



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO
IN MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Medicina-DIMED
Direttore: Ch.mo Prof. Roberto Vettor

Cattedra di Nefrologia
Direttore: Ch.mo Prof. Lorenzo Calò

TESI DI LAUREA

**Ipomagnesiemia CNI-indotta nel
trapianto di rene: studio monocentrico
comparativo tra la nuova formulazione
di magnesio sucrosomiale e magnesio
pidolato**

Relatore: Ch.mo Prof. Lorenzo Calò
Correlatore: Dott.ssa Marianna Alessi
Dott.ssa Lucia Federica Stefanelli

Laureanda: Valentina Rossato

Anno accademico 2021-2022

A me stessa, per avermi concesso di essere così come sono.

Sommario

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
1. IL TRAPIANTO NELLA MALATTIA RENALE CRONICA.....	6
2. MAGNESIO	10
2.1 Fisiologia.....	10
2.2 Assorbimento ed eliminazione	11
2.2.1 Assorbimento ed eliminazione intestinale.....	11
2.2.2 Assorbimento ed eliminazione renale	12
2.3 Ruolo del magnesio a livello cellulare	13
2.3.1 Magnesio e acidi nucleici	13
2.3.2 Attività enzimatica	14
2.3.3 Signalling cellulare.....	15
2.3.4 Proliferazione cellulare	15
2.4 Magnesio e dieta.....	16
3. IPOMAGNESIEMIA	21
3.1 Cause di ipomagnesiemia.....	23
3.2 CNI (inibitori della calcineurina) e ipomagnesiemia	28
3.3 Sintomi	32
3.4 Implicazioni sistemiche.....	33
3.5 Preparazioni per la supplementazione.....	43
4. PROTOCOLLO SPERIMENTALE	47
4.1 Obiettivi dello studio	47
4.2 Materiali e metodi	49
4.2.1 Casistica.....	49
4.2.2 Procedura	51

4.2.3 Dati clinici.....	51
4.2.4 Analisi statistica	51
4.3 Risultati.....	52
4.3.1 Descrizione del campione	52
4.3.2 Andamento della magnesiemia a confronto tra correzione con ULTRAMAG e con MAG2.....	54
4.3.3 PTH, Calcemia totale e Glicemia a digiuno a confronto tra correzione con ULTRAMAG e MAG2.....	55
4.3.4 Effetti collaterali: insorgenza di disturbi gastrointestinali a confronto tra correzione con ULTRAMAG e MAG2	58
5. DISCUSSIONE	60
6. CONCLUSIONE.....	65
BIBLIOGRAFIA.....	67

RIASSUNTO

Introduzione

Il magnesio (Mg) è il secondo catione intracellulare e il quarto catione prevalente nel corpo. Esso contribuisce alla sintesi proteica e del DNA, a processi infiammatori e all'eccitabilità cardiaca, mentre la carenza di Mg comporta un aumento del rischio cardiovascolare, dell'aterosclerosi, di diabete e di iperparatiroidismo con aumentato rischio di fratture patologiche. Oltre alle più comuni cause di ipomagnesiemia (ipoMg) come perdite gastrointestinali, diuretici, antibiotici e altri farmaci, l'ipoMg si osserva anche nell'immediato post trapianto ed è una delle cause di disfunzione del graft. La causa principale dell'ipoMg nel trapianto di rene sono gli inibitori della calcineurina (CNI), che determinano ipoMg attraverso meccanismi non ben noti, verosimilmente attraverso una downregulation del canale del Mg TRPM6 localizzato nel tubulo contorto distale. L'ipoMg deve essere corretta con supplementi orali. Recentemente, è stata sviluppata una nuova formulazione di Mg sucrosomiale con l'obiettivo di incrementare la biodisponibilità del Mg e la tolleranza dei pazienti rispetto ai supplementi tradizionali. Questa innovativa preparazione incapsula l'ossido di Mg in una membrana fosfolipidica ricoperta da una matrice di sucrosio che consente il passaggio del Mg attraverso l'ambiente gastrico e intestinale senza interagire con la mucosa. Questo studio valuta la biodisponibilità del Mg, la tolleranza dei pazienti e l'efficacia della correzione dell'ipoMg attraverso il confronto tra la nuova formulazione di magnesio sucrosomiale (ULTRAMAG®) e la formulazione convenzionale di Mg pidolato (MAG2®). Come obiettivo secondario abbiamo indagato sia l'associazione tra ipoMg e disturbi del metabolismo glucidico post trapianto misurando la glicemia a digiuno, sia l'associazione tra ipoMg e iperparatiroidismo dosando PTH e calcemia totale.

Metodi

Abbiamo reclutato 40 pazienti adulti sottoposti a trapianto di rene singolo, doppio o combinato rene-pancreas o rene-fegato tra il 2019 e il 2021, affetti da ipoMg indotta da CNI. I criteri di esclusione includono: trapianto precedente al 2019,

pazienti affetti da disturbi gastrointestinali iatrogeni e non, ipomagnesiemia presente precedente al trapianto (es. malattie genetiche). 13 pazienti hanno assunto MAG2 e 27 pazienti sono stati trattati con ULTRAMAG. Campioni di sangue sono stati ottenuti prima dell'assunzione (t_0), dopo 15 giorni (t_1) e dopo 4-6 mesi (t_2), mentre per la misurazione della glicemia a digiuno, del PTH e della calcemia totale i campioni sono stati prelevati a t_0 e dopo 6 mesi di trattamento. Attraverso una visita ambulatoriale è stata valutata la tolleranza dei pazienti alla supplementazione.

Risultati

ULTRAMAG incrementa la biodisponibilità del Mg già a 15 giorni dall'inizio dell'assunzione (t_1): 0.60 ± 0.02 mmol/L (t_0) vs 0.69 ± 0.05 mmol/L(t_1); $p < 0.0001$; invece, l'incremento del Mg con MAG2 a t_1 non è statisticamente significativo: 0.61 ± 0.05 mmol/L vs 0.64 ± 0.05 mmol/L; $p = 0.72$. Inoltre, l'efficacia della correzione del Mg con ULTRAMAG risulta migliore con un incremento del Mg del 12.4% vs il 5.4%, $p = 0.04$ a 15 giorni. A distanza di 4-6 mesi (t_2) è risultato un incremento della magnesiemia statisticamente significativo con entrambe le formulazioni, seppur più rapido con ULTRAMAG. Per quanto riguarda la tolleranza dei pazienti, l'11% dei pazienti in ULTRAMAG ha sviluppato effetti collaterali gastrointestinali rispetto al 23% dei pazienti in MAG2. I dati ricavati dai dosaggi di glicemia a digiuno, PTH e calcemia totale sono risultati non statisticamente significativi.

Conclusioni. I nostri dati, sebbene ottenuti da una piccola coorte di pazienti trapiantati, mostrano che ULTRAMAG è più efficace, più biodisponibile e meglio tollerato del MAG2. Se da un lato il fatto che il nostro studio sia il primo eseguito in pazienti trapiantati a valutare l'impatto dell'ULTRAMAG sulla correzione dell'ipoMg potrebbe giustificare la bassa numerosità campionaria e il breve periodo di osservazione, dall'altro lato i nostri risultati potrebbero servire come working hypothesis per ulteriori studi al fine di confermare ulteriormente il beneficio clinico dell' ULTRAMAG.

ABSTRACT

Background and aims

Magnesium (Mg) is the second cation in the intracellular space and the fourth prevalent cation in the body. It contributes to DNA and protein synthesis, inflammatory processes and cardiac excitability, while Mg deficiency leads to increased cardiovascular mortality, atherosclerosis, diabetes and hyperparathyroidism with high risk of fractures. In addition to gastrointestinal losses, loop or thiazide diuretics induced renal wasting, volume expansion and nephrotoxins including antibiotics, Hypomagnesemia (HypoMg) is observed early after kidney transplantation and is associated to faster decline of allograft function. Main determinants are calcineurin inhibitors (CNI_s), protonic pump inhibitors (PPI), low Mg intake and diuretics. CNIs, in particular, induce HypoMg with mechanisms not fully understood, likely via downregulation of the Mg channel TRPM6 in the distal collecting tubule. HypoMg should be corrected with oral supplements. Recently, in order to increase magnesium bioavailability and tolerance not shown by conventional oral magnesium supplements, a new sucrosomial magnesium formulation has been developed. Its innovative preparation encapsulates magnesium oxide in a phospholipid membrane covered by a sucrose matrix, which enhances Mg passage through the gastric and intestinal environment without any interaction with the intestinal mucosa. This study evaluates magnesium bioavailability, tolerance and effectiveness after administration of the new formulation of sucrosomial magnesium (ULTRAMAG®) compared to the conventional preparation of magnesium pidolate (MAG2®). As secondary end points, we also examine the association between serum Mg and risk of post-transplant dysglycemia and hyperparathyroidism through measurement of fasting plasma glucose, parathyroid hormone (PTH) and serum calcium.

Method

We recruited 40 adult single, double or combined kidney-pancreas or kidney-liver transplant recipients within 2 years from transplantation, who developed CNI-induced hypomagnesemia. Exclusion criteria include: hypoMg due to drugs or gastrointestinal losses; familiar renal hypoMg; transplant performed before 2019.

13 patients received MAG2 and 27 patients received ULTRAMAG. Venous blood samples for the measurement of serum magnesium were taken at baseline (t_0), after 15 days (t_1) and after 4-6 months (t_2) of magnesium supplement, while blood samples for the measurement of PTH, fasting glucose and calcium were taken at baseline and after 6 months of treatment. We evaluated the tolerance through ambulatory visits.

Results

ULTRAMAG increased Mg bioavailability and effectiveness very early at t_1 : 0.60 ± 0.02 t_0 mmol/L vs 0.69 ± 0.05 mmol/L t_1 ; $p < 0.0001$ VS MAG2: 0.61 ± 0.05 mmol/L t_0 vs 0.64 ± 0.05 mmol/L t_1 ; $p = 0.72$ N.S. ULTRAMAG provided an increase of Mg over MAG2 in terms of $\Delta\%$ increase: 12.4% for sucrosomial Mg vs 5.4%, $p = 0.04$ for magnesium pidolate. At t_2 resulted an increase of Mg bioavailability with both preparations with $p < 0.0001$ for ULTRAMAG and $p = 0.002$ for MAG2. ULTRAMAG was better tolerated by patients: only 11% of patients developed gastrointestinal side effects. The data collected for the measurement of fasting plasma glucose, PTH and calcium resulted not statistically significant.

Conclusion

Our data, although obtained by a small cohort of transplant patients, shows that ULTRAMAG is more efficient and better tolerated compared to MAG2. If one hand the fact that our study is the first in transplant patients to evaluate the impact of ULTRAMAG for the correction of HypoMg might justify the limited number of patients enrolled and the short observation time, on the other hand our results could serve as a working hypothesis for further studies with a larger number of transplant patients and for extended study duration to confirm the benefit of ULTRAMAG.

1. IL TRAPIANTO NELLA MALATTIA RENALE CRONICA

La malattia renale cronica (CKD) consiste nella perdita permanente e progressiva delle funzioni renali a causa di uno spettro eterogeneo di processi fisiopatologici combinati tra loro che esita fenomenologicamente nel declino della velocità di filtrazione glomerulare (GFR) persistente almeno tre mesi e/o nella comparsa di albuminuria patologica.¹ Con CKD quindi si fa riferimento ad una sindrome che presenta alterazioni persistenti della struttura, della funzione renale o di entrambe, con implicazioni per la salute dell'individuo.

La Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) descrive una classificazione di gravità, definendo numerosi stadi di CKD sulla base della velocità di filtrazione glomerulare (GFR; stimata (eGFR) o misurata (mGFR)) e l'entità dell'albuminuria (Figura 1).² La GFR e l'albuminuria vengono utilizzate per classificare la CKD poiché la GFR è un marcatore consolidato della funzione escretoria renale e l'albuminuria è un indicatore di disfunzione della barriera renale (danno glomerulare). Entrambi sono stati individuati essere predittori affidabili degli esiti di CKD a lungo termine.³

Prognosis of CKD by GFR and albuminuria categories: KDIGO 2012				Persistent albuminuria categories		
				Description and range		
				A1	A2	A3
				Normal to mildly increased	Moderately increased	Severely increased
				< 30 mg/g < 3 mg/mmol	30–300 mg/g 3–30 mg/mmol	> 300 mg/g > 30 mg/mmol
GFR categories (ml/min/1.73 m ²) Description and range	G1	Normal or high	≥ 90			
	G2	Mildly decreased	60–89			
	G3a	Mildly to moderately decreased	45–59			
	G3b	Moderately to severely decreased	30–44			
	G4	Severely decreased	15–29			
	G5	Kidney failure	< 15			

Fig.1: Categorie di CKD per prognosi sulla base di GFR e albuminuria. Verde: basso rischio; Giallo: rischio moderatamente aumentato; Arancione: alto rischio; Rosso: Rischio molto alto.

L'End Stage Renal Disease (ESRD) corrisponde, secondo la classificazione KDIGO, allo stadio 5 della CKD che generalmente si manifesta con la sindrome uremica che ha esito invariabilmente letale a meno della correzione delle alterazioni attraverso l'inizio di una terapia sostitutiva della funzione renale, cioè il trattamento dialitico o il trapianto di rene.

Attualmente il trapianto di rene rappresenta il gold standard nella terapia della malattia renale cronica allo stadio terminale (ESRD).¹ A partire dagli anni '90, è stata dimostrata la validità del trapianto di rene nel paziente uremico in termini di morbilità, mortalità, costi e qualità della vita. Esso è infatti l'unica opzione terapeutica che ripristina integralmente la funzione renale depurativa ed endocrina permettendo il completo recupero fisico e sociale dell'uremico tanto da permettere alla donna il completamento della gravidanza.⁴

È stato dimostrato che, in virtù della migliore qualità della vita e del recupero del time spent on dialysis, il trapianto risulta essere vantaggioso anche sul piano del peso economico rispetto alla dialisi.⁵ Inoltre, la continua attività di ricerca e la disponibilità di nuovi e potenti immunosoppressori hanno portato a tassi significativamente ridotti di rigetto (acuto e cronico) e morbilità post-trapianto.

È possibile classificare il trapianto di rene in molti modi, una prima distinzione si può effettuare in base all'origine dell'organo trapiantato. Distinguiamo infatti il trapianto da donatore deceduto in cui l'organo trapiantato è prelevato da un individuo in stato di morte cerebrale accertata o, in casi selezionati, da donatore a cuore non battente, dal trapianto da donatore vivente in cui un individuo sano, solitamente familiare consanguineo o non consanguineo, dona l'organo in questione. Il trapianto di rene da donatore vivente è la migliore opzione di trattamento per i pazienti con ESRD, numerosi studi ne dimostrano la superiorità rispetto alla dialisi ed al trapianto da donatore cadavere.⁶

Rispetto al trapianto da cadavere, il trapianto da vivente è una procedura che può essere attentamente pianificata. Quando possibile, può essere eseguito anche prima dell'inizio della dialisi, in modalità pre-emptive, ottenendo notevoli benefici sulla qualità della vita e sul deterioramento dell'organo che deriverebbe dalla terapia dialitica,⁷ tanto che la durata della dialisi è considerata un importante fattore di rischio per la sopravvivenza del graft.⁸ Il trapianto pre-emptive è infatti associato ad una migliore sopravvivenza del graft e del paziente rispetto al trapianto eseguito dopo la dialisi di mantenimento.⁹

Per quanto riguarda più strettamente il rene, il trapianto si può definire singolo quando viene trapiantato un singolo organo o doppio quando i reni trapiantati nello stesso ricevente sono due. Esistono anche i cosiddetti trapianti combinati effettuati nel caso in cui il paziente presenti anche una grave compromissione in un altro distretto oltre a quello renale, si realizzano così di trapianti rene-pancreas, rene-cuore o rene-fegato.

2. MAGNESIO

2.1 Fisiologia

Il magnesio, pur essendo uno ione poco considerato nella quotidianità clinica, svolge un ruolo essenziale nelle funzioni fisiologiche del cuore, del cervello, del muscolo e dello scheletro.

Il magnesio (numero atomico 12, massa atomica 24,30 Da) è classificato come metallo alcalino terroso appartenente al secondo gruppo della tavola periodica degli elementi. Come il calcio, il suo stato di ossidazione è $2+$ e, a causa della sua forte reattività, si presenta frequentemente come catione libero Mg^{2+} in soluzione acquosa o come parte minerale di una notevole varietà di composti, inclusi cloruri, carbonati e idrossidi.¹⁰

Rappresenta il secondo catione più presente nell'ambiente intracellulare e il quarto minerale più abbondante nell'intero organismo. Un adulto normale possiede un pool di magnesio pari a 20-28 g (circa 1000 mmol) distribuiti per il 60% nello scheletro, per il 39% nei muscoli e nei tessuti molli.¹¹

Il magnesio che si localizza nei muscoli, tessuti molli e negli eritrociti viene considerato intracellulare, di cui la maggior parte legato ad alcuni chetanti, come l'ATP, l'ADP, le proteine, l'RNA, il DNA ed il citrato.

