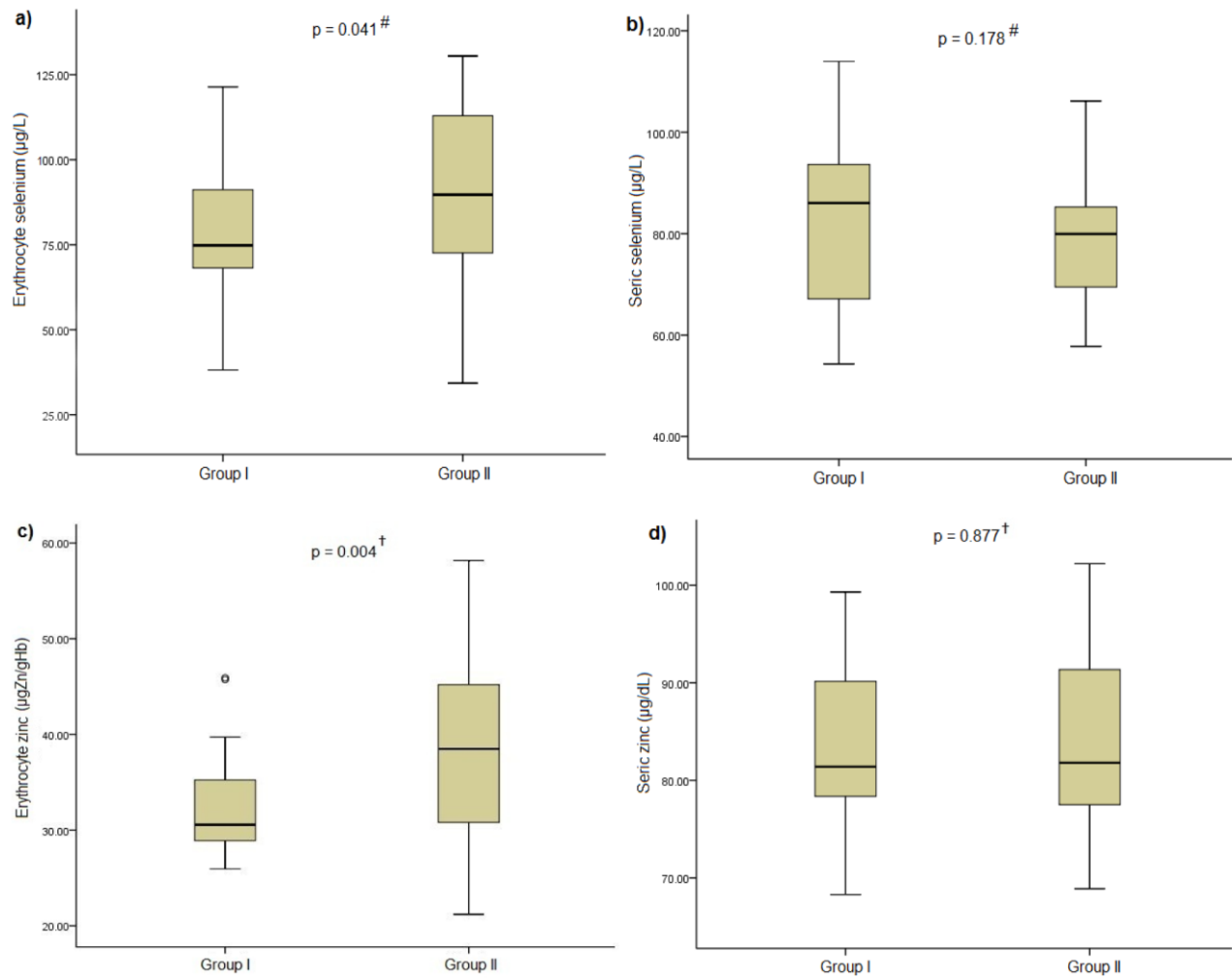
Table 2. Frequency of low concentrations of Zn²⁺ and Se_T in the serum and erythrocytes and of inadequate intake of selenium and zinc.

	Group I		Group II		<i>p</i>
	<i>N</i>	%	<i>n</i>	%	
^a Erythrocyte Se^T					
1st quartile	13	41.9	03	9.7	0.040 [#]
2nd, 3rd e 4th quartile	18	58.1	28	90.3	
Serum Se^T					
< 46µg/L	01	3.2	01	3.2	1.000 [#]
≥ 46µg/L	30	96.8	30	96.8	
Erythrocyte Zn²⁺					
< 40 µgZn/gHb	29	93.6	15	48.4	0.000 [#]
≥ 40 µgZn/gHb	02	6.4	16	51.6	
Serum Zn²⁺					
< 75 µg/dL	5	16.1	5	16.1	1.000 [†]
≥ 75 µg/dL	26	83.9	26	83.9	
^b Intake selenium					
Z score ≤ -1	6	20.0	6	20.0	1.000 [†]
Z score > -1	24	80.0	24	80.0	
^b Intake zinc					
< EAR	21	70.0	16	53.3	0.184 [†]
≥ EAR	9	30.0	14	46.7	

Legend:

[†] Pearson's chi-square test; [#] Fisher's exact test; 95% CI (Confidence Interval). BMI = Body mass index; EAR = Estimated Average Requirement; ^a1st quartile = 65.08µgSe/gHb; ^bEAR as a reference.

Figure 1. Erythrocytes and serum concentrations of Se_T and Zn^{2+} in adults with chronic myofascial pain and without pain.



Legend:

a) erythrocyte concentration of Se_T in adults with chronic myofascial pain and without pain ($\mu\text{g/L}$); **b)** serum concentration of Se_T in adults with chronic myofascial pain and without pain ($\mu\text{g/L}$); **c)** erythrocyte concentration of Zn^{2+} in adults of both groups ($\mu\text{gZn/gHb}$); **d)** serum concentration of Zn^{2+} in adults of both groups ($\mu\text{g/dL}$). [#] Statistic T-test; [†] Mann-Whitney test.

Artigo 2

**Magnésio e cálcio em pacientes com dor crônica miofascial:
concentrações no soro, eritrócitos e ingestão alimentar**

Será submetido

Revista de Plos One

Magnesium and calcium in patients with chronic myofascial pain: serum and erythrocytes concentrations and food intake.

ABSTRACT

Nutritional disturbances of calcium and magnesium have been reported as important factors involved on musculoskeletal pain etiopathogenesis.

Aim: To evaluate the nutritional status related to calcium and magnesium (habitual ingestion and serum and erythrocyte concentrations) in patients with chronic myofascial pain.

Materials and methods: A case-control study with 31 patients with chronic myofascial pain (group I) and 31 subjects without pain (group II). Two 24-hour dietary recalls and a three days dietary record to assess food intake were applied. Serum and erythrocyte concentration of calcium and magnesium were analyzed by atomic absorption spectrophotometry. Pain intensity was assessed using a visual analog scale. A Poisson regression model was built for each outcome variable, according to the main exposure variables and prevalence ratio (PR) was used as association measure.