Nei fluidi extracellulari il magnesio è presente solo per l'1% con una concentrazione plasmatica compresa tra 0.7 e 1.1 mmol/l (1.7-2.6 mg/dl); è per il 33% legato alle proteine, il 7% al citrato, ai fosfati ed ai bicarbonati.¹² Il magnesio ionizzato costituisce il 50% della magnesemia totale e rappresenta la quota elettrofisiologicamente attiva. La sua omeostasi dipende dall'interazione tra intestino, responsabile dell'assorbimento del magnesio alimentare, osso, che immagazzina il magnesio sotto forma di idrossiapatite, e reni.¹¹

2.2 Assorbimento ed eliminazione

2.2.1 Assorbimento ed eliminazione intestinale

L'apporto tipico di magnesio è di circa 300 mg/die. L'assorbimento intestinale può variare dal 25%, con diete ricche di magnesio, al 75% con diete più povere del suddetto. In generale vengono assorbiti circa 120 mg di magnesio al giorno e persi nelle secrezioni gastrointestinali circa 20 mg al giorno, per un apporto giornaliero netto di 100 mg/die. La maggior parte del magnesio viene assorbita dall'intestino tenue e, in misura minore, dal colon.¹³

Due sono i meccanismi molecolari alla base dell'assorbimento intestinale: l'assorbimento passivo di magnesio, che dipende dal gradiente di concentrazione e si attua attraverso le giunzioni serrate con un meccanismo paracellulare non lineare a bassa affinità, e l'assorbimento attivo di magnesio, che avviene attraverso un trasportatore transcellulare.

Allo stato attuale, la comprensione dei meccanismi molecolari di questi fenomeni è incompleta, perché gli eventi che controllano le vie di trasporto di Mg^{2+} , in particolare le proteine specifiche coinvolte nell'assorbimento di Mg^{2+} , hanno a lungo eluso l'identificazione e la caratterizzazione. Negli ultimi anni, tuttavia, sono stati compiuti progressi significativi verso l'isolamento dei geni (e dei loro prodotti) coinvolti direttamente nel trasporto di Mg^{2+} attraverso le membrane biologiche nelle cellule di mammifero.

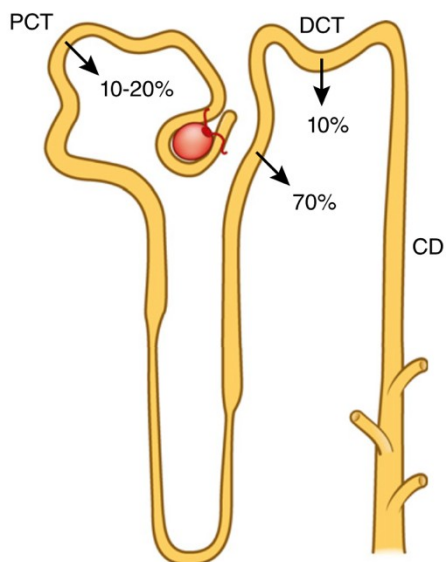
Recentemente, analisi genetiche di pazienti con ipomagnesemia primaria e ipocalcemia secondaria, hanno identificato il recettore TRPM6 (Transient Receptor Potential ion channel numero 6) come il primo componente coinvolto direttamente nel riassorbimento epiteliale del magnesio. Uno studio successivo ha

dimostrato un ruolo cruciale di TRPM7 nell'omeostasi cellulare del magnesio, poiché la delezione genica mirata di TRPM7 nelle linee cellulari porta alla carenza intracellulare di magnesio e all'arresto della crescita. In sintesi, almeno due geni della famiglia TRP, TRPM6 e TRPM7, sono essenziali per il trasporto di Mg^{2+} nei vertebrati.¹⁴

TRPM7 è espresso in modo ubiquitario, mentre TRPM6 è espresso principalmente nei reni, nell'intestino tenue distale e nel colon.¹⁵

2.2.2 Assorbimento ed eliminazione renale

Considerando un GFR (Glomerular Filtration Rate) normale, il rene filtra circa 2000-2400 mg di magnesio al giorno, ciò tiene conto del fatto che solo il 70% del magnesio sierico totale (il 30% circa è legato alle proteine) è disponibile per la filtrazione glomerulare. In condizioni normali, il 96% del magnesio filtrato viene riassorbito nei tubuli renali da diversi processi (Figura 2).¹³



*Fig.2: Illustrazione schematica del riassorbimento del magnesio nei diversi segmenti del nefrone.*¹³

Nel nefrone, il riassorbimento del magnesio è strettamente associato a quello di sodio, cloro e potassio. Generalmente una modifica di uno di questi ioni si accompagna ad una variazione dell'assorbimento degli altri.¹¹

Il 10%-30% del magnesio filtrato viene assorbito nel tubulo prossimale. Sebbene i meccanismi esatti non siano noti, si ritiene che il magnesio sia assorbito attraverso un meccanismo paracellulare spinto dal gradiente chimico del sodio generato dal trasporto dell'acqua, aumentando il magnesio intraluminale e il potenziale positivo.

La via paracellulare è coinvolta anche nel tratto spesso dell'ansa di Henle, in cui viene assorbito il 40-70% del magnesio filtrato e dove le tight junction proteins claudin-16 and claudin-19 giocano un ruolo fondamentale.

Il restante 5%-10% di magnesio viene riassorbito nel tubulo contorto distale principalmente dal trasporto transcellulare attivo mediato da TRPM6.

Il magnesio assorbito viene quindi estruso attraverso la membrana basolaterale grazie ad una famiglia di scambiatori magnesio/sodio SLC41A1 recentemente identificata. È stato identificato anche il gene CNNM2 (ciclina M2) come un gene coinvolto nell'assorbimento basolaterale renale di Mg, trovato prevalentemente lungo la membrana basolaterale dei segmenti tubulari distali.¹³

2.3 Ruolo del magnesio a livello cellulare

Il magnesio è il secondo catione intracellulare più abbondante con concentrazioni tipiche di 10–30 mM. Tuttavia, poiché la maggior parte del Mg²⁺ intracellulare è legato ai ribosomi, ai polinucleotidi e all'ATP, la concentrazione di Mg²⁺ liberamente disponibile rientra nell'intervallo 0,5–1,2 mM.

Il Mg²⁺ è uno ione versatile che è coinvolto praticamente in tutti i principali processi metabolici e biochimici all'interno della cellula.¹⁶

2.3.1 Magnesio e acidi nucleici

Il magnesio costituisce un componente essenziale delle strutture dell'RNA e della struttura terziaria del DNA, poiché lega le molecole di O e N cariche negativamente all'interno delle catene polinucleotidiche.¹⁶ L'interazione più studiata tra magnesio e RNA è l'RNA di trasferimento (t-RNA) dove esso è noto per stabilizzarne la struttura.¹⁷ Nel DNA, il magnesio forma legami idrogeno con gli elementi elettronegativi (O, N) per stabilizzare la conformazione naturale del

DNA, denominata B-DNA; in condizioni carenti di magnesio il DNA infatti è più accessibile ai radicali liberi dell'ossigeno e più incline allo stress ossidativo.

Pertanto, il mantenimento della concentrazione cellulare di magnesio all'interno dell'intervallo fisiologico è essenziale per la stabilità del DNA.¹⁶

2.3.2 Attività enzimatica

Il magnesio è un cofattore per oltre 600 enzimi e un attivatore per praticamente ogni processo nelle cellule.

Primi fra tutti gli enzimi, il magnesio è richiesto dalle polimerasi del DNA e dell'RNA, ma è anche un fattore importante nei meccanismi di riparazione del DNA (nucleotide excision repair o NER, base excision repair o BER e mismatch repair MMR). Altri enzimi che richiedono Mg^{2+} sono le topoisomerasi, le elicasi, le esonucleasi, le protein chinasi, le ciclastasi e grandi gruppi di ATPasi, il che significa che il Mg^{2+} è un componente essenziale di replicazione del DNA, trascrizione dell'RNA, sintesi di aminoacidi e formazione di proteine.¹⁶

Data la capacità del Mg^{2+} di legare il fosfato inorganico, l'ATP, la fosfocreatina e altri fosfometaboliti, il suo andamento sierico comporta importanti conseguenze per molte reazioni metaboliche, specialmente quelle relative al metabolismo dei carboidrati e alle reazioni bioenergetiche cellulari. In particolare, molti degli enzimi glicolitici (esochinasi, fosfofruttochinasi, fosfoglicerato chinasi e piruvato chinasi) sono sensibili al magnesio, la cui funzione principale, appunto, è quella di facilitare il trasferimento di fosfato ad alta energia.¹⁰ Di conseguenza, la disponibilità di magnesio è di fondamentale importanza per il metabolismo del glucosio, il che potrebbe spiegare il suo ruolo nel diabete mellito di tipo 2.¹⁶

Nei mitocondri, l'attività di tre importanti deidrogenasi dipende dal Mg^{2+} : l'isocitrato deidrogenasi, stimolata direttamente dal complesso Mg^{2+} -isocitrato, l'alfaketoglutarato deidrogenasi e la piruvato deidrogenasi, stimolata indirettamente dal Mg^{2+} , che agisce sulla fosfatasi che defosforila il complesso della deidrogenasi, attivandolo.¹⁸

L'enzima creatinchinasi è fortemente influenzato dalla concentrazione di Mg^{2+} libero. Questo enzima può sintetizzare ATP quando il muscolo o il cuore sono

sottoposti a un carico di lavoro pesante e può essere localizzato sia nel citosol che nel mitocondrio della cellula muscolare.¹⁹

Nel fegato, il Mg^{2+} è un importante regolatore degli enzimi gluconeogenetici, tra cui la glucosio-6-fosfatasi e la fosfoenolpiruvato carbossichinasi.²⁰

Così come le altre protein chinasi anche l'attività tirosin-chinasica della subunità β del recettore dell'insulina dipende dalla concentrazione di magnesio; quindi, una carenza di magnesio può provocare un segnale di insulina alterato. In altre parole, minore è il magnesio basale, maggiore è la quantità di insulina necessaria per metabolizzare lo stesso carico di glucosio, indicando una ridotta sensibilità all'insulina.²¹

2.3.3 Signalling cellulare

Il magnesio agisce come un antagonista fisiologico del calcio all'interno delle cellule e, di conseguenza, il rapporto magnesio/calcio è di grande importanza per l'attività delle Ca-ATPasi e di altre proteine che trasportano il calcio. Piccoli cambiamenti nella disponibilità di magnesio all'interno della cellula possono quindi causare un'alterazione a livello del signalling del calcio.²⁰ Due meccanismi potrebbero spiegare come il Mg^{2+} regoli i flussi di Ca^{2+} attraverso i canali di tipo L: l'alterazione della permeabilità ionica e/o la modulazione delle proprietà di gating del canale. È stato dimostrato che l'effetto del Mg^{2+} dipende dallo stato di fosforilazione del canale, poiché il trattamento con fosfatasi diminuisce l'effetto inibitorio di Mg^{2+} .²²

Non solo, il magnesio intracellulare ha una profonda influenza anche sulle concentrazioni di potassio: altera il trasporto del potassio agendo sulla pompa Na/K-ATPasi come cofattore; la sua azione altera, pertanto, il flusso di Na/K transmembrana.¹²

2.3.4 Proliferazione cellulare

Grazie al suo effetto sulla sintesi di RNA, DNA e proteine, il magnesio è un fattore importante nel controllo della proliferazione cellulare. La proliferazione cellulare dipende in gran parte dalla sintesi proteica, più che dalla sintesi del DNA o dell'RNA.¹⁶ La sintesi proteica è fortemente dipendente dalle concentrazioni

intracellulari di magnesio: l'aumento del contenuto di magnesio amplifica la sintesi proteica entro 60 minuti, mentre la sintesi del DNA viene potenziata solo dopo 10 ore.²³

Recenti studi hanno identificato i mediatori molecolari della proliferazione cellulare indotta dal magnesio portando al modello membrana, magnesio, mitosi (MMM).²⁴ Il modello MMM propone che, in seguito al legame con il fattore di crescita che stimola la proliferazione, il magnesio entri nella cellula o venga rilasciato dai fosfolipidi delle membrane cellulari. L'aumento dei livelli di magnesio citosolico contribuisce all'attività ribosomiale e alla sintesi proteica, portando infine alla replicazione del DNA e alla mitosi. In particolare, il complesso mTOR (mammalian target of rapamycin) è un componente critico del modello MMM, in quanto è il principale regolatore della progressione e proliferazione del ciclo cellulare e nel suddetto modello è proposto proprio il magnesio come regolatore primario della dinamica di mTOR.²⁵

Questo si traduce anche in una importante implicazione del magnesio a livello di proliferazione tumorale. Le cellule tumorali, infatti, contengono generalmente un'alta concentrazione di magnesio.²⁶ Sembra che elevate concentrazioni intracellulari di magnesio siano benefiche per la crescita del tumore poiché esso regola diversi enzimi associati al cancro tra cui la telomerasi e la fosfatasi proteica 1D, che sono coinvolte nel ciclo glicolitico e nella BER. Tuttavia contrariamente alla fase proliferativa della crescita tumorale, in cui le cellule tumorali hanno elevate concentrazioni intracellulari di magnesio, basse concentrazioni intracellulari di Mg sono associate ad un aumento dei tassi di cancerogenesi e metastasi.²⁷

Condizioni di basso magnesio sierico e ridotta attività dei meccanismi di riparazione del DNA riducono la protezione del DNA contro lo stress ossidativo e di conseguenza, una bassa assunzione di magnesio con la dieta è stata associata al rischio di diversi tipi di cancro¹⁶: studi epidemiologici hanno stabilito una correlazione tra un basso apporto di magnesio e il rischio di cancro al colon.²⁸

2.4 Magnesio e dieta

Il magnesio è un elemento essenziale per gli organismi viventi, pertanto deve essere introdotto regolarmente nella nostra dieta per raggiungere l'apporto raccomandato, prevenendone la carenza.

I LARN (“Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia per la popolazione italiana”) sono l'ultima versione dei DRV (Dietary Reference Values) italiani, più recentemente rilasciati nel 2014 dalla Società Italiana di Nutrizione Umana e periodicamente aggiornato dalla Commissione della Società della Nutrizione Umana (SINU) e dal Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali (CREA), in linea con le relazioni tecniche dell'EFSA (European Food Safety Agency).²⁹⁻³¹ Questi valori stabiliti, che variano in base al sesso e alle fasce di età specifica, possono essere utilizzati per identificare l'assunzione ottimale di nutrienti e di conseguenza per la pianificazione della dieta negli individui così come nella popolazione generale; essi includono¹⁰:

- PRIs (population reference intakes), le assunzioni di riferimento della popolazione che si riferiscono al livello di assunzione di nutrienti adeguato per la maggior parte delle persone in un gruppo di popolazione;
- ARs (average requirements), i fabbisogni medi che si riferiscono al livello di assunzione adeguato a soddisfare i fabbisogni fisiologici del 50% degli individui sani. Questo parametro viene solitamente preso in considerazione non solo per valutare l'assunzione di nutrienti di gruppi di persone e per pianificare per loro diete nutrizionalmente adeguate, ma anche per valutare l'assunzione di nutrienti degli individui;
- AI (adequate intake) in caso di prove scientifiche insufficienti per stimare l'AR e/o il PRI si utilizza l'assunzione adeguata che viene stabilita stimando l'assunzione di un gruppo di popolazione apparentemente sano che si presume abbia un'assunzione adeguata;
- UL (upper level intake), livello di assunzione superiore tollerabile cioè l'assunzione giornaliera massima considerata sicura/senza effetti negativi sulla salute sulla totalità della popolazione considerata

Le attuali raccomandazioni sull'assunzione di magnesio sono riportate in Figura 3.¹⁰

Life Stage	PRI (mg)	AR (mg)	UL * (mg)	RDA-DRI (mg)	DRV-AI (mg)	LARN (mg)
Birth to 6 months	-		Nd	30		
Infants 7–12 months	80	Nd	Nd	75	80	80
Children 1–3 years	80	65	250	80	170	80
Children 4–6 years	100	85	250	130	230	100
Children 7–10 years	150	130	250	240	230	150
Teen boys 11–18 years	240	170–200	250	410	300	240
Teen girls 11–18 years	240	170–200	250	360	250	240
Men	240	170	250	400–420	350	240
Women	240	170	250	310–320	300	240
Pregnant	240	170	250	350–400	300	240
Breastfeeding	240	170	250	310–360	300	240

* the UL value refers to the magnesium taken in pharmaceutical or supplement form, in addition to magnesium content already present in the diet.

Figura 3: Apporto di magnesio raccomandato espresso in termini di: Population Reference Intake (PRI), Average Requirement (AR), Recommended Dietary Allowance (RDAs)-Dietary Reference Intakes (DRIs), Dietary Reference Values (DRVs)-Adequate Intake (AI), “Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia per la popolazione italiana” (LARN) e tolerable Upper intake Level (UL).

Il magnesio è considerato ampiamente distribuito negli alimenti, sebbene la quantità contenuta sia influenzata da vari fattori, tra cui il suolo e l'acqua utilizzati per l'irrigazione, i fertilizzanti, la conservazione, ma anche i metodi di raffinazione, lavorazione e cottura. In generale, semi, legumi, noci (mandorle, anacardi, noci del Brasile e arachidi), pane integrale e cereali (riso integrale, miglio), alcuni frutti e cacao sono considerati buone fonti di magnesio (Figura 4).¹⁰

Food	EFSA (mg/100 g)	CREA (mg/100 g)	USDA (mg/Measure)	Measure and Weight
Wheat/Cereal bran	451	550	354	1 cup, 50 g
Pumpkin and squash seed, dried	429	592	764	1 cup, 46 g
Cocoa powder	545	499	29	1 ts ¹ , 6 g
Sunflower seeds dried	346	n.a. ²	173	1 cup, 130 g
Wheat germ	276	255	275	1 cup, 115 g
Amaranth flour	266	266	476	1 cup, 193 g
Cashews dried	258	260	352	1 cup, 137 g
Sweet, dried almonds	251	264	386	1 cup, 143 g
Peanuts, roasted	229	175	260	1 cup, 146 g
Quinoa	n.a.	189	335	1 cup, 170 g
Pecans	168	121	132	1 cup, 109 g
Hazelnuts, dried	163	163	187	1 cup, 187 g
Beans, dried	158	170	258	1 cup, 184 g
Walnuts, dried	150	158	185	1 cup, 169 g
Chickpeas, dried	150	131	158	1 cup, 100 g
Pistachios, dried	147	160	149	1 cup, 123 g
Millet, shelled	136	160	228	1 cup, 200 g
Wheat flour, hard	136	120	164	1 cup, 120 g
Oat flour	131	n.a. ²	150	1 cup, 169 g
Buckwheat flour, whole-groats	121	231	301	1 cup, 120 g
Macadamia	115	120	156	1 cup, 132 g
Wholemeal pasta	111	101	95	1 cup, 90 g
Lentils, dried	101	83.1	113	1 cup, 100 g

¹ Ts: Teaspoon; ² n.a.: Not available data.