Results: The group of patients with chronic myofascial pain showed lower serum concentration of calcium (8.92 ± 0.52 mg/dl vs. 9.39 ± 0.46 mg/dl, respectively) and erythrocyte magnesium (92.5 ± 14.5 μ Mg/gHb vs. 102.2 ± 14.0 μ Mg/gHb, respectively), when compared to the control group. The intake of magnesium showed an inadequate percentage near to 100% in both groups, however the mean ingestion of magnesium was lower in patients with chronic pain than the other group. The intake of calcium presented low frequency of individuals with probable adequate ingestion (3.3% and 0%, respectively), both groups. In the Poisson regression analysis, the intake magnesium and serum calcium was associated with the presence of pain.

Conclusion: The majority of the individuals of this study, regardless of the group, presented the intake of magnesium and calcium compromised. However, the patients with chronic myofascial pain showed lower body reserves of intraerythrocyte magnesium and serum calcium than the other group.

Keywords: Intake foods; Calcium; Magnesium; Chronic Myofascial Pain.

INTRODUCTION

Chronic musculoskeletal pain syndromes are very prevalent in the modern world and represent one of the major causes of human suffering [1]. Chronic myofascial pain is a clinical picture characteristic of chronic musculoskeletal pain and has a prevalence ranging from 30% to 95% of patients seen in general medical clinics [2] and is characterized by the presence of trigger points (TrP), corresponding to an area of hypersensitivity, of a high consistency, and whose palpation reproduces the local and referred pain to the patient, making this the origin of the pain [3].

Recent studies have demonstrated the role of magnesium and calcium in the processes of continuous muscle contraction, micro trauma and the formation of TrP, as well as the involvement of these nutrients in the phenomena of nervous stimulation and neuromuscular transmission [4][5]. The activity of calcium in the development or spread of chronic myofascial pain has been associated with low concentrations of intracellular magnesium, resulting in a low energy supply and localized muscle stiffness [4][5][6][7].

Apart from its involvement in the generation of energy to the processes of muscle contraction and relaxation, magnesium, in turn, has shown itself as a nutrient capable of causing analgesia myofascial pain due to antagonistic action at ionotropic receptors (N-methyl-D aspartate, NMDA) preventing the activation of second messengers that promote neuronal excitation related to pain transmission [6][7].

A small number of publications have analyzed serum and intracellular levels of magnesium and calcium in patients with chronic myofascial pain [8,9], however this is the first study, to the authors' knowledge, that has quantitatively evaluated the dietary intake of these nutrients in this patients. Significant variation in the serum levels of these micronutrients are observed possibly as a result of neuroendocrine responses caused by pain transmission, or they could be associated with the inadequate dietary habits of the population. Accordingly, the aim of this study was to evaluate and correlate the regular intake with the serum and intracellular levels of magnesium and calcium in patients with myofascial pain syndrome.

MATERIALS AND METHODS

Ethics Statement

This study was approved by the Ethics and Research Committee of the School of

Nutrition of the Federal University of Bahia – number: 03/08. The patients eligible to participate in the study signed an informed consent form prior to the investigations.

Design of the study and sampling

This is an observational case-control study in adults with chronic myofascial pain.

To calculate the sample mean values of serum concentrations and standard deviations found for magnesium and calcium in the pilot project were considered. The mean difference to be detected as significant based itself on original published studies on patients with chronic musculoskeletal pain was also considered. Considering a significance level of 5% and a power of 90%, we proceeded to the analysis of the expected sample size for each trace element to be studied. The arithmetic mean of the results of tests conducted to define the size of the sample was used.

The subjects of this study were divided into two groups: group I consisted of patients diagnosed with chronic myofascial pain, and group II consisting of healthy subjects paired by age and socio-economic status.

Criteria for inclusion and non-inclusion

Group I (case) consisted of individuals diagnosed with chronic myofascial pain, associated with the presence of TrP and muscle pain score > 4 gauged by the scale of pain, of both genders, aged 18-60 years. Group II (control) was formed by family members and companions of patients from the same geographic area or district and social conditions, with undiagnosed pain.

Individuals diagnosed with radiculopathy, degenerative or inflammatory joint disorder, central and peripheral neuropathies, nerve compression syndromes, multiple sclerosis, myasthenia gravis and polymiosites; systemic diseases such as hypothyroidism and severe metabolic or infectious diseases (herpes viruses, picornavirus, Trichinella spiralis, cysticercosis and toxoplasmos, Hepatitis B, C, HTLV or HIV), chronic fatigue syndrome and fibromyalgia were not included in this study. Individuals with electrolyte disturbances, or users of diuretics, were also not included.

Sociodemographic and economic indicators and lifestyle

Information regarding gender, age, marital status, socio economic and environmental conditions was collected.

For the assessment of lifestyle, information was collected on alcohol consumption, smoking and physical activity. Consumers of alcohol who reported drinking alcohol at least 1 or more times a month; former consumers or individuals with an intake interruption of >30 days before the start of the study and individuals who reported never having consumed alcohol were all considered. Smokers were classified as individuals who reported using tobacco in any frequency; former smokers as individuals who had quit smoking at least one month before the study and nonsmokers as those who had never smoked. For statistical analysis purposes, former smokers were grouped with nonsmokers.

Individuals who reported the practice of moderate aerobic activity for least 30 minutes/day, 5 days a week, or strenuous activity for at least 20 minutes/day, 3 days a week were considered physically active. Individuals who reported aerobic activity lower than the parameters mentioned above were considered sedentary, according to criteria of the American College of Sports Medicine and the American Heart Association [10].

Clinical evaluation of pain

Patients were evaluated for spontaneous pain using the numerical pain scale that measured the intensity of pain reported by the patient at that time. The diagnosis of myofascial syndrome was established using at least one of the following criteria as a base: a) increased sensitivity over a section of muscle thickening, b) local muscle response to manipulation of the TrP, c) referred pain, d) Reproduction of usual pain e) restriction of the range of movement, f) weakness without atrophy, or g) associated autonomic symptoms [15].

Blood collection

It was collected 10 ml of blood in tubes used for trace mineral analysis with participants who had previously fasted for at least 8 hours. The aliquot was centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes to obtain the serum, which was transferred to polypropylene tubes citrated to 30% (Eppendorf). After the removal of the serum, the erythrocyte mass was washed with 9% saline and centrifuged at 10000 rpm for 10 minutes in triplicate. The

serum aliquots were stored at -22°C until analysis.