*Fig. 4: Contenuto di magnesio nei cibi secondo EFSA, CREA (Comprehensive European Food Consumption Database) e USDA (U.S. Department of Agriculture).*¹⁰

Alcuni metodi di lavorazione degli alimenti, come la bollitura delle verdure e la raffinazione dei cereali con la conseguente rimozione di germe e crusca, provocano un sostanziale calo del contenuto di magnesio.¹⁶

3. IPOMAGNESIEMIA

Negli ultimi 30 anni numerosi studi sperimentali, clinici ed epidemiologici hanno dimostrato che la carenza cronica di magnesio è associata e/o amplifica molte malattie di importanza rilevante per la nostra società. È stato osservato che nei pazienti con grave ipomagnesiemia, i tassi di mortalità aumentano.³²

Non solo, prove scientifiche crescenti supportano anche l'idea che basse assunzioni di magnesio potrebbero indurre cambiamenti permanenti nelle vie di segnalazione biochimica che aumentano il rischio di malattia nel tempo overall.¹⁰ infatti poiché il magnesio è coinvolto in molteplici funzioni strutturali e

fisiologiche, gli effetti avversi associati all'ipomagnesiemia possono verificarsi in quasi tutti gli organi e i sistemi, siano essi clinicamente acuti o cronici.³³

Negli individui sani, la concentrazione sierica di magnesio è strettamente mantenuta all'interno dell'intervallo fisiologico. Questo intervallo di riferimento è 0,70–1,05 mmol/L per le concentrazioni di magnesio totale nell'adulto e 0,55–0,75 mmol/L per il magnesio ionizzato.³⁴ Tuttavia in generale l'ipomagnesiemia, non porta a segni e sintomi clinicamente significativi fino a quando i livelli sierici non scendono al di sotto di 0,5 mmol/l (1,2 mg/dl).³⁵

I livelli di magnesio dovrebbero essere misurati di routine non solo nei pazienti critici ma più in generale nelle persone a rischio di ipomagnesiemia cronica, considerando che è poco costoso da diagnosticare e facile da trattare. Questo approccio consentirebbe di prevenire l'insorgenza di malattie ad alto impatto sociale ed eventualmente di migliorarne l'esito, preservando notevoli risorse per l'intera comunità. Non si tratta infatti di un fenomeno isolato, l'ipomagnesiemia è più comune di quanto si pensi: si registra in una percentuale che arriva fino al 12% dei pazienti ospedalizzati. L'incidenza sale fino al 60-65% nei pazienti in terapia intensiva.³⁶

A proposito di misurazione, ad oggi sono disponibili tre approcci principali per i test clinici. Il test più comune per la valutazione dei livelli di magnesio e dello stato di magnesio nei pazienti è la concentrazione sierica di magnesio³⁷, prezioso nella clinica soprattutto per la valutazione rapida di cambiamenti acuti dello stato di magnesio.³⁸ Tuttavia, la concentrazione sierica di magnesio non è correlata ai pool di magnesio presenti nei tessuti, ad eccezione di quello contenuto nel fluido interstiziale e nell'osso. Esso inoltre non riflette i livelli totali di magnesio nel corpo.³⁸⁻³⁹

Un altro approccio per la valutazione dello stato del magnesio è la valutazione dell'escrezione urinaria. Questo test è particolarmente utile per valutare l'escrezione renale di magnesio influenzato dall'uso di farmaci o dalla presenza di altri fattori fisiopatologici. I risultati forniscono informazioni eziologiche: mentre un'elevata escrezione urinaria indica una perdita renale di magnesio, un valore basso suggerisce un'assunzione o un assorbimento inadeguati.⁴⁰

Un'ulteriore possibilità consiste nel test da carico di magnesio. La somministrazione del carico di magnesio per via orale o parenterale viene utilizzata per valutare l'assorbimento, la perdita cronica e le riserve. Le variazioni

della concentrazione sierica e dell'escrezione a seguito di un carico orale di magnesio riflettono l'assorbimento intestinale di magnesio.⁴⁰⁻⁴¹

3.1 Cause di ipomagnesiemia

L'ipomagnesiemia è indotta da due meccanismi principali di perdita di magnesio: quello gastrointestinale e quello renale.³⁶

3.1.1 Cause di origine gastrointestinale

- **Dieta ipomagnesiemica**

La dieta occidentale, caratterizzata da fast food, cibi raffinati e trasformati, junk food, la quasi assenza di legumi e semi, predispone persone apparentemente sane alla carenza di magnesio. Inoltre, alcune tecniche agricole, come l'uso di potassio e ammonio ad alta concentrazione nei fertilizzanti, portano all'ulteriore diminuzione del contenuto di magnesio negli alimenti.¹⁰

- **Perdite gastrointestinali**

I contesti comuni in cui può essere osservata ipomagnesiemia includono diarrea acuta o cronica, malassorbimento e steatorrea, chirurgia di bypass dell'intestino tenue. Tuttavia, l'esaurimento del magnesio è più comunemente dovuto alla diarrea che al vomito. Ciò è dovuto al fatto che il contenuto di magnesio delle secrezioni del tratto inferiore è significativamente più elevato (fino a 15 meq/l contro circa 1 meq/l del tratto superiore).³⁶

- **Ipomagnesiemia familiare primitiva con ipocalcemia secondaria**

Si tratta di un disturbo familiare caratterizzato da un difetto selettivo nell'assorbimento del magnesio. Si presenta nel periodo neonatale con ipocalcemia che risponde alla somministrazione di magnesio. In alcuni casi, il difetto sembra avere un'ereditarietà legata all'cromosoma X, ma è

stata anche descritta un'ereditarietà autosomica recessiva. La forma autosomica recessiva è causata da mutazioni nel gene TRPM6.⁴² Poiché il TRPM6 è presente anche nel tubulo renale, alcuni pazienti con questo disturbo non solo hanno ridotto l'assorbimento intestinale di magnesio, ma hanno anche un'inappropriata perdita renale di magnesio. La via di assorbimento passivo è intatta, quindi la terapia con alte dosi di assunzione orale può essere efficace.³⁶

- Pancreatite

L'ipomagnesiemia può essere associata alla pancreatite acuta. Il meccanismo è presumibilmente la saponificazione del magnesio (e del calcio) che si verifica nel grasso necrotico.⁴³

- Uso di Inibitori di pompa protonica (PPI)

Ipomagnesiemia, spesso con ipocalcemia, è stata descritta associata all'uso cronico di omeprazolo (di solito >1 anno) e altri inibitori della pompa protonica.⁴⁴⁻⁴⁷

Un ampio studio⁴⁵ mostra come la relazione tra l'uso di PPI e magnesio varia a seconda che i pazienti usino contemporaneamente, in combinazione al PPI, diuretici: la prevalenza dell'ipomagnesiemia (magnesio sierico inferiore a 1,6 mg/dl) risulta significativamente più alta nei pazienti che assumono entrambi i farmaci rispetto a quelli che usano solo diuretici (15,6% contro 11%). Per contro, nei pazienti che non assumono diuretici, l'uso di PPI non risulta associato a variazioni del magnesio sierico o alla prevalenza di ipomagnesiemia.

Il presunto meccanismo alla base è un alterato assorbimento del magnesio da parte delle cellule epiteliali intestinali causata dall'inibizione dei canali TRPM6 e TRPM7 indotta da PPI. È improbabile che siano coinvolte perdite renali poiché l'escrezione urinaria di magnesio è ragionevolmente bassa. L'ipomagnesiemia può essere parzialmente o completamente corretta mediante supplementazione orale di magnesio ad alte dosi poiché la via di assorbimento passivo rimane intatta e tipicamente si risolve con l'interruzione della terapia con PPI.³⁶

3.1.2 Cause di origine renale

- Diuretici dell'ansa e Sindrome di Bartter

Il riassorbimento del magnesio (e del calcio) è ridotto dall'inibizione da parte del diuretico del cotrasportatore Na-K-Cl. Il grado di ipomagnesiemia è generalmente lieve perché a monte aumenta il riassorbimento prossimale di sodio, acqua e magnesio.³⁶

L'ipomagnesiemia è osservata in alcuni tipi di sindrome di Bartter (tipicamente quella di tipo 3, causata da mutazioni nel gene CLCNKB che codifica per il canale renale del cloruro ClC-Kb) ma per ragioni poco chiare, l'ipomagnesiemia non è osservata in tutte le forme di sindrome di Bartter.⁴⁸

- Ipercalcemia

I pazienti con ipercalcemia possono sviluppare una lieve ipomagnesiemia dovuta, almeno in parte, al fatto che calcio e magnesio competono funzionalmente per il trasporto nel tratto spesso ascendente dell'ansa di Henle. Un altro meccanismo è mediato dal recettore basolaterale calcium-sensing receptor (CaSR). Il legame del calcio al CaSR porta alla generazione di prostaglandine e all'inibizione del canale del potassio apicale. Questo, a sua volta, porta all'inibizione del riassorbimento di NaCl e secondariamente riduce il riassorbimento paracellulare di magnesio (e calcio).⁴⁹

- Ipocalcemia con ipercalciuria autosomica dominante

L'ipocalcemia autosomica dominante con ipercalciuria è prodotta da mutazioni del gene CASR che codifica per il recettore sensibile al calcio (CaSR).

Le mutazioni attivanti aumentano l'apparente affinità del recettore mutante per il calcio e il magnesio extracellulari. Il recettore attivato inibisce il canale K e sottoregola la claudina 16 come nell'ipercalcemia, inibendo il riassorbimento paracellulare.⁴⁹

- Farmaci nefrotossici e nefrotossine

I farmaci nefrotossici possono causare perdite urinarie di magnesio. Tra questi ci sono la gentamicina, l'amfotericina B, la pentamidina, il cisplatino, il tacrolimus e la ciclosporina. La compromissione del riassorbimento del magnesio può verificarsi prima del danno renale acuto associato a queste nefrotossine e può persistere dopo la risoluzione di questo.³⁶⁻⁵⁰ La Tabella 1⁵¹ fornisce una panoramica dei farmaci che potenzialmente causano ipomagnesiemia e dei meccanismi sottostanti a questo fenomeno.

Drugs	Mechanisms causing Mg deficiency
	Renal loss
Diuretics	
Loop	Increased renal Mg excretion by affecting the transepithelial voltage and inhibiting passive absorption.
Thiazides	Enhance Mg entry into the cells in the distal convoluted tubule.
Antimicrobial	
Amphotericin B	Renal urinary Mg wasting caused by nephrotoxins may be part of tubular necrosis and acute renal failure. Notably, impairment in Mg reabsorption in the loop of Henle and distal tubules may occur before the onset and may persist after the resolution of renal damage.
Aminoglycosides	
Capreomycin	
Pentamidine	
Chemotherapy	
Cisplatin	Renal urinary Mg wasting caused by nephrotoxins may be part of tubular necrosis and acute renal failure. Cisplatin treatment is also associated with lowered intestinal absorption
Immunosuppressive	
Calcineurin inhibitors	Urinary Mg wasting due to a downregulation of the Mg ²⁺ transport proteins (TRPM6) in the loop of Henle and distal convoluted tubules.
Epidermal growth factor receptor inhibitors	
Cetuximab	Urinary Mg wasting due to a downregulation of the TRPM6 in the loop of Henle and distal convoluted tubules.
Panitumumab	
Matuzumab	
	Gastrointestinal loss
Proton-pump inhibitor	Impairing the intestinal Mg absorption by inhibiting Mg transporters (TRPM6 and TRPM7).
	Miscellaneous
Foscarnet	A general potent chelator of divalent cations which therefore has the potential to reduce ionized levels of Mg.
Cardiac glycosides	Mg deficiency is associated with cardiac glycosides. The exact mechanisms are not known.

Tabella 1: Farmaci potenzialmente causa di ipomagnesiemia e meccanismi associati

- Alcol

L'ipomagnesiemia è comune nei pazienti alcolizzati ricoverati in ospedale. In uno studio in merito la prevalenza si è attestata al 30%: un'eccessiva escrezione urinaria di magnesio si è verificata in 18 dei 38 pazienti con ipomagnesiemia.⁵²

- Diabete mellito scompensato

L'ipomagnesiemia nei pazienti con diabete mellito non controllato sembra essere associata ad un aumento dell'escrezione urinaria di magnesio, fenomeno che inverte la sua tendenza con la correzione dell'iperglicemia con insulina.⁵³

- Altre disfunzioni tubulari

- Ipomagnesiemia familiare con ipercalciuria e nefrocalcinosi

Le mutazioni nel gene della claudina-16 sono la principale causa di ipomagnesiemia familiare con ipercalciuria e nefrocalcinosi (FHHNC). Claudina-16 è una proteina che facilita il riassorbimento passivo e paracellulare di magnesio e calcio nel tratto spesso ascendente dell'ansa di Henle. I pazienti in genere presentano ipomagnesiemia, ipocalcemia e nefrocalcinosi. Alcuni possono anche presentarsi con ipokaliemia a causa dell'iperaldosteronismo secondario o degli effetti diretti dell'ipomagnesiemia sulla secrezione di potassio. La FHHNC può occasionalmente essere dovuta a mutazioni nella claudina-19 e questi pazienti hanno spesso anche un coinvolgimento oculare.

- Sindrome di Gitelman e uso di diuretici tiazidici

La sindrome di Gitelman è la forma più comune di ipomagnesiemia familiare con fenotipo variabile. È causata da mutazioni recessive del gene che codifica per il cotrasportatore di NaCl sensibile ai tiazidi (SLC12A3). L'inibizione dell'ingresso di NaCl nella cellula (nella sindrome di Gitelman o con la somministrazione di tiazidici) è associata a perdita di

magnesio, ipermagnesiuria e, in sostanza, ipomagnesiemia. Al contrario, il riassorbimento del calcio è potenziato e ne consegue ipocalciuria.

È solitamente trattata con supplementazione per os con integratori di potassio e magnesio e dieta con introito libero di sali.

- **Mutazioni Na-KATPasi**
Mutazione della regione che codifica per la subunità γ della Na-K-ATPasi responsabile della perdita di magnesio per via renale autosomica dominante associata all'ipocalciuria.
- **Mutazione gene HNF1B (fattore nucleare epatocitario 1 homeobox b)**
Mutazione nel fattore nucleare epatocitario 1 homeobox beta (HNF1B) che regola la trascrizione della subunità γ della Na β /K β -ATPasi.³⁶
- **Ipomagnesiemia primaria isolata**
Inappropriatamente alta escrezione di magnesio senza cause apparenti, con calciuria conservata.
- **Mutazione EGF (epidermal growth factor)**
EGF sembra stimolare il riassorbimento tubulare distale di magnesio legandosi a un recettore sulla membrana basolaterale e attivando il canale del magnesio TRPM6 nella membrana apicale. Una mutazione puntiforme nel pro-EGF porta a una stimolazione inadeguata del recettore renale dell'EGF e quindi a un'attivazione insufficiente del canale del magnesio.
- **Mutazione canale del potassio voltaggio dipendente**
Una mutazione nel gene KCNA1 che codifica per il canale del potassio voltaggio-dipendente (Kv1.1) è una rara causa di ipomagnesiemia isolata autosomica dominante.³⁶

3.2 CNI (inibitori della calcineurina) e ipomagnesiemia

3.2.1 Farmaci e schemi terapeutici

I CNI sono i farmaci cardine della terapia immunosoppressiva antirigetto prescritta a tutti i pazienti nefrotrapiantati. I farmaci usati sono la Ciclosporina (CyA) e il Tacrolimus (TAC) che, pur appartenendo alla stessa famiglia dei CNI, hanno meccanismo d'azione differente⁵⁴:

- **Ciclosporina (CyA)**

La ciclosporina, dopo essersi legata alla ciclofillina, inibisce la calcineurina. Questo porta al blocco dell'espressione genica delle citochine prodotta dalle cellule T. In particolare, si tratta di IL-2, IL-3, IL-4, IFN- γ e TNF- α . La riduzione della concentrazione di IL-2, nello specifico, minimizza la risposta immune.

- **Tacrolimus (TAC)**

Pur avendo un meccanismo simile a quello della ciclosporina con inibizione della calcineurina, si tratta di una molecola strutturalmente assai differente. Per questo motivo non si lega alla ciclofillina, ma ad una proteina chiamata FK506-binding protein (FKBP). Anche gli effetti collaterali del Tacrolimus sono simili, ma non uguali, a quelli indotti dalla ciclosporina.

La maggioranza dei centri trapianto, in accordo con le linee guida KDIGO, usa una terapia di mantenimento in cui il CNI è combinato all'impiego simultaneo di tre farmaci:

- Un inibitore della calcineurina (Ciclosporina o Tacrolimus)
- Un antimetabolita (Azatioprina, Micofenolato mofetil (MMF) o Micofenolato di sodio gastroprotetto (EC-MPS))
- Gli steroidi.

L'inibitore della calcineurina (attualmente è preferito il TAC) viene iniziato il primo giorno dopo il trapianto alla dose di 0.08 mg/Kg/die nel caso del TAC per raggiungere un through level di 7-10 mg/ mL nel primo mese e più basso successivamente. In caso di oliguria, alcuni centri ritardano la somministrazione dell'inibitore della calcineurina fino a ottenere una significativa riduzione della creatinina.