Determination of magnesium

The magnesium determination was performed on samples of serum and erythrocytes by atomic absorption spectrophotometry using VARIAN® brand equipment under the following conditions: a specific hollow cathode lamp for Mg; wavelength (λ) 285.2 nm, gap: 0.7 nm; flame: air/acetylene oxidante.

The determination of magnesium in serum was performed according to the methodology proposed by Deuster *et al.* [16]. The reference value used was 0.57 to 0.91 mmol/l. The erythrocyte magnesium concentration was determined using the adaptation of the method described by Whitehouse *et al.* [17], considering Deuster *et al.*'s study [16]. While there is no consensus on the normal values for erythrocyte Mg²⁺ concentration, the values were expressed in $\mu\text{gMg/gHb}$ and the values found were grouped into quartiles by group.

Determination of calcium

The determination of total serum calcium concentration was performed by an automated colorimetric method, with the reference range from 8.6 to 10.3 mg/dL being considered normal. For not representing an important parameter for assessing the nutritional status of calcium or the homeostasis of this mineral, due to failures in the planning and management of the samples of biological material collected, the dosage of this element in erythrocytes was not performed.

The Analysis of hemoglobin in the red cell mass

To express the results, in terms of mass of Zn/hemoglobin mass, an aliquot of 20 μL of erythrocyte lysate was used to determine the concentration of hemoglobin, using the cyanmethaemoglobin method from the Labtest Diagnostica kit [18].

Nutritional parameters

Food survey: A 24-hour dietary recall was applied for two days, at different appointments. Monitoring the food intake of the patient was performed by the means of

the daily food record for three days method. To calculate the intake of micronutrients the AVANUTRI® version 3.09 (2008) software was used.

Dietary Assessment: To assess the intake of magnesium and calcium, the calculated values in the food surveys were adjusted and corrected for the variability of the consumption among individuals of the same group, using the methodology described in the Dietary Reference Intakes (DRI). The Estimated Average Requirement (EAR) was used as the cut-off point for the estimation of the needs of magnesium and the Adequate Intake (AI) for age (< 50 years and \geq 50 years) to assess the intake of calcium individually [11]. The assessment of the intake of calcium per groups may not be applicable due to lack of known values of EAR for this nutrient.

Measurement of weight, height and Body mass index (BMI): To obtain the weight measurement, a digital weight scale with a capacity of 200 kg and an accuracy of 50 g was used. Height was obtained by means of a portable stadiometer graduated in tenths of centimeters, fixed to a flat surface. The measurements of weight and height were taken and duplicated by different evaluators [12][13]. In the case of divergent of values, a third measurement was performed, and the average of these three was calculated. The height recorded was the mean of the two measurements. The Body Mass Index (BMI) was obtained by the ratio between weight (kg) and squared height (m²). We considered the cut-off points of WHO (1995) for eutrophic (18.5-24.9 kg/m²) and overweight (> 25 kg/m²) [14].

Statistics

The normal distribution of the variables was assessed using the Shapiro-Wilk test. The proportions were compared using the chi-squared test or Fisher's exact test. The magnitude of the association between X and Y was assessed by the odds ratio (OR). For the analysis of the differences in means between groups, we used the Student 'T' test and the nonparametric Mann-Whitney U test. The correlation between continuous variables analysis was performed using Pearson's correlation test. A Poisson regression model was built for each outcome variable, according to the main exposure variables and prevalence ratio (PR) was used as association measure. A 5% level was set to reject the null hypothesis. The analyses were performed using the program Statistical Package for Social Science (SPSS) software version 17.0.

RESULTS

Sample characterization

A total of 62 individuals participated in this study, of which 31 were patients with chronic myofascial pain (Group I) and 31 controls without a pain diagnosis (Group II). The majority of the subjects were women (n=45; 72.6%) with a mean age of 45.83 ± 7.59 years in group I vs. 41.2 ± 12.2 years in group II and a mean BMI of 26.9 ± 3.9 kg/m² vs. 25.1 ± 5.3 kg/m².

The analyses showed that the groups did not differ in age, weight or BMI ($p>0.050$). However, the frequency of individuals considered with overweight was higher in group I compared with the control group (n=23; 74.2% vs. n=14; 45.2%, respectively) ($p=0.020$).

Table 1 shows the frequency of variables related to lifestyle and nutritional status, as well as the association between the groups with and without myofascial pain.

The vast majority of patients in group I mentioned chronic myofascial pain of an unknown etiology (n=20, 64.51%), followed by chronic myofascial pain reported following an accident at work (n=8, 25.81%). The intensity of pain, reported via the numeric pain rating scale, showed a minimum value of 5 and a maximum equal to 10 points, with a mean of 7.5 ± 1.4 points.

Serum and erythrocyte Mg²⁺ and Ca²⁺ concentrations

The group of subjects with chronic myofascial pain showed a higher frequency of hypocalcemia and a lower erythrocyte Mg²⁺ concentration, that most were grouped into the 1st quartile for this analysis, than the other group (Table 3).

Figure 1 shows the comparison of the average concentrations of Ca²⁺ and Mg²⁺ in body compartments studied. It was observed that the mean values of serum Ca²⁺ in group I was lower than that of group II (8.92 ± 0.52 mg/dl vs. 9.39 ± 0.46 mg/dl, respectively). The mean erythrocyte Mg²⁺ levels was lower in subjects with pain compared to the control group (92.5 ± 14.5 µgMg/Hb vs. 102.2 ± 14.0 µgMg/Hb, respectively) ($p=0.010$).

Dietary intake of magnesium and calcium

The Figure 2 shows the average of the results obtained for the intake of magnesium and calcium, by group.

In the group-by-group evaluation, the mean values of magnesium intake showed a close to 100% of inadequacy in both groups. It was noted that the average intake of magnesium was lower in both genders in group I when compared to the other group, but with statistically significant results only for males. In the intragroup analysis, no difference for the intake of this micronutrient, by gender, was observed. In the intergroup analysis, it was observed that patients with chronic myofascial pain had a mean intake lower than the control group ($p=0.003$) (Figure 2). Because there are no predefined Estimated Average Requirements (EAR) values for calcium, the assessment of the percentage of inadequate intake of this nutrient per group was not possible to do.

In the individual evaluation, we observed a high frequency of subjects with inadequate magnesium intake in both groups. It was also observed that both groups had a low probability of an adequate intake of calcium (Table 2).

Mg²⁺ and Ca²⁺ vs. chronic myofascial pain

The influence of the magnesium and calcium intake and the concentrations of these minerals in serum and erythrocytes on the prevalence of chronic myofascial pain were analyzed by Poisson regression (Table 3). The model was adjusted for Body Mass Index (BMI). After excluding erythrocytic Mg²⁺, serum Mg²⁺ and the consumption of calcium, with 95% confidence, we can notice that for every 1mg of Mg²⁺ intake there is a reduction of 0.01% in the prevalence of chronic myofascial pain, when the increment of the risk associated to the increase of 15 mg in the intake of Mg (equivalent to approximately 3 cashew nuts or 2 Brazil nuts), it shows that the prevalence of chronic myofascial pain reduces by almost 12.8% (PR=0.872) for each intake of 15 mg/day.

The serum Ca²⁺ was also associated with the presence of pain. In the Poisson regression model, we found that for each 1mg/dL increase of serum Ca²⁺ there was 58% of reduction in the prevalence of chronic myofascial pain.

When evaluating possible correlations between the intake of these nutrients and body reserves with the other clinical variables in patients with chronic myofascial pain, no statistically relevant data was observed.

DISCUSSION

This study evaluated concentrations in body compartments of calcium and magnesium, as well as the food intake of these nutrients in patients with chronic myofascial pain. It is noteworthy that there is few studies available in literature which evaluate the nutritional status of these nutrients in patients with the clinical diagnosis of chronic myofascial pain.

In agreement with results already obtained by other studies, both groups in this study were made up of young adults, in which females were most frequent, making this a major risk factor for chronic myofascial pain [3][19][20], as well as excess weight and physical inactivity [21][22][23][24], which both were found to be more common in patients with pain.

The findings relative to the anthropometric nutritional status and physical activity levels may be partially explained by the consequences of a reduction in the functional capacity of patients in a crisis of the disease where increased soreness or pain during exercises induces physical inactivity and thus weight gain, and therefore the pain risk factor for the development of obesity [24][25]. Therefore, the mechanical loads on the joints caused by the excess weight and the pro-inflammatory state present in obesity that favors the synthesis and release of inflammatory substances, increase the activity of the motor endplate, with the result being the onset of pain and the reduced functional capacity of these patients.

Low organic concentrations of Mg^{2+} and Ca^{2+} have also been presented as well explored factors in musculoskeletal chronic pain, including chronic myofascial pain [8][9][26][27][28][29]. In our study, the frequency of hypocalcemia was higher in patients with chronic myofascial pain and the mean serum calcium concentration was also lower in this group when compared to the other group. Furthermore, the calcium concentration in this part of the organism was associated with the presence of pain in the regression analysis. In this study it was not possible to assess the calcium in any other part of the organism other than serum.

Current evidences suggest that low concentrations of serum Ca^{2+} in these patients may partially explain the development of pain, where low concentrations of serum calcium levels are associated with increased neuromuscular excitability and impaired energy metabolism, reducing the ability of ATP-dependent muscle relaxation and causing a large spasm of the skeletal muscle, cramps and tetany seizure [30][31]

and has been associated with the concentrations of magnesium [32].

In contrast, literature shows that regardless of the concentration of serum Ca^{2+} , the intracellular levels of this mineral can be different and changes in the regulatory mechanism of this ion in the cytoplasm have been associated with the development of TrP [25][33].

Low concentrations of intracellular magnesium was also evident in this group and the majority of patients with the clinical diagnosis of chronic myofascial pain found themselves grouped in the first quartile of erythrocyte magnesium concentration suggesting a possible association of this mineral with the pathogenesis of this type of pain. Possibly, this low concentration of intracellular magnesium, witnessed in the patients in our study, increases muscle energy crises, reducing the synthesis and supply of ATP molecules, essential for the relaxation of muscle fibers favoring the maintenance of sustained contraction or by increasing the membrane permeability of the calcium ions promoting the inflow of calcium ions to the intracellular environment, stimulating the actin-myosin contraction.

Another hypothesis of the association of intracellular magnesium deficiency with chronic myofascial pain is in the blocking of the nerve impulses responsible for pain transmission. In the central nervous system, this mineral has also shown to have a significant role in the phenomena of nerve stimulation and neuromuscular transmission, due to the antagonistic action of the same ionotropic NMDA excitatory amino acids for preventing the activation of second messengers promoting neuronal excitation related to pain transmission [06][34][35]. Studies suggest that chronic deficiency of Mg^{2+} could increase the activity of NMDA and contribute to the development or hypersensitivity of neuropathic pain and that the supplementation of this nutrient can reduce hyperalgesia and mechanical allodynia in neuropathic pain due to the blocking effect of calcium ions on the NMDA receptors in the spinal cord [34].

Okumus *et al.* [9] in a study conducted with patients with chronic myofascial pain, like in our study, did not find any statistically significant difference in the mean concentration of magnesium in the serum of the patients under study. However, similar results are already expected due to magnesium deficiency being difficult to observe by serum evaluation. Other parts of the organism need to be investigated for a better assessment of the lack of this mineral, such as erythrocytes.

In our study, in addition to serum and erythrocytes concentrations, we also

quantified the current dietary intake of these nutrients, but we could not obtain information about the habits and previous food consumption of the patients. This information is extremely important because the metabolic consequences of pain are due to chronic, or long term, processes. Importantly, no other study that quantify intake of these micronutrients in patients with chronic myofascial pain was found.

When individually assessing calcium intake in subjects of this study, we could see that almost all participants, independent of group, have intakes below the Adequate Intake (AI) for this nutrient.

Low dietary intake of calcium has been observed in the Brazilian population, in various different age groups, genders and ethnicities; reflecting the lack of the habit of consumption of calcium-rich foods like milk, milk based products and dark green vegetables [36]. However, despite the low consumption presented, we observed lower serum Ca^{2+} levels in patients with chronic myofascial pain, suggesting that the demand for this mineral appears to be enhanced in the presence of pain or that the potential of the membrane established in magnesium deficiency can facilitate the permeability of the membrane for calcium inflow into the cell cytoplasm, where there is greater demand for this mineral for muscle contraction and relaxation. In our study this part of the organism was not assessed.

In regard to the consumption of magnesium, a low consumption of this mineral in both groups was observed, since the average intake was below the EAR and the number of individuals who had a probability of inadequate intake (>85% of inadequacy) was high, being higher in patients with chronic myofascial pain than the other group. These results are interesting since this nutrient is commonly found in a variety of foods such as dark green vegetables, whole grain and oleaginous foods. Thus, this finding reflects the eating habits of the general population, who have a poor consumption of these foods preferring processed and refined foods.

In our study, magnesium intake appeared as a protective factor for the development of chronic myofascial pain. We were unable to find data from other studies evaluating the dietary intake of this mineral in adults with chronic myofascial pain to make possible any comparison.