CyA e TAC hanno lo stesso meccanismo di azione, anche se col passare degli anni, la scelta del TAC è sempre più frequente. Già in una metanalisi del 2005 il TAC riduceva significativamente il rischio di rigetto acuto rispetto alla ciclosporina.⁵⁴

3.2.2 Meccanismo di induzione dell'ipomagnesiemia e caratteristiche

L'ipomagnesiemia, nell'era degli inibitori della calcineurina, è un reperto molto comune nei pazienti trapiantati. Il meccanismo con cui si sviluppa questo disturbo elettrolitico non è ben descritto ma comprende principalmente la perdita renale di magnesio, attraverso la down-regulation indotta dai CNI dell'espressione renale del fattore di crescita epidermico (EGF) e del canale per il magnesio TRPM6 nel tubulo collettore distale. Ulteriori fattori che contribuiscono a questo fenomeno sono l'espansione del volume che si verifica post-trapianto, l'acidosi metabolica, l'insulino-resistenza, il ridotto assorbimento gastrointestinale dovuto alla eventuale comparsa di diarrea, l'assunzione carente di magnesio e l'uso di diuretici. Resta da confermare il potenziale ruolo dell'uso concomitante di un inibitore di pompa protonica.⁵⁵

I risultati degli ultimi studi suggeriscono che la ciclosporina potrebbe influenzare il trasporto renale paracellulare del magnesio andando ad agire sull'espressione della paracellina-1 (proteina della tight junction) nella giunzione serrata delle cellule del tratto spesso ascendente dell'ansa di Henle (TAL, thick ascending limb). La ciclosporina inoltre può alterare l'emodinamica renale, diminuire la filtrazione glomerulare e aumentare il riassorbimento tubulare di sodio, che, in

combinazione con il diminuito trasporto paracellulare di magnesio nelle cellule del TAL, contribuisce all'aumentata escrezione renale di magnesio nei pazienti che assumono ciclosporina. Clinicamente, la grave perdita renale di magnesio non è costantemente presente nei pazienti che assumono ciclosporina⁵⁶.

Anche il trattamento con Tacrolimus (FK506) è stato associato ad un'escrezione renale frazionaria di magnesio inopportuna elevata, suggerendo che l'ipomagnesiemia che ne risulta potrebbe essere una conseguenza dell'inibizione del riassorbimento passivo o attivo di magnesio operata dal farmaco.⁵⁷

L'identificazione di TRPM6 ha fornito uno strumento importante per studiare a livello molecolare il trasporto renale attivo di magnesio durante il trattamento post trapianto con FK506.

In un esperimento condotto su ratti trattati con FK506⁵⁷, si è andati a quantificare tramite PCR quantitativa real-time il livello di espressione renale del canale TRPM6 e di altre proteine coinvolte nel trasporto paracellulare. Si è verificata una significativa riduzione dei livelli di mRNA di TRPM6 oltre che di TRPV5 e calbindina nel rene. La ridotta espressione del presunto canale del magnesio TRPM6 e delle proteine di trasporto del Ca²⁺, TRPV5 e calbindina D28K, durante il trattamento con Tacrolimus ha suggerito che la downregulation di queste proteine di trasporto contribuisce alla patogenesi dell'ipercalciuria e dell'ipomagnesiemia indotte da Tacrolimus.

L'espressione delle tre proteine di trasporto è stata studiata con la stessa tecnica anche a livello duodenale ma non si sono verificate alterazioni, diversamente da quanto emerso per il quadro renale.⁵⁷

L'ipomagnesiemia indotta da questi farmaci si presenta a partire dalle prime settimane post trapianto. In uno studio su 27 pazienti trapiantati in trattamento con CNI⁵⁸, nonostante gli elevati livelli di magnesio sierico di partenza tipici dell'ESKD (End Stage Kidney Disease), dalla seconda settimana post trapianto si verifica una caduta del livello di magnesio sierico da $2,6 \pm 0,4$ mg/dl a $1,8 \pm 0,4$ mg/dl. Per la fine della terza settimana post trapianto la tendenza sfocia in una franca ipomagnesiemia con valori di $1,6 \pm 0,4$ mg/dl.

In 5 pazienti, nonostante la supplementazione di magnesio introdotta sotto valori di 1,6 mg/dl per evitare ulteriori discese, si riscontrano anche valori di 0,9-1.1 mg/dl con segni e sintomi manifesti.

L'analisi dell'escrezione urinaria di magnesio durante tutto il trattamento rivela che essa rimane inappropriatamente alta durante tutto il trattamento con CNI, nonostante l'ipomagnesiemia sierica riscontrata; questo suggerisce una franca perdita renale primitiva.⁵⁸

Alcuni studi hanno suggerito un nadir della concentrazione sierica di magnesio intorno al secondo mese dopo il trapianto (questo sia nei trapiantati di rene che nei trapiantati di fegato). Tuttavia, l'ipomagnesiemia persiste in oltre il 20% dei trapiantati di rene molti anni dopo il trapianto.⁵⁵ Questo fenomeno è confermato da uno studio del 2003⁵⁹ in cui la concentrazione sierica di magnesio ionizzato risulta significativamente più bassa in soggetti trapiantati rispetto a soggetti sani anche a distanza di 1,3-14 anni.

In ultimo, l'ipomagnesiemia associata all'uso di CNI è direttamente correlata alla dose di farmaco utilizzata ed è accompagnata da bassi livelli di calcio nel siero. Rispetto all'ipomagnesiemia indotta dai PPI, quella indotta da inibitori della calcineurina sembra essere meno grave.¹¹

3.3 Sintomi

La gravità e il tipo dei sintomi clinici associati all'ipomagnesiemia dipendono dal grado di severità di quest'ultima, dal momento di insorgenza e dalla presenza o assenza di disturbi elettrolitici concomitanti come ipocalcemia e ipokaliemia.⁶⁰

Sembra esserci una maggiore probabilità di sintomi clinici con una rapida diminuzione della concentrazione sierica di magnesio rispetto a un cambiamento più graduale. Tuttavia, anche nei pazienti con grave ipomagnesiemia, i segni clinici associati alla carenza di magnesio possono essere assenti; non si dovrebbe pertanto attendere la comparsa dei segni clinici prima di controllare i livelli sierici di magnesio.³⁴

I sintomi generali e aspecifici sono affaticamento e sonnolenza. Precocemente insorgono perdita di appetito, nausea, vomito e debolezza.³²

I sintomi neuromuscolari sono causati dall'abbassamento della soglia per la stimolazione nervosa; tra questi il nistagmo verticale rallentato si osserva in soggetti gravemente ipomagnesiemici e/o carenti di tiamina in assenza di lesioni cerebrali strutturali. Anche i movimenti coreiformi e atetoidi sono potenziali manifestazioni, la tetania e le convulsioni sono potenziate dall'ipocalcemia.⁵¹

Altre manifestazioni possono includere tremore, agitazione, fascicolazione muscolare, depressione³⁴ e quando la carenza di magnesio peggiora, possono verificarsi intorpidimento, formicolio, contrazioni muscolari, crampi, convulsioni, improvvisi cambiamenti nel comportamento causati da un'eccessiva attività elettrica nel cervello, cambiamenti di personalità.³²

Considerando che il magnesio è un calciomimetico debole, l'ipomagnesiemia grave (<0,5 mM) può diminuire la secrezione dell'ormone paratiroideo (PTH) e aumentare la resistenza renale e scheletrica al PHT, eventualmente esacerbando l'ipocalcemia e potenziando la sintomatologia neuromuscolare.⁶⁰ La carenza di magnesio è stata anche associata a una ridotta sintesi di vitamina D attiva.⁵¹ L'ipomagnesiemia può abbassare la soglia per l'aritmia cardiaca inclusa la fibrillazione atriale, la tachicardia sopraventricolare e la fibrillazione ventricolare. Le alterazioni dell'ECG, specialmente in associazione all'ipokaliemia, sono comuni e includono intervalli QT e PR prolungati, allargamento del complesso QRS, onde T con picco e depressione ST.⁶⁰

3.4 Implicazioni sistemiche

L'ipomagnesiemia o il basso apporto di magnesio sono stati associati a una maggiore mortalità e ad un maggior numero di eventi cardiovascolari nella popolazione generale, ma questa associazione è meno esplorata nei pazienti sottoposti a trapianto di rene, nonostante il loro aumentato rischio cardiovascolare. I trapiantati di rene con ipomagnesiemia pre o post trapianto sembrano avere un metabolismo del glucosio aberrante e sviluppare più frequentemente il diabete mellito. Inoltre, studi osservazionali, esperimenti su animali e studi in vitro suggeriscono un possibile ruolo della carenza di magnesio

nella disfunzione del trapianto, nel metabolismo osseo e nell'immunologia dei trapianti.⁵⁵

- **Ipomagnesiemia e metabolismo osseo**

È stato osservato che le ossa di animali carenti in magnesio sono più fragili, si possono rilevare microfratture nelle trabecole e le proprietà meccaniche sono gravemente compromesse. In generale, tutti i dati sperimentali ottenuti da studi sugli animali indicano che il ridotto apporto di magnesio nella dieta è un fattore di rischio per l'osteoporosi attraverso una varietà di meccanismi differenti.

Il magnesio aumenta la solubilità dei minerali che costituiscono i cristalli di idrossiapatite, come P e Ca, agendo così sulla dimensione e formazione dei cristalli. È stato dimostrato che le donne osteoporotiche con carenza di magnesio hanno cristalli più grandi e organizzati nell'osso trabecolare rispetto al gruppo di controllo, rendendo l'osso più suscettibile alle fratture.

Oltre al suo effetto diretto sui cristalli di idrossiapatite, il magnesio è coinvolto in altri meccanismi che influenzano la salute delle ossa. Di grande importanza è la complessa interazione esistente tra magnesio e vitamina D: il magnesio è necessario per l'attività della 25-idrossilasi epatica e della 1α -idrossilasi renale, entrambe cruciali per convertire la 25(OH)D nella sua forma biologicamente attiva $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, e anche per facilitare il trasferimento della vitamina D ai tessuti bersaglio attraverso la proteina che lega la vitamina D. D'altra parte, il magnesio è anche coinvolto nell'inattivazione della vitamina D, essendo necessario per l'attività della 24-idrossilasi renale, per formare $24,25(\text{OH})_2\text{D}$.

In secondo luogo, la vitamina D stimola l'assorbimento intestinale del magnesio e, a sua volta, la carenza di magnesio riduce i livelli di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, essendo così implicata nell'insorgenza di una forma di rachitismo vitamina D-dipendente.

Un'altra relazione complessa si verifica tra magnesio e ormone paratiroideo (PTH) e quindi, indirettamente tra magnesio e calcio. Il PTH è secreto dalle ghiandole paratiroidee in risposta a un basso livello di calcio

sierico e livelli di PTH alti o bassi possono provocare deregolazione del calcio e malattie ossee. In particolare, un'attivazione cronica prolungata del recettore da parte del PTH, come osservato nell'iperparatiroidismo primario, esercita effetti catabolici sull'osso e porta a un aumento del turnover osseo, con conseguente perdita ossea e aumento del rischio di fratture. Normalmente avviene che il livello fisiologico di calcio nel siero regola negativamente la secrezione di PTH con livelli sierici di PTH e magnesio che risultano co-dipendenti. Bassi livelli di magnesio, infatti, stimolano la secrezione di PTH con conseguente iperparatiroidismo, condizione che si verifica frequentemente nei pazienti trapiantati, casi del nostro studio. La tendenza è tuttavia duplice poiché, al contrario, sembrerebbe che una concentrazione estremamente bassa di magnesio inibisca la secrezione di PTH (in generale non è il caso di pazienti trapiantati in studio che non raggiungono valori così bassi).

È interessante anche notare che il magnesio regola la sensibilità degli organi bersaglio al segnale PTH e la ridotta risposta periferica al PTH, altra concausa di iperparatiroidismo, porta a una bassa concentrazione sierica di vitamina D.¹⁰

Si è detto come le alterazioni dei livelli di PTH possono essere influenzate non solo dalle variazioni dei livelli di calcio e vitamina D ma anche dal magnesio che, in alcuni casi, potrebbe essere il “primum movens” a determinare l'iperparatiroidismo e l'ipocalcemia, in particolare nei pazienti nefropatici.

A questo proposito è stato recentemente condotto uno studio per valutare l'impatto della magnesemia sul metabolismo osseo nell'insufficienza renale cronica in pazienti con o senza diabete. Un totale di 56 pazienti con insufficienza renale cronica in trattamento conservativo (GFR<30 ml/min) sono stati reclutati e divisi in due gruppi in base alla presenza o meno del diabete. I pazienti con IRC e diabete presentavano una maggiore prevalenza di ipomagnesemia e osteoporosi rispetto ai pazienti non-diabetici (P<0.05). In conclusione, bassi livelli sierici di magnesio possono influenzare i livelli di PTH e peggiorare l'osteoporosi nei pazienti con IRC.¹¹

- **Ipomagnesiemia e sistema cardiovascolare**

Il magnesio svolge un ruolo importante nell'ambito del sistema cardiovascolare, influenzando il metabolismo miocardico, l'omeostasi del Ca e la vasodilatazione endotelio-dipendente. Agisce anche come agente antipertensivo, antiaritmico, antinfiammatorio e anticoagulante.

Nel miocardio, l'apertura dei canali del Ca di tipo L produce una corrente del Ca di lunga durata, corrispondente alla seconda fase del potenziale d'azione cardiaco. A concentrazioni fisiologiche il magnesio inibisce questi canali, prevenendo il sovraccarico cellulare di Ca con conseguente tossicità, esercitando così un effetto protettivo del miocardio.

Due meccanismi generali potrebbero spiegare come il magnesio regoli i flussi di Ca attraverso i canali di tipo L: l'alterazione della permeabilità ionica e/o la modulazione delle proprietà di gating del canale. Il gating del canale del Ca di tipo L è, a sua volta, regolato dal potenziale di membrana, dalla concentrazione di Ca citosolico e dalla fosforilazione del canale. È stato dimostrato che l'effetto del magnesio sul canale dipende anche dallo stato di fosforilazione di questo, poiché il trattamento con fosfatasi diminuisce l'effetto inibitorio del magnesio. Esso è inoltre necessario per la Na⁺/K⁺-ATPasi, che è responsabile del trasporto attivo di K intracellularmente durante il potenziale d'azione, e per il trasporto di K attraverso altri diversi canali del K.

La modulazione del potenziale d'azione cardiaco può spiegare l'azione antiaritmica del magnesio: la sua infusione provoca il rallentamento della conduzione del nodo atrioventricolare e determina anche il prolungamento dell'intervallo PR e della durata del QRS nell'elettrocardiogramma. I livelli di Mg influenzano quindi l'eccitabilità miocardica.

In condizioni di ipomagnesiemia sono molto comuni le alterazioni tipiche dell'elettrocardiogramma: l'allargamento del complesso QRS e onde T appuntite sono descritti in un deficit moderato di magnesio, mentre il prolungamento dell'intervallo PR, l'allargamento progressivo del complesso QRS e la diminuzione dell'onda T sono visti in una grave deplezione di Mg, con conseguente frequente insorgenza di aritmie.⁵¹

L'effetto del magnesio sui cardiomiociti dipende anche da altri meccanismi: la capacità di competere con il Ca per i siti di legame di

proteine come la calmodulina, la troponina C e la parvalbumina; la capacità di agire come substrato nel complesso con ATP per le Ca-ATPasi cardiache; per la capacità di alterare l'affinità dello scambiatore Na-Ca.

In sintesi, una stretta regolazione della concentrazione di magnesio nei cardiomiociti è necessaria per una funzione cardiaca ottimale, infatti l'ipomagnesiemia può influire sull'attività fisiologica, portando a malattie cardiovascolari.¹⁰

Negli ultimi 20 anni, un crescente numero di studi ha riportato come un basso livello sierico di magnesio sia associato ad un aumentato rischio di malattia coronarica (CAD), aterosclerosi e sindrome metabolica, trova così evidenza l'effetto benefico della supplementazione di magnesio nei pazienti con CAD. Dal momento che il magnesio ha un forte ruolo anti-infiammatorio, la sua integrazione si traduce anche in un miglioramento del profilo lipidico, riduzione dei radicali liberi dell'ossigeno e miglioramento della funzione endoteliale.¹¹

È stata anche stabilita una relazione tra i livelli di magnesio e la pressione sanguigna. Molti meccanismi diversi sono coinvolti nell'effetto vasodilatatore del magnesio: la capacità di agire come un calcio-antagonista naturale e di sovraregolare l'ossido nitrico sintasi endoteliale, aumentando così il rilascio di ossido nitrico (NO); la capacità di aumentare la produzione di prostaciclina (PGI₂), un fattore di inibizione piastrinica; il suo ruolo in una fase della sintesi della prostaglandina E₁ (PGE₁, un agente vasodilatatore e inibitore piastrinico); il suo ruolo antinfiammatorio.

Tutto questo si traduce nell'evidenza che un'elevata assunzione di magnesio è correlata ad una minore probabilità per i principali fattori di rischio cardiovascolari come ipertensione e diabete, ictus, cardiopatia ischemica e coronarica.¹⁰

- **Ipomagnesiemia e SNC**

Una delle principali funzioni del magnesio attive a livello neurologico è dovuta all'interazione di quest'ultimo con il recettore N-metil-D-aspartato (NMDA).

I recettori NMDA vengono attivati in seguito al legame del glutammato e mediano l'afflusso di ioni Ca e Na e l'efflusso di ioni K. Il glutammato è il principale neurotrasmettitore eccitatorio nel cervello, che agisce legandosi a vari trasportatori e recettori, tra cui i canali cationici AMPA e NMDA. La famiglia dei recettori NMDA comprende un'ampia varietà di sottotipi di recettori, sia dieteromeri che trieteromeri, ciascuno con distinte proprietà biofisiche, farmacologiche e di segnalazione e diversa localizzazione nelle regioni del cervello. Entrando nel dettaglio del meccanismo d'azione, il glutammato del neurone presinaptico lega i recettori AMPA e NMDA nel neurone postsinaptico ma, con un potenziale di membrana normale, gli ioni di magnesio bloccano i recettori NMDA, consentendo solo l'attivazione dei recettori AMPA. Quando il potenziale di membrana aumenta, i recettori NMDA vengono sbloccati e, con il legame del glutammato, consentono l'afflusso di cationi. Coerentemente, quando la concentrazione di magnesio si riduce, vengono bloccati meno canali NMDA e questo aumenta il potenziale postsinaptico eccitatorio provocando ipereccitabilità dei neuroni, che può portare a stress ossidativo e morte delle cellule neuronali.

Un altro meccanismo che coinvolge il magnesio nell'ipereccitabilità neuronale è la sua capacità di regolare la funzione dei recettori GABA inibitori.

La neurotrasmissione glutammaergica anormale sembra essere implicata in molti disturbi neurologici e psichiatrici, tra cui emicrania, dolore cronico, epilessia, morbo di Alzheimer, morbo di Parkinson, depressione e ansia. Nella malattia di Parkinson, appunto, è stata rilevata una riduzione dei livelli di magnesio a livello della corteccia, nella sostanza bianca e nei gangli della base e un miglioramento dei sintomi neurologici dopo la supplementazione di magnesio. L'emicrania similmente è stata collegata a bassi livelli di magnesio nel siero e nel liquido cerebrospinale (CSF).¹¹

Come è già stato accennato in precedenza, il magnesio è coinvolto nella regolazione dell'attività dell'ossido nitrico sintasi, causando il rilascio di NO, che ha molteplici funzioni nel cervello, come la vasodilatazione, la regolazione della trascrizione genica e il rilascio di neurotrasmettitori. Similmente una fisiologica concentrazione di magnesio favorisce

l'espressione e la secrezione del peptide correlato al gene della calcitonina (CGRP), che ha un effetto vasodilatatore, mentre la sua carenza aumenta il rilascio della sostanza P, un agente neuroinfiammatorio, che stimola a sua volta la secrezione di mediatori dell'infiammazione.

Pertanto, il magnesio ha anche un ruolo nella regolazione del rilascio di neuropeptidi e nella regolazione dello stress ossidativo, contribuendo al mantenimento di una sana funzione neurologica.¹⁰

- **Ipomagnesiemia e metabolismo del glucosio**

È noto che il magnesio aumenta la sensibilità all'insulina inducendo l'autofosforilazione dei recettori dell'insulina e regolando l'attività della tirosin-chinasi su questi recettori. Inoltre, il magnesio può influenzare direttamente l'attività del trasportatore del glucosio 4 (GLUT4) e aiutare a regolare l'assorbimento del glucosio nella cellula. Si comprende così facilmente perché le diete con quantità maggiori di magnesio sono correlate a un rischio significativamente inferiore di diabete.

Diversi studi riportano che un ridotto livello di magnesio intracellulare può portare a un aumento della resistenza all'insulina.

L'incidenza dell'ipomagnesiemia nei pazienti con diabete di tipo 2 è ampia e varia dal 13,5 al 47,7%. È stato riportato che un aumento di 100 mg/die sull'assunzione totale di magnesio riduce il rischio di diabete di un 15% statisticamente significativo. Inoltre, una metanalisi di otto studi prospettici di coorte, che hanno coinvolto 271.869 uomini e donne di età compresa tra 4 e 18 anni, ha mostrato una significativa associazione inversa tra l'assunzione di magnesio dal cibo e il rischio di diabete di tipo 2; la riduzione del rischio relativo è stata del 23% quando sono state confrontate le assunzioni più alte con quelle più basse.⁶¹

In uno studio randomizzato controllato che ha coinvolto 116 adulti con prediabete e ipomagnesiemia, è stata anche dimostrata la riduzione dei livelli di glucosio plasmatico e il miglioramento dello stato glicemico mediante integrazione orale di magnesio.⁶²

È interessante notare che alcuni studi hanno documentato che l'ipomagnesiemia potrebbe avere un impatto su molte disfunzioni indicate

nella fisiopatologia del diabete, come la nefropatia diabetica, lo scarso profilo lipidico e l'alto rischio di aterosclerosi, indicando persino l'ipomagnesiemia come marker.¹⁰

- **Ipomagnesiemia e cancro**

Diversi studi epidemiologici hanno dimostrato che una dieta povera di magnesio aumenta il rischio di sviluppare il cancro, evidenziandone l'importanza nel campo dell'ematologia e dell'oncologia.

Essendo un cofattore enzimatico coinvolto nei meccanismi di riparazione del DNA, il magnesio svolge un ruolo importante nel mantenimento della stabilità e della fedeltà genomica, modulando la progressione del ciclo cellulare, la proliferazione cellulare, la differenziazione e l'apoptosi. Pertanto, la carenza di magnesio potrebbe portare a mutazioni nel DNA che possono favorire la genesi dei tumori ma anche influenzare la prognosi di questi.

In particolare, alcuni studi si sono concentrati sull'effetto del magnesio nella dieta in merito alla prognosi del cancro al seno, suggerendo che una maggiore assunzione è inversamente associata alla mortalità tra i pazienti con cancro al seno. Il cancro al seno non è stato l'unico oggetto di studi, la supplementazione di magnesio è risultata avere effetti benefici anche per il cancro del fegato, del colon-retto, del pancreas, gastroesofageo.

Sebbene la maggior parte della letteratura riguardi i tumori solidi, l'ipomagnesiemia è stata anche correlata con una maggiore carica virale del virus di Epstein Barr, un virus associato ad una moltitudine di neoplasie ematologiche.¹⁰

- **Ipomagnesiemia e infiammazione**

È stato dimostrato che la carenza di magnesio nei modelli animali induce una sindrome clinicamente infiammatoria, caratterizzata dall'attivazione di leucociti e macrofagi, dal rilascio di citochine infiammatorie e da un'eccessiva produzione di radicali liberi.¹⁰

In presenza di ipomagnesiemia, l'endotelio evolve in uno stato di permanente infiammazione contrassegnato dall'incremento dell'attività di NFκB, il principale regolatore della trascrizione genica di citochine pro-

infiammatorie come IL-1. Studi recenti hanno, inoltre, riportato una correlazione inversa tra i livelli di magnesio e gli indici di infiammazione come PCR e TNF-alfa.¹¹

Poiché il magnesio agisce come un calcio antagonista naturale, la base molecolare della risposta infiammatoria potrebbe anche essere il risultato della modulazione della concentrazione intracellulare di calcio.

Questa infiammazione di basso grado aumenta la secrezione di citochine proinfiammatorie, che stimolano il riassorbimento dell'osso mediante l'induzione della differenziazione degli osteoclasti dai loro precursori.

La normalizzazione della magnesemia è stata, invece, associata ad un'inibizione dell'infiammazione. La capacità del magnesio di diminuire la risposta infiammatoria e lo stress ossidativo, oltre a migliorare l'infiammazione polmonare, probabilmente inibendo la via IL-6, la via NF- κ B e i canali del calcio di tipo L, ha sollevato l'ipotesi di una possibile supplementazione di magnesio nella prevenzione e nel trattamento dei pazienti COVID-19, come suggerito nei recenti articoli (Tang⁶³).¹⁰

- **Ipomagnesemia e funzione polmonare**

Il ruolo del magnesio si esplica anche a livello polmonare. Sembra, infatti, che abbia un'azione vasodilatatoria e broncodilatatoria.¹¹ Proprio per questo il magnesio è un trattamento convalidato per attacchi di asma resistenti. Esso, infatti, aumenta l'effetto del salbutamolo bloccando i canali del calcio voltaggio-dipendenti e di conseguenza inibendo l'afflusso di Ca, con il rilassamento della muscolatura liscia.

Il magnesio ha anche un effetto immunoregolatore in quanto riduce i mediatori pro-infiammatori e promuove la sintesi di prostaciclina e ossido nitrico che stimolano la bronco e la vasodilatazione.⁵¹

La sua potente azione antiinfiammatoria a livello polmonare, cerebrale e intestinale sembra ridurre l'infiammazione delle vie aeree che caratterizza anche altre severe patologie quali la fibrosi cistica e la broncopneumopatia cronica ostruttiva.¹¹

- **Ipomagnesemia e funzione del graft nei pazienti trapiantati**

L'associazione tra una minore concentrazione sierica di magnesio e un più rapido declino della funzione renale è stata riportata sia in coorti di pazienti con insufficienza renale cronica che nella popolazione generale.

L'effetto antifibrotico del magnesio è stato esplorato in uno studio in cui l'integrazione di magnesio in ratti esposti ad una dieta a basso contenuto di sale e ciclosporina non solo ha corretto l'ipomagnesiemia, ma ha anche impedito lo sviluppo previsto di danno istologico renale con fibrosi interstiziale, atrofia tubulare e concomitante declino della funzione renale. Questi effetti antifibrotici del magnesio sono risultati indipendenti dalla pressione sanguigna, che è rimasta invariata.

Il magnesio inibisce il reclutamento di macrofagi e monociti, riduce l'espressione di chemio-attrattivi, ha funzione antiossidante bloccando la sovraregolazione dell'endotelina-1 comportando probabilmente effetti benefici sulla disfunzione glomerulare.

L'ipomagnesiemia potrebbe anche essere coinvolta nei meccanismi che portano ad una delayed graft function ma è necessario esplorare ulteriormente se e in che misura questo meccanismo sia coinvolto nella funzionalità precoce del graft dopo il trapianto di rene.⁵¹

- **Ipomagnesiemia e patologie della gravidanza**

L'ipomagnesiemia è stata implicata come potenziale fattore contribuyente nell'insorgenza dei disturbi ipertensivi in gravidanza, diabete gestazionale, travaglio pretermine e restrizione della crescita intrauterina.⁶⁴

Una recente review di Cochrane mostra che il trattamento con supplementazione di magnesio in donne con preeclampsia riduce non solo il rischio di sviluppo di eclampsia ma abbassa anche la mortalità materna. Inoltre, una meta analisi sull'uso reale della supplementazione di magnesio per il trattamento della preeclampsia conferma i risultati degli studi clinici mostrando una diminuzione di circa il 50% del rischio di eclampsia. Al contrario la supplementazione sembra non influire sul rischio di morte e disabilità del bambino.¹⁶

3.5 Preparazioni per la supplementazione

Gli integratori di magnesio sono disponibili in una varietà di formulazioni, tra cui sale inorganico (es. ossido di magnesio, cloruro, solfato) e composti organici (es. citrato, malato, pidolato, taurato).

L'assorbimento relativo ai diversi tipi di integratori non è lo stesso, tuttavia, i risultati ottenuti negli studi disponibili sull'uomo sono difficilmente confrontabili a causa delle differenze tra i disegni di studio. Il carico di magnesio somministrato varia ampiamente tra gli studi (da <100 a >1000 mg/die), come l'età dei soggetti (da neonati ad adulti), le loro condizioni fisiche o la vicinanza dei pasti alla somministrazione. Inoltre, l'assorbimento dipende anche dallo status del pool di magnesio dei soggetti in esame, pertanto gli studi di biodisponibilità sono ostacolati dal fatto che le persone sottoposte al test non hanno automaticamente lo stesso status all'inizio dello studio.

Bisogna anche considerare che a causa dell'assenza di test di laboratorio semplici, rapidi e accurati per misurare le riserve di magnesio nell'organismo o per valutarne la distribuzione in diversi compartimenti, la valutazione dello stato del magnesio dopo la sua somministrazione non è facile da ottenere. La valutazione del livello ematico di magnesio fornisce informazioni sui cambiamenti acuti del magnesio, ma i livelli ematici non sono un buon indicatore dello status del magnesio e non sono correlati ai livelli contenuti nei pool dei tessuti. Di conseguenza, i dati appaiono spesso confusi e contrastanti. Tuttavia, la quantità di magnesio assorbita risulta essere dipendente dalla dose ingerita. Ad esempio, quando l'assunzione di magnesio con la dieta è bassa, il tasso di assorbimento relativo può raggiungere l'80%, mentre è ridotto al 20% in caso di abbondanza di magnesio. In generale, il Mg^{2+} viene assorbito come ione. Le forme solubili di magnesio sono più assorbite nell'intestino rispetto alle forme meno solubili. In una recente revisione, Schuchardt e Hahn hanno riportato che la biodisponibilità relativa di Mg è maggiore se il minerale viene ingerito a dosi più basse ma ripetute durante il giorno piuttosto che una singola assunzione di una quantità elevata di Mg. Piccoli studi hanno dimostrato che il magnesio nell'aspartato,

cloruro, citrato e lattato viene assorbito quasi completamente ed è più biodisponibile dell'ossido di magnesio e del solfato di magnesio.¹⁰

L'assunzione di cibo potrebbe avere un ruolo in merito alla biodisponibilità delle preparazioni: elevate concentrazioni di minerali come il calcio nell'intestino possono diminuire l'assorbimento intestinale del magnesio, che è anche ulteriormente compromesso dalla presenza di fibre, fitati e ossalati parzialmente o non fermentabili, mentre l'assorbimento aumenta con l'assunzione concomitante di proteine, trigliceridi a catena media e carboidrati non digeribili che diminuiscono il pH del lume intestinale aumentando la solubilità di minerali come il magnesio.⁶⁰

In generale, è stato suggerito che l'assorbimento dei sali organici di magnesio sia migliore dell'assorbimento dei composti inorganici, mentre altri studi non hanno trovato differenze tra le formulazioni dei sali. I sali di magnesio non assorbiti in genere provocano diarrea ed effetti lassativi dovuti all'attività osmotica nell'intestino e nel colon e alla stimolazione della motilità gastrica.¹⁰

Un'indicazione consolidata per il trattamento dell'ipomagnesiemia è la presenza di sintomi clinici e/o grave ipomagnesiemia (<0,5 mM) che richiede la somministrazione endovenosa di magnesio. Le attuali linee guida suggeriscono di somministrare 16meq (2g o 8mmol) di solfato di magnesio ev in 2-15 minuti seguiti da un'infusione continua in pazienti emodinamicamente instabili, inclusi pazienti con aritmie pericolose per la vita.

Tuttavia, il solfato di magnesio per via endovenosa non solo provoca una rapida escrezione renale del 50% del magnesio infuso e quindi ha solo effetti transitori di breve durata, ma anche annulla il gradiente di concentrazione favorevole che sussiste nel tubulo renale prossimale comportando una inferiore capacità di riassorbimento e l'aumento della concentrazione sierica di magnesio. In alcuni casi può portare anche a iperfosfatemia e ad un brusco abbassamento della pressione sanguigna dovuto alla vasodilatazione.

Gli integratori orali di magnesio sono, al contrario, il trattamento preferito per la correzione prolungata dell'ipomagnesiemia cronica da lieve a moderata poiché il lento assorbimento di magnesio da parte delle cellule è meno efficace in caso di aumento rapido ma transitorio della concentrazione sierica di magnesio.⁶⁰

Da linee guida un supplemento giornaliero di 200 mg di magnesio chelato (citrato, lattato) è considerato sicuro, adeguato e sufficiente per aumentare significativamente la concentrazione sierica di magnesio in un campione di siero

non emolizzato a digiuno a livelli $>0,85$ mmol/l ma $<1,1$ mmol/l. Uno stato stazionario viene solitamente raggiunto in 20-40 settimane di integrazione e dipende dalla dose.

Gli integratori possono contenere un sale misto di citrato di magnesio e malato, con un contenuto di magnesio di circa 12–15%, formulazione suggerita per fornire fino a 300–540 mg/die di magnesio.

Un altro sale frequentemente presente negli integratori è il pidolato di magnesio.¹⁰

Il magnesio pidolato è un sale organico e ha mostrato una biodisponibilità maggiore rispetto ad altri sali organici nei topi: l'aumento di magnesio sierico post somministrazione orale era maggiore nei topi trattati con pidolato di magnesio (100% rispetto al basale) rispetto ai topi trattati con lattato di magnesio (50% rispetto al basale).⁶⁵ La sua costante di dissociazione è simile a quella dei sali inorganici, quindi è altamente dissociato a pH fisiologico.¹⁰

Studi in vitro hanno dimostrato che gli esteri di saccarosio in concentrazioni non tossiche aumentano la permeabilità della barriera nell'intestino. Su queste basi, è stata sviluppata una formulazione di magnesio sucrosomiale [ULTRAMAG® (Sucrosomial® magnesio) Pharmanutra S.p.A., Pisa, Italia] in una matrice a rilascio prolungato al fine di migliorare la biodisponibilità del magnesio.⁶⁶

Il magnesio sucrosomiale è un innovativo preparato costituito da una matrice fosfolipidica, fosfato tricalcico ed esteri saccarici degli acidi grassi, che insieme alla presenza di una fonte di amido avvolge la componente di ossido di magnesio. Può essere utilizzato come alternativa ai comuni sali di magnesio per migliorare l'efficacia dell'integrazione di magnesio. Attraverso l'incapsulamento degli ioni magnesio all'interno della matrice sucrosomiale essi possono attraversare l'ambiente gastrico e intestinale e raggiungere il flusso sanguigno senza interagire con la mucosa intestinale. Tutto ciò consente di aumentare la biodisponibilità intestinale e la biodisponibilità totale del magnesio.⁶⁷

Occorre prestare attenzione alle potenziali interazioni farmacocinetiche tra integratori di magnesio e alcuni farmaci come farmaci antinfiammatori non steroidei, fluorochinoloni, tetraciline, calcio-antagonisti, aminoglicosidi e bisfosfonati la cui biodisponibilità è ridotta dall'assunzione concomitante di integratori di magnesio.⁶⁰

4. PROTOCOLLO SPERIMENTALE

4.1 Obiettivi dello studio

Trattasi di uno studio osservazionale prospettico eseguito su pazienti nefrotrapiantati in follow-up presso UOC di Nefrologia della Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova.