In summary, the low serum calcium concentrations identified in this study may show an increase in intracellular metabolic demand or a disturbance of the homeostasis of this cation in individuals with chronic myofascial pain, as there was no difference in the

intake of this nutrient between the groups. This disturbance of the calcium homeostasis appears to be associated with the pathogenesis of the disease favoring continuous and chronic muscle spasms, which can cause micro-lesions in muscle fiber that chronically may contribute to the development of chronic myofascial pain. Low erythrocyte Mg^{2+} concentrations were also observed in patients with chronic pain, indicating a chronic deficiency of intake of this nutrient that was observed in the food intake assessment, in which patients presented a lower average intake when compared to the control group. Furthermore, it is possible that this clinical situation may reduce the ability to supply essential energy for muscle relaxation, favoring the activity of NMDA or facilitating the influx of calcium into the intracellular environment and thus be directly involved in the etiopathogenesis of chronic myofascial pain.

Further studies evaluating the consumption of these nutrients are needed to better establish the relationship between the metabolic demand, body reserves and the dietary intake of these nutrients in chronic myofascial pain. It is possible that an adequate diet, given the clinical and metabolic individuality of each patient, can assist in the treatment of chronic myofascial pain or even protect individuals in the development of this pathological entity. Thus, we emphasize the need of a multidisciplinary care in the treatment of these patients.

REFERENCES

1. Brioschi EFC, Brioschi ML, Yeng LT, Teixeira MJ (2006) Nutrição e dor miofascial. *Rev Dor* 7:785-798.
2. Seó RS, Campanha NH, Alencar-Junior FGP, Neppelenbroek KH, Almilhatti HJ (2009) Dor miofascial e fibromialgia: de mecanismos etiológicos a modalidades terapêuticas. *Rev Ci Biol Saúde* 13:39-51.
3. Hernández FMF (2009) Síndromes miofasciales. *Reumathol Clín* 5:36-39.
4. Gissel H (2005) The role of Ca^{2+} in muscle cell damage. *Ann N Y Acad Sci* 1066:166–180.
5. Kim YS, Kim KM, Lee DJ, Kim B T, Park SB, *et al.* (2011) Women with fibromyalgia have lower levels of calcium, magnesium, iron and manganese in hair mineral analysis. *J Korean Med Sci* 26:1253–1257.
<http://dx.doi.org/10.3346/jkms.2011.26.10.1253>

6. Weyerbacher A R, Xu Q, Tamasdan C, Shin SJ, Inturrisi CE (2010) N-Methyl-D-Aspartate receptor (NMDAR) independent maintenance of inflammatory pain. *Pain* 148:237–246. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2009.11.003>
7. Barbosa FT, Barbosa LT, Jucá MJ, da Cunha RM (2010) Applications of magnesium sulfate in obstetrics and anesthesia. *Rev Bras Anesthesiol* 60:104-110. [http://dx.doi.org/10.1016/S0034-7094\(10\)70013-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0034-7094(10)70013-1)
8. Romano TJ (1994) Magnesium deficiency in patients with myofascial pain. *J Myofascial Ther* 1:11-12.
9. Okumus M, Ceceli E, Tuncay F, Kocaoglu S, Palulu N, *et al.* (2010) The relationship between serum trace elements, vitamin B12, folic acid and clinical parameters in patients with myofascial pain syndrome. *J Back Musculoskelet Rehabil* 23:187–191. doi: 10.3233/BMR-2010-0264.
10. Haskell WL, Lee I, Pate RR, Powell KE, Blair SN, *et al.* (2007) A Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med and sci in sports and exerc*, 39: 1423.
11. Institute of Medicine/Food and Nutrition Board (2002) Dietary Reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and Fluorid. National Academy Press; p. 190 – 299.
12. Lohman TJ, Roache AF, Martorell R (1992) Anthropometric standardization reference manual. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 24:952.
13. Lohman TG (1993) Advances in body composition assessment. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 25: 762.
14. World Health Organization (1995) Physical status: the use of and interpretation of anthropometry, Report of a WHO Expert Committee. <http://www.who.int/iris/handle/10665/37003#sthash.Uh89SHKW.dpuf>
15. Gerwin RD (2001) Classification, epidemiology, and natural history of myofascial pain syndrome. *Curr Pain Headache Rep* 5: 412-420. doi: 10.1007/s11916-001-0052-8.
16. Deuster P A, Trostmann UH, Bernier LL, Dolev E (1987) Indirect vs direct measurement of magnesium and zinc in erythrocytes. *Clin. Chem. Bethesda*, v. 33, n. 4, p. 529-532, Apr. 1987.
17. Whitehouse RC, Prasad AS, Rabbani PI, Cossack ZT (1982) Zinc in plasma, neutrophils, lymphocytes, and erythrocytes as determined by flameless atomic absorption spectrophotometry. *Clin Chem* 28:475-480.

18. Van Assendelft OW (1972) The measurement of hemoglobin. In: Izak G, Lewis SM, editors. Modern concepts in hematology. New York, U. S. A.: Academic press. p. 14-25.
19. Gamero RF, Gabriel SR, Carbonell AJ, Tornero MJ, Sánchez-Magro I (2005). Pain in Spanish rheumatology outpatient offices: EPIDOR epidemiological study. *Rev Clin Esp* 205:157–163.
20. Sá K, Baptista AF, Matos MM, Lessa I (2009) Prevalência de dor crônica e fatores associados na população de Salvador, Bahia. *R Saúde Pública* 43:622-630. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102009005000032>.
21. Maciel ACC, Fernandes MB, Medeiros LS (2006) Prevalência e fatores associados à sintomatologia dolorosa entre profissionais da indústria têxtil. *Rev Bras Epidemiol* 9:94-102. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2006000100012>.
22. Wright LJ, Schur E, Noonan C, Ahumada S, Buchwald D, *et al.* (2010) Chronic Pain, Overweight, and Obesity: Findings from a Community-Based Twin Registry; *J Pain* 11:628-635. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpain.2009.10.004>.
23. Caldwell J, Hart-Johnson T, Green CR (2009) Body mass index and quality of life: examining blacks and whites with chronic pain. *The Journal of Pain* 10:60-67. doi:10.1016/j.jpain.2008.07.005.
24. McCarthy LH, Bigal ME, Katz M, Derby C, Lipton RB (2009) Chronic pain and obesity in elderly people: results from the einsten aging study. *Am J Geriatr Soc* 57:115–119. DOI: 10.1111/j.1532-5415.2008.02089.x
25. Dommerholt J, Bron C, Franssen J (2006) Myofascial trigger points: an evidence-informed review. *J Man Manip Ther* 14:203-221.
26. Neeck G, Riedel W. Thyroid function in patients with fibromyalgia syndrome. *J Rheumatol* 19:1120–1122.
27. Romano TJ, Stiller JW (1994) Magnesium deficiency in fibromyalgia syndrome. *J Nutr Med* 4:165-167. doi: 10.3109/13590849409034552
28. Eisinger J, Zakarian H, Pouly E, Plantamura A, Ayavou T (1996) Protein peroxidation, magnesium deficiency and fibromyalgia. *Magnes Res* 9:313-316.
29. Sendur OF, Tastaban E, Turan Y, Ulman C (2008) The relationship between serum trace element levels and clinical parameters in patients with fibromyalgia. *Rheumatol Int* 28:1117–1121. 10.1007/s00296-008-0593-9.
30. Arioli EL, Corrêa PHS (1999) Hipocalcemia. *Arq Bras Endocrinol Metab* 43:467-471. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27301999000600013>

31. Bazzichi L, Giannaccini G, Betti L, Fabbrini L, Schmid L, *et al.* (2008) ATP, calcium and magnesium levels in platelets of patients with primary fibromyalgia. *Clin Biochem* 41:1084–1090. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.06.012>
32. Jameson JL (2008) Endocrinology and metabolism. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. *Harrison's principles of internal medicine*. Ed. McGraw-Hill Medical. pp. 2372-2373.
33. Bron C, Dommerholt JD (2012) Etiology of myofascial trigger points. *Curr Pain Headache Rep* 16:439–444. DOI: 101007/s11916-012-0289-4.
34. Rondón LJ, Privat AM, Daulhac L, Davin N, Mazur, A (2010) Magnesium attenuates chronic hypersensitivity and spinalcord NMDA receptor phosphorylation in a rat model of diabetic neuropathic pain. *J Physiol* 588:4205–4215.
DOI: 10.1113/jphysiol.2010.197004
35. Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ (2003) Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci* 26:696–705.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2003.09.017>.
36. Silva PMC, Cabral Junior CR, Vasconcelos SML (2010). Ingestão do cálcio na obesidade de mulheres atendidas pelo sistema único de saúde. *Rev. Nutr.*, Campinas, v. 23, n. 3, p. 357 – 367, Mai./Jun. 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732010000300004>.

Table 1. Association of variables related to lifestyle and nutritional status in people with and without myofascial pain.

	Group I		Group II		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Gender					
Men	07	22.6	10	32.3	0.393 [†]
Women	24	77.4	21	67.7	
Smoking					
Yes	01	3.3	0	0	-
No	30	96.7	31	100.0	
Alcoholism					
Yes	04	12.9	13	41.9	0.011 [#]
No	27	87.1	18	58.1	
Physical Activity					
Yes	06	19.3	16	51.7	0.008 [†]
No	25	80.7	15	48.3	
BMI					
Eutrophic	08	25.8	17	54.8	0.020 [†]
Overweight	23	74.2	14	45.2	

Legend:

[†] Pearson's chi-square test; [#] Fisher's exact test; CI (Confidence Interval) 95%. BMI = Body mass index.

Table 2. Frequency of low concentrations of calcium and magnesium in the serum and erythrocytes and of inadequate intake of selenium and zinc.

	Group I		Group II		p
	n	%	n	%	
Erythrocyte magnesium ^a					
1 st quartile	20	64.5	04	12.9	0.037 [#]
2 nd , 3 rd e 4 th quartile	11	35.5	27	80.7	
Serum magnesium					
< 1.8 mg/dl	04	12.9	06	19.3	0.366 [#]
≥ 1.8 mg/dl	27	80.7	25	80.7	
Serum calcium					
< 8.8 mg/dl	10	32.3	02	6.4	0.011 [#]
≥ 8.8 mg/dl	21	67.7	29	93.6	
Calcium intake ^b					
Z score ≤ -1	29	96.7	30	100.0	1.000 [#]
Z score > -1	01	3.3	0	0	
Magnesium intake ^c					
Z score ≤ -1	30	100.0	21	70.0	0.002 [#]
Z score > -1	0	0	09	30.0	

Legend:

[†] Pearson's chi-square test; [#] Fisher's exact test; 95% CI (Confidence Interval); ^a 1st quartile = 83.75 µgMg/gHb; ^b Adequate Intake (AI) as reference; ^c Estimated Average Requirement (EAR) as reference.

Table 3. Poisson regression model to presence of chronic myofascial pain.

Variáveis	B	Exp (B)	Erro padrão	Z (Wald)	p valor
Serum Ca ²⁺ (mg/dL)	-0.864	0.421	0.398	4.717	0,030
Magnesium intake (mg/dia)	-0.017	0.990	0.004	4.432	0,035
Boby Mass Index (kg/m ²)	0.053	1.054	0.040	1.699	0.192

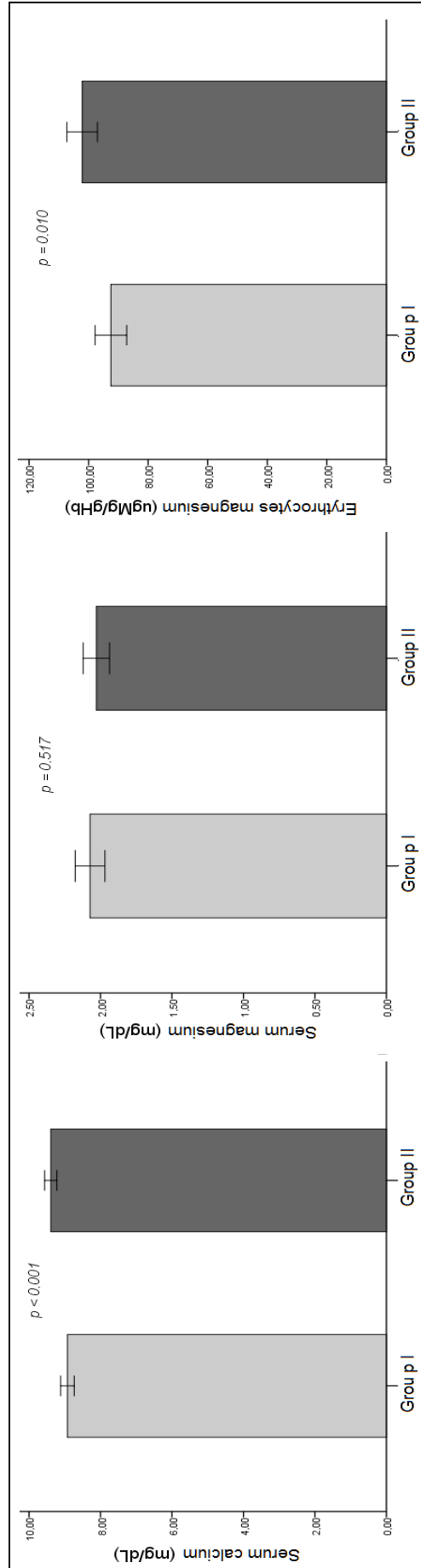


Figure 1. Serum concentration of calcium and magnesium and erythrocyte magnesium concentration in patients with chronic myofascial pain. *Student t-test.*