L'obiettivo principale dello studio è un confronto tra la formulazione di magnesio pidolato (MAG2®) e la nuova formulazione di magnesio sucrosomiale (ULTRAMAG®) in termini di biodisponibilità, tolleranza ed efficacia in pazienti sottoposti a trapianto renale.

Abbiamo inoltre valutato come obiettivi secondari negli stessi gruppi di pazienti se la correzione dell'ipomagnesiemia comportasse un miglioramento del quadro metabolico attraverso la valutazione glicemica e dell'iperparatiroidismo secondario alla CKD (Chronic Kidney Disease).

4.2 Materiali e metodi

4.2.1 Casistica

Il gruppo di studio consta di 40 soggetti sottoposti a trapianto di rene singolo, doppio, combinato rene-pancreas o combinato fegato-rene eseguito tra il 2019 e il 2021 con precedente diagnosi di CKD ad eziologia mista.

I soggetti sono stati reclutati tra i pazienti trapiantati presso il Centro Trapianti dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova e seguiti presso l'Ambulatorio Trapianti Rene-Pancreas dello stesso ospedale.

Il trattamento veniva proposto in seguito allo sviluppo di franca ipomagnesiemia (considerata come valori $<0,7\text{mmol/L}$) entro sei mesi/un anno dal trapianto.

Dei suddetti 40 pazienti, 27 sono stati trattati con ULTRAMAG (magnesio sucrosomiale) e 13 con MAG2 (magnesio pidolato).

I criteri di inclusione dei soggetti in studio sono:

- Sesso femminile e maschile;
- Età >18 anni;
- Trapianto di rene singolo da donatore deceduto o vivente, doppio, combinato rene-pancreas o fegato-rene effettuato tra il 2019 e il 2021
- Trattamento immunosoppressivo con CNI in triplice (CNI+acido micofenolico/inibitore mTOR+steroidi) o duplice terapia (CNI+steroidi);

I criteri di esclusione sono:

- Pazienti con età <18 anni;
- Trapianto precedente al 2019;

- Pazienti affetti da gastroenterite cronica, malattie infiammatorie croniche intestinali (MICI) o disturbi gastrointestinali ad eziologia sconosciuta;
- Pazienti affetti da disturbi gastrointestinali iatrogeni
- Ipomagnesiemia precedente al trapianto (es. malattie genetiche)

Originariamente il gruppo in supplementazione con MAG2 era costituito da 14 soggetti ma uno tra questi, a causa dello sviluppo di effetti collaterali invalidanti, è stato convertito alla supplementazione con ULTRAMAG e reintrodotta così nell'altro gruppo in studio, con conseguente beneficio clinico. Altri 2 pazienti appartenenti allo stesso gruppo hanno abbandonato lo studio dopo il dosaggio della magnesiemia a t_1 impedendo la valutazione dei secondary end points.

Per ciascun paziente di entrambi i gruppi in studio è stato eseguito:

- Dosaggio sierico della magnesiemia precedente alla supplementazione con magnesio sucrosomiale (t_0), secondo dosaggio a distanza di 15 giorni dall'inizio della supplementazione (t_1), terzo dosaggio a distanza di 4-6 mesi dall'inizio della supplementazione (t_2);
- Dosaggio sierico del valore del PTH precedente alla supplementazione (t_0) e a distanza di 6 mesi dall'inizio della supplementazione;
- Dosaggio sierico del valore della Calcemia totale precedente alla supplementazione (t_0) e a distanza di 6 mesi dall'inizio della supplementazione;
- Dosaggio sierico della Glicemia a digiuno precedente alla supplementazione (t_0) e a distanza di 6 mesi dall'inizio della supplementazione;
- Valutazione ambulatoriale con particolare attenzione al riscontro di effetti collaterali ricollegabili al farmaco somministrato

4.2.2 Procedura

Ai pazienti veniva preliminarmente spiegata la differenza tra le due formulazioni di supplementazione di magnesio utilizzate per la correzione della franca ipomagnesiemia e i benefici clinici e bioumorali derivanti dal trattamento.

Venivano così convocati a t_0 , t_1 e t_2 per il prelievo presso l'Ambulatorio Trapianti finalizzato al dosaggio della magnesiemia sierica tramite campioni di sangue raccolti in provette di plasma conservato in gel acrilico con eparina di litio.

A 0 e 6 mesi venivano poi eseguiti i dosaggi ematici della Calcemia totale e Glicemia a digiuno tramite campioni di sangue raccolti in provette di plasma conservato in gel acrilico con eparina di litio; per il dosaggio del valore di PTH invece venivano utilizzati campioni di siero senza additivi.

I campioni prelevati sono stati processati presso il Laboratorio Analisi dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova.

4.2.3 Dati clinici

A partire dalle informazioni raccolte sono stati ricavati i seguenti dati anagrafici e clinici che sono stati poi inseriti in un database: data di nascita, età, sesso, età al trapianto, data del trapianto, patologia di base, tipo di trapianto, tipo di supplementazione somministrata, data di inizio della supplementazione, eventuale sospensione della supplementazione, terapia immunosoppressiva prescritta, presentazione di effetti collaterali gastrointestinali, risultati dei dosaggi ematici eseguiti per magnesiemia, calcemia totale, glicemia a digiuno, PTH.

Le misurazioni cliniche e laboratoristiche sono state organizzate e rivalutate dal nostro Centro. I dati hanno considerato nello specifico la magnesiemia, la calcemia totale e la glicemia a digiuno espresse in mmol/L mentre il PTH è espresso in ng/L.

4.2.4 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando un computer iMac (Apple Computer, Cupertino, CA, USA) utilizzando il software GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, California, USA).

I dati sono stati espressi come media \pm deviazione standard (SD).

La distribuzione normale delle variabili è stata preventivamente verificata usando il test Shapiro-Wilk. I dati relativi ai livelli di magnesio ottenute con le due formulazioni sono stati analizzati usando il test t di Student per dati appaiati. L'analisi della variazione percentuale è stata condotta usando il test t di Student per dati non appaiati e il confronto delle variabili quantitative è stato effettuato usando il test ANOVA. Valori del 5% o meno ($p < 0.05$) sono stati considerati significativi.

4.3 Risultati

4.3.1 Descrizione del campione

I pazienti reclutati in ambulatorio, che soddisfacevano i criteri di inclusione ed esclusione e che hanno partecipato all'intero studio, sono stati in totale 40: nello specifico 14 femmine e 26 maschi. Tra questi, 27 pazienti sono stati trattati con ULTRAMAG (9 femmine e 18 maschi), 13 pazienti con MAG2 (5 femmine e 8 maschi).

I pazienti sono stati divisi nei due gruppi in studio in modo casuale e possibilmente omogeneo per età, tipo di trapianto e terapia immunosoppressiva in atto.

Tra i dati clinici sono stati considerati solo i più rilevanti secondo la letteratura al fine dello studio:

- Dati demografici: nel gruppo in ULTRAMAG l'età media è di 47 anni compresa tra 22 e 72. Nel gruppo in MAG2 l'età media è di 52 anni ma il valore più basso è 35 e il più alto 82. Da questo si evince che seppur le

popolazioni fossero mediamente omogenee, nel gruppo in MAG2 l'età risulta leggermente maggiore. Per quanto riguarda il sesso i due campioni appaiono omogenei ma con una prevalenza in entrambi del sesso maschile (66.6% nel gruppo in Ultramag e 61,6% nel gruppo in MAG2). (Tab.2)

	Gruppo ULTRAMAG	Gruppo MAG2
Età media	47 anni (22-72 anni)	52 anni (35-82 anni)
Numero soggetti sesso F	9 (33,3%)	5 (38,4%)
Numero soggetti sesso M	18 (66.6%)	8 (61,6%)

Tab 2: Descrizione demografica della popolazione in studio

- Tipo di trapianto: anche riguardo al tipo di trapianto eseguito i campioni risultano omogenei in quanto nel gruppo in ULTRAMAG la percentuale di trapianto da donatore deceduto è largamente la più rappresentata con una percentuale del 55%, seguono il trapianto da donatore vivente con una percentuale del 30%, il trapianto combinato fegato/rene con una percentuale del 10% e in ultimo il trapianto combinato rene/pancreas con una percentuale del 5%. Allo stesso modo nel gruppo in MAG2 il trapianto da donatore deceduto risulta essere il dato preminente con una percentuale del 71%, seguito dal trapianto combinato rene/pancreas con una percentuale del 21% e in ultimo il trapianto da donatore vivente con una percentuale del 7%. (Grafico 1 e 2)

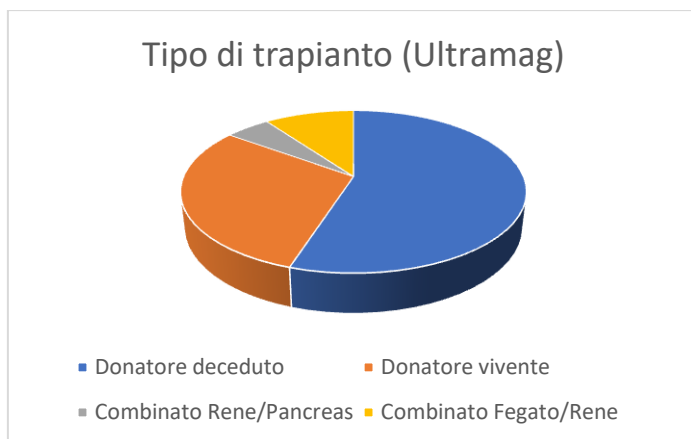


Grafico 1: Grafico a torta rappresentante la distribuzione del tipo di trapianto eseguito nel gruppo in Ultramag

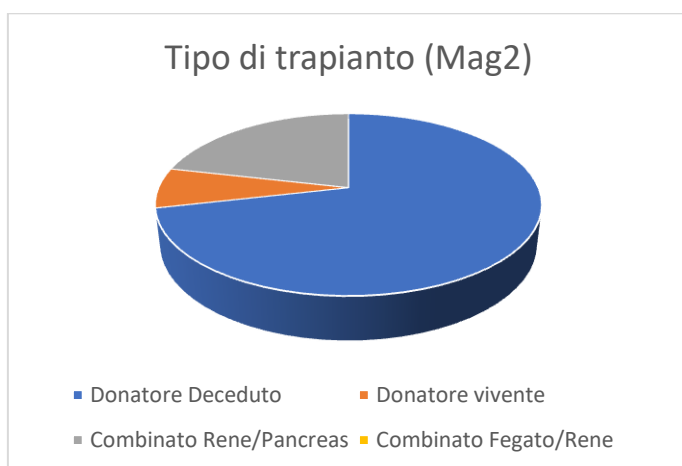


Grafico 2: Grafico a torta rappresentante la distribuzione del tipo di trapianto eseguito nel gruppo in Mag2

- Terapia immunosoppressiva: nella popolazione di ipomagnesiemici in studio, in accordo con la letteratura, si verifica una netta prevalenza in entrambi i gruppi di pazienti che assumono CNI come terapia immunosoppressiva.

In particolare, nel gruppo in ULTRAMAG la triplice terapia composta da CNI+MMF+steroidi è assunta dal 92,6% dei pazienti (25 su 27), la triplice terapia composta da CNI+Everolimus (inibitore di mTOR)+steroidi dal 3,7% (1 su 27), la duplice terapia composta da CNI+steroidi dal 3,7% (1

su 27).
 Nel gruppo in MAG2 la triplice terapia composta da CNI+MMF+steroidi è assunta dal 84,6% (11 su 13), la triplice terapia composta da CNI+Everolimus+steroidi dal 7,7% (1 su 13), la duplice terapia composta da CNI+steroidi dal 7,7% (1 su 13). (Tab. 3)

	Gruppo in ULTRAMAG	Gruppo in MAG2
CNI+MMF+Steroidi	25 (92.6%)	11 (84.6%)
CNI+Everolimus+Steroidi	1 (3,7%)	1 (7.7%)
Duplici terapia (CNI+Steroidi)	1 (3,7%)	1 (7.7%)

Tab.3: Descrizione della distribuzione della terapia nei gruppi in studio

4.3.2 Andamento della magnesemia a confronto tra correzione con ULTRAMAG e con MAG2

L'analisi dei dati relativa ai pazienti trattati con ULTRAMAG evidenzia un incremento della biodisponibilità del magnesio già dopo 15 giorni dall'inizio della supplementazione. Il valore del magnesio, infatti, subisce un incremento dal valore in t_0 di $0,60 \pm 0,02$ mmol/L al valore in t_1 di $0,69 \pm 0,05$ con $p < 0,0001$. Tale dato risulta quindi statisticamente significativo (Figura 5A).

Nei pazienti trattati con MAG2 nello stesso intervallo di tempo (15 giorni) l'andamento della magnesemia non è statisticamente significativo (Figura 5B).

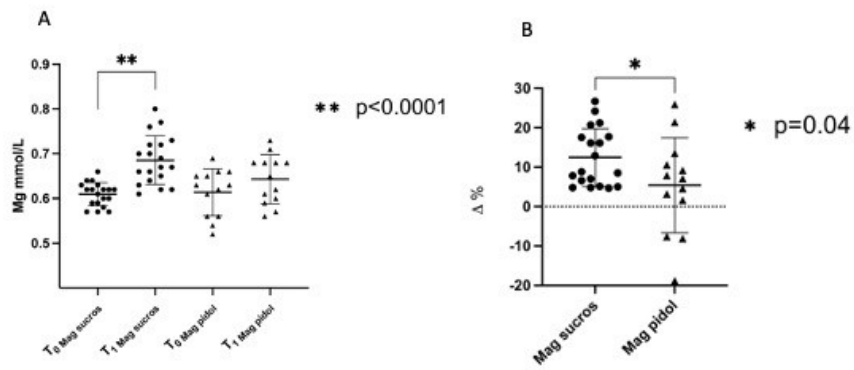
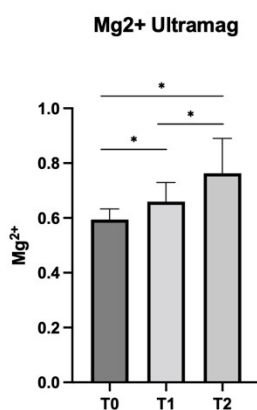


Figura 5A e 5B: Andamento della magnesiemia a confronto tra il gruppo in Ultramag (A) e il gruppo in Mag2 (A e B in particolare)

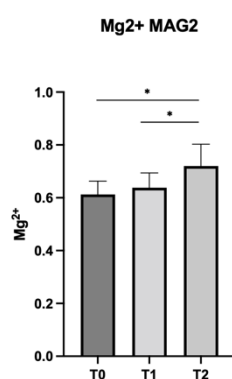
In secondo luogo, si è analizzato l'andamento della magnesiemia tra t_1 e t_2 (4-6 mesi). Dall'analisi sul lungo periodo si evidenzia un incremento della magnesiemia in entrambi i gruppi in studio con le due differenti supplementazioni. In entrambi i gruppi questi dati risultano statisticamente significativi (Figura 6).



	T0	T1	T2
Mean	0,5942	0,6592	0,7632
Std. Deviation	0,03900	0,07037	0,1274
Std. Error of Mean	0,007649	0,01380	0,02717

Paired t test

- T2 vs T0: p<0.001
- T1 vs T0: p<0.001
- T2 vs T1: p<0.001



	T0	T1	T2
Mean	0,6129	0,6379	0,7200
Std. Deviation	0,05014	0,05618	0,08258
Std. Error of Mean	0,01340	0,01502	0,02490

Paired t test

- T2 vs T0: p=0.002
- T1 vs T0: not significant
- T2 vs T1: p=0.005

Figura 6: Analisi dell'andamento della magnesiemia a t_0 , t_1 , t_2 in ULTRAMAG e MAG2.

4.3.3 PTH, Calcemia totale e Glicemia a digiuno a confronto tra correzione con ULTRAMAG e MAG2

Per la valutazione dell'end point secondario abbiamo monitorato ai tempi t_0 (prima dell'inizio della supplementazione) e t_1 (6 mesi dall'inizio della supplementazione) i valori di PTH, calcemia totale e glicemia a digiuno sia nei pazienti del gruppo in ULTRAMAG (Tab. 4) sia nei pazienti del gruppo in MAG2 (Tab. 5).

Per tutti i valori considerati l'analisi non ha rilevato dati statisticamente significativi.

ULTRAMAG	t ₀	6 mesi
Media PTH	140,25 ng/L	103,53 ng/L
Media calcemia totale	2,37 mmol/L	2,31 mmol/L
Media glicemia a digiuno	5,4 mmol/L (97,2 mg/dl)	5,3 mmol/L (95,4 mg/dl)

Tab. 4: Medie dei dosaggi di PTH, calcemia totale e glicemia a digiuno nel gruppo in Ultramag (valori di riferimento PTH 6,5-36,8 ng/L; calcemia totale 2,10-2,55 mmol/L; glicemia a digiuno 3,7-5,6 mmol/L).

MAG2	t ₀	6 mesi
Media PTH	124,1 ng/L	82,6 ng/L
Media calcemia totale	2,43 mmol/L	2,48 mmol/L
Media glicemia a digiuno	5,75 mmol/L (103,5 mg/dl)	5,79 mmol/L (104,2 mg/dl)

Tab.5: Medie dei dosaggi di PTH, calcemia totale e glicemia a digiuno nel gruppo in Mag2 (valori di riferimento PTH 6,5-36,8 ng/L; calcemia totale 2,10-2,55 mmol/L; glicemia a digiuno 3,7-5,6 mmol/L).