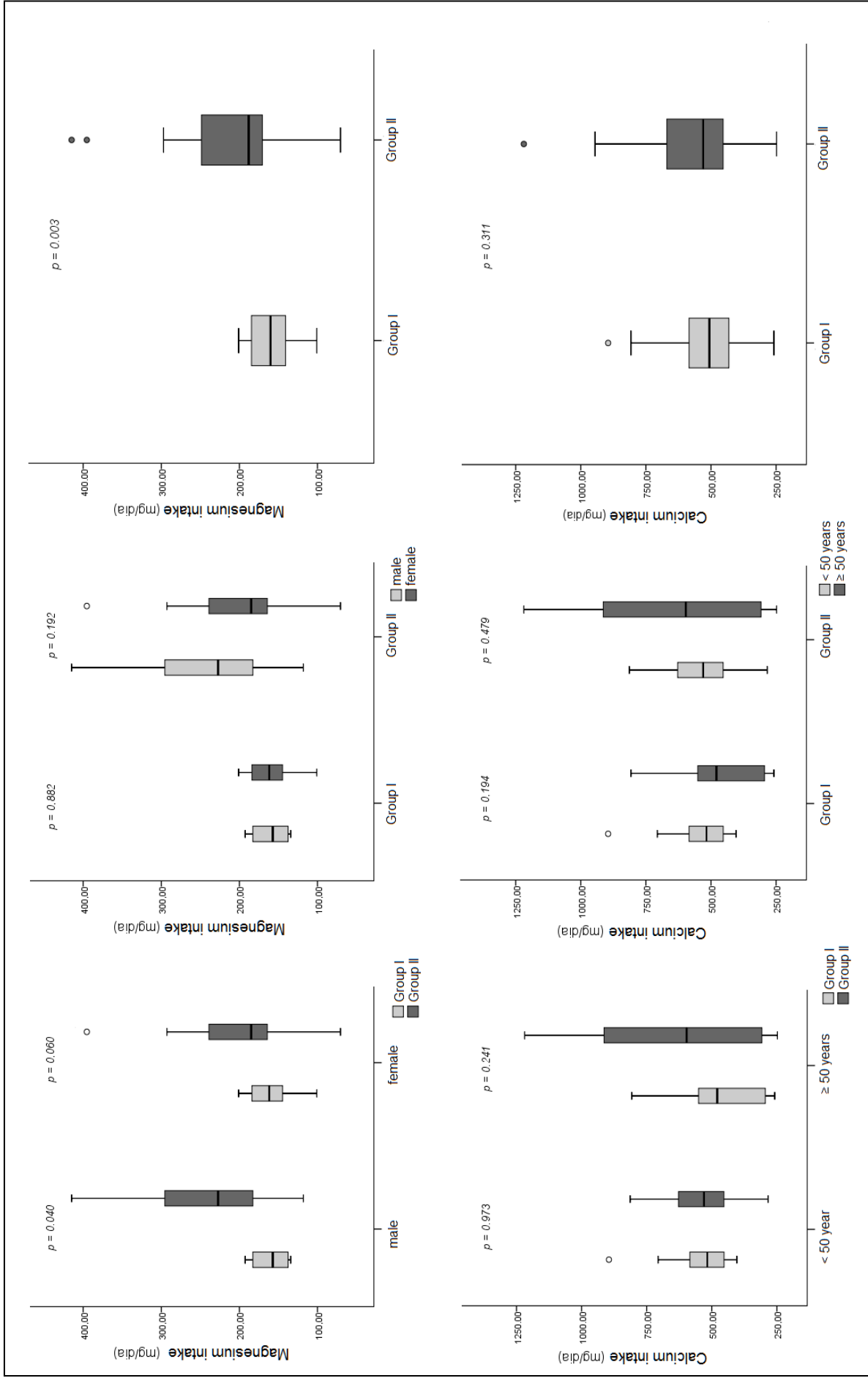
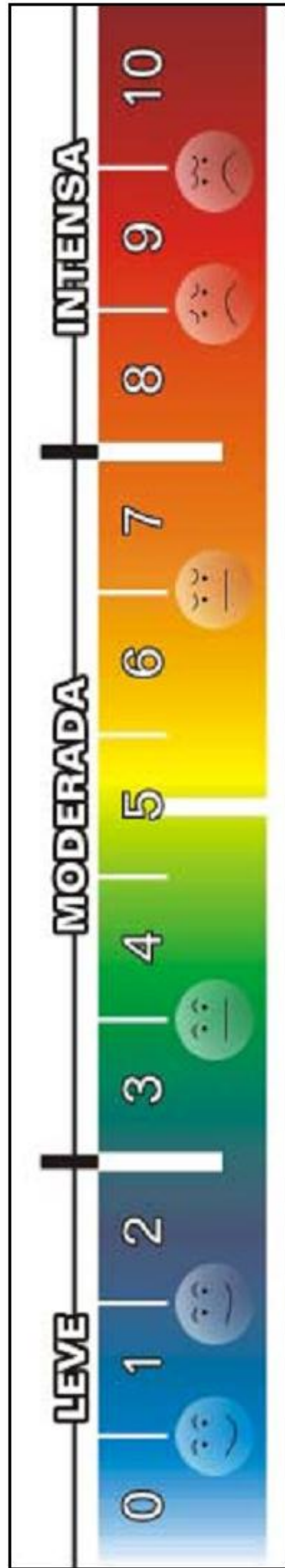


Figure 2. Quantitative assessment intragroup and intergroups of magnesium and calcium intake in patients with chronic myofascial pain and without pain e sem dor crônica miofascial.

Student t-test.

Anexos e Apêndices



Escala numérica da dor para avaliação da intensidade da dor referida.

ASPECTOS NUTRICIONAIS – Questionário I

Nº Identificador na pesquisa _____ Data da entrevista: ___/___/___

1. IDENTIFICAÇÃO

Nome _____ Nº Prontuário _____
 Gênero: 1. M 2. F Idade _____ Data de nasc. ___/___/___
 Endereço _____
 Tel _____ Celular _____ E-mail _____
 Naturalidade _____ Procedência _____

Estado Civil:

1. Casado 2. Solteiro 3. Convive junto 4. Viúvo 5. Separado/desquitado

Escolaridade:

1. Analfabeto 2. 1º G incomp 3. 2ºG incomp 4. 3ºG incomp 5. 1º G comp
 6. 2ºG comp 7. 3ºG comp

Situação Profissional:

1. Empregado 2. Desempregado 3. Trabalho informal 4. Aposentado/ pensionista
 5. Estudante Profissão _____ renda familiar mensal R\$ _____

Estilo de Vida

Etilismo: 1. Sim 2. Não 3. abstinência há _____ **Se sim:**
 1. cerveja 2. wiskes 3. vinhos 4. cachaça 5. todos os tipos 6. outro _____
 1. todos os dias 2. > 1x/ sem 3. 1x/ sem 4. quinzenal 5. mensal
 Dose/Quantidade por vez _____

Tabagismo: 1. Sim 2. Não 3. abstinência há _____ **Se sim:**
 1. cigarros c/filtro 2. cigarros s/filtros 3. charutos 4. Outro _____
 1. todos os dias 2. > 1x/ sem 3. 1x/ sem 4. quinzenal 5. mensal
 Quantidade por dia _____

Prática de atividade física: 1. Sim 2. Não
 Qual? _____ Frequência _____

02 - HISTÓRIA CLÍNICA – HPP

HAS 1. Sim 2. Não
 DM 1. Sim 2. Não
 Doenças cardiovasculares 1. Sim 2. Não
 Dislipidemia 1. Sim 2. Não
 Problema de tireóide 1. Sim 2. Não
 Outros _____ 1. Sim 2. Não

03 – HISTÓRIA DIETÉTICA

Realizou tratamento dietético anterior? 1. Sim 2. Não
 Quem Indicou? 1. Nutricionista 2. Médico 3. por conta própria
 Você utiliza algum suplemento vitamínico/ mineral? 1. Sim 2. Não
Se Sim, qual suplemento vitamínico/ mineral utiliza?
 1. complexo vitamínico e mineral 2. complexo mineral 3. outros _____
 Ingestão hídrica diária _____

CODIFICAÇÃO

Sexo _____

ESTCIV _____

ESCOL _____

SITPRF _____

PROFS _____

RENDF _____

ETILIS _____

TIPBEB _____

FRQBEB _____

QTDBEB _____

TABGIS _____

TIPFUM _____

FRQFUM _____

QTDFUM _____

ATVFIS _____

TIPATV _____

FRQATV _____

HAS _____

DM _____

DCV _____

DISLIP _____

PROTIR _____

OUT _____

HTDIET _____

INDIQD _____

SUPVIT _____

TIPSUP _____

INGHID _____

04 – ANTECEDENTES GASTROINTESTINAIS:

Tipo de alimento

Alergia	1 <input type="checkbox"/> Sim	2 <input type="checkbox"/> Não		ALERG_____
Intolerância	1 <input type="checkbox"/> Sim	2 <input type="checkbox"/> Não		INTOL_____
Pirose	1 <input type="checkbox"/> Sim	2 <input type="checkbox"/> Não		PIROS_____
Náuseas	1 <input type="checkbox"/> Sim	2 <input type="checkbox"/> Não		NAUS_____
Vômito	1 <input type="checkbox"/> Sim	2 <input type="checkbox"/> Não		VOMIT_____
Regurgitação	1 <input type="checkbox"/> Sim	2 <input type="checkbox"/> Não		REGURG_____
Ritmo intestinal	1 <input type="checkbox"/> Normal 2 <input type="checkbox"/> lento 3 <input type="checkbox"/> aumentado			RITINT_____
Consistência das fezes	1 <input type="checkbox"/> Normal 2 <input type="checkbox"/> líquida 3 <input type="checkbox"/> pastosa 4. <input type="checkbox"/> ressecada			CONFEZ_____
Freq evacuações				FRQDEJ_____
Ritmo urinário	1 <input type="checkbox"/> Normal 2 <input type="checkbox"/> oligúria 3 <input type="checkbox"/> poliúria 4 <input type="checkbox"/> anúria			RITURI_____
Aspecto	1. <input type="checkbox"/> Normal 2. <input type="checkbox"/> Claro 3. <input type="checkbox"/> Concentrada			ASPURI_____

05. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Peso (Kg)		Dobras Cutâneas	
Altura (cm)		Tríceps	
IMC		Bíceps	
CB		Sub escapular	
CMB		Supra ilíaca	
AMB		Circunferência abdom	/

06. EXAMES LABORATORIAIS: Data: (____ / ____ / ____)

Glicemia		P	
Triglicerídeos		Na	
Colesterol total		K	
HDL-c		Uréia	
LDL-c		Creatinina	
Proteínas Totais		Fosfatase Alcalina	
Albumina		AST	
Ht		ALT	
Hb		γGT	
RDW		Ca	
VCM			
Mg plasmático		Mg eritrocitário	
Se plasmático		Se eritrocitário	
Zn plasmático		Zn eritrocitário	

7. AVALIAÇÃO DA DOR

Diagnóstico primário da DOR _____

Diagnóstico secundário _____

Etiologia da DOR _____

Medicamentos em uso _____

Quanto tempo sente a DOR? _____

7.1. AVALIAÇÃO DA DOR

Pontos gatilhos (Localização e intensidade da dor)

1.	-	5.	-
2.	-	6.	-
3.	-	7.	-
4.	-	8.	-

8. Pressão Arterial: P1 _____ x _____ // P2 _____ x _____ // P3 _____ x _____

9. História Familiar para DCV:

8. RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24 horas DATA: _____ / _____ / _____

NOME: _____

Nº identificador na pesquisa: _____

prontuário

Refeição	Alimentos / preparações	Quantidades (medidas caseiras)
Desjejum		
Colação		
Almoço		
Lanche		
Jantar		
Ceia		
Extra		

Pesquisador: _____

Nº Identificador na pesquisa _____ Prontuário _____
 Nome: _____ dia: _____ data: _____

REGISTRO ALIMENTAR

→ CAFÉ DA MANHÃ (hora: _____)

Alimento	Quantidade (medida caseira)

→ LANCHE (hora: _____)

Alimento	Quantidade (medida caseira)

→ ALMOÇO (hora: _____)

Alimento	Quantidade (medida caseira)

→ LANCHE (hora: _____)

Alimento	Quantidade (medida caseira)

→ JANTAR (hora: _____)

Alimento	Quantidade (medida caseira)

→ CEIA (hora: _____)

Alimento	Quantidade (medida caseira)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEPNUT
Rua Araújo Pinho, 32, Canela
40.110-150 Salvador, Bahia, Brasil
Tel: (71) 3283-7704. Fax: (71) 3283-7705

Formulário de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

Projeto de Pesquisa: "Aspectos Nutricionais e Suplementos via oral de magnésio em pacientes portadores de dor crônica miofacial atendidos no Ambulatório da Dor, Complexo Hospitalar Edgar Santos".

Pesquisador: Durval Campos Kraychete
Área Temática: Grupo III
Parecer: 03/08

Os Membros do Comitê de Ética em Pesquisa, da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia, reunidos em sessão ordinária no dia 19 de dezembro de 2011, resolveram pela aprovação do projeto. O pesquisador deverá seguir as orientações do parecer consubstanciado, bem como comunicar ao CEP a respeito do andamento da pesquisa através de relatórios anuais, conforme disposto na resolução Nº 196 de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde.

Situação: APROVADO

Salvador, 02 de maio de 2012.

Prof. Wilson Caetano de Souza Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Escola de Nutrição
Universidade Federal da Bahia



Instituto de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>