4.3.4 Effetti collaterali: insorgenza di disturbi gastrointestinali a confronto tra correzione con ULTRAMAG e MAG2

L'analisi si è successivamente concentrata sull'insorgenza di disturbi gastrointestinali nei pazienti dei due gruppi in studio. Nel gruppo in ULTRAMAG si sono registrati 3 casi (11%) di effetti collaterali gastrointestinali invalidanti sui 27 pazienti in supplementazione col farmaco. Nel gruppo in MAG2 si sono registrati 3 casi (23%) di effetti collaterali gastrointestinali invalidanti sui 13 pazienti in supplementazione col farmaco. Tale dato è significativo (Grafico 3).

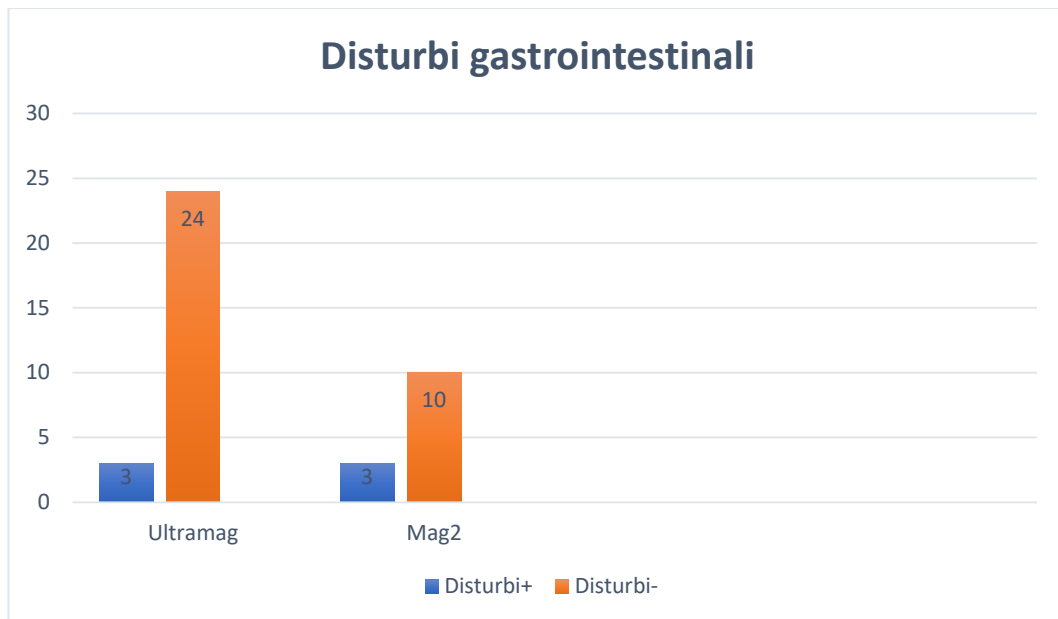


Grafico 3: Distribuzione dell'insorgenza di disturbi gastrointestinali nei due gruppi in studio.

5. DISCUSSIONE

L'ipomagnesiemia, definita come magnesiemia sierica <0.70 mmol/L, è un reperto inaspettatamente comune sia nella popolazione sana, sia, con prevalenze

nettamente più alte, nella popolazione ospedalizzata con picchi intorno al 60-65% nei pazienti della terapia intensiva.³⁶

Le cause più comuni che spiegano il verificarsi di questo fenomeno sono riconducibili per la popolazione sana ad un'alimentazione inadeguata e progressivamente impoverita dalle moderne tecniche agricole e di cottura tipica del mondo occidentale del nostro tempo¹⁰, per i pazienti ospedalizzati ad una moltitudine di cause, spesso concomitanti, riconducibili principalmente o ad una perdita a livello gastrointestinale o ad una perdita a livello renale.

In questo contesto si collocano i pazienti che sono stati sottoposti a trapianto di rene, oggetto del nostro studio, in cui si verifica un'eccessiva perdita di magnesio a livello renale a causa principalmente della terapia immunosoppressiva a base di CNI, terapia che trova largo impiego nella fase di mantenimento post-trapianto combinata ad altri farmaci secondo uno schema di triplice o duplice terapia.⁶⁸

Il meccanismo con il quale questi farmaci causano ipomagnesiemia sembrerebbe essere riconducibile ad una down-regulation operata dal farmaco a carico del canale TRPM6 localizzato a livello del tubulo distale e di altri canali coinvolti nel riassorbimento paracellulare di magnesio.⁵⁵

Questo fenomeno, associato al danno renale e al calo di funzionalità insito in questi pazienti, sfocia in un quadro di franca ipomagnesiemia che comincia a manifestarsi nelle prime settimane post trapianto per poi raggiungere il suo nadir a 2 mesi da esso.⁵⁸ Per quanto nella maggioranza dei pazienti il valore del magnesio tenda a stabilizzarsi a lungo termine, l'ipomagnesiemia persiste in oltre il 20% dei trapiantati di rene molti anni dopo il trapianto.⁵⁵

Sebbene la qualità dell'evidenze sia mista, esiste un consenso generale sulla potenziale efficacia della supplementazione di magnesio quando reso necessario dalle condizioni patologiche già citate o anche per il benessere generale. Tuttavia, l'integrazione orale convenzionale di magnesio mostra scarso assorbimento e biodisponibilità, probabilmente a causa dell'interferenza di composti alimentari o fattori digestivi.⁶⁶

Alcune popolazioni di pazienti con ipomagnesiemia accidentale come i trapiantati, i pazienti con diabete con scarso controllo glicemico e i pazienti con CKD (chronic kidney disease) proteinurica, sono molto resistenti alla supplementazione di magnesio principalmente a causa dell'aumento della perdita renale.⁶⁰

Gli integratori di magnesio sono disponibili in una varietà di formulazioni, tra cui composti inorganici e composti organici. Le formulazioni utilizzate più comunemente a scopo di supplementazione sono quelle in cui il magnesio si trova legato a composti organici in quanto risultano in generale più assorbibili.¹⁰

Per la correzione dell'ipomagnesiemia cronica da lieve a moderata sono utilizzati solitamente integratori orali di magnesio (magnesio bisglicinato, magnesio citrato, magnesio pidolato, magnesio lattato ecc.) poiché l'assorbimento cellulare risulta più efficace in caso di aumento lento e graduale della concentrazione sierica di magnesio, come quella data da una formulazione per os, rispetto ad un'eventuale correzione endovenosa.⁶⁰

In questo lavoro, come primary end point, abbiamo confrontato l'efficacia in termini di biodisponibilità (a quindici giorni e a quattro-sei mesi) tra la formulazione convenzionale di magnesio pidolato già in uso (MAG2®) e la nuova formulazione di magnesio sucrosomiale (ULTRAMAG®).

Sono stati pertanto reclutati 40 pazienti e randomizzati in due gruppi di studio: 27 sono stati trattati con ULTRAMAG mentre 13 con MAG2.

Tutti i pazienti sono stati selezionati nell'Ambulatorio Trapianti Rene-Pancreas dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova e seguiti in follow-up dallo stesso personale sanitario addestrato al protocollo di studio al fine di eliminare i bias di selezione ed eventuali errori di metodo.

Nel nostro studio abbiamo dimostrato che nei 27 pazienti in ULTRAMAG un incremento significativo della magnesiemia sierica avviene già a distanza di quindici giorni dall'inizio della supplementazione: i dosaggi in particolare mostrano un aumento da $t_0=0,60\pm 0,02$ mmol/L al valore in t_1 di $0,69\pm 0,05$ mmol/L con $p<0,0001$ e quindi statisticamente significativo.

Questi dati risultano in accordo con lo studio di Brilli et al⁶⁶ eseguito tuttavia su una popolazione sana, secondo cui il trattamento con ULTRAMAG comporterebbe un incremento rapido dell'assorbimento intestinale di magnesio grazie alla presenza dell'innovativa tecnologia sucrosomiale a base di una matrice fosfolipidica che incapsula l'ossido di magnesio rendendolo più biodisponibile.

Nell'altro gruppo di pazienti trattati con MAG2 l'incremento rapido a quindici giorni non si è verificato: i dosaggi mostrano un aumento da $t_0=0,61\pm 0,05$

mmol/L a $t_1=0.64\pm 0.05$ mmol/L con $p=0.72$ e quindi non statisticamente significativo.

Ad ulteriore conferma della differenza in termini di assorbimento delle due supplementazioni, abbiamo calcolato anche il $\Delta\%$ di incremento della magnesemia sierica con un risultato nettamente superiore per la formulazione sucrosomiale pari al 12.4% vs il 5.4% per il magnesio pidolato.

Questi risultati confermano ulteriormente quanto ULTRAMAG sia un più valido target nutrizionale rispetto al magnesio pidolato anche in una popolazione patologica.

Nel lungo periodo, tuttavia, abbiamo dimostrato come la concentrazione sierica del magnesio nei due gruppi in studio aumenti rispetto al baseline con entrambe le formulazioni: con ULTRAMAG a distanza di quattro-sei mesi i valori si attestano intorno a una media di $0,76\pm 0,13$ mmol/L mentre per MAG2 la media risulta $0,72\pm 0,08$ mmol/L.

I risultati ottenuti potrebbero suggerire quindi che i due preparati nel lungo termine si equivalgano in termini di biodisponibilità senza però fornire informazioni in merito alla tolleranza, parametro che assume la sua rilevanza proprio nel lungo termine.

Abbiamo così analizzato tramite una valutazione ambulatoriale e un'indagine anamnestica l'eventuale comparsa di effetti collaterali, in particolare disturbi gastrointestinali, correlati all'assunzione delle supplementazioni oggetto di studio. I dati hanno fornito risultati significativi in quanto nel gruppo in ULTRAMAG solo l'11% dei pazienti ha sviluppato disturbi gastrointestinali invalidanti mentre nel gruppo in MAG2 la percentuale si attesta intorno al 23%.

Questo dato conferma ulteriormente quanto questa innovativa tecnologia sucrosomiale non solo incrementi la biodisponibilità totale del magnesio ma renda questa formulazione migliore anche in termini di tolleranza.

A questo proposito, anche nella nostra realtà clinica abbiamo riscontrato come la vecchia formulazione di magnesio pidolato sia meno tollerata della formulazione innovativa e comporti il drop out della supplementazione prima che risulti efficace in termini di biodisponibilità: un paziente è stato convertito da MAG2 ad ULTRAMAG con beneficio clinico mentre altri due pazienti appartenenti originariamente al gruppo in MAG2 hanno abbandonato lo studio dopo il dosaggio della magnesemia in t_1 .

Da studi osservazionali sono emersi effetti benefici della supplementazione di magnesio su end points secondari, quali in particolare sul metabolismo glucidico, sul metabolismo calcio-fosforo e sulla resistenza al PTH.

In particolare i trapiantati di rene con ipomagnesiemia pre o post trapianto sembrano avere un metabolismo del glucosio aberrante e sviluppare più frequentemente il diabete mellito.⁵⁵ A questo proposito Van Laecke et al.⁶⁹ hanno condotto uno studio controllato e randomizzato per esaminare l'efficacia della supplementazione di magnesio nel miglioramento del controllo glicemico e della sensibilità all'insulina dopo il trapianto di rene mostrando come, nel gruppo con la supplementazione, la glicemia a digiuno risultasse inferiore a tre mesi dopo il trapianto rispetto al gruppo che non la assumeva.

In merito al metabolismo calcio-fosforo si può riconoscere facilmente come i pazienti sottoposti a trapianto renale siano pazienti che in generale presentano già in epoca pre-trapianto un iperparatiroidismo secondario alla scarsa funzione renale e questa condizione può protrarsi in epoca post-trapianto influenzando i parametri metabolici ed aumentando la morbilità.⁷⁰

In letteratura⁷¹ si vede come la supplementazione di magnesio anche da sola migliori i livelli di calcemia totale e produca un decremento della concentrazione di PTH comportando a lungo andare anche un miglioramento del quadro osseo.

Anche nei nostri gruppi in studio abbiamo provato a cercare una correlazione tra la correzione della magnesiemia e un miglioramento del profilo glucidico e del metabolismo calcio-fosforo.

I dati riscontrati tuttavia non sono risultati statisticamente significativi: il PTH, per esempio, subisce un decremento in entrambi i gruppi indipendentemente dall'entità della correzione del magnesio. Ipotizziamo che ciò sia dovuto al renal recovery che si verifica nell'immediato post trapianto comportando un miglioramento dell'iperparatiroidismo secondario correlato all'insufficienza renale cronica.⁷²

Per quanto riguarda la calcemia totale i dosaggi effettuati a t_0 e a sei mesi mostrano che la concentrazione si è mantenuta pressoché stabile nel tempo in entrambi i gruppi non sfociando mai in una franca ipocalcemia in contrasto con quanto sostiene la letteratura⁷³ secondo cui l'ipomagnesiemia si correla ad un'iniziale ipocalcemia. Infatti, le calcemie totali medie a t_0 con pazienti quindi

francamente ipomagnesiemici, presentano valori medi di 2,37 mmol/L nel gruppo in ULTRAMAG e 2,43 mmol/L nel gruppo in MAG2. A questo proposito ipotizziamo che l'ipocalcemia iniziale non si verifichi a causa dell'assunzione pre-trapianto da parte di alcuni dei pazienti selezionati di integratori a base di vit D e/o calcio.

Come ultimo secondary end point siamo andati ad analizzare l'andamento della glicemia a digiuno: le medie sono risultate stabili in entrambi i gruppi con valori borderline per l'intolleranza glucidica (5,3 mmol/L in ULTRAMAG e 5,79 mmol/L in MAG2). Questi dati presentano forti limitazioni: in primis l'utilizzo della sola glicemia a digiuno potrebbe non essere sufficiente nella diagnosi di diabete mellito post trapianto in accordo con i più recenti studi⁷⁴⁻⁷⁵ secondo cui l'OGTT (oral glucose tolerance test) sarebbe il gold standard per la diagnosi unitamente al dosaggio dell'emoglobina glicata; in secondo luogo l'iperglicemia, soprattutto nell'immediato post trapianto, potrebbe essere un reperto indipendente dall'ipomagnesiemia ma più correlabile agli effetti collaterali dati dagli elevati dosaggi di steroide usati nella terapia di induzione e di mantenimento.⁶⁸

Il nostro studio presenta alcuni bias: uno potrebbe essere la limitata numerosità del campione ottenuto e il breve periodo di follow-up (massimo sei mesi); tuttavia i risultati ottenuti per il primary end point oggetto di studio sono di grande importanza nell'ambito di un contesto quale quello di una popolazione patologica e assumono significato grazie ad un pool di pazienti selezionati omogenei per età, sesso, anzianità al trapianto, valori baseline di magnesiemia, regime immunosoppressivo.

In secondo luogo, l'outcome dei pazienti potrebbe aver risentito della somministrazione di terapie e/o dell'insorgenza di complicanze legate anche all'imprevedibilità dell'evoluzione clinica dei pazienti immunodepressi scelti per lo studio.

6. CONCLUSIONE

I nostri dati, sebbene ottenuti su una coorte limitata di pazienti, dimostrano come il magnesio sucrosomiale sia più efficace e meglio tollerato rispetto alla formulazione convenzionale già in uso di magnesio pidolato. Trattandosi di uno studio pilota e non avendo dati precedenti, un altro punto da sviluppare nell'ambito di progetti futuri potrebbe essere la valutazione del rischio cardiovascolare nella popolazione trapiantata ipomagnesiemica attraverso l'esecuzione di esami strumentali quali ecocardiogramma e/o eco color doppler dei TSA (tronchi sovraortici) in accordo con quanto sostenuto in letteratura¹¹ in merito alla correlazione tra ipomagnesiemia e aumento del rischio cardiovascolare in pazienti, come quelli trapiantati, già di per sé esposti ad una aumentata mortalità.

Se da un lato il fatto che il nostro studio sia il primo eseguito in pazienti trapiantati a valutare l'impatto del magnesio sucrosomiale sulla correzione dell'ipomagnesiemia potrebbe giustificare la bassa numerosità campionaria e il breve periodo di osservazione, dall'altro lato i nostri risultati potrebbero servire come working hypothesis per ulteriori studi con un pool di pazienti trapiantati più ampio, seguiti per un più lungo periodo al fine di confermare ulteriormente il beneficio clinico dell'ULTRAMAG.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Jameson JL, Kasper DL, Fauci AS, et al: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw- Hill; 2015.
- 2) KDIGO 2022 *Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease*, Marzo 2022.
- 3) Romagnani P, Remuzzi G, Glassock R, Levin A, Jager KJ, Tonelli M, Massy Z, Wanner C, Anders HJ: *Chronic kidney disease*. Nat Rev Dis Primers. 2017 Nov 23; 3:17088. doi: 10.1038/nrdp.2017.88.
- 4) Garibotto G, Biancone L, Pontremoli R: *Manuale Di Nefrologia*. Minerva medica; 2017.
- 5) Winkelmayr WC, Weinstein MC, Mittleman MA, Glynn RJ, Pliskin JS: *Health Economic Evaluations: The Special Case of End-Stage Renal Disease Treatment*. Med Decis Mak. 2002. doi:10.1177/027298902236927
- 6) Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, Held PJ, Port FK: *Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant*. N Engl J Med. 1999 Dec 2; 341(23): 1725-30. doi: 10.1056/NEJM199912023412303.
- 7) Cosio FG, Alamir A, Yim S, Pesavento TE, Falkenhain ME, Henry ML, Elkhammas EA, Davies EA, Bumgardner GL, Ferguson RM: *Patient survival after renal transplantation: I. The impact of dialysis pre-transplant*. Kidney Int. 1998 Mar; 53(3): 767-72. doi: 10.1046/j.1523-1755.1998.00787.x
- 8) Meier-Kriesche HU, Kaplan B: *Waiting time on dialysis as the strongest modifiable risk factor for renal transplant outcomes: a paired donor kidney analysis*. Transplantation. 2002 Nov 27; 74(10): 1377-81. doi: 10.1097/00007890-200211270-00005.
- 9) Fissell RB, Srinivas T, Fatica R, Nally J, Navaneethan S, Poggio E, Goldfarb D, Schold J: *Preemptive renal transplant candidate survival, access to care, and renal function at listing*. Nephrol Dial Transplant. 2012 Aug; 27(8): 3321-9. doi: 10.1093/ndt/gfs012
- 10) Fiorentini D, Cappadone C, Farruggia G, Prata C: *Magnesium: Biochemistry, Nutrition, Detection, and Social Impact of Diseases Linked to Its Deficiency*. Nutrients. 2021 Mar 30; 13(4): 1136. doi: 10.3390/nu13041136.
- 11) Fantuzzo P, Zanoli L, Scollo V, Portale G, Gaudio A, Pani A, Granata A: *Review: UPDATE sul metabolismo del magnesio*. GIN, 2016 Nov-Dic; 34 (1): 1-13

- 12) Elin RJ: *Magnesium: the fifth but forgotten electrolyte*. Am J Clin Pathol. 1994 Nov; 102(5): 616-22. doi: 10.1093/ajcp/102.5.616.
- 13) Blaine J, Chonchol M, Levi M: *Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis*. Clin J Am Soc Nephrol. 2015 Jul 7; 10(7): 1257-72. doi: 10.2215/CJN.09750913.
- 14) Chubanov V, Gudermann T, Schlingmann KP: *Essential role for TRPM6 in epithelial magnesium transport and body magnesium homeostasis*. Pflugers Arch. 2005 Oct; 451(1): 228-34. doi: 10.1007/s00424-005-1470-y.
- 15) Pietropaolo G, Pugliese D, Armuzzi A, Guidi L, Gasbarrini A, Rapaccini GL, Wolf FI, Trapani V: *Magnesium Absorption in Intestinal Cells: Evidence of Cross-Talk between EGF and TRPM6 and Novel Implications for Cetuximab Therapy*. Nutrients. 2020 Oct 26; 12(11): 3277. doi: 10.3390/nu12113277.
- 16) de Baaij JH, Hoenderop JG, Bindels RJ: *Magnesium in man: implications for health and disease*. Physiol Rev. 2015 Jan; 95(1): 1-46. doi: 10.1152/physrev.00012.2014.
- 17) Ahmed F, Mohammed A: *Magnesium: The Forgotten Electrolyte-A Review on Hypomagnesemia*. Med Sci (Basel) 2019 Apr 4; 7(4): 56. doi: 10.3390/medsci7040056.
- 18) Thomas AP, Diggle TA, Denton RM.: *Sensitivity of pyruvate dehydrogenase phosphate phosphatase to magnesium ions. Similar effects of spermine and insulin*. Biochem J. 1986 Aug 15; 238(1): 83-91. doi: 10.1042/bj2380083.
- 19) Garfinkel L, Garfinkel D.: *Magnesium regulation of the glycolytic pathway and the enzymes involved*. Magnesium. 1985; 4(2-3): 60-72.
- 20) Feng J, Wang H, Jing Z, Wang Y, Cheng Y, Wang W, Sun W.: *Role of Magnesium in Type 2 Diabetes Mellitus*. Biol Trace Elem Res. 2020 Jul; 196(1): 74-85. doi: 10.1007/s12011-019-01922-0.
- 21) Barbagallo M, Dominguez LJ.: *Magnesium metabolism in type 2 diabetes mellitus, metabolic syndrome and insulin resistance*. Arch Biochem Biophys. 2007 Feb 1; 458(1): 40-7. doi: 10.1016/j.abb.2006.05.007.
- 22) Wang M, Tashiro M, Berlin JR.: *Regulation of L-type calcium current by intracellular magnesium in rat cardiac myocytes*. J Physiol. 2004 Mar 1; 555(Pt 2): 383-96. doi: 10.1113/jphysiol.2003.048538.
- 23) Rubin AH, Terasaki M, Sanui H: *Major intracellular cations and growth control: correspondence among magnesium content, protein synthesis,*

- and the onset of DNA synthesis in BALB/c3T3 cells.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1979 Aug; 76(8): 3917-21. doi: 10.1073/pnas.76.8.3917.
- 24) Rubin H: The membrane, magnesium, mitosis (MMM) model of cell proliferation control. Magnes Res. 2005 Dec; 18(4): 268-74.
- 25) Jason D. Weber, David H. Gutmann: *Deconvoluting mTOR biology.* Cell Cycle 2012; 11:2, 236-248, DOI: 10.4161/cc.11.2.19022
- 26) Taylor JS, Vigneron DB, Murphy-Boesch J, Nelson SJ, Kessler HB, Coia L, Curran W, Brown TR: *Free magnesium levels in normal human brain and brain tumors: 31P chemical-shift imaging measurements at 1.5 T.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1991 Aug 1; 88(15): 6810-4. doi: 10.1073/pnas.88.15.6810.
- 27) Castiglioni S, Maier JA: *Magnesium and cancer: a dangerous liason.* Magnes Res. 2011 Sep; 24(3): S92-100. doi: 10.1684/mrh.2011.0285.
- 28) Folsom AR, Hong CP: *Magnesium intake and reduced risk of colon cancer in a prospective study of women.* Am J Epidemiol. 2006 Feb 1; 163(3): 232-5. doi: 10.1093/aje/kwj037.
- 29) Rosanoff A, Weaver CM, Rude RK: *Suboptimal magnesium status in the United States: are the health consequences underestimated?.* Nutr Rev. 2012 Mar; 70(3): 153-64. doi: 10.1111/j.1753-4887.2011.00465.x
- 30) Società Italiana di Nutrizione Umana (SINU) 2012: *LARN, Livelli di Assunzione e di Riferimento di Nutrienti ed Energia per la Popolazione Italiana.*; 1-17.
- 31) EFSA (European Food Safety Authority), 2017: *Dietary Reference Values for nutrients Summary report.* EFSA supporting publication 2017; 14(12): e15121, 98 pp. doi: 10.2903/sp.efsa.2017.e15121
- 32) Hashizume N, Mori M.: *An analysis of hypermagnesemia and hypomagnesemia.* Jpn J Med. 1990 Jul-Aug; 29(4): 368-72. doi:10.2169/internalmedicine1962.29.368.
- 33) Pham PC, Pham PA, Pham SV, Pham PT, Pham PM, Pham PT.: *Hypomagnesemia: a clinical perspective.* Int J Nephrol Renovasc Dis. 2014 Jun 9; 7: 219-30. doi: 10.2147/IJNRD.S42054.
- 34) Jahnen-Dechent W, Ketteler M.: *Magnesium basics.* Clin Kidney J. 2012 Feb; 5(Suppl 1): i3-i14. doi: 10.1093/ndtplus/sfr163.
- 35) Swaminathan R.: *Magnesium metabolism and its disorders.* Clin Biochem Rev. 2003 May; 24(2): 47-66.

- 36) Agus ZS.: *Mechanisms and causes of hypomagnesemia*. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2016 Jul; 25(4): 301-7. doi: 10.1097/MNH.0000000000000238.
- 37) Touyz RM.: *Magnesium in clinical medicine*. *Front Biosci*. 2004 May 1; 9: 1278-93. doi: 10.2741/1316.
- 38) Elin RJ.: *Assessment of magnesium status for diagnosis and therapy*. *Magn Res*. 2010 Dec; 23(4): S194-8. doi: 10.1684/mrh.2010.0213.
- 39) Spiegel DM.: *Magnesium in chronic kidney disease: unanswered questions*. *Blood Purif*. 2011; 31(1-3): 172-6. doi: 10.1159/000321837.
- 40) Elin RJ.: *Magnesium metabolism in health and disease*. *Dis Mon*. 1988 Apr; 34(4): 161-218. doi: 10.1016/0011-5029(88)90013-2.
- 41) Nicar MJ, Pak CY.: *Oral magnesium load test for the assessment of intestinal magnesium absorption. Application in control subjects, absorptive hypercalciuria, primary hyperparathyroidism, and hypoparathyroidism*. *Miner Electrolyte Metab*. 1982 Jul; 8(1): 44-51
- 42) Walder RY, Landau D, Meyer P, Shalev H, Tsolia M, Borochowitz Z, Boettger MB, Beck GE, Englehardt RK, Carmi R, Sheffield VC.: *Mutation of TRPM6 causes familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia*. *Nat Genet*. 2002 Jun; 31(2): 171-4. doi: 10.1038/ng901.
- 43) Ryzen E, Rude RK.: *Low intracellular magnesium in patients with acute pancreatitis and hypocalcemia*. *West J Med*. 1990 Feb; 152(2): 145-8.
- 44) Hess MW, Hoenderop JG, Bindels RJ, Drenth JP.: *Systematic review: hypomagnesaemia induced by proton pump inhibition*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012 Sep;36(5):405-13. doi: 10.1111/j.1365-2036.2012.05201.x
- 45) Koulouridis I, Alfayez M, Tighiouart H, Madias NE, Kent DM, Paulus JK, Jaber BL.: *Out-of-hospital use of proton pump inhibitors and hypomagnesemia at hospital admission: a nested case-control study*. *Am J Kidney Dis*. 2013 Oct; 62(4): 730-7. doi: 10.1053/j.ajkd.2013.02.373.
- 46) Perazella MA.: *Proton pump inhibitors and hypomagnesemia: a rare but serious complication*. *Kidney Int*. 2013 Apr;83(4):553-6. doi: 10.1038/ki.2012.462.
- 47) William JH, Danziger J.: *Magnesium Deficiency and Proton-Pump Inhibitor Use: A Clinical Review*. *J Clin Pharmacol*. 2016 Jun;56(6):660-8. doi: 10.1002/jcph.672.
- 48) Konrad M, Schlingmann KP. *Inherited disorders of renal hypomagnesaemia*. *Nephrol Dial Transplant*. 2014 Sep;29 Suppl 4:iv63-71. doi: 10.1093/ndt/gfu198.

- 49) Loupy A, Ramakrishnan SK, Wootla B, Chambrey R, de la Faille R, Bourgeois S, Bruneval P, Mandet C, Christensen EI, Faure H, Cheval L, Laghmani K, Collet C, Eladari D, Dodd RH, Ruat M, Houillier P.: *PTH-independent regulation of blood calcium concentration by the calcium-sensing receptor*. J Clin Invest. 2012 Sep;122(9):3355-67. doi: 10.1172/JCI57407.
- 50) Zietse R, Zoutendijk R, Hoorn EJ.: *Fluid, electrolyte and acid-base disorders associated with antibiotic therapy*. Nat Rev Nephrol. 2009 Apr;5(4):193-202. doi: 10.1038/nrneph.2009.17.
- 51) Hansen BA, Bruserud Ø.: *Hypomagnesemia in critically ill patients*. J Intensive Care 2018 Mar 27; 6:21. doi: 10.1186/s40560-018-0291-y.
- 52) Elisaf M, Merkouropoulos M, Tsianos EV, Siamopoulos KC.: *Pathogenetic mechanisms of hypomagnesemia in alcoholic patients*. J Trace Elem Med Biol. 1995 Dec;9(4):210-4. doi: 10.1016/S0946-672X(11)80026-X.
- 53) Tosiello L.: *Hypomagnesemia and diabetes mellitus. A review of clinical implications*. Arch Intern Med. 1996 Jun 10;156(11):1143-8.
- 54) Tsalouchos A, Salvadori M: *La terapia immunosoppressiva nel trapianto di rene*. Giornale di Tecniche Nefrologiche e Dialitiche. 2019; 31(3): 192-196. doi:10.1177/0394936219875392
- 55) Van Laecke S, Van Biesen W: *Hypomagnesaemia in kidney transplantation*. Transplant Rev (Orlando). 2015 Jul; 29(3): 154-60. doi: 10.1016/j.trre.2015.05.002.
- 56) Chang CT, Hung CC, Tian YC, Yang CW, Wu MS.: *Ciclosporin reduces paracellin-1 expression and magnesium transport in thick ascending limb cells*. Nephrol Dial Transplant. 2007 Apr;22(4):1033-40. doi: 10.1093/ndt/gfl817.
- 57) Nijenhuis T, Hoenderop JG, Bindels RJ.: *Downregulation of Ca(2+) and Mg(2+) transport proteins in the kidney explains tacrolimus (FK506)-induced hypercalciuria and hypomagnesemia*. J Am Soc Nephrol. 2004 Mar;15(3):549-57. doi: 10.1097/01.asn.0000113318.56023.b6.
- 58) Cyril H. Barton, Nosratola D. Vaziri, Donald C. Martin, Sunny Choi, Shahriar Alikhani: *Hypomagnesemia and renal magnesium wasting in renal transplant recipients receiving cyclosporine*. The American Journal of Medicine 1987; 83(4), 0–699. doi:10.1016/0002-9343(87)90900-4
- 59) Mazzola BL, Vannini SD, Truttmann AC, von Vigier RO, Wermuth B, Ferrari P, Bianchetti MG: *Long-term calcineurin inhibition and magnesium balance after renal transplantation*. Transpl Int. 2003 Feb; 16(2): 76-81. doi: 10.1007/s00147-002-0479-9.

- 60) Van Laecke S.: *Hypomagnesemia and hypermagnesemia*. Acta Clin Belg. 2019 Feb; 74(1): 41-47. doi: 10.1080/17843286.2018.1516173.
- 61) Schulze MB, Schulz M, Heidemann C, Schienkiewitz A, Hoffmann K, Boeing H: *Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis*. Arch Intern Med. 2007 May 14; 167(9): 956-65. doi: 10.1001/archinte.167.9.956.
- 62) Guerrero-Romero F, Simental-Mendía LE, Hernández-Ronquillo G, Rodríguez-Morán M: *Oral magnesium supplementation improves glycaemic status in subjects with prediabetes and hypomagnesaemia: A double-blind placebo-controlled randomized trial*. Diabetes Metab. 2015 Jun; 41(3): 202-7. doi: 10.1016/j.diabet.2015.03.010.
- 63) Tang CF, Ding H, Jiao RQ, Wu XX, Kong LD: *Possibility of magnesium supplementation for supportive treatment in patients with COVID-19*. Eur J Pharmacol. 2020 Nov 5; 886: 173546. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173546.
- 64) Morton A: *Hypomagnesaemia and pregnancy*. Obstet Med. 2018 Jun; 11(2): 67-72. doi: 10.1177/1753495X17744478. Epub 2018 Mar 7.
- 65) Maier JA, Pickering G, Giacomoni E, Cazzaniga A, Pellegrino P: *Headaches and Magnesium: Mechanisms, Bioavailability, Therapeutic Efficacy and Potential Advantage of Magnesium Pidolate*. Nutrients. 2020 Aug 31; 12(9): 2660. doi: 10.3390/nu12092660.
- 66) Brill E, Khadge S, Fabiano A, Zambito Y, Williams T, Tarantino G: *Magnesium bioavailability after administration of sucrosomial® magnesium: results of an ex-vivo study and a comparative, double-blinded, cross-over study in healthy subjects*. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018 Mar; 22(6): 1843-1851. doi:10.26355/eurrev_201803_14605.
- 67) Scaturro, D., Vitagliani, F., Terrana, P. et al.: *Does the association of therapeutic exercise and supplementation with sucrosomial magnesium*
- 68) Casati C, Menegotto A, Querques ML, Ravera F, Colussi G: *Immunosuppression in kidney transplantation: a way between efficacy and toxicity*. GIN Mar-Apr 2017; 34 (2), 29-39
- 69) Van Laecke S, Nagler EV, Taes Y, Van Biesen W, Peeters P, Vanholder R: *The effect of magnesium supplements on early post-transplantation glucose metabolism: a randomized controlled trial*. Transpl Int. 2014 Sep; 27(9): 895-902. doi: 10.1111/tri.12287.
- 70) Delos Santos R, Rossi A, Coyne D, Maw TT: *Management of Post-transplant Hyperparathyroidism and Bone Disease*. Drugs. 2019 Apr; 79(5): 501-513. doi: 10.1007/s40265-019-01074-4.

- 71) Guo G, Zhou J, Xu T, Sheng Z, Huang A, Sun L, Yao L: *Effect of Magnesium Supplementation on Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder in Hemodialysis Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. J Ren Nutr. 2022 Jan;32(1):102-111. doi: 10.1053/j.jrn.2021.07.009.
- 72) Ferreira AC, Mendes M, Silva C, Cotovio P, Aires I, Navarro D, Caeiro F, Ramos R, Salvador R, Correia B, Cabral G, Nolasco F, Ferreira A: *Improvement of Mineral and Bone Disorders After Renal Transplantation*. Transplantation 2022 May 1; 106(5): e251-e261. doi: 10.1097/TP.0000000000004099.
- 73) al-Ghamdi SM, Cameron EC, Sutton RA: *Magnesium deficiency: pathophysiologic and clinical overview*. Am J Kidney Dis. 1994 Nov; 24(5): 737-52. doi: 10.1016/s0272-6386(12)80667-6.
- 74) Huang JW, Famure O, Li Y, Kim SJ: *Hypomagnesemia and the Risk of New-Onset Diabetes Mellitus after Kidney Transplantation*. J Am Soc Nephrol. 2016 Jun; 27(6): 1793-800. doi: 10.1681/ASN.2015040391.
- 75) Alamdari A, Asadi G, Minoos FS, Khatami MR, Gatmiri SM, Dashti-Khavidaki S, Heydari Seradj S, Naderi N: *Association Between Pre-Transplant Magnesiumemia and Post-Transplant Dysglycemia in Kidney Transplant Recipients*. Int J Endocrinol Metab. 2020 Jan 14;18(1): e97292. doi: 10.5812/ijem.97292